



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

МАРТ | MARCH

ТОМ 13 № 1 2024

SCIENTIFIC JOURNAL



veterinary.arriah.ru/jour
DOI 10.29326/2304-196X

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ



Молекулярная
эпизоотология ящура
(обзор)

стр. 11

Вирус гриппа D
у крупного рогатого скота
(обзор)

стр. 20

Факторы риска распространения
африканской чумы свиней среди диких
кабанов в Российской Федерации

стр. 64

ЦЕЛИ И ОБЛАСТЬ (ТЕМАТИЧЕСКИЙ ОХВАТ)

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.

Журнал ориентирован на ученых, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями в области общей и ветеринарной вирусологии, эпизоотологии, иммунологии, микологии, митоксикологии, бактериологии, практикующих ветеринарных врачей и врачей ветеринарных лабораторий и государственных ветеринарных служб, преподавателей ВУЗов ветеринарной, биологической, медицинской направленностей, аспирантов и студентов ВУЗов и колледжей.

AIMS AND SCOPE

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.

The journal is intended for scientists engaged in fundamental and applied research in the field of general and veterinary virology, epizootology, immunology, mycology, mitotoxicology, bacteriology, as well as practicing veterinarians and doctors of veterinary laboratories and state veterinary services, university-level teachers for veterinary, biological, medical specializations, graduate and postgraduate students.

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

Veterinariia segodnia

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

МАРТ ТОМ 13 № 1 2024

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

MARCH VOLUME 13 No. 1 2024

Published since 2012

Научный журнал «Ветеринария сегодня» входит в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук» о научным специальностям:

- 1.5.10 Вирусология (ветеринарные науки);
- 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки).

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>.

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>.

Главный редактор: Груздев Константин Николаевич – д-р биол. 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, канд. биол. наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: nikeshina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; AuthorID: 768521; Tel: 8 (4922) 26-15-12, доб. 22-27

Фото на обложке: CIPhotos / Fotosmurf03 / PeopleImages / SimonSkafar / tracielaide / 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, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий 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; <https://orcid.org/0009-0000-8984-7002>; 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, член-корреспондент РАН, 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>; AuthorID: 721219

Ирза Виктор Николаевич – д-р вет. наук, доцент, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>; AuthorID: 332278

Кононов Александр Владимирович – д-р вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>; AuthorID: 768208

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>; AuthorID: 751960; 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>; AuthorID: 359696; Scopus Author ID: 57192088323

Ломако Юрий Васильевич – канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; AuthorID: 1049578; 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>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат Нгуерабе Ямтитина – канд. вет. наук, Комратский государственный университет, г. Комрат, Молдова; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>; AuthorID: 1064174

Метлин Артем Евгеньевич – д-р вет. наук, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, г. Рим, Италия; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; AuthorID: 149714; 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>; AuthorID: 762858; 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>; AuthorID: 94733; 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>; AuthorID: 768437; 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>; AuthorID: 410076

Пронин Валерий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; 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>; AuthorID: 49638; 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>; AuthorID: 416163; Scopus Author ID: 6504372679

Русалеев Владимир Сергеевич – д-р вет. наук, профессор, г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>; AuthorID: 731801

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>; AuthorID: 702788

Соколович Марьяна – PhD в области ветеринарии, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID 21835149800

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; <https://orcid.org/0000-0002-2449-0097>; AuthorID: 709795

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>; AuthorID: 80671

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>; AuthorID: 705819; 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>; AuthorID: 49638

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; Scopus Author ID: 6602798556

Дизайн и верстка: Бондарь Мария
Ответственный редактор: Гусева Елена
Редактор-координатор: Мигулина Юлия
Редакторы-корректоры ФГБУ «ВНИИЗЖ»:
Нурмухамбетова-Михайлова Юлия, Рязцова Мария
Корректор: Зверева Ирина

Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № Ф7 49-033 от 21 марта 2021 г.

Тираж 1175 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: 19 марта 2024 года
Дата выхода в свет: 3 апреля 2024 года

Creative Commons
Attribution 4.0 License



Editor-in-Chief: Konstantin N. Gruzdev – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Centre for Animal Health, 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 Nikeshina, Cand. Sci. (Biology), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; e-mail: nikeshina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; AuthorID: 768521; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover photo: CIPhotos / Fotosurf03 / PeopleImages / SimonSkafar / tracielaide / 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, 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; ResearcherID: K-9491-2015

Alexander G. Glotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Biotechnologies of the Russian Academy of Sciences (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, All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Schelkovo, Russia; <https://orcid.org/0009-0000-8984-7002>; AuthorID: 563647

Mikhail I. Gulyukin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honorary Scientist of the Russian Federation, 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, Corresponding Member of the RAS, 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), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>; AuthorID: 721219

Viktor N. Irza – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>; AuthorID: 332278

Alexander V. Kononov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>; AuthorID: 768208

Petr A. Krasochko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Dr. Sci. (Biology), Professor, The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-4641-4757>; AuthorID: 751960; Scopus Author ID: 6504022390

Elena V. Kuzminova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Krasnodar Research Veterinary Institute – Detached Unit Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>; AuthorID: 359696; Scopus Author ID: 57192088323

Yuri V. Lomako – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vysheslesky, Minsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; AuthorID: 1049578; 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>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Mahamat Nguerabe Yamtitina – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Comrat State University, Komrat, Moldova; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>; AuthorID: 1064174

Artem Ye. Metlin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; AuthorID: 149714; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019

Vladimir A. Mischenko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; AuthorID: 762858; 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>; AuthorID: 94733; Scopus Author ID: 57189580555

Ivan N. Nikitin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Kazan State Academy of Veterinary Medicine n. a. N. E. Bauman, Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; AuthorID: 768437; 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>; AuthorID: 410076

Valery V. Pronin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Research Centre for Virology and Microbiology, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; ResearcherID: C-3433-2014

Larisa B. Prokhvatilova – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; AuthorID: 49638; Scopus Author ID: 36244177300

Olga V. Pruntova – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>; AuthorID: 416163; Scopus Author ID: 6504372679

Vladimir S. Rusaleyev – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>; AuthorID: 731801

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

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

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

Pavel N. Sisyagin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>; AuthorID: 702788

Marijana Sokolovic – PhD/DVM, Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID: 21835149800

Sergey K. Starov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Deputy Editor-in-Chief, 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; <https://orcid.org/0000-0002-2449-0097>; AuthorID: 709795

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>; AuthorID: 80671

Sergei V. Fedotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, 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), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; AuthorID: 705819; Scopus Author ID: 57204228517

Alexey G. Shakhov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, RAS Associate Member, All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>; AuthorID: 49638

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Ural Research Veterinary Institute – 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; Scopus Author ID: 6602798556

Design and composition: Maria Bondar

Managing Editor: Elena Guseva

Coordinating Editor: Julia Migulina

Content editors of FGBI "ARRIAH":

Julia Nurmukhambetova-Mikhailova, Maria Ryaguzova

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 FS 77-49033, March 21, 2012.

Circulation: 1175. Price: unregulated

Veterinary Science Today Journal

can be subscribed through

the UrP-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@urp-press.ru

Founder: 600901, Vladimir, Yur'evets, Federal Centre for Animal Health

Publisher: Veinard, 129626, Moscow,

102 Prospect Mira, bld. 31, office 12

Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'evets,

Federal Centre for Animal Health

Printing Office: Grand Prix,

152900, Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7

Approved for print: March 19, 2024

Issued: April 03, 2024

Creative Commons
Attribution 4.0 License



Содержание

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

- 6** Вклад ФГБУ «ВНИИЗЖ» в реализацию международных полномочий Россельхознадзора
В. В. Лавровский

ОБЗОРЫ | ЯЩУР

- 11** Молекулярная эпизоотология ящура (обзор)
А. В. Щербаков

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ КРС

- 20** Вирус гриппа D у крупного рогатого скота (обзор)
С. В. Котенева, А. Г. Готов, Т. И. Глотова, А. В. Нефедченко
- 27** Этиология и эпизоотология мастита коров (аналитический обзор)
А. А. Андреева, В. А. Евграфова, М. С. Воронина, О. В. Прунтова, Н. Б. Шадрова

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 36** Аденовирусные инфекции птиц: многообразие возбудителей, опасность для птицеводства и проблемы иммунопрофилактики (обзор)
Ю. Р. Зеленский, М. С. Волков, И. А. Комаров, Н. В. Мороз, Н. С. Мудрак, Т. В. Жбанова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЯЩУР

- 44** Изучение серотипоспецифичности диагностических тест-систем для выявления антител к структурным белкам вируса ящура иммуноферментным анализом
**Н. Н. Луговская, Е. А. Силантьева, Т. В. Оковитая, А. А. Харитоновна,
Ы. М. Гочмурадов, Е. А. Разгуляева, О. О. Будина, Е. А. Яснева**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 57** Конструирование прокариотической системы экспрессии фрагмента гена *ORF-2* цирковируса свиней 2-го типа
А. Г. Галеева, А. Р. Ахунова, К. В. Усольцев, Н. И. Хаммадов, М. А. Ефимова
- 64** Факторы риска распространения африканской чумы свиней среди диких кабанов в Российской Федерации
О. И. Захарова, А. А. Блохин, О. А. Бурова, И. В. Яшин, Ф. И. Коренной

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 73** Научное обоснование полиадаптованности микобактерий птичьего вида в объектах внешней среды в условиях Республики Дагестан
М. О. Баратов, А. Р. Мустафаев

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- 78** Роль иксодовых клещей в распространении и циркуляции возбудителей клещевых инфекций и инвазий на территории Белорусского Поозерья
А. А. Осмоловский, И. А. Субботина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 87** Исследование методом проточной цитометрии динамики трансформации ДНК в культуре клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства
**М. Н. Гусева, М. И. Доронин, М. А. Шевченко, Д. В. Михалишин, А. В. Борисов,
Ю. С. Елькина, Т. В. Оковитая, В. М. Захаров, В. В. Михалишин**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 95** Совершенствование системы поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), применяемого для изготовления сапных диагностикумов
Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова, Л. И. Зайнуллин, Н. К. Букова

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

- 103** К 75-летию Владимира Александровича Мищенко

ПАМЯТИ КОЛЛЕГ

- 104** Николай Алексеевич Улупов (к 95-летию со дня рождения)

Contents

CONFERENCE PROCEEDINGS

- 6** Contribution of Federal Centre for Animal Health to Rosselkhoznadzor's international mandate delivery
V. V. Lavrovsky

REVIEWS | FOOT-AND-MOUTH DISEASE

- 11** Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease (review)
A. V. Scherbakov

REVIEWS | BOVINE DISEASES

- 20** Influenza D virus in cattle (review)
S. V. Koteneva, A. G. Glotov, T. I. Glotova, A. V. Nefedchenko
- 27** Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review)
A. A. Andreeva, V. A. Evgrafova, M. S. Voronina, O. V. Pruntova, N. B. Shadrova

REVIEWS | AVIAN DISEASES

- 36** Avian adenovirus infections: diversity of pathogens, hazard to poultry industry and problems of immunoprophylaxis (review)
Yu. R. Zelenskiy, M. S. Volkov, I. A. Komarov, N. V. Moroz, N. S. Mudrak, T. V. Zhanova

ORIGINAL ARTICLES | FOOT-AND-MOUTH DISEASE

- 44** Testing of diagnostic test-systems for detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus structural proteins with enzyme-linked immunosorbent assay for their serotype specificity
N. N. Lugovskaya, E. A. Silantyeva, T. V. Okovyataya, A. A. Kharitonova, Y. M. Gochmuradov, E. A. Razgulyaeva, O. O. Budina, E. A. Yasneva

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 57** Construction of prokaryotic system for expression of porcine circovirus type 2 ORF-2 gene fragment
A. G. Galeeva, A. R. Akhunova, K. V. Usoltsev, N. I. Khamadov, M. A. Efimova
- 64** Risk factors for African swine fever spread in wild boar in the Russian Federation
O. I. Zakharova, A. A. Blokhin, O. A. Burova, I. V. Yashin, F. I. Korennoy

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 73** Scientific justification of *Mycobacterium avium* survival in natural environment of Republic of Dagestan
M. O. Baratov, A. R. Mustafayev

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 78** Role of ixodid ticks in tick-borne pathogen spread and circulation in the Belarusian Lakeland
A. A. Osmolovsky, I. A. Subotsina

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 87** Flow cytometry study of DNA transformation dynamics in BHK-21/SUSP/ARRIAH cell culture during rabies virus reproduction
M. N. Guseva, M. I. Doronin, M. A. Shevchenko, D. V. Mikhailishin, A. V. Borisov, Yu. S. El'kina, T. V. Okovyataya, V. M. Zakharov, V. V. Mikhailishin

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 95** Improved production strain maintenance technique for *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) used for glander diagnostic agent production
E. A. Artemeva, L. A. Melnikova, L. I. Zaynullin, N. K. Bukova

ANNIVERSARY DATES

- 103** On 75th anniversary of Vladimir A. Mischenko

COLLEAGUES' COMMEMORATION

- 104** Nickolay A. Ulupov (on 95th anniversary)



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-6-10>
УДК 619:061:616.98-48.87



Вклад ФГБУ «ВНИИЗЖ» в реализацию международных полномочий Россельхознадзора

В. В. Лавровский

Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор),
Орликов переулок, 1/11, г. Москва, 107996, Россия

РЕЗЮМЕ

В статье освещается история Федерального центра охраны здоровья животных, начало которой было положено 65 лет тому назад при создании Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института. Основная научная тематика — профилактика и борьба с ящуром — была и остается главенствующей для учреждения. Современная история развития Федерального центра охраны здоровья животных неразрывно связана с реформой государственного управления в области сельского хозяйства в стране в 2000-х гг., когда в июле 2004 г. из структуры Министерства сельского хозяйства Российской Федерации была выделена Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) в виде самостоятельного федерального органа исполнительной власти с широкими полномочиями в сфере ветеринарного и фитосанитарного контроля и надзора. Основаниями для переподчинения Федерального центра охраны здоровья животных Россельхознадзору, исторически новому для России органу исполнительной власти, явились высокий международный авторитет научного центра и признанная на национальном и международном уровне квалификация его сотрудников в области заразных болезней животных.

Ключевые слова: ВНИИЗЖ, ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россельхознадзор, ящур, инфекционные болезни животных

Для цитирования: Лавровский В. В. Вклад ФГБУ «ВНИИЗЖ» в реализацию международных полномочий Россельхознадзора. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 6–10. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-6-10>

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Лавровский Василий Владимирович, канд. с.-х. наук, советник руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору, Орликов переулок, 1/11, г. Москва, 107996, Россия

Contribution of Federal Centre for Animal Health to Rosselkhoznadzor's international mandate delivery

Vasily V. Lavrovsky

Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance,
1/11 Orlikov per., Moscow 107996, Russia

ABSTRACT

The paper covers the history of the Federal Centre for Animal Health, which started 65 years ago by the foundation of the All-Union Foot and Mouth Disease Research Institute. The main research area — FMD prevention and control — was and still remains the leading one for the Centre. The current history of the Federal Centre for Animal Health development is inextricably associated with the public administration reform in agriculture in 2000s, when the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor) spun off the Ministry of Agriculture of the Russian Federation as an independent executive authority with broad powers in the area of the veterinary and phytosanitary control and surveillance. The grounds for the re-subordination of the Federal Centre for Animal Health to the Rosselkhoznadzor, historically novel executive authority in Russia, included high international prestige of the Centre and nationally and internationally acknowledged qualification of its employees in the field of contagious animal diseases.

Keywords: All-Union Foot and Mouth Disease Research Institute, Federal Centre for Animal Health, Rosselkhoznadzor, foot and mouth disease (FMD), infectious animal diseases

For citation: Lavrovsky V. V. Contribution of Federal Centre for Animal Health to Rosselkhoznadzor's international mandate delivery. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 6–10. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-6-10>

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

For correspondence: Vasily V. Lavrovsky, Cand. Sci. (Agriculture), Adviser to the Head of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, 1/11 Orlikov per., Moscow 107996, Russia

Каждый юбилей – хороший повод подвести итоги, наметить новые планы, почтить память учителей и соратников, которые создавали авторитет и славу института, поддержать новое поколение, вступающее на научную стезю в период непростых испытаний, переживаемых нашей страной.

К счастью, еще живы талантливые ученые, которым в 60-е годы XX века были поручены важные задачи по развитию отечественного животноводства и которые внесли огромный вклад в изучение природы ящура и других заразных заболеваний животных, методов их профилактики и лечения, заслужили благодарность и признание отечественных и зарубежных коллег.

Охватить весь масштаб событий и свершений Федерального центра охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ») за 65 лет в одной статье невозможно, поэтому остановимся на временном отрезке, часть которого происходила на моих глазах и при моем непосредственном участии в бытность советником по сельскому хозяйству в Посольстве Российской Федерации в Канаде (2001–2005 гг.), затем в Постоянном представительстве Российской Федерации при Европейском союзе (ЕС) и Евратоме (2006–2013 гг.), а также начальником Управления Россельхознадзора по инспекционной работе в рамках международного сотрудничества и ВТО в сфере ветеринарии, помощником и советником руководителя Россельхознадзора по международной работе (с 2013 г. по настоящее время).

Историю ФГБУ «ВНИИЗЖ» невозможно рассматривать в отрыве от проблем, задач и достижений отечественного сельского хозяйства, становления индустриального животноводства, удовлетворения спроса населения страны на высококачественную животноводческую продукцию, выхода ее на мировые рынки.

Развитие ФГБУ «ВНИИЗЖ» неразрывно связано с реформой государственного управления в области сельского хозяйства начала 2000-х годов, с выделением в июле 2004 г. из структуры Министерства сельского хозяйства Российской Федерации новой Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) в виде самостоятельного федерального органа исполнительной власти с широкими полномочиями в сфере ветеринарного и фитосанитарного контроля и надзора.

В соответствии с Положением о Россельхознадзоре ведомство получило уникальные полномочия в области международного сотрудничества:

- прямое взаимодействие с компетентными органами иностранных государств в области ветеринарии и фитосанитарии, в рамках которого ведомство имеет право осуществлять контрольно-инспекционные мероприятия на территории других стран;
- предоставление государственных гарантий (сертификатов) безопасности поднадзорной продукции при

импорте и экспорте путем контроля грузов на границе, а также подтверждения прослеживаемости и безопасности продукции иностранного и российского происхождения посредством лабораторно-аналитических методов;

- право представлять интересы Российской Федерации в международных профильных организациях, таких как Всемирная организация здравоохранения животных (ВОЗЖ, ранее МЭБ), где заместители руководителя службы на протяжении многих лет входят в состав руководящего совета, Международная конвенция по карантину и защите растений (МКЗР); право участия в работе Комиссии «Кодекс Алиментариус», учрежденной Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН (ФАО), и Комитета по санитарным и фитосанитарным мерам в торговле Всемирной торговой организации (ВТО).

Фундаментальным принципом работы, который определяет эффективность деятельности Россельхознадзора, является применение контрольно-надзорных разрешительных и ограничительных мер при производстве и перемещении поднадзорных товаров исключительно на базе современных научных знаний и методов, положенных в основу международных рекомендаций (кодексов).

Разумеется, что при таком подходе важной опорой Россельхознадзора в реализации новых задач стали подведомственные научно-исследовательские институты – Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»), Всероссийский центр карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР») и, конечно, отметивший свой 65-летний юбилей Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Основанием для переподчинения Россельхознадзору именно ФГБУ «ВНИИЗЖ» явился высокий международный авторитет института, признанная на национальном и международном уровне квалификация его сотрудников, наличие сложившейся школы подготовки научных кадров, серьезное методологическое и инфраструктурное обеспечение деятельности, многолетний опыт практической работы по профилактике и борьбе с заразными болезнями животных в самых разных регионах России и СНГ, высокая результативность профилактических и карантинных мероприятий, опыт нормотворческой работы в ветеринарии.

К моменту начала реформы госуправления у руководства страны сформировалось четкое понимание необходимости государственной поддержки важнейших отраслей сельского хозяйства и регулирования внешней торговли продовольствием, которое реализовалось в Федеральном законе «О развитии сельского хозяйства» от 29.12.2006 № 264-ФЗ. В нем впервые российское государство заявило о своей прямой ответственности за обеспечение продовольственной

безопасности путем целенаправленного финансирования ведущих секторов аграрной экономики, в первую очередь животноводства и растениеводства.

Разумеется, в процессе подготовки этих преобразований активно заимствовался опыт ведущих аграрных стран мира – США, Канады, Германии, Великобритании, Франции, Нидерландов, Индии, стран Европейского союза.

К реформам подталкивал и взятый еще в 1995 г. курс на присоединение к ВТО, инициаторы которого обещали существенные преимущества от равноправного торгового оборота российских товаров на международных рынках.

Одной из причин, по которой ведущие мировые экспортеры продовольствия настойчиво вовлекали Россию в ВТО, обещая ей свободный доступ на мировые продовольственные рынки, были раздражающие их якобы избыточные требования национального ветеринарного законодательства при импорте, несмотря на неоспоримые конкурентные преимущества развитых стран, позволявшие им субсидировать экспорт и предлагать демпинговые цены на пресловутые «ножки Буша».

Невзирая на серьезные экономические трудности, обусловленные трансформацией государственного устройства и адаптацией экономики к рыночным условиям хозяйствования, необходимостью выплачивать внешние долги и поддерживать разорванные в результате распада Советского Союза хозяйственные связи на пространстве СНГ, Российская Федерация вступила в ВТО в 2012 г. в качестве «развитой страны». Это означало отказ от множества торговых льгот и преференций, распространявшихся на большинство «развивающихся» учредителей и членов этого «торгового клуба», созданного в 1995 г., и в то же время весьма скромный, по сравнению, например, с развитыми странами – членами Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР), уровень государственной поддержки (9 млрд долларов в 2012 г. и снижение до 4,4 млрд к 2018 г.), да и тех средств в то время в бюджете страны не было.

Россия получила скромные возможности таможенно-тарифной защиты в продовольственном секторе (особенно широко «распахнулись двери» для поставок живых свиней на убой, что оказало впоследствии серьезное давление на отрасль). Тогда как развивающиеся страны Латинской Америки, Ближнего Востока, Индокитая, а также Индия, Турция, не говоря уже о странах Африки, до сих пор легко вводят запретительные пошлины в десятки и даже сотни процентов, не стесняются заявлять, что это делается для защиты собственного производства и содействия занятости сельского населения.

Справедливости ради следует признать, что в разгар переговоров о присоединении к ВТО Россия плотно «сидела на игле» импортных поставок продовольствия и государственные механизмы поддержки сельского хозяйства запускались с большим трудом.

В этих условиях полномочия использовать санитарные и фитосанитарные меры защиты (благо «зеленая» и «желтая» корзины ВТО разрешали инвестировать в обеспечение безопасности продуктов) сделали Россельхознадзор важным игроком, регулирующим оборот продовольствия на внешнем рынке, разумеется, при научном обосновании своих требований.

В этой связи появилась возможность вкладывать серьезные средства в повышение квалификации ветеринарных кадров, улучшение методической, лабораторной и информационно-аналитической работы, в капитальное строительство и приобретение современного оборудования для достижения эквивалентности и подтверждения научной обоснованности своих действий по защите внутреннего рынка от субсидированного и зачастую недоброкачественного импорта, с одной стороны, и убедительности гарантий безопасности отечественной экспортной сельскохозяйственной продукции – с другой, что сопровождалось сближением национального законодательства с международным.

Следует подчеркнуть, что на всех этапах присоединения и членства в ВТО Россия добросовестно следовала своим обязательствам, хотя звоночки о том, что ее интересы по развитию национального рынка, а уж тем более претензии на международные рынки партнеров на Западе не интересуют, звучали уже давно.

Так, в год образования Россельхознадзора произошло присоединение к Евросоюзу 10 стран, большая часть из которых в Восточной Европе (Прибалтика, Польша, Чехия, Словакия, Словения, Венгрия) представляли собой важный экспортный рынок для российского продовольствия и кормов. Евросоюз бесцеремонно разорвал все имевшиеся между Россией и этими странами торговые соглашения, в том числе в сфере ветеринарии и фитосанитарии, без каких-либо условий и компенсаций (в то время как их получили США и Канада) за утрату рынков. В этом же году после крайне успешной для России поставки большой партии зерна в ЕС на экспорт после рекордного урожая 2003–2004 гг. Евросоюз по сговору с США и Канадой ввел жесткую тарифную квоту на импорт «черноморской» (читай: российской) низкобелковой (ее даже называли кормовой) пшеницы, после чего рекордов в торговле с ЕС больше не было.

Несмотря на чувствительную зависимость России, в особенности крупных городов, от регулярного импорта мяса из ЕС, новорожденный Россельхознадзор сумел поставить Евросоюз на место, заставив после трехмесячного запрета на импорт всей животноводческой продукции подписать Меморандум об условиях поставок из ЕС, после чего запустил широкую кампанию по инспектированию предприятий стран – членов ЕС и согласованию новых двусторонних ветеринарных сертификатов.

Большим разочарованием в справедливости «свободного рынка» и универсальности международных SPS-правил, но важным испытанием способности Россельхознадзора к отстаиванию интересов отечественного свиноводства в условиях членства в ВТО стал спор в арбитражном органе этой организации в 2014 г. по поводу правомочности российского запрета на поставки свиноводческой продукции из Евросоюза в Россию ввиду вспышек африканской чумы свиней (АЧС) в Литве, Польше, Латвии и Эстонии, рисков ее распространения на всю Западную Европу и заноса в Россию.

Тогда на всех этапах ФГБУ «ВНИИЗЖ» обеспечивало экспертную поддержку, участвовало в инспекциях в зонах поражения и в подготовке научного анализа риска распространения АЧС в Евросоюзе и ее заноса с территории ЕС в Российскую Федерацию. Как показало вре-

мя, научный прогноз, доказывающий справедливость озабоченности России возможностью распространения АЧС, полностью подтвердился. Африканская чума свиней распространилась в половине стран – членов ЕС и нанесла серьезный ущерб свиноводческой отрасли Прибалтики, Польши, Германии, Румынии, Венгрии, Болгарии, Чехии, Словакии, Италии. К сожалению, на этапе разбирательства в арбитражном органе ВТО российские оценки высокомерно отвергались из-за «несоответствия» европейским критериям вероятности угроз.

Столкнувшись с манипулятивностью принципа *highly likely* без достаточных доказательств угроз или ущерба, сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ» – разработчики системы оценки риска и ранжирования российских предприятий по степени их ветеринарной безопасности в электронных информационных системах Россельхознадзора впоследствии взяли за правило отталкиваться от фактической истории нарушений, допущенных предприятием в процессе деятельности, и вести его персональное досье.

Параллельно при непосредственном участии ФГБУ «ВНИИЗЖ» в это время развивался процесс укрепления торговых связей и гармонизация законодательства стран Таможенного союза, его расширение и преобразование в Евразийский экономический союз с единым рынком (кстати, Евросоюз его создание в 2011 г. категорически не признал), а следовательно, с унифицированным, насколько это было возможно, ветеринарным и фитосанитарным регулированием.

После государственного переворота на Украине, присоединения Крыма к России (новые власти страны тогда проигнорировали полугодовые (в 2014–2015 гг.) межправительственные переговоры, которые позволили бы среди прочего сохранить полноценные отношения надзорных служб и выгодную, в первую очередь для Украины, торговлю продовольствием с Россией), введения экономических санкций со стороны США, ЕС, Австралии и Норвегии и ответного наложения контрсанкций на экспорт ряда сельскохозяйственных товаров из этих стран произошел разворот на рынки дружественных государств, запуск процесса импортозамещения продовольствия. Помимо активной работы на внутреннем рынке этот процесс сопровождался серьезной переговорной и инспекционной работой с развивающимися странами, в первую очередь Азии и Латинской Америки, где своевременная информационная поддержка и оценки рисков, выполненные сотрудниками института, позволили избежать дефицита мяса без ущерба ветеринарной безопасности России.

Оказавшись изолированной от давления экспорта субсидированного продовольствия из недружественных стран, Россия предприняла действенные меры по развитию собственного сельского хозяйства. На смену проблеме зависимости от импортного мяса пришла задача открывать экспортные рынки, вывозя излишки.

Устоявшаяся к этому времени система контроля, обновленные лаборатории, современные предприятия, выстраивающие свой бизнес по рекомендациям и при тщательных проверках инспекторов Россельхознадзора, государственная регистрация предприятий, способных выполнять требования зарубежных стран, – все это, увязанное в единую информационную систему «ВетИС», управляемую из ФГБУ «ВНИИЗЖ» и га-

рантирующую полную прослеживаемость продукции из зон, свободных от заболеваний, производит должное впечатление на потенциальных импортеров.

Достаточно сказать, что к 2020 г. Россия стала нетто-экспортером продовольствия, а в 2023 г. экспортная выручка превысила 45 млрд долларов США, в том числе в связи с надежными гарантиями Россельхознадзора касательно безопасности экспортируемой продукции.

Благодаря своим высоким компетенциям в сфере профилактики и борьбы с болезнями животных институт стал обязательным звеном в программах инспекций представителями иностранных ветслужб, а государственная поддержка экспорта животноводческой продукции сделала такие визиты доступными для специалистов из развивающихся стран, увидевших в России достойного конкурента традиционным экспортерам, способного обеспечить конкурентные цены и безупречный уровень безопасности говядины, баранины, мяса птицы, пищевых яиц, молочной и рыбной продукции.

Подводя итоги, можно сделать вывод, что выбор, который сделал Россельхознадзор в 2004 г., включив ФГБУ «ВНИИЗЖ» в число организаций, обеспечивающих научное сопровождение регулирующих мер и исполнение новых полномочий службы, себя вполне оправдал. Во всяком случае, на всех важных этапах, когда Россельхознадзор сталкивался с необходимостью менять подходы в своей работе и адаптироваться к изменяющимся внешним условиям, коллектив института оказывался на высоте, достойным тех сложных задач, которые выпадали на долю отрасли и страны за последние 20 лет.

Учреждение в системе Россельхознадзора подтвердило свой высокий статус международного центра по вопросам защиты здоровья животных, о чем свидетельствуют его многообразные и плодотворные внешние связи, признание деятельности международными организациями, такими как ВОЗ и FAO, Российской академией наук, а также ведущими исследовательскими центрами мира, востребованность высокоэффективной авторской продукции (вакцин, диагностикумов, тест-систем) далеко за пределами нашей страны.

За прошедшие 20 лет ФГБУ «ВНИИЗЖ» не только сохранило, но и приумножило свои традиционные компетенции в сфере профилактики и борьбы с опасными болезнями человека и животных (разработка методов и средств борьбы), одновременно надежно выполняя функции ведущего информационно-аналитического центра, необходимого для успешного государственного управления животноводством и рынком продукции животного происхождения на основе научно обоснованных рекомендаций, новых научных фактов, точного и надежного прогноза развития эпизоотической ситуации и немедленного реагирования на каждый случай возникновения заболеваний.

Институт стал главной базой и отраслевым флагманом в разработке и повсеместном использовании современных биотехнологий и электронных информационных систем, которые позволили объединить и систематизировать колоссальный объем данных о происхождении и перемещении любой поднадзорной животноводческой продукции в стране.

На этой основе выстроена уникальная система регионализации территории страны по болезням животных, которая позволяет в режиме реального времени

регулировать товарные потоки, в том числе через государственную границу, с учетом постоянно обновляемых при участии сотрудников института сведений об эпизоотической обстановке, изменениях ветеринарного законодательства, ведомственных инструкций и правовых ветеринарных норм.

Именно с развитием информационных систем и непрерывным получением объективной доказательной базы об эпизоотическом состоянии животноводческой отрасли и безопасности продукции животного происхождения удалось совершить прорыв в деле приобретения международных статусов благополучия по ряду опасных болезней, а главное – убедить в ходе многочисленных инспекций ведущих мировых импортеров в безопасности российской животноводческой продукции, что уже в 2023 г., по оценкам Национальной мясной ассоциации, позволило довести ее экспорт до 2 млрд долларов США.

Знание и умение работать в информационных системах Россельхознадзора являются обязательными элементами организации производственного процесса и контроля для участвующих в цепочке производства и сбыта животноводческой продукции предприятий, позволяющими существенно уменьшить нагрузку на добросовестный бизнес. Важно подчеркнуть, что благодаря скоординированной работе Россельхознадзора и его научных подразделений, унификации и стандартизации методик отбора и обработки проб, усовершенствованию лабораторного оборудования,

государственной аккредитации и международной системе сличительных испытаний достигается приемлемый уровень риска, укрепляется доверие к системе обеспечения безопасности в стране, снижаются риски введения в оборот фальсифицированной продукции по мошенническим схемам.

Несмотря на еще сохраняющиеся риски возникновения отдельных очагов АЧС, гриппа птиц, ряда других заболеваний, в целом эпизоотическая ситуация в стране остается контролируемой. Свидетельством тому является увеличение производства и потребления животноводческой продукции, стабильный уровень государственной поддержки аграрного сектора, а главное – продолжающийся рост частных инвестиций в молочное и мясное скотоводство, свиноводство, птицеводство, промышленную переработку, хранение и ретейл. Развиваются процессы переработки и утилизации отходов животноводства, что, в свою очередь, благоприятно сказывается на безопасности производства.

Люди, и потребители, и производители, доверяют службе и ее научному звену, это главный результат отметившего свой 65-летний юбилей ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Доклад был представлен на международной научно-практической конференции «Ветеринария в продовольственной и биологической безопасности», посвященной 65-летию ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, 7–8 декабря 2023 г.).



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-11-19>

УДК 619:616.98:578.835.2:616-036.22:578.5:616-076

Молекулярная эпизоотология ящура (обзор)

А. В. Щербаков

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьево, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Молекулярно-эпизоотологические исследования являются важным инструментом регионального и глобального надзора за ящуром. Эти исследования базируются на постоянно прогрессирующих технологиях секвенирования нуклеиновых кислот и филогенетического анализа. Применение данных технологий позволило оценить генетическое разнообразие возбудителя ящура, изучить эволюцию вируса в регионах, энзоотичных по заболеванию, и отслеживать пути распространения эпизоотий и панзоотий ящура. Молекулярно-эпизоотологические исследования показали, что в пределах давно известных семи серотипов вируса ящура существуют многочисленные топотипы (географические типы), генетические линии и сублинии. Обычно вирус ящура того или иного топотипа и генетической линии эволюционирует в пределах определенного ареала, периодически вызывая региональные эпизоотии. Однако за последние 30 лет случились две панзоотии ящура, охватившие несколько континентов. Первая панзоотия произошла в конце 1990-х – начале 2000-х гг. и была обусловлена вирусом ящура O/ME-SA/PanAsia, а вторая, вызванная вирусом O/ME-SA/Ind-2001, началась в 2013 г. и продолжается до настоящего времени. Возникновение панзоотий ящура, вероятно, является следствием глобализации мировой экономики. В России ящур не энзоотичен, однако периодически регистрируются спорадические вспышки этой болезни. Молекулярно-эпизоотологические исследования показали, что эти вспышки вызваны заносом инфекции из соседних азиатских стран, главным образом из Китая. Вирус ящура, проникавший на территорию Российской Федерации из других стран, характеризуется большим генетическим разнообразием и относится к трем серотипам, пяти топотипам и восьми генетическим линиям: O/Cathay, O/ME-SA/PanAsia, O/SEA/Mya-98, O/ME-SA/Ind-2001, O/ME-SA/unnamed, A/Asia/Iran-05, A/Asia/Sea-97, Asia1/V. Результаты молекулярно-эпизоотологических исследований учитываются при выборе вакцинных штаммов для профилактической вакцинации скота в зонах с высоким риском заноса ящура. Обзор составлен на основе анализа 68 источников.

Ключевые слова: обзор, вирус ящура, филогенетический анализ

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

Для цитирования: Щербаков А. В. Молекулярная эпизоотология ящура (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 11–19. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-11-19>

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Щербаков Алексей Владимирович, канд. биол. наук, заведующий референтной лабораторией по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьево, г. Владимир, 600901, Россия, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease (review)

Aleksey V. Scherbakov

Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Molecular epidemiological studies are an important tool for regional and global surveillance of foot-and-mouth disease (FMD). These tests are based on constantly progressing technologies of nucleic acid sequencing and phylogenetic analysis. The use of these technologies made it possible to assess the genetic diversity of the FMD virus, to analyze the evolution of the virus in the enzootic regions, and track the pathways of FMD epizootic and panzootic spread. Molecular epidemiological studies have shown that within the long-known seven serotypes of the FMD virus, there are numerous topotypes (geographical types), genetic lineages and sublineages. Usually, the foot-and-mouth disease virus of a certain topotype and genetic lineage evolves within a certain area, periodically causing regional epizootics. However, over the past 30 years, two FMD panzootics have occurred, involving several continents. The first panzootic occurred in the late 1990s – early 2000s and was caused by O/ME-SA/PanAsia FMDV, and the second, caused by O/ME-SA/Ind-2001 virus, began in 2013 and continues to the present. The emergence of FMD panzootics is probably a consequence of the economic globalization. FMD is not enzootic in Russia, but sporadic outbreaks of this disease are periodically reported. Molecular epidemiological studies have shown that these outbreaks are caused by the infection introduction from neighboring Asian countries, mainly from China. The FMD virus, which has come to the Russian Federation from other countries, is characterized by great genetic diversity and belongs to three serotypes, five topotypes and eight genetic lineages: O/Cathay, O/ME-SA/PanAsia, O/SEA/Mya-98, O/ME-SA/Ind-2001, O/ME-SA/unnamed, A/Asia/Iran-05, A/Asia/Sea-97, Asia1/V. The results of molecular epidemiological studies are taken into account when vaccine strains are to be selected for preventive vaccination of livestock in FMD high-risk areas. The review is based on the analysis of 68 literature sources.

Keywords: review, foot-and-mouth disease virus, phylogenetic analysis

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic “Veterinary Welfare”.

© Щербаков А. В., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

For citation: Scherbakov A. V. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease (review). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 11–19. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-11-19>

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

For correspondence: Aleksey V. Scherbakov, Cand. Sci. (Biology), Head of Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Ящур – высококонтагиозная вирусная болезнь парнокопытных животных, способная вызывать эпизоотии и наносить большой экономический ущерб.

Возбудителем болезни является безоболочечный РНК-содержащий вирус ящура, представитель рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*. Различают семь серотипов вируса: О, А, С, Азия-1, SAT-1, SAT-2 и SAT-3.

В настоящее время болезнь распространена в Африке, Азии и некоторых частях Южной Америки и наносит серьезный экономический ущерб сельскохозяйственному сектору этих регионов. Для стран, свободных от ящура, сохраняется опасность заноса болезни из неблагополучных регионов.

Ящур отличается очень динамичной и сложной эпизоотологией. Вирус ящура быстро эволюционирует, постоянно возникают новые генетические и антигенные варианты вируса, которые могут преодолевать иммунитет вакцинированных животных и вызывать вспышки болезни. Это значительно осложняет борьбу с заболеванием и определяет необходимость постоянного мониторинга разнообразия вируса ящура в природе и своевременной разработки новых вакцинных препаратов, адаптированных к появляющимся линиям вируса.

Глобальный эпизнадзор за ящуром осуществляется сетью референтных лабораторий Всемирной организации здравоохранения животных и Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ВОЖ/ФАО) по ящуру [1], главной задачей которых является отслеживание появления новых вариантов вируса ящура с измененными генетическими и антигенными свойствами, против которых существующие вакцины могут оказаться неэффективными. Важным инструментом надзора является молекулярно-генетический анализ вируса ящура.

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИЗООТОЛОГИИ

Молекулярная эпидемиология/эпизоотология как научное направление возникло на стыке эпидемиологии/эпизоотологии, молекулярной биологии и популяционной генетики и стало мощным инструментом надзора за вирусными болезнями [2].

Исторически первые попытки использования лабораторных методов в эпизоотологических исследованиях ящура были связаны с применением серологических тестов. Несколько позднее стали использоваться такие биохимические методы, как электрофорез в полиакриламидном геле структурных белков вируса ящура и олигонуклеотидное картирование вирусного генома с использованием РНКазы T1 [3, 4, 5, 6]. Однако разре-

шающая способность этих методов была низкой, и они не нашли широкого применения.

Революционным событием в молекулярной эпизоотологии ящура стало применение технологий секвенирования и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей вирусного генома. В 1987 г. E. Beck and K. Strohmaier показали, что секвенирование и сравнительный анализ гена VP1 полевых изолятов вируса ящура, выделенных в очагах болезни, позволяют определять их происхождение [7]. В частности, они установили, что 14 из 18 вспышек ящура в странах Западной Европы в период с 1964 по 1985 г. были обусловлены вакцинными штаммами. В большинстве случаев это было результатом применения противоящурных вакцин, содержащих не полностью инактивированный вирус, еще несколько вспышек могли произойти в результате утечки вируса с предприятий по производству противоящурных вакцин. Немецкие исследователи предложили использовать секвенирование гена VP1 как стандартный инструмент диагностики, поскольку по сравнению с другими методами позволяет наиболее точно устанавливать происхождение и путь эпизоотий и обеспечивает возможность предупреждения последующих вспышек. E. Beck and K. Strohmaier предложили также запретить применение формалин-инактивированных противоящурных вакцин, поскольку они являются основным источником возбудителя ящура в Европе. После реализации этого предложения в Европе не было зарегистрировано ни одного случая поствакцинального ящура.

С конца 1980-х – начала 1990-х гг. анализ нуклеотидных последовательностей стал широко применяться для характеристики полевых изолятов вируса ящура [8–28].

Первоначально для этих целей использовался метод так называемого прямого секвенирования РНК [29]. Он включал такие подготовительные к секвенированию этапы, как наработка вируса ящура в культуре клеток, очистка и концентрирование вируса и вирусной РНК, в связи с чем метод был очень трудоемок и длителен. Кроме того, он позволял определять лишь 130–150 нуклеотидных оснований гена VP1 вируса ящура. С середины 1990-х гг. для наработки генетического материала для секвенирования применяется полимеразная цепная реакция (ПЦР) [30, 31]. Применение ПЦР по-настоящему революционизировало технологию нуклеотидного анализа возбудителя ящура: время исследований сократилось с 1–2 недель до 1–2 дней, стало возможным определение нуклеотидных последовательностей полноразмерного гена VP1 и даже полноразмерного генома вируса. Для секвенирования полного генома вируса ящура E. M. Cottam et al. с помощью ПЦР амплифицировали 24 перекрывающихся

фрагмента вирусного генома [32]. Дальнейший прогресс в полногеномном секвенировании вируса был связан с использованием технологии NGS (next-generation sequencing) [33].

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСА ЯЩУРА

Во Всемирной референтной лаборатории по ящуру (Пирбрайт, Великобритания) и в региональных референтных лабораториях ВОЗЖ/ФАО по ящуру создан внушительный банк нуклеотидных последовательностей гена VP1 полевых изолятов вируса ящура из разных стран. Анализ этой базы данных позволил оценить уровень генетического разнообразия возбудителя, определить картину эволюции вируса в регионах, где он энзоотичен, и отслеживать пути распространения эпизоотий ящура.

Молекулярно-биологические исследования показали, что существует несколько уровней генетического разнообразия вируса ящура: типы, топотипы, генетические линии, сублинии. Деление возбудителя на типы полностью соответствует его распределению на серотипы, то есть на генетическом уровне, так же как и на антигенном, различают семь групп вируса, определяемых как типы: А, О, С, Азия-1, SAT-1, SAT-2 и SAT-3. Типы отличаются друг от друга на 30–50% по первичной структуре гена VP1 [34].

В пределах каждого серотипа A. R. Samuel and N. J. Knowles [35] выявили географические типы, которые они называли топотипами. Уровень нуклеотидных различий гена VP1 между топотипами составляет 15–20%. Очевидно, что топотипы сформировались в результате относительно обособленной эволюции вируса ящура в определенных географических регионах. На рисунке показаны современные экосистемы, или пулы вируса ящура. Деление возбудителя ящура на топотипы в целом соответствует делению ареала вируса на пулы [36].

В пределах типа О различают 11 топотипов: Sa-thay (Китай), SEA (Юго-Восточная Азия), ME-SA (Ближний Восток и Южная Азия), Euro-SA (Европа и Южная

Америка), WA (Западная Африка), EA-1 (Восточная Африка-1), EA-2 (Восточная Африка-2), EA-3 (Восточная Африка-3), EA-4 (Восточная Африка-4) и два исчезнувших топотипа из Индонезии: ISA-1 и ISA-2 [37, 38, 39].

Вирус ящура типа А дифференцируют на 3 топотипа: Euro-SA (Европа и Южная Америка), Asia (Азия) и Africa (Африка). В пределах каждого из этих трех топотипов выявлено очень большое генетическое разнообразие вируса.

Существование в пределах серотипов А и О единых топотипов для Европы и Южной Америки объясняется тем, что ящур этих двух типов был занесен в 19-м веке на Американский континент из Европы.

Вирус ящура типа Азия-1 значительно менее разнообразен на генетическом уровне, чем другие серотипы. Все известные изоляты типа Азия-1 формируют единственный топотип Asia. Knowles N. J. and Samuel A. R. объясняют относительно низкое генетическое разнообразие вируса ящура типа Азия-1 более поздним происхождением этого типа либо же тем, что вирус типа Азия-1 прошел естественный отбор, в результате которого в природе циркулирует только один топотип этого вируса [34].

Вирус ящура серотипа С не выявляется с 2004 г. и в настоящее время считается исчезнувшим. Ранее считалось, что вирус этого типа, подобно серотипам А и О, был завезен в Южную Америку из Европы. Однако результаты молекулярно-биологических исследований позволили британским исследователям из Института Пирбрайта сделать предположение, что вирус серотипа С впервые возник в Южной Америке, дивергировав от вируса типа А, приблизительно в 1870 г. [40]. Позднее из Южной Америки этот серотип попал в Европу, а из Европы распространился в Африку и Азию. Именно возникновением в Южной Америке исследователи объясняют низкую приспособленность серотипа С к экологическим условиям других континентов, которая не позволила ему широко распространиться и укорениться в Старом Свете.

Типы SAT-1, SAT-2 и SAT-3 классифицируют на 13 (с I по XIII), 14 (с I по XIV) и 5 (с I по V) топотипов соответственно [37, 38, 39].

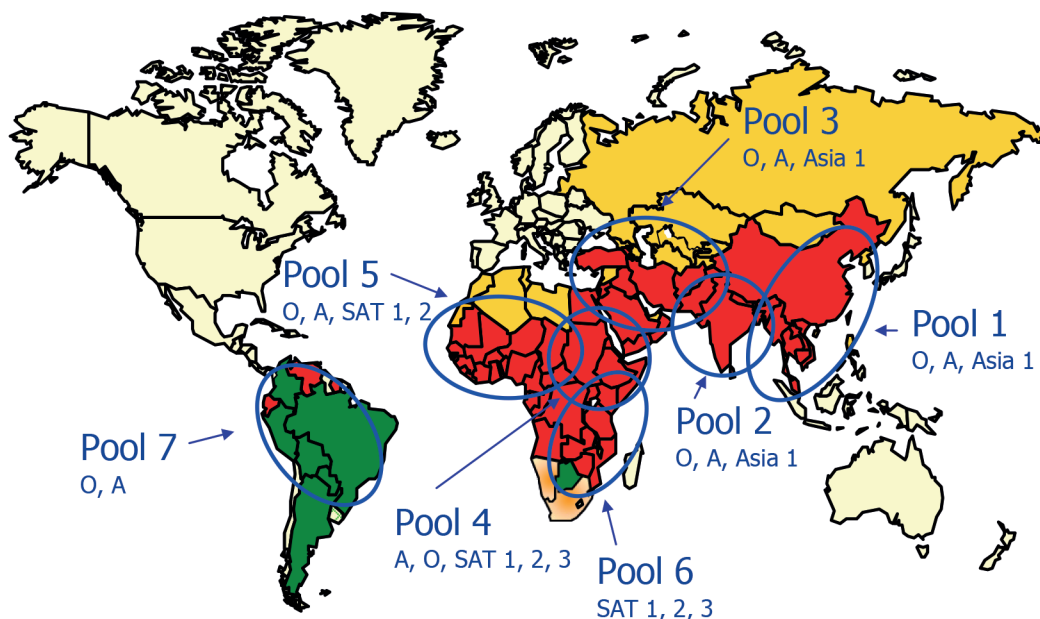


Рис. Экосистемы (пулы) вируса ящура [1]

Fig. FMDV pools [1]

Открытие топотипов возбудителя и ареалов их обитания легло в основу современной стратегии глобальной борьбы с ящуром, которая предполагает объединение неблагополучных по заболеванию стран в семь региональных альянсов (по количеству пулов вируса ящура) и координацию на региональном уровне выполнения национальных дорожных карт по прогрессивному контролю за ящуром [41].

Возбудитель ящура в пределах каждого топотипа непрерывно эволюционирует, что приводит к появлению новых генетических линий вируса, которые вытесняют ранее существовавшие линии. Некоторые генетические линии после появления довольно быстро исчезают, другие же способны циркулировать в своих пулах длительное время. Дивергенция вируса в пределах таких «долгоживущих» генетических линий приводит к возникновению сублиний. Например, к 2021 г. в пределах генетической линии вируса ящура А/Иран-05 различали 17 сублиний, а для линии О/PanAsia-2 – 8 сублиний [42].

Было установлено, что генетические линии вируса ящура эволюционируют с очень похожей скоростью, оцениваемой в среднем в $1,3 \times 10^{-2}$ нуклеотидных замен/сайт/год (минимальный и максимальный диапазон $1,1 \times 10^{-2} - 1,4 \times 10^{-2}$). Данные результаты указывают на то, что изменения вируса ящура происходят по строгим молекулярным механизмам, и это в значительной степени неизменно среди различных серотипов [42].

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПАНЗООТИЙ ЯЩУРА

Обычно вирус ящура того или иного топотипа и генетической линии эволюционирует в пределах определенного ареала (пула), периодически вызывая региональные эпизоотии. Однако за последние 30 лет случились две панзоотии ящура, охватившие несколько континентов.

Молекулярно-эпизоотологические исследования позволили детально отследить пути распространения самой масштабной за всю историю наблюдений панзоотии ящура, которая была обусловлена вирусом генетической линии О/ME-SA/PanAsia. Впервые этот вирус был выделен в очагах ящура в северной части Индии в 1990 г. С 1991 по 1997 г. он распространился на другие штаты страны, а в 1998 г. вышел за пределы Индии и вызвал вспышки ящура в Бахрейне, Иране, Иордании, Кувейте, Ливане, Сирии, Саудовской Аравии и Йемене. В 1999 г. продолжилось распространение паназиатского вируса на Ближнем Востоке (вспышки в Израиле, Турции и Объединенных Арабских Эмиратах), а также началось его стремительное продвижение в восточном от Индостана направлении: в мае 1999 г. в Китае были зарегистрированы первые вспышки ящура, вызванные данным вирусом, а уже в июне возбудитель генетической линии О/ME-SA/PanAsia был выявлен в Тайване. В конце 1999 г. паназиатский вирус попал в Мьянму, Таиланд, Вьетнам, Лаос и к апрелю 2000 г. регистрировался во всех странах континентальной Юго-Восточной Азии. В марте 2000 г. паназиатский штамм вызвал вспышки ящура в Южной Корее и Японии, а в апреле – в Монголии и Приморском крае Российской Федерации (РФ). Необходимо отметить, что до этого данные территории Восточной Азии были благополучны по ящуру в течение многих десятилетий [34, 43, 44].

Панзоотия ящура, обусловленная вирусом О/ME-SA/PanAsia, не ограничилась Азией. В сентябре 2000 г. ящур типа О впервые был зарегистрирован в Южно-Африканской Республике. Вспышка имела место неподалеку от порта Дурбан. Предполагают, что заболевшие свиньи питались пищевыми отходами с судна, прибывшего из Азии. В феврале 2001 г. паназиатский штамм вируса ящура был занесен в Великобританию, где вызвал опустошительную эпизоотию. В ходе ее ликвидации было уничтожено 6,5 млн животных, а прямой и косвенный ущерб для страны составил около 8 млрд фунтов стерлингов. Из Великобритании ящур попал в Ирландию, Францию и Нидерланды [45].

Еще одна панзоотия ящура, но несколько меньших масштабов, началась в 2013 г. Она была вызвана вирусом генетической линии О/ME-SA/Ind-2001 и охватила весь Азиатский континент и Северную Африку. Впервые этот вирус был выявлен в Индии в 2001 г. [45]. К 2009 г. он широко распространился на территории Индостана, дивергировав при этом на несколько сублиний: а, b, c, d и e. В 2009 г. вирус О/ME-SA/Ind-2001 впервые вышел за пределы своего первоначального ареала и вызвал вспышку в Иране. Начиная с 2013 г. распространение этого вируса приобрело характер панзоотии: он стал причиной обширных эпизоотий в Северной Африке и на Ближнем Востоке в 2013–2014 гг. [46, 47, 48], в Юго-Восточной Азии в 2015 г. [49] и Восточной Азии в 2016–2017 гг. [50].

Используя нуклеотидные последовательности гена VP1 ($n = 424$) и полного генома ($n = 74$) изолятов вируса ящура О/ME-SA/Ind-2001 из разных стран, K. Bachanek-Bankowska et al. [50] применили филодинамический и филогеографический подходы для детального отслеживания глобального распространения данного вируса. В частности, было показано, что вспышки ящура в странах Ближнего Востока и Северной Африки в 2013–2015 гг. являлись результатом пяти независимых заносов вируса сублинии О/Ind-2001d из Индостана, а вспышки в Саудовской Аравии в 2016 г. – результат двух независимых заносов уже другой сублинии О/Ind-2001e.

Начиная с 2015 г. началось распространение возбудителя генетической линии О/ME-SA/Ind-2001 в восточном от Индостана направлении: из Бангладеш во Вьетнам, а затем в Лаос был занесен вирус сублинии d, а сублиния e через Мьянму была занесена в 2016 г. в Таиланд и Вьетнам. После этого вирус сублинии О/Ind-2001e вызвал эпизоотию ящура в Восточной Азии, охватившую Китай, Южную Корею, Монголию и Забайкальский край РФ.

В декабре 2021 г. вирус О/ME-SA/Ind-2001 вызвал вспышку ящура в Оренбургской области РФ, а в январе 2022 г. – в Республике Казахстан [51].

Таким образом, панзоотия, обусловленная вирусом ящура О/ME-SA/Ind-2001, имела много общего с предыдущей, вызванной вирусом О/ME-SA/PanAsia: обе эти генетические линии зародились на Индийском субконтиненте (Бангладеш, Бутан, Индия и Непал), в обоих случаях распространение болезни происходило сначала в западном направлении (на Центральную и Западную Азию), и только потом возбудители были занесены в Юго-Восточную и Восточную Азию. Оба вируса продемонстрировали способность быстро распространяться в регионах, где энзоотичны другие генетические линии вируса ящура типа О, а также проникать в страны,

в норме свободные от ящура [50]. Возникновение этих панзоотий ящура, вероятно, является следствием глобализации мировой экономики.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ЭПИЗООТИИ ЯЩУРА В ПУЛАХ 1 И 3

Панзоотии ящура, охватывающие всю Азию и тем более несколько континентов, – довольно редкое событие. Большинство эпизоотий ящура не выходят за пределы своего регионального резервуара – пула. Региональные эпизоотии возникают вследствие появления антигенно измененных вариантов вируса ящура, которые способны преодолеть ранее сформировавшийся популяционный иммунитет [52].

На ситуацию по ящуру в РФ оказывают влияние эпизоотии ящура в пулах 1 (Восточная и Юго-Восточная Азия) и 3 (Западная и Центральная Азия).

В Западной и Центральной Азии (пул 3) самые масштабные региональные эпизоотии были обусловлены вирусом генетических линий A/Iran-05, O/PanAsia-2 и Asia1/Sindh-08.

Вирус ящура линии A/Iran-05 впервые был выявлен в Иране в 2003 г. В 2005 г. он широко распространился в этой стране, а затем вызвал эпизоотию, охватившую Турцию, Афганистан, Пакистан, Бахрейн, Саудовскую Аравию, Иорданию, Ирак. Спорадические вспышки ящура, вызванные этим вирусом, регистрировались в Израиле, Ливане, Кувейте. Вирус ящура A/Iran-05 вытеснил с Ближнего Востока ранее циркулировавшие там линии A/Iran-96 и A/Iran-99 и доминирует в этом регионе до настоящего времени. За это время вирус дивергировал на множество сублиний. Некоторые сублинии (например, Iran-05^{BAR-08}) получили широкое распространение, тогда как другие (например, Iran-05^{ARD-07} и Iran-05^{EZM-07}) регистрировались только в одной стране (Турции). Вирус сублинии Iran-05^{BAR-08} был занесен в 2009 г. в Ливию, а в 2010 г. – в Египет [53, 54, 55, 56, 57].

Вирус ящура O/ME-SA/PanAsia-2 является дериватом генетической линии O/ME-SA/PanAsia, получившей распространение в Западной и Центральной Азии в конце 1990-х гг. Как самостоятельная линия O/ME-SA/PanAsia-2 была впервые зарегистрирована в Иране в 2006 г. В 2007 г. вирус этой линии был занесен в Турцию, Афганистан, Пакистан, Саудовскую Аравию, Израиль, а затем и в другие страны Ближнего Востока. В 2011 г. вирус из Турции попал в Болгарию. Вирус ящура O/ME-SA/PanAsia-2 доминирует в пуле 3 с 2007 г. За это время он дивергировал на несколько сублиний, наибольшее распространение из которых получила сублиния PanAsia-2^{SIS-10} [55, 56, 57]. В 2010 г. вирус этой сублинии вышел за пределы Западной Азии и вызвал вспышки ящура в Ливии и Болгарии [56].

Еще одна масштабная региональная эпизоотия ящура в Западной и Центральной Азии была обусловлена вирусом Asia1/Sindh-08. Впервые он был выявлен в 2008 г. в Пакистане, откуда распространился в Афганистан, Иран, Ирак, Бахрейн и Турцию. Вирус Asia1/Sindh-08 вытеснил из пула 3 другие генетические линии типа Азия-1 и доминирует в этом регионе до настоящего времени [55, 56, 57].

В 2021 г. A. Di Nardo et al. [42] реконструировали эволюционную историю и пространственную динамику ящура в Западной и Центральной Азии (пул 3) за последние 20 лет. Обобщив историю генетических линий

A/Iran-05, O/PanAsia-2 и Asia1/Sindh-08, они показали, что для пула 3 ключевую роль играет циркуляция вируса ящура в Пакистане, Иране и Афганистане. Именно в этих странах зарождаются новые варианты (линии) вируса, и эти три страны являются первичным источником ящура для Западной и Центральной Азии. Филогенетические реконструкции выявили три главных особенности трансграничного распространения вируса ящура в пуле 3: 1) непрерывный обмен вирусами между Пакистаном, Афганистаном и Ираном, вероятно, приводит к образованию взаимосвязанных популяций; 2) ключевую роль Ирана как центра распространения вируса на запад и 3) однонаправленную миграцию вируса ящура из Ирана в Турцию. Эта пространственная схема распространения в регионе вируса ящура является общей для всех его серотипов.

В 20-м столетии регион Западной и Центральной Азии (пул 3) оказывал решающее влияние на ситуацию по ящуру в России, однако в 21-м веке главным источником ящура для РФ стал пул 1, включающий Восточную и Юго-Восточную Азию. Это объясняется кардинальным изменением ситуации по ящуру в этом регионе. Большинство стран Восточной Азии на протяжении 20-го столетия оставались относительно благополучными по ящуру: Япония – с 1908 г., Корея – с 1934 г., Дальний Восток РФ – с 1964 г., Монголия – с 1973 г. [43]. В значительной степени это благополучие определялось буферной ролью Китая, который отделял эти страны от Юго-Восточной Азии, где энзоотичен ящур типов О и А. В самом Китае, вероятно, исторически был энзоотичен только вирус ящура O/Cathay. Этот вирус обладает уникальной особенностью – он способен вызывать клиническое заболевание только у свиней [58]. Вероятно, именно отсутствие в Китае возбудителя ящура, способного поражать рогатый скот, обеспечивало благополучие по ящуру Монголии, Кореи, Японии и Дальнего Востока России на протяжении 20-го века [59].

Глобализация и экономическое развитие КНР привели к изменению ситуации. В конце 1990-х гг. в КНР был занесен и получил широкое распространение вирус ящура O/ME-SA/PanAsia, который в 2000 г. с территории Китая попал в Южную Корею, Японию, Монголию и Приморский край РФ.

В 2005–2006 гг. сначала в Китае, а затем в России (Амурская область, Приморский край, Хабаровский край, Читинская область), Монголии и Северной Корее были зарегистрированы многочисленные вспышки ящура типа Азия-1. Вирус, вызвавший эту эпизоотию, всего на 1,11–1,74% отличался по первичной структуре гена VP1 от индийских изолятов 1980–1981 гг. и не имел близких родственников среди современных ему изолятов [60, 61]. Наиболее вероятной причиной, объясняющей чрезвычайно близкое родство изолятов 2005–2006 и 1980–1981 гг., является применение в КНР вакцины на основе индийского штамма [61, 62].

В 2009–2010 гг. Восточную Азию практически одновременно охватили две эпизоотии, вызванные вирусами ящура A/Asia/Sea-97 и O/SEA/Mea-98. Обе эти генетические линии энзоотичны в странах Юго-Восточной Азии. В 2009 г. вирус A/Asia/Sea-97 вышел за пределы своего естественного ареала и вызвал вспышки ящура в шести провинциях Китая, а в январе 2010 г. был занесен в Южную Корею [63]. В 2013 г. с территории КНР этот вирус попал в Забайкальский край и Амурскую

Таблица 1
Характеристика вируса, вызвавшего вспышки ящура в РФ
в период с 1995 по 2021 г.

Table 1
Characteristics of the virus responsible for FMD outbreaks
in the Russian Federation in 1995–2021

Год	Регион	Вирус (тип/топотип/ генетическая линия)
1995	Московская область	O/Cathay
2000	Приморский край	O/ME-SA/PanAsia
2004	Амурская область	O/ME-SA/PanAsia
2005–2006	Амурская область, Приморский край, Хабаровский край, Читинская область	Asia1/V
2010–2011	Забайкальский край	O/SEA/Mya-98
2012	Приморский край	O/ME-SA/PanAsia
2013	Кабардино-Балкария, Карачаево-Черкесия, Краснодарский край; Забайкальский край, Амурская область	A/Asia/Iran-05
		A/Asia/Sea-97
2014	Приморский край; Забайкальский край	O/SEA/Mya-98
		O/ME-SA/PanAsia, A/Asia/Sea-97
2016	Забайкальский край	O/ME-SA/Ind-2001
2017	Республика Башкортостан	O/ME-SA/unnamed
2018	Забайкальский край	O/ME-SA/PanAsia
2019	Приморский край, Хабаровский край; Забайкальский край	O/SEA/Mya-98
		O/ME-SA/Ind-2001
2020	Забайкальский край	O/SEA/Mya-98
2021	Оренбургская область	O/ME-SA/Ind-2001

область РФ, а также в Монголию [64]. Вирус O/SEA/Mea-98 в 2010 г. вызвал еще более масштабную эпизоотию в Восточной Азии: вспышки ящура, обусловленные этим штаммом, были зарегистрированы в Китае, Корее, Японии, Монголии и Забайкальском крае РФ [63, 65].

С 2016 г. в Китае распространился вирус ящура O/ME-SA/Ind-2001, который с территории КНР был занесен в Россию, Монголию и Южную Корею [50].

Таким образом, если еще 25 лет назад в Китае был энзоотичен только вирус ящура O/Cathay, то в настоящее время на территории этой страны циркулирует возбудитель еще четырех генетических линий: O/ME-SA/PanAsia, O/SEA/Mea-98, O/ME-SA/Ind-2001 и A/Asia/Sea-97. Это обуславливает высокий риск заноса ящура из Китая в Россию.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ЯЩУРА В РФ**

В РФ филогенетические исследования вируса ящура проводятся в ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир), который имеет статус Региональной референтной лаборатории ВОЗЖ по ящуру для стран Восточной Европы, Закавказья и Средней Азии и Референтного центра ФАО по ящуру. С 2005 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» участвует в работе сети референтных лабораторий ВОЗЖ/ФАО по ящуру, задача которых – осуществление глобального надзора за ящуром, а именно отслеживание появления новых вариантов вируса ящура с измененными генетическими

и антигенными свойствами, против которых существующие вакцины могут оказаться неэффективными. Выявление генетических линий и вариантов вируса ящура с измененными антигенными свойствами позволяет оперативно разрабатывать против них новые вакцинные препараты. Выполняя свои международные функции, ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводит изучение молекулярно-генетических и антигенных свойств эпизоотических изолятов возбудителя ящура, ответственных за вспышки ящура в РФ, Центральной Азии и Закавказье. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» молекулярно-генетическими методами охарактеризованы эпизоотические изоляты вируса ящура, вызвавшие вспышки болезни в России, странах СНГ и в Монголии в период с 1995 по 2022 г. [51, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68].

Проведенные исследования показали, что вспышки ящура в постсоветской России были вызваны заносом из неблагополучных азиатских стран вируса, принадлежащего к различным серотипам, топотипам и генетическим линиям (табл. 1). Так, из Китая в различные регионы РФ происходил занос вируса ящура O/Cathay, O/ME-SA/PanAsia, O/SEA/Mya-98, O/ME-SA/Ind-2001, Asia1, A/Asia/Sea-97. Вспышки ящура на Северном Кавказе в 2013 г. были вызваны заносом из Закавказья вируса A/Asia/Iran-05, а занос вируса O/ME-SA редкой неклассифицированной группы из Центральной Азии вызвал вспышки ящура в Республике Башкортостан в 2017 г. В 2021 г. на территорию РФ из Казахстана был занесен вирус O/ME-SA/Ind-2001. Таким образом, результаты проведенных в ФГБУ «ВНИИЗЖ» исследований свидетельствуют о большом генетическом разнообразии вируса ящура, попадающего в РФ из других стран.

Филогенетический анализ изолятов вируса, ответственных за вспышки ящура в Закавказье (Армении и Грузии) и Центральной Азии (Казахстане, Киргизии, Таджикистане, Узбекистане), показал, что они относятся к генетическим линиям, в разные периоды доминировавшим в пуле 3: O/ME-SA/Iran-01, A/Asia/Iran-96, O/ME-SA/PanAsia, Asia1/VI, Asia1/II, A/Asia/Iran-05, O/ME-SA/PanAsia-2, Asia1/Sindh-08, A/Asia/G-VII (табл. 2). В 2011–2013 гг. в восточных областях Казахстана регистрировались вспышки ящура, вызванные заносом из Китая вируса генетических линий O/ME-SA/PanAsia и A/Asia/Sea-97. В 2022 г. из Китая в Казахстан был занесен вирус O/ME-SA/Ind-2001.

Вспышки ящура в Монголии были вызваны вирусом, ответственным за эпизоотии ящура в пуле 1: O/ME-SA/PanAsia, O/SEA/Mya-98, A/Asia/Sea-97, O/ME-SA/Ind-2001.

В рамках работы сети референтных лабораторий ВОЗЖ/ФАО по ящуру ФГБУ «ВНИИЗЖ» осуществляет обмен информацией о полевых изолятах вируса ящура, вызвавших вспышки болезни в различных регионах мира. Полученные в ФГБУ «ВНИИЗЖ» нуклеотидные последовательности гена VP1 и полных геномов изолятов возбудителя, ответственных за вспышки болезни в России, странах СНГ и в Монголии, были использованы для отслеживания путей распространения глобальных и региональных эпизоотий, вызванных вирусом O/ME-SA/PanAsia, Asia1/II, Asia1/V, O/SEA/Mya-98, A/Asia/Sea-97, O/ME-SA/Ind-2001 [42, 43, 47, 50, 60, 61].

Результаты молекулярно-эпизоотологических исследований, проводимых в ФГБУ «ВНИИЗЖ», учитываются при выборе вакцинных штаммов для изготовления препаратов для профилактической иммунизации скота в зонах с высоким риском заноса ящура.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тридцатипятилетний опыт молекулярно-эпизоотологических исследований ящура свидетельствует о том, что филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вирусного генома является эффективным инструментом надзора за ящуром как в рамках отдельных стран, так и в глобальном масштабе. Надзор за ящуром, в ходе которого отслеживается появление новых вариантов вируса с измененными генетическими и антигенными свойствами, позволяет оперативно разрабатывать против них новые вакцинные препараты, что значительно повышает эффективность контроля за ящуром.

Использование молекулярно-биологических методов позволило значительно продвинуться в понимании эпизоотологии ящура, что имеет важное значение для разработки наиболее эффективных стратегий борьбы с ним. Открытие топотипов вируса ящура и ареалов их обитания легло в основу современной стратегии глобальной борьбы с заболеванием, которая предполагает объединение неблагополучных по ящурю стран в семь региональных альянсов (по количеству пулов вируса) и координацию на региональном уровне выполнения национальных дорожных карт по прогрессивному контролю за ящуром.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease. <https://www.foot-and-mouth.org>

2. Klein J. Understanding the molecular epidemiology of foot-and-mouth-disease virus. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009; 9 (2): 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.11.005>

3. Domingo E., Dávila M., Ortín J. Nucleotide sequence heterogeneity of the RNA from a natural population of foot-and-mouth-disease virus. *Gene*. 1980; 11 (3–4): 333–346. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(80\)90073-6](https://doi.org/10.1016/0378-1119(80)90073-6)

4. King A. M. Q., Underwood B. O., McCahon D., Newman J. W. I., Brown F. Biochemical identification of viruses causing the 1981 outbreaks of foot and mouth disease in the UK. *Nature*. 1981; 293: 479–480. <https://doi.org/10.1038/293479a0>

5. Anderson E. C., Underwood B. O., Brown F., Ngichabe C. K. Variation in foot-and-mouth disease virus isolates in Kenya: An examination of field isolates by T1 oligonucleotide fingerprinting. *Veterinary Microbiology*. 1985; 10 (5): 409–423. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(85\)90023-9](https://doi.org/10.1016/0378-1135(85)90023-9)

6. Knowles N. J., Hedger R. S. A study of antigenic variants of foot-and-mouth disease virus by polyacrylamide gel electrophoresis of their structural polypeptides. *Veterinary Microbiology*. 1985; 10 (4): 347–357. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(85\)90005-7](https://doi.org/10.1016/0378-1135(85)90005-7)

7. Beck E., Strohmaier K. Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *Journal of Virology*. 1987; 61 (5): 1621–1629. <https://doi.org/10.1128/JVI.61.5.1621-1629.1987>

8. Dopazo J., Sobrino F., Palma E. L., Domingo E., Moya A. Gene encoding capsid protein VP1 of foot-and-mouth disease virus: a quasispecies model of molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1988; 85 (18): 6811–6815. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.18.6811>

9. Knowles N. J., Marquardt O., Samuel A. R. Antigenic and molecular characterization of virus isolates from recent outbreaks of foot-and-mouth disease in the Federal Republic of Germany. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Prague, Czechoslovakia, 20–23 September 1988)*. Rome: FAO; 1988; Appendix 24: 149–155. <https://www.fao.org/3/ca9409en/ca9409en.pdf>

10. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular and antigenic analysis of foot-and-mouth disease type C viruses isolated from outbreaks in Italy during 1988 and 1989. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Lindholm, Denmark, 25–29 June 1990)*. Rome: FAO; 1990; Appendix 22: 122–128. <https://www.fao.org/3/ca9410en/ca9410en.pdf>

11. Martinez M. A., Carrillo C., Plana J., Mascardía R., Bergada J., Palma E. L., et al. Genetic and immunogenic variations among closely related isolates of foot-and-mouth disease virus. *Gene*. 1988; 62 (1): 75–84. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90581-1](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90581-1)

Таблица 2
Характеристика вируса, вызвавшего вспышки ящура в странах СНГ и в Монголии в период с 1996 по 2022 г.

Table 2
Characteristics of the virus responsible for FMD outbreaks in the CIS countries and Mongolia in 1996–2022

Год	Страна	Вирус (тип/топотип/ генетическая линия)
1996	Армения	O/ME-SA/Iran-01
1997	Грузия	O/ME-SA/Iran-01
1998	Армения	A/Asia/Iran-96
1999	Грузия	A/Asia/Iran-96
2000	Армения, Грузия	Азия-1, O/ME-SA/PanAsia
2000–2002	Монголия	O/ME-SA/PanAsia
2001	Грузия	Asia1/VI
2001	Киргизия, Таджикистан	O/ME-SA/PanAsia
2003	Таджикистан, Узбекистан	Asia1/II
2004	Киргизия, Таджикистан	Asia1/II
2004	Монголия	O/SEA/Mya-98
2005	Монголия	Asia1/V
2006	Армения	A/Asia/Iran-05
2007	Киргизия	A/Asia/Iran-05
2007	Казахстан, Киргизия, Нагорный Карабах	O/ME-SA/PanAsia-2
2008	Таджикистан	O/ME-SA/PanAsia-2
2010	Таджикистан	A/Asia/Iran-05
2010	Казахстан	O/ME-SA/PanAsia-2
2010	Монголия	O/SEA/Mya-98
2011	Казахстан, Киргизия, Таджикистан, Южная Осетия	O/ME-SA/PanAsia-2
2011	Киргизия	A/Asia/Iran-05
2011	Таджикистан	Asia1/Sindh-08
2011	Казахстан	O/ME-SA/PanAsia
2012	Казахстан	O/ME-SA/PanAsia
2013	Казахстан, Монголия	A/Asia/Sea-97
2014	Таджикистан	O/ME-SA/PanAsia-2
2014	Монголия	O/ME-SA/PanAsia
2015	Таджикистан	O/ME-SA/PanAsia-2
2015	Монголия	O/SEA/Mya-98, O/PanAsia
2016	Армения	A/Asia/G-VII
2016	Таджикистан	O/ME-SA
2016	Монголия	A/Asia/Sea-97
2017–2018	Монголия	O/PanAsia, O/Ind-2001
2021	Монголия	O/ME-SA/Ind-2001
2022	Казахстан	O/ME-SA/Ind-2001

12. Martinez M. A., Dopazo J., Hernández J., Mateu M. G., Sobrino F., Domingo E., Knowles N. J. Evolution of the capsid protein genes of foot-and-mouth disease virus: antigenic variation without accumulation of amino acid substitutions over six decades. *Journal of Virology*. 1992; 66 (6): 3557–3565. <https://doi.org/10.1128/JVI.66.6.3557-3565.1992>
13. Marquardt O., Adam K. H. Sequences of capsid protein VP1 of two type A foot-and-mouth disease viruses. *Virus Genes*. 1989; 2 (3): 283–291. <https://doi.org/10.1007/BF00125344>
14. Marquardt O., Adam K. H. Foot-and-mouth disease virus subtyping by sequencing VP1 genes. *Veterinary Microbiology*. 1990; 23 (1–4): 175–183. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(90\)90147-n](https://doi.org/10.1016/0378-1135(90)90147-n)
15. Marquardt O., Krebs O. Outbreaks of foot-and-mouth disease near Hannover in 1987 and 1989: evidence for two strains of virus. *Tierärztliche Umschau*. 1992; 47 (3): 137–140.
16. Piccone M. E., Kaplan G., Giavedoni L., Domingo E., Palma E. L. VP1 of serotype C foot-and-mouth disease viruses: long-term conservation of sequences. *Journal of Virology*. 1988; 62 (4): 1469–1473. <https://doi.org/10.1128/JVI.62.4.1469-1473.1988>
17. Sobrino F., Martinez M. A., Carrillo C., Beck E. Antigenic variation of foot-and-mouth disease virus of serotype C during propagation in the field is mainly restricted to only one structural protein (VP1). *Virus Research*. 1989; 14 (4): 273–280. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(89\)90021-x](https://doi.org/10.1016/0168-1702(89)90021-x)
18. Carrillo C., Dopazo J., Moya A., Gonzalez M., Martinez M. A., Saiz J. C., Sobrino F. Comparison of vaccine strains and the virus causing the 1986 foot-and-mouth disease outbreak in Spain: epizootiological analysis. *Virus Research*. 1990; 15 (1): 45–55. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(90\)90012-z](https://doi.org/10.1016/0168-1702(90)90012-z)
19. Samuel A. R., Knowles N. J., Kitching R. P. Preliminary molecular analysis of foot-and-mouth disease virus type O in the Middle East. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Lindholm, Denmark, 25–29 June 1990)*. Rome: FAO; 1990; Appendix 24: 133–138. <https://www.fao.org/3/ca9410en/ca9410en.pdf>
20. Samuel A. R., Ansell D. M., Rendle R. T., Armstrong R. M., Davidson F. L., Knowles N. J., Kitching R. P. Field and laboratory analysis of an outbreak of foot and mouth disease in Bulgaria in 1991. *Revue Scientifique et Technique*. 1993; 12 (3): 839–848. <https://doi.org/10.20506/rst.12.3.718>
21. Krebs O., Berger H. G., Marquardt O. The capsid protein-encoding sequence of foot-and-mouth disease virus O_{Brescia}. *Archives of Virology*. 1991; 120 (1–2): 135–143. <https://doi.org/10.1007/BF01310956>
22. Armstrong R. M., Samuel A. R., Knowles N. J., Ulutürk S. Genetic studies on FMD viruses isolated from samples collected in Turkey. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Mittelhausern, Switzerland, 8–11 September 1992)*. Rome: FAO; 1992; Appendix 11: 64–69. <https://www.fao.org/3/ca9412en/ca9412en.pdf>
23. Armstrong R. M., Samuel A. R., Carpenter W. C., Kant R., Knowles N. J. A comparative study of serological and biochemical methods for strain differentiation of foot-and-mouth disease type A viruses. *Veterinary Microbiology*. 1994; 39 (3–4): 285–298. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90165-1](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90165-1)
24. Vosloo W., Knowles N. J., Thomson G. R. Genetic relationships between southern African SAT-2 isolates of foot-and-mouth-disease virus. *Epidemiology and Infection*. 1992; 109 (3): 547–558. <https://doi.org/10.1017/s0950268800050536>
25. Saiz J. C., Sobrino F., Dopazo J. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus type O. *Journal of General Virology*. 1993; 74 (10): 2281–2285. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-10-2281>
26. Ansell D. M., Samuel A. R., Carpenter W. C., Knowles N. J. Genetic relationships between foot-and-mouth disease type Asia 1 viruses. *Epidemiology and Infection*. 1994; 112 (1): 213–224. <https://doi.org/10.1017/s0950268800057587>
27. Woodbury E. L., Samuel A. R., Knowles N. J., Hafez S. M., Kitching R. P. Analysis of mixed foot-and-mouth disease virus infections in Saudi Arabia: prolonged circulation of an exotic serotype. *Epidemiology and Infection*. 1994; 112 (1): 201–211. <https://doi.org/10.1017/s0950268800057575>
28. Stram Y., Chai D., Fawzy H. E.-D., Molad T., Meiri N., Van-Ham M., et al. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease (FMD) in Israel in 1994 and in other Middle-Eastern countries in the years 1992–1994. *Archives of Virology*. 1995; 140 (10): 1791–1797. <https://doi.org/10.1007/BF01384342>
29. Knowles N. J. A method for direct nucleotide sequencing of foot-and-mouth disease virus RNA for epidemiological studies. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Lindholm, Denmark, 25–29 June 1990)*. Rome: FAO; 1990; Appendix 19: 106–112. <https://www.fao.org/3/ca9410en/ca9410en.pdf>
30. Drygin V. V., Gusev A. A., Perevozchikova N. A., Scherbakov A. V. Amplification and sequencing of genomic segments of foot-and-mouth disease virus (FMDV) using polymerase chain reaction (PCR). *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease held jointly with the FMD Sub-group of the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Community (Vienna, Austria, 19–22 September, 1994)*. Rome: FAO; 1994; Appendix 7: 40–44. <https://www.fao.org/3/ca9413en/ca9413en.pdf>
31. Knowles N. J., Samuel A. R. Polymerase chain reaction amplification and cycle sequencing of the 1D (VP1) gene of foot-and-mouth disease viruses. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease held jointly with the FMD Sub-group of the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Community (Vienna, Austria, 19–22 September, 1994)*. Rome: FAO; 1995; Appendix 8: 45–53. <https://www.fao.org/3/ca9413en/ca9413en.pdf>
32. Cottam E. M., Wadsworth J., Shaw A. E., Rowlands R. J., Goatley L., Maan S., et al. Transmission pathways of foot-and-mouth disease virus in the United Kingdom in 2007. *PLoS Pathogens*. 2008; 4 (4): e1000050. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000050>
33. Logan G., Freimanis G. L., King D. J., Valdazo-Gonzalez B., Bachanek-Bankowska K., Sanderson N. D., et al. A universal protocol to generate consensus level genome sequences for foot-and-mouth disease virus and other positive-sense polyadenylated RNA viruses using the Illumina MiSeq. *BMC Genomics*. 2014; 15 (1): 828. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-828>
34. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Research*. 2003; 91 (1): 65–80. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(02\)00260-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00260-5)
35. Samuel A. R., Knowles N. J. Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes). *Journal of General Virology*. 2001; 82 (3): 609–621. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-3-609>
36. Sumption K., Domenech J., Ferrari G. Progressive control of FMD on a global scale. *Veterinary Record*. 2012; 170 (25): 637–639. <https://doi.org/10.1136/vr.e4180>
37. Knowles N. J., Wadsworth J., Hammond J. M., King D. P. Foot-and-mouth disease virus genotype definitions and nomenclature. *Report of the Open Session of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EuFMD) (Vienna, Austria, 29 September – 1 October 2010)*. Rome: FAO; 2010; Appendix 43: 172–174. <https://www.fao.org/3/bs516e/bs516e.pdf>
38. Knowles N. J., Wadsworth J., Bachanek-Bankowska K., King D. P. VP1 sequencing protocol for foot and mouth disease virus molecular epidemiology. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*. 2016; 35 (3): 741–755. <https://doi.org/10.20506/rst.35.3.2565>
39. World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease. FMD prototype strains. <https://www.wrlfmd.org/fmdv-genome/fmd-prototype-strains#panel-3401>
40. Paton D. J., Di Nardo A., Knowles N. J., Wadsworth J., Pituco E. M., Cosivi O., et al. The history of foot-and-mouth disease virus serotype C: the first known extinct serotype? *Virus Evolution*. 2021; 7 (1): veab009. <https://doi.org/10.1093/ve/veab009>
41. OIE/FAO. The global foot and mouth disease control strategy: Strengthening animal health systems through improved control of major diseases. 2012. <http://www.fao.org/3/an390e/an390e.pdf>
42. Di Nardo A., Ferretti L., Wadsworth J., Mioulet V., Gelman B., Karnieli S., et al. Evolutionary and ecological drivers shape the emergence and extinction of foot-and-mouth disease virus lineages. *Molecular Biology and Evolution*. 2021; 38 (10): 4346–4361. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab172>
43. Knowles N. J., Samuel A. R., Davies P. R., Kitching R. P., Venkataraman R., Kanno T., et al. Emergence of a pandemic strain of foot-and-mouth disease virus serotype O. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Borovets, Bulgaria, 5–8 September 2000)*. Rome: FAO; 2000; Appendix 1: 20–31. <https://www.fao.org/3/ca9419en/ca9419en.pdf>
44. Knowles N. J., Samuel A. R., Davies P. R., Midgley R. J., Valarcher J.-F. Pandemic strain of foot-and-mouth disease virus serotype O. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11 (12): 1887–1893. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050908>
45. Hemadri D., Tosh C., Sanyal A., Venkataraman R. Emergence of a new strain of type O foot-and-mouth disease virus: its phylogenetic and evolutionary relationship with the PanAsia pandemic strain. *Virus Genes*. 2002; 25 (1): 23–34. <https://doi.org/10.1023/a:1020165923805>
46. Knowles N. J., Bachanek-Bankowska K., Wadsworth J., Mioulet V., Valdazo-González B., Eldaghayes I. M., et al. Outbreaks of foot-and-mouth disease in Libya and Saudi Arabia during 2013 due to an exotic O/ME-SA/Ind-2001 lineage virus. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2016; 63 (5): e431–e435. <https://doi.org/10.1111/tbed.12299>

47. Valdazo-Gonzalez B., Knowles N. J., King D. P. Genome sequences of foot-and-mouth disease virus O/ME-SA/Ind-2001 lineage from outbreaks in Libya, Saudi Arabia, and Bhutan during 2013. *Genome Announcements*. 2014; 2 (2):e00242-14. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00242-14>
48. Bachanek-Bankowska K., Wadsworth J., Gray A., Abouchoaib N., King D. P., Knowles N. J. Genome sequence of foot-and-mouth disease virus serotype O isolated from Morocco in 2015. *Genome Announcements*. 2016; 4 (2):e01746-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01746-15>
49. Qiu Y., Abila R., Rodtian P., King D. P., Knowles N. J., Ngo L. T., et al. Emergence of an exotic strain of serotype O foot-and-mouth disease virus O/ME-SA/Ind-2001d in South-East Asia in 2015. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (1): e104–e112. <https://doi.org/10.1111/tbed.12687>
50. Bachanek-Bankowska K., Di Nardo A., Wadsworth J., Mioulet V., Pezzoni G., Grazioli S., et al. Reconstructing the evolutionary history of pandemic foot-and-mouth disease viruses: the impact of recombination within the emerging O/ME-SA/Ind-2001 lineage. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1):14693. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32693-8>
51. Nikiforov V., Shcherbakov A., Chvala I., Kremenchugskaya S., Korennoy F., Mayorova T., et al. Insights into the molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus in Russia, Kazakhstan, and Mongolia in terms of O/ME-SA/Ind-2001e sublineage expansion. *Viruses*. 2023; 15 (3):598. <https://doi.org/10.3390/v15030598>
52. Sumpston K., Pinto J., Lubroth J., Morzaria S., Murray T., De La Rocque S., Njeumi F. Foot-and-mouth disease: situation worldwide and major epidemiological events in 2005–2006. *FAO EMPRES. Focus on: Bulletin*. 2007; 1: 1–11. <https://www.fao.org/3/ai339e/ai339e.pdf>
53. Klein J., Hussain M., Ahmad M., Normann P., Afzal M., Alexander-Sen S. Genetic characterization of the recent foot-and-mouth disease virus subtype A/IRN/2005. *Virology Journal*. 2007; 4 (1):122. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-122>
54. Knowles N. J., Nazem Shirazi M. H., Wadsworth J., Swabey K. G., Stirling J. M., Statham R. J., et al. Recent spread of a new strain (A-Iran-05) of foot-and-mouth disease virus type A in the Middle East. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2009; 56 (5): 157–169. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2009.01074.x>
55. Jamal S. M., Ferrari G., Ahmed S., Normann P., Belsham G. J. Genetic diversity of foot-and-mouth disease virus serotype O in Pakistan and Afghanistan, 1997–2009. *Infection, Genetics and Evolution*. 2011; 11 (6): 1229–1238. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.03.006>
56. Brito B. P., Rodriguez L. L., Hammond J. M., Pinto J., Perez A. M. Review of the global distribution of foot-and-mouth disease virus from 2007 to 2014. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (2): 316–332. <https://doi.org/10.1111/tbed.12373>
57. World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease. Country Reports. <https://www.wrlfmd.org/country-reports>
58. Mason P. W., Grubman M. J., Baxt B. Molecular basis of pathogenesis of FMDV. *Virus Research*. 2003; 91 (1): 9–32. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(02\)00257-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00257-5)
59. Щербаков А. В. Молекулярная эпизоотология ящура в России (филогенетический анализ российских изолятов вируса ящура). *Ветеринария сегодня*. 2015; (3): 30–36. EDN: UMSJWD
- Scherbakov A. V. FMD molecular epizootology in Russia (phylogenetic analysis of Russian FMDV isolates). *Veterinary Science Today*. 2015; (3): 30–36. EDN: UMSJWD (in Russ.)
60. Valarcher J. F., Knowles N. J., Ferris N. P., Paton D. J., Zakharov V., Shcherbakov A., et al. Recent spread of FMD virus serotype Asia 1. *Veterinary Record*. 2005; 157 (1):30. <https://doi.org/10.1136/vr.157.1.30>
61. Valarcher J. F., Knowles N. J., Zakharov V., Scherbakov A., Zhang Z., Shang Y. J., et al. Multiple origins of foot-and-mouth virus serotype Asia 1 outbreaks, 2003–2007. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; 15 (7): 1046–1051. <https://doi.org/10.3201/eid1507.081621>
62. Щербаков А. В., Тимина А. М., Яковлева А. С., Дрыгин В. В., Захаров В. М. Филогенетический анализ российских изолятов вируса ящура. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2006; 4: 12–15. EDN: MEHSNF
- Scherbakov A. V., Timina A. M., Yakovleva A. S., Drygin V. V., Zakharov V. M. Phylogenetic analysis of Russian FMDV isolates. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2006; 4: 12–15. EDN: MEHSNF (in Russ.)
63. Knowles N. J., He J., Shang Y., Wadsworth J., Valdazo-González B., Onosato H., et al. Southeast Asian foot-and-mouth disease viruses in Eastern Asia. *Emerging Infectious Diseases*. 2012; 18 (3): 499–501. <https://doi.org/10.3201/eid1803.110908>
64. Щербаков А. В., Тимина А. М., Зиняков Н. Г. Филогенетический анализ изолятов вируса ящура, вызвавших вспышки болезни в России в 2013 году. *Ветеринария*. 2014; 7: 22–25. EDN: SKOKYX
- Scherbakov A. V., Timina A. M., Zinyakov N. G. Phylogenetic study of foot-and-mouth disease virus isolates responsible for the outbreaks in Russia in 2013. *Veterinariya*. 2014; 7: 22–25. EDN: SKOKYX (in Russ.)
65. Щербаков А. В., Тимина А. М. Филогенетический анализ изолятов вируса ящура, вызвавших вспышки болезни в России и Монголии в 2010 г. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2011; 9: 5–11. EDN: OHSKVJ
- Scherbakov A. V., Timina A. M. Phylogenetic analysis of FMD virus isolates, which induced the disease outbreaks in Russia and Mongolia in 2010. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2011; 9: 5–11. EDN: OHSKVJ (in Russ.)
66. Щербаков А. В., Андреев В. Г., Дрыгин В. В., Гусев А. А. Молекулярная эпизоотология ящура в России и странах СНГ. *Аграрная Россия*. 2002; 2: 8–11. <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2002-2-8-11>
- Shcherbakov A. V., Andreev V. G., Drygin V. V., Gusev A. A. Molecular epizootology of foot-and-mouth diseases. *Agrarian Russia*. 2002; 2: 8–11. <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2002-2-8-11> (in Russ.)
67. Лозовой Д. А., Щербаков А. В., Захаров В. М., Фомина С. Н. Филогенетическая характеристика изолятов вируса ящура типа О, выделенных в Российской Федерации. *Ветеринария*. 2018; 5: 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2018.21.5.03-08>
- Lozovoy D. A., Scherbakov A. V., Zakharov V. M., Fomina S. N. Phylogenetic characteristics of the isolates of the virus type O, taken in Russian Federation. *Veterinariya*. 2018; 5: 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2018.21.5.03-08> (in Russ.)
68. Scherbakov A., Timina A., Borisov V. Phylogenetic study of FMDV isolates collected in Russia, CIS-countries and Mongolia in 2000–2007. *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Eric, Italy, 14–17 October 2008)*. Rome: FAO; 2008; Appendix 9: 69–72. <https://www.fao.org/3/k4881e/k4881e.pdf>

Поступила в редакцию / Received 26.08.2023

Поступила после рецензирования / Revised 01.09.2023

Принята к публикации / Accepted 22.09.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Щербаков Алексей Владимирович, канд. биол. наук, заведующий референтной лабораторией по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8326-4201>, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

Aleksey V. Scherbakov, Cand. Sci. (Biology), Head of Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8326-4201>, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

Вклад автора: концепция обзора, проведение поисково-аналитической работы, составление таблиц для визуализации данных, подготовка и написание статьи.

Contribution: review concept, exploration and analysis, tabulation for data visualization, article draft preparation and writing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-20-26>
УДК 619:616.98:578.832.1:636.22/.28(048)



Вирус гриппа D у крупного рогатого скота (обзор)

С. В. Котенева, А. Г. Глов, Т. И. Глотова, А. В. Нефедченко

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСИДВ СФНЦА РАН), р. п. Краснообск, 630501, Новосибирская область, Россия

РЕЗЮМЕ

Вирус гриппа D впервые был обнаружен и идентифицирован в 2011 г. Его аминокислотная последовательность примерно на 50% идентична аминокислотной последовательности вируса гриппа С, что предполагает наличие общего предка у обоих патогенов. Основным резервуаром вируса гриппа D – крупный рогатый скот. Установлено участие данного возбудителя в комплексе респираторных болезней крупного рогатого скота. Вирус вызывает у телят заболевание легкой и умеренной степени тяжести и реплицируется как в верхних, так и в нижних отделах дыхательных путей, способствуя возникновению бронхопневмонии. Возбудитель гриппа D передается контактным и воздушно-капельным путем на короткие расстояния, имеет высокую частоту передачи и может усиливать действие других патогенов. На сегодняшний день вакцин или специфического лечения не существует. Агент способен размножаться и передаваться при прямом контакте в организме хорьков и морских свинок, являющихся суррогатными моделями для изучения человеческого гриппа, а также в культурах высокодифференцированных эпителиальных клеток дыхательных путей человека hAEC. В настоящее время определены пять генетических групп вируса гриппа D, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота и свиней во всем мире, что может способствовать генетической рекомбинации между различными штаммами. Возбудитель обладает зоонозным потенциалом и, если произойдет резкое изменение его патогенности для человека, может явиться серьезной проблемой для общественного здравоохранения. Сообщалось о высоком уровне серопозитивности к вирусу среди персонала животноводческих ферм в США и Италии. В доступной литературе нет данных о циркуляции возбудителя гриппа D на территории Российской Федерации. Необходимы исследования, направленные на изучение этого нового вируса, а также проведение мониторинга распространения и циркуляции патогена в нашей стране для понимания его роли в комплексе респираторных заболеваний крупного рогатого скота и зоонозного потенциала.

Ключевые слова: обзор, вирус гриппа D, крупный рогатый скот, комплекс респираторных заболеваний, генетические линии, зоонозный потенциал

Благодарности: Исследование выполнено за счет бюджетных средств в рамках выполнения государственного задания № 0533-2021-0018 (СФНЦА РАН).

Для цитирования: Котенева С. В., Глов А. Г., Глотова Т. И., Нефедченко А. В. Вирус гриппа D у крупного рогатого скота (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 20–26. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-20-26>

Конфликт интересов: Глов А. Г. является членом редколлегии журнала «Ветеринария сегодня» с 2020 г., но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Рукопись прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Глотова Татьяна Ивановна, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр ИЭВСИДВ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, 630501, Новосибирский район, Новосибирская обл., Россия, e-mail: t-glotova@mail.ru

Influenza D virus in cattle (review)

Svetlana V. Koteneva, Alexander G. Glotov, Tatyana I. Glotova, Alexey V. Nefedchenko

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, Russian Academy of Sciences, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, Krasnoobsk 630501, Novosibirsk Oblast, Russia

ABSTRACT

The influenza D virus was first detected and identified in 2011. The overall amino acid sequence of influenza D virus shares approximately 50% identity with that of influenza C virus, suggesting that both viruses had a common ancestor. Cattle is considered to be the primary natural reservoir for influenza D virus. The involvement of this virus into the bovine respiratory disease complex has been confirmed. The virus causes mild to moderate disease in calves and replicates in both the upper and lower respiratory tracts, promoting bronchopneumonia. The influenza D virus can be transmitted by contact or aerosol over short distances, has a high transmission rate and can potentiate the effects of other respiratory pathogens. There are currently no vaccines or specific treatment for influenza D virus. This virus can replicate and be transmitted by direct contact in ferrets and guinea pigs, which are surrogate models of human influenza infection, as well as in well-differentiated human airway epithelial cells (hAECs). Currently five distinctive lineages of influenza D virus have been identified, co-circulating in worldwide bovine and pig populations that may facilitate genetic re-assortment between different viral strains. The virus has a zoonotic potential, and if its pathogenicity for humans changes, its importance for public health will be great. Very high seropositivity rates among persons working with cattle in the USA and Italy have been reported. There is no data in the available literature on the circulation of the influenza D virus in the Russian Federation. Research is needed to study this new virus, as well as monitoring of the virus spread and circulation in our country to understand its role in bovine respiratory disease complex and its zoonotic potential.

Keywords: review, influenza D virus, cattle, respiratory disease complex, genetic lineages, zoonotic potential

Acknowledgements: The study was funded from the budget as part of the fulfillment of state task No. 0533-2021-0018 (Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, Russian Academy of Sciences).

For citation: Koteneva S. V., Glotov A. G., Glotova T. I., Nefedchenko A. V. Influenza D virus in cattle (review). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 20–26. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-20-26>

Conflict of interests: Glotov A. G. is a member of the editorial board of the “Veterinary Science Today” journal since 2020, but was not involved into the decision making process related to this article publication. The manuscript has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interests.

For correspondence: Tatyana I. Glotova, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Biotechnologies – Diagnostic Center, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk 630501, Novosibirsky District, Novosibirsk Oblast, Russia, e-mail: t-glotova@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Комплекс респираторных болезней крупного рогатого скота является одним из наиболее экономически значимых многофакторных заболеваний, поражающих преимущественно молодняк крупного рогатого скота (КРС) во всем мире. Патогенами, наиболее часто вызывающими респираторные патологии, являются вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи – болезни слизистых оболочек, респираторно-синцитиальной инфекции, парагриппа-3, коронавирусной инфекции КРС, бактерии *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Histophilus somni* (*H. somni*) [1, 2, 3, 4].

Крупный рогатый скот считался невосприимчивым к вирусам гриппа до открытия вируса гриппа D (Influenza D virus, IDV). Этот вид был идентифицирован как новый этиологический агент комплекса респираторных заболеваний КРС [3]. Интерес к IDV растет, что подчеркивает необходимость изучения глобального воздействия, которое может иметь этот новый вирус, поражающий в основном КРС, хотя существует широкий спектр других видов, которые могут выступать в качестве хозяев.

Возбудители гриппа – РНК-содержащие вирусы, относящиеся к семейству *Orthomyxoviridae*, в котором выделяют четыре монотипных рода, классифицирующиеся на основе антигенных различий между их нуклеопротеиновыми (NP) и матриксными (M) белками: *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus* и *Deltainfluenzavirus*, каждый из которых имеет по одному виду – Influenza A virus (IAV), Influenza B virus (IBV), Influenza C virus (ICV) и Influenza D virus (IDV). Известно, что вирусы гриппа A, B и C вызывают респираторные заболевания у человека [5].

В отличие от других типов вируса гриппа, поражающих широкий спектр млекопитающих и птиц и вызывающих эпидемии и пандемии, резервуаром возбудителя гриппа D служит КРС, однако не исключена его циркуляция среди других видов млекопитающих [3, 6, 7, 8, 9].

Впервые IDV выделили в 2011 г. от больной свиньи с тяжелыми респираторными симптомами в штате Оклахома (США), примерно на 50% он был идентичен человеческому ICV, поэтому сначала его считали новым подтипом этого вируса [10]. Впоследствии были установлены генетические, антигенные и биологические различия [11]. В августе 2016 г. Международный

комитет по таксономии вирусов (ICTV) классифицировал этот вирус как вид *Influenza D virus* нового рода *Deltainfluenzavirus* семейства *Orthomyxoviridae*. Дальнейшие исследования показали, что основным резервуаром IDV является КРС [11, 12]. Специфические антитела к вирусу были также обнаружены у лошадей, мелких жвачных животных, диких свиней, буйволов, верблюдов и людей, особенно у тех, кто контактировал с КРС [10, 13, 14, 15, 16], что не исключает широкого спектра хозяев и распространение от КРС к человеку или другим видам животных.

В данном обзоре представлена информация о последних достижениях в изучении IDV, распространенности вируса и его роли в комплексе респираторных заболеваний КРС.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ГРИППА D

Вирус гриппа D – оболочечный вирус с сегментированным геномом, состоящим из одноцепочечной отрицательно заряженной РНК, разделенной на семь фрагментов. У IDV, также как и у ICV, отсутствует нейраминидаза. Вирионы имеют диаметр 80–120 нанометров [17]. Сегментированный геном IDV кодирует девять белков [18]. Три самых меньших сегмента содержат полимеразы PB2, PB1 и P3, которые необходимы для репликации и синтеза вирусной мРНК. Четвертый сегмент кодирует гликопротеин слияния гемагглютинин-эстеразу (hemagglutinin-esterase-fusion, HEF), который способствует проникновению вируса в клетки, а также является основной мишенью для вируснейтрализующих антител. Более широкий клеточный тропизм вируса гриппа D по сравнению с вирусом гриппа C обусловлен наличием у белка HEF IDV рецепторсвязывающего кармана, что позволяет связываться с различными молекулами клеточной поверхности [19, 20]. Пятый сегмент кодирует нуклеопротеин (NP), который образует вирусный рибонуклеопротеиновый комплекс [19]. Шестой сегмент кодирует матриксные белки M1 и M2, выстилающие вирусную мембрану изнутри и формирующие ионные каналы [21]. Седьмой сегмент содержит неструктурные белки NS1 и NS2, которые участвуют в нейтрализации клеточного иммунного ответа, активированного интерфероном, и опосредуют ядерный экспорт рибонуклеопротеина [22].

Вирусы гриппа выработали различные стратегии продуцирования вирусных белков для максимального

использования потенциала кодирования генома. Сплайсинг был продемонстрирован в сегментах NS и/или M вирусов гриппа. Все типы вирусов гриппа обладают сходным механизмом генерации белков NS1 и NS2. Однако каждый тип вирусов использует уникальную стратегию для продуцирования белков M1 и/или M2. При этом IDV демонстрирует новую стратегию при продуцировании белка M1 в сравнении с ICV. Он использует стратегию протеолитического расщепления, аналогичную стратегии ICV, для получения белка M2 из белка P42, в то время как в отличие от сегмента ICVM, генерирующего белок M1 посредством сплайсинга, который вводит только терминирующий кодон, сплайсинг сегмента IDVM продуцирует дополнительный 4-аминокислотный пептид в предыдущий экзон [11].

Исследования J. Yu et al. показали, что IDV обладает устойчивостью к высоким температурам и кислотности среды благодаря роли белка HEF и считается наиболее стабильным из четырех вирусов гриппа [17]. IDV сохраняет инфекционную активность даже после воздействия температуры 53 °C в течение 2 ч. Кроме того, агент теряет только 20% инфекционной активности при pH 3,0 в течение 30 мин, в то время как все остальные типы вирусов гриппа полностью инактивируются. Стабильность HEF при чрезвычайно низком pH подчеркивает новый аспект репликации IDV, который требует дальнейшего изучения [23].

ПАТОГЕНЕЗ

Возбудитель гриппа D обладает тропизмом к эпителию верхних и нижних дыхательных путей и может вызывать легкую или умеренную интерстициальную/бронхоинтерстициальную пневмонию. Вирус также обнаруживали в слизистых оболочках носа, трахеи, бронхолах и тканях легких через 8 дней после заражения телят. Его выявляли в трахеобронхиальных и медиастинальных лимфатических узлах [3]. Наибольшая концентрация вируса наблюдалась в полости носа. Высокие концентрации РНК IDV были также обнаружены в обонятельных луковицах и миндалинах животных, инфицированных аэрозольно, но тропизм IDV к этим тканям не был подтвержден с помощью методов иммуногистохимии и выделения вируса [24].

Salem E. et al. [3], Ferguson L. et al. [18] показали, что IDV вызывает легкое респираторное заболевание у телят в экспериментах с прямым заражением. IDV-инфекция может изменять структурную целостность респираторного эпителия и, как следствие, вызывать значительное повышение количества нейтрофилов в трахее животных [18]. Этот патологический эффект, по-видимому, предполагает этиологическую роль IDV в комплексе респираторных заболеваний КРС. Дальнейшее изучение патогенеза гриппа у телят показало, что инфекция приводит к возникновению умеренной бронхопневмонии с ограниченным поражением интерстиция и значительной активацией рецепторов распознавания патогена и хемокинов CCL2, CCL3 и CCL4 [3]. Сигнальный путь, опосредованный интерфероном I типа, практически не активировался в клетках нижних дыхательных путей телят, инфицированных IDV [25].

Выявление генома IDV в образцах сыворотки крови тяжелобольного КРС позволило предположить, что вирус способен вызывать временную виремию и распространяться на другие органы. IDV был обнаружен

с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в фекалиях на 5-й день и в тонкой кишке на 6-й день после заражения, что соответствует времени максимальной репликации вирусной РНК в дыхательных путях. Yu J. et al. предположили, что IDV может размножаться в кишечном тракте аналогично IAV и IBV. Этот возможный энтеральный тропизм IDV может быть связан с его высокой кислотоустойчивостью [17]. Высокая термическая и кислотная стабильность вируса означает, что IDV обладает большим потенциалом резистентности, объясняющим высокую эффективность его передачи [3].

Рядом исследователей продемонстрировано, что экспериментальная инфекция гриппа D у морских свинок и хорьков протекает бессимптомно [10, 26]. У морских свинок вирус был обнаружен как в верхних, так и в нижних дыхательных путях. В легких наблюдались обширные макроскопические изменения в альвеолярном пространстве с инфильтрацией клетками воспалительного происхождения, периваскулярным сужением и разрушением бронхиолярного эпителия с экссудацией [26]. У животных регистрировали также апоптоз эпителиальных клеток легких. У хорьков IDV реплицировался в клетках носовых раковин и в легких не выявлялся [10]. Инфицированные мыши также не имели клинических признаков болезни. Репликация IDV у мышей наблюдалась главным образом в верхних дыхательных путях, реже – в нижних. Вирус в низких титрах был обнаружен в кишечнике животных [27]. У инфицированных мышей наблюдалось значительное увеличение количества нейтрофилов и лимфоцитов в тканях легких [28]. Репликация IDV у мышей приводила к активации провоспалительных генов, включая гамма-интерферон (IFN- γ) и хемокин CCL2 [27].

Таким образом, по результатам экспериментальных заражений КРС можно сделать вывод, что IDV является возбудителем легких и умеренных форм респираторных заболеваний КРС и действует как кофактор в патогенезе комплекса респираторных болезней КРС.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ IDV В МИРЕ

Вирус гриппа D широко распространен среди КРС в Северной и Южной Америке [14, 18, 29, 30, 31, 32], Европе [33, 34, 35, 36, 37], Азии [38, 39, 40] и Африке [41, 42].

Исследования образцов сыворотки крови показали, что IDV присутствовал в стадах КРС в США (Миссисипи и Небраска) еще в 2003 г. [12, 29]. При проведении в США общенационального серологического обследования на грипп D установили, что общий уровень серопозитивности КРС в 2014–2015 гг. составил 77,5%, при этом показатели распространенности варьировали от 47,7 до 84,6% по разным регионам. Положительные пробы сыворотки крови выявили в 41 из 42 обследованных штатов [30]. Два исследования, проведенных с использованием метагеномного секвенирования образцов мазков из носовой полости КРС, собранных на откормочных площадках в США, Канаде и Мексике, показали связь IDV с респираторными болезнями [43, 44]. В Северной Америке антитела к IDV были выявлены также у овец и коз в 5,2 и 8,8% образцов сыворотки крови соответственно [13]. Лошади также оказались носителями IDV – 15,7% ($n = 364$) проб сыворотки крови содержали специфические антитела к вирусу [15]. Исследование по оценке серопревалентности к IDV диких

свиней показало, что 57 из 256 (19,1%) животных были IDV-серопозитивными, что указывает на то, что дикие свиньи могут играть определенную роль в экологии IDV [14].

В 85 (73%) из 116 обследованных ферм в Аргентине было обнаружено хотя бы одно положительное животное, при этом из 165 образцов сыворотки крови быков 112 (68%) оказались серопозитивными к IDV [31]. Во время вспышки респираторного заболевания КРС в Бразилии выявляли РНК IDV [32].

Вирус гриппа D широко распространен в странах Европы, включая Францию, Италию, Люксембург, Ирландию и Великобританию.

Во Франции в 2015 г. геном IDV был обнаружен методом ПЦР в 6 (4,5%) пробах биоматериала (легкие, мазок из носа), отобранного от здоровых и клинически больных телят. В четырех из шести образцов, положительных на IDV, установили коинфицирование такими патогенами, как *P. multocida*, *M. haemolytica*, *H. somni*, а также вирусами РСИ КРС и/или ИРТ КРС. В двух других пробах тестируемые агенты, кроме IDV, выявлены не были [33]. При исследовании сыворотки крови КРС ($n = 3326$), собранной с 2014 по 2018 г. в пяти регионах Франции, общая серопозитивность животных составила 47,2%, при этом результаты варьировали в зависимости от географического региона (31,0–70,0%) [34].

В Италии в 2014–2016 гг. в мазках из носа и в образцах тканей легких, отобранных от КРС с признаками респираторных болезней, геном IDV выявили в 8,0% случаев, а в пробах от клинически здоровых животных – в 3,4% случаев. Из 48 IDV-положительных образцов, полученных от КРС при вспышках респираторных заболеваний, в 62,5% случаев IDV был единственным вирусным агентом, что подтверждает гипотезу о том, что IDV может играть основную роль в возникновении комплекса респираторных инфекций. В остальных 37,5% образцов IDV обнаруживали вместе с другими респираторными патогенами, но в большинстве случаев с коронавирусом КРС. РНК IDV чаще выявляли в мазках из носа (9,4%), чем в тканях легких (3,4%), что подтверждает вывод, сделанный по результатам воспроизведения на лабораторных моделях экспериментальной IDV-инфекции, о том, что верхние дыхательные пути являются предпочтительным местом для репликации этого вируса. Серологические исследования, проведенные в Италии в 2015 г., показали высокую распространенность IDV (92,4%) на молочных фермах [2]. В Люксембурге серопозитивность обследованных в 2012–2016 гг. животных составила 80,2% [35]. В Ирландии в период с 2014 по 2016 г. методом ОТ-ПЦР исследовали 320 проб носовых выделений животных. В результате РНК вируса выявили в 18 образцах (5,6%), полученных с 10 ферм (11,9%) [36].

В Великобритании IDV обнаружили в 8,7% проб биоматериала от телят с признаками респираторных инфекций. Возбудитель гриппа во всех случаях выявляли в сочетании с бактериальными агентами и в некоторых – в составе вирусно-бактериальных ассоциаций. Вирусная РНК присутствовала как в верхних, так и в нижних дыхательных путях, а патологические изменения в тканях легких наблюдали наряду с признаками сопутствующих бактериальных инфекций. При секвенировании одного изолята из Великобритании установили его сходство со штаммами из Ирландии и Италии [37].

Первые сообщения о выявлении IDV в Китае появились в 2014 г., где геном вируса был обнаружен в 0,7% проб, отобранных от клинически здорового КРС [38]. Предположительно, IDV циркулирует среди азиатского КРС с 2011 г. В 2016–2017 гг. установили, что IDV широко распространен среди КРС, буйволов, свиней, овец и коз на юге Китая [39].

В Японии вирус был выявлен у КРС в 2016 г., при этом он обладал высокой контагиозностью [25]. Ретроспективный анализ проб сыворотки крови, собранной в 2009–2018 гг., показал, что серопозитивность животных в среднем составляла 57%. Доказана циркуляция вируса японской линии в стране с 2010 г. [40]. Первое сообщение о регистрации заражения КРС IDV в Турции было опубликовано в 2020 г. [45].

Bailey E. S. et al. [46] сообщали о выявлении генома IDV в образцах биоаэрозолей, отобранных на птицефабриках в Юго-Восточной Азии. Частичное секвенирование М-сегмента генома показало, что IDV, обнаруженный в птицеводческих хозяйствах, отличается от штаммов вируса, циркулирующих среди КРС в Северной Америке. Отсутствие информации о последовательности полного генома, особенно последовательности HEF, не позволило установить, к какой генетической линии принадлежит выявленный IDV. Для выяснения наличия IDV-инфекции у домашней птицы требуются дальнейшие исследования по изучению восприимчивости данного вида к заражению.

В Африке циркуляция вируса среди КРС установлена с 2012 г. Антитела к вирусу выявлены у КРС и мелких жвачных животных в Марокко, Того, Кот-д'Ивуаре, Бенине и Кении. Высокий уровень серопозитивности (99,0%) был обнаружен у верблюдов-дромадеров в Кении, что указывает на то, что этот вид животных может быть новым хозяином IDV [41]. Эти результаты были подтверждены другим серологическим исследованием, проведенным в Эфиопии, где также наблюдалась высокая серопозитивность верблюдов-дромадеров к IDV [42]. Инфекция среди молодняка КРС в африканских странах распространена в меньшей степени, по-видимому, это связано с менее интенсивным типом ведения животноводства.

Способность IDV вызывать заболевание у людей в настоящее время недостаточно изучена, и неясно, может ли этот возбудитель передаваться от человека к человеку. Передача и репликация вируса при прямом контакте у хорьков и морских свинок, которые используются при моделировании человеческого гриппа, может косвенно свидетельствовать об этом [10, 26]. Holwerda M. et al. доказали, что IDV эффективно реплицируется *in vitro* в суррогатной модели респираторного эпителия при температурах окружающей среды, соответствующих температуре верхних и нижних дыхательных путей человека. Также авторы продемонстрировали, что вирус способен размножаться в культурах высокодифференцированных эпителиальных клеток дыхательных путей человека (hAEC) при 33 и 37 °C [47].

Проведенное в США ретроспективное исследование сывороток крови, собранных во время вспышек сезонного гриппа в 2007–2009 гг., показало наличие специфических антител к IDV у людей в 1,3% проб [10]. В связи с этим считается, что IDV может представлять потенциальную угрозу для персонала, непосредственно контактирующего с КРС. Так, высокий уровень серопозитивности к IDV у работников ферм установлен

в США (91%) [48] и Италии (46%) [16]. Выявление антител к IDV у людей означает, что вирус может инфицировать человека и стать проблемой для общественного здравоохранения.

Геном IDV был обнаружен с помощью ОТ-ПЦР в образце смыва из полости носа у рабочего свинофермы в Малайзии [49]. В ходе другого исследования, проведенного в США, генетический материал IDV выявили в пробах биоаэрозолей, собранных в отделении неотложной помощи больницы в Северной Каролине [50] и международном аэропорту Роли-Дарем [51]. Эти результаты показывают, что IDV обладает зоонозным потенциалом. В целом у людей к этому новому вирусу гриппа иммунитет отсутствует.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ IDV

С 2011 г. в США, Франции, Италии, Ирландии, Японии и Китае были секвенированы полные геномы более 50 штаммов IDV, выделенных от КРС, и 5 штаммов от свиней. Согласно последним исследованиям, вирусы гриппа D можно разделить на пять генетических групп (линий) на основе гена HEF [52]:

- 1) D/OK – обнаружен в Европе (Франция, Италия и Ирландия), Америке (США и Мексика) и Азии (Китай);
- 2) D/660 – обнаружен в Европе (Италия) и Америке (США и Мексика);
- 3) D/Yama2016 – обнаружен в Азии (Япония);
- 4) D/Yama2019 – обнаружен в Азии (Япония и Китай);
- 5) D/CA2019 – обнаружен в Америке (США).

Вирусы, относящиеся к линиям D/OK и D/660 и совместно циркулирующие в настоящее время в популяциях КРС США и Европы, способны к рекомбинации и проявляют перекрестную реактивность, что может привести к образованию новых антигенных вариантов, которые смогут преодолеть ранее существовавший коллективный иммунитет и представлять дальнейшую угрозу здоровью сельскохозяйственных животных [17]. Китайские штаммы вируса гриппа D, принадлежащие к группе D/OK, отличаются от штаммов этой же генетической линии из США и Италии и подразделяются в каждой стране на сублинии. Штаммы линии D/OK, выделенные от свиней и КРС в США и Италии, сгруппированы в один кластер, что говорит о более широком распространении данной генетической линии в мире и передаче возбудителя между этими видами животных. Результаты молекулярно-генетического анализа изолятов IDV линии D/OK, выделенных от молочных коров, свиней и коз в китайской провинции Гуандун, показали очень низкое генетическое разнообразие. Штаммы линии D/660 из Франции и США отличались друг от друга в большей степени, чем штаммы внутри каждой страны, это позволяет предположить, что эта линия также разделилась на сублинии в разных странах. Интересно, что изоляты линий D/Yama2016 и D/Yama2019 до недавнего времени выявлялись только в Японии, при этом они имеют низкий уровень гомологии с вирусами линий D/OK и D/660, циркулирующими в других странах. Но в 2022 г. IDV, идентичный вирусу генетической линии D/Yama2019, был обнаружен в Китае. Недавно во время вспышки респираторного заболевания КРС в Южной Америке зарегистрирован первый случай выявления IDV и установлено, что циркулирующий в бразильских стадах вирус филогенетически отличается от известных IDV из Северной Америки, Европы и Азии [32]. Кроме того, сообщалось о появлении новой генетической ли-

нии вируса в Турции (D/Bursa2013) [53] и нового реассортанта в Намибии [54]. Эти результаты подчеркивают необходимость проведения мониторинга распространения IDV для лучшего понимания эпизоотологии и эволюции вируса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных показывает глобальное распространение IDV среди животных во всем мире. Крупный рогатый скот – основной резервуар вируса – играет значимую роль в распространении возбудителя. Вирус гриппа D является важным кофактором в развитии комплекса респираторных заболеваний КРС, так как способен самостоятельно вызывать респираторную патологию легкой и средней степени тяжести с высокой скоростью передачи и может усиливать эффекты других респираторных патогенов за счет синергетического эффекта. Увеличивающееся число вспышек IDV-инфекции у свиней и КРС в последнее время может быть связано не только с возрастающим вниманием к этому новому патогену, но и с повышением вирулентности возбудителя. IDV обладает потенциалом преодоления межвидового барьера и адаптации к человеку и, если произойдет резкое изменение патогенности вируса для человека, может стать серьезной проблемой здравоохранения.

Особенностью IDV является относительная стабильность в сравнении с остальными типами вируса гриппа, поэтому его эволюция идет медленно. В настоящее время средств специфической профилактики или методов лечения гриппа D не существует.

В России исследования по распространению IDV на территории страны и изучению его роли в комплексе респираторных заболеваний КРС не проводились. Международная торговля скотом влечет за собой риски завоза вируса на территорию нашей страны, что при отсутствии контроля будет способствовать распространению новой инфекции среди животных и представлять потенциальную угрозу здоровью людей. Поэтому изучение циркуляции IDV в разных регионах Российской Федерации представляет большой интерес в отношении благополучия животных и человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Grissett G. P., White B. J., Larson R. L. Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015; 29 (3): 770–780. <https://doi.org/10.1111/jvim.12597>
2. Rosignoli C., Faccini S., Merenda M., Chiapponi C., De Mattia A., Bufalo G., et al. Influenza D virus infection in cattle in Italy. *Large Animal Review*. 2017; 23 (4): 123–128.
3. Salem E., Häggglund S., Cassard H., Corre T., Näslund K., Foret C., et al. Pathogenesis, host innate immune response, and aerosol transmission of influenza D virus in cattle. *Journal of Virology*. 2019; 93 (7): e01853-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01853-18>
4. Zhang X., Outlaw C., Olivier A. K., Woolums A., Epperson W., Wan X.-F. Pathogenesis of co-infections of influenza D virus and *Mannheimia haemolytica* in cattle. *Veterinary Microbiology*. 2019; 231: 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.03.027>
5. Nogales A., Aydillo T., Ávila-Pérez G., Escalera A., Chiem K., Cadagan R., et al. Functional characterization and direct comparison of influenza A, B, C, and D NS1 proteins *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10:2862. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02862>
6. Medina R. A., García-Sastre A. Influenza A viruses: new research developments. *Nature Reviews Microbiology*. 2011; 9: 590–603. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2613>
7. De Graaf M., Fouchier R. A. M. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. *The EMBO Journal*. 2014; 33 (8): 823–841. <https://doi.org/10.1002/embj.201387442>

8. Tan J., Asthagiri Arunkumar G., Krammer F. Universal influenza virus vaccines and therapeutics: where do we stand with influenza B virus? *Current Opinion in Immunology*. 2018; 53: 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.04.002>
9. Wang M., Veit M. Hemagglutinin-esterase-fusion (HEF) protein of influenza C virus. *Protein & Cell*. 2016; 7 (1): 28–45. <https://doi.org/10.1007/s13238-015-0193-x>
10. Hause B. M., Ducatez M., Collin E. A., Ran Z., Liu R., Sheng Z., et al. Isolation of a novel swine influenza virus from Oklahoma in 2011 which is distantly related to human influenza C viruses. *PLoS Pathogens*. 2013; 9 (2): e1003176. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003176>
11. Hause B. M., Collin E. A., Liu R., Huang B., Sheng Z., Lu W., et al. Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine: proposal for a new genus in the *Orthomyxoviridae* family. *mBio*. 2014; 5 (2): e00031–14. <https://doi.org/10.1128/mBio.00031-14>
12. Ferguson L., Eckard L., Epperson W. B., Long L.-P., Smith D., Huston C., et al. Influenza D virus infection in Mississippi beef cattle. *Virology*. 2015; 486: 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.08.030>
13. Quast M., Sreenivasan C., Sexton G., Nedland H., Singrey A., Fawcett L., et al. Serological evidence for the presence of influenza D virus in small ruminants. *Veterinary Microbiology*. 2015; 180 (3–4): 281–285. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.09.005>
14. Ferguson L., Luo K., Olivier A. K., Cunningham F. L., Blackmon S., Hanson-Dorr K., et al. Influenza D virus infection in feral swine populations, United States. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24 (6): 1020–1028. <https://doi.org/10.3201/eid2406.172102>
15. Nedland H., Wollman J., Sreenivasan C., Quast M., Singrey A., Fawcett L., et al. Serological evidence for the co-circulation of two lineages of influenza D viruses in equine populations of the Midwest United States. *Zoonoses and Public Health*. 2018; 65 (1): e148–e154. <https://doi.org/10.1111/zph.12423>
16. Trombetta C. M., Marchi S., Manini I., Kistner O., Li F., Piu P., et al. Influenza D virus: serological evidence in the Italian population from 2005 to 2017. *Viruses*. 2020; 12 (1): 30. <https://doi.org/10.3390/v12010030>
17. Yu J., Li F., Wang D. The first decade of research advances in influenza D virus. *Journal of General Virology*. 2021; 102 (1): 001529. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001529>
18. Ferguson L., Olivier A. K., Genova S., Epperson W. B., Smith D. R., Schneider L., et al. Pathogenesis of influenza D virus in cattle. *Journal of Virology*. 2016; 90 (12): 5636–5642. <https://doi.org/10.1128/JVI.03122-15>
19. Asha K., Kumar B. Emerging influenza D virus threat: what we know so far! *Journal of Clinical Medicine*. 2019; 8 (2): 192. <https://doi.org/10.3390/jcm8020192>
20. Song H., Qi J., Khedri Z., Diaz S., Yu H., Chen X., et al. An open receptor-binding cavity of hemagglutinin-esterase-fusion glycoprotein from newly-identified influenza D virus: basis for its broad cell tropism. *PLoS Pathogens*. 2016; 12 (1): e1005411. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005411>
21. Kumar B., Asha K., Khanna M., Ronsard L., Meseko C. A., Sanicas M. The emerging influenza virus threat: status and new prospects for its therapy and control. *Archives of Virology*. 2018; 163 (4): 831–844. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3708-y>
22. Paterson D., Fodor E. Emerging roles for the influenza A virus nuclear export protein (NEP). *PLoS Pathogens*. 2012; 8 (12): e1003019. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003019>
23. Yu J., Hika B., Liu R., Sheng Z., Hause B. M., Li F., et al. The hemagglutinin-esterase fusion glycoprotein is a primary determinant of the exceptional thermal and acid stability of influenza D virus. *mSphere*. 2017; 2 (4): e00254-17. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00254-17>
24. Robinson E., Schulein C., Jacobson B. T., Jones K., Sago J., Huber V., et al. Pathophysiology of influenza D virus infection in specific-pathogen-free lambs with or without prior *Mycoplasma ovipneumoniae* exposure. *Viruses*. 2022; 14 (7): 1422. <https://doi.org/10.3390/v14071422>
25. Murakami S., Endoh M., Kobayashi T., Takenaka-Uema A., Chambers J. K., Uchida K., et al. Influenza D virus infection in herd of cattle, Japan. *Emerging Infectious Diseases*. 2016; 22 (8): 1517–1519. <https://doi.org/10.3201/eid2208.160362>
26. Sreenivasan C., Thomas M., Sheng Z., Hause B. M., Collin E. A., Knudsen D. E. B., et al. Replication and transmission of the novel bovine influenza D virus in a guinea pig model. *Journal of Virology*. 2015; 89 (23): 11990–12001. <https://doi.org/10.1128/JVI.01630-15>
27. Oliva J., Mettier J., Sedano L., Delverdiere M., Bourges-Abella N., Hause B., et al. Murine model for the study of influenza D virus. *Journal of Virology*. 2020; 94 (4): e01662-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01662-19>
28. Skelton R. M., Shephardson K. M., Hatton A., Wilson P. T., Sreenivasan C., Yu J., et al. Contribution of host immune responses against influenza D virus infection toward secondary bacterial infection in a mouse model. *Viruses*. 2019; 11 (11): 994. <https://doi.org/10.3390/v11110994>
29. Luo J., Ferguson L., Smith D. R., Woolums A. R., Epperson W. B., Wan X.-F. Serological evidence for high prevalence of influenza D viruses in cattle, Nebraska, United States, 2003–2004. *Virology*. 2017; 501: 88–91. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.11.004>
30. Silveira S., Falkenberg S. M., Kaplan B. S., Crossley B., Ridpath J. F., Bauermann F., et al. Serosurvey for influenza D virus exposure in cattle, United States, 2014–2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2019; 25 (11): 2074–2080. <https://doi.org/10.3201/eid2511.190253>
31. Alvarez I. J., Fort M., Pasucci J., Moreno F., Gimenez H., Näslund K., et al. Seroprevalence of influenza D virus in bulls in Argentina. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020; 32 (4): 585–588. <https://doi.org/10.1177/1040638720934056>
32. Da Silva M. S., Mosena A. C. S., Baumbach L., Demoline M., Gualarte J. S., Pavarini S. P., et al. Cattle influenza D virus in Brazil is divergent from established lineages. *Archives of Virology*. 2022; 167 (4): 1181–1184. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05416-8>
33. Ducatez M. F., Pelletier C., Meyer G. Influenza D virus in cattle, France, 2011–2014. *Emerging Infectious Diseases*. 2015; 21 (2): 368–371. <https://doi.org/10.3201/eid2102.141449>
34. Oliva J., Eichenbaum A., Belin J., Gaudino M., Guillotin J., Alzieu J.-P., et al. Serological evidence of influenza D virus circulation among cattle and small ruminants in France. *Viruses*. 2019; 11 (6): 516. <https://doi.org/10.3390/v11060516>
35. Snoeck C. J., Oliva J., Pauly M., Losch S., Wildschutz F., Muller C. P., et al. Influenza D virus circulation in cattle and swine, Luxembourg, 2012–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24 (7): 1388–1389. <https://doi.org/10.3201/eid2407.171937>
36. Flynn O., Gallagher C., Mooney J., Irvine C., Ducatez M., Hause B., et al. Influenza D virus in cattle, Ireland. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24 (2): 389–391. <https://doi.org/10.3201/eid2402.170759>
37. Dane H., Duffy C., Guelbenzu M., Hause B., Fee S., Forster F., et al. Detection of influenza D virus in bovine respiratory disease samples, UK. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2019; 66 (5): 2184–2187. <https://doi.org/10.1111/tbed.13273>
38. Jiang W.-M., Wang S.-C., Peng C., Yu J.-M., Zhuang Q.-Y., Hou G.-Y., et al. Identification of a potential novel type of influenza virus in bovine in China. *Virus Genes*. 2014; 49 (3): 493–496. <https://doi.org/10.1007/s11262-014-1107-3>
39. Zhai S.-L., Zhang H., Chen S.-N., Zhou X., Lin T., Liu R., et al. Influenza D virus in animal species in Guangdong Province, southern China. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23 (8): 1392–1396. <https://doi.org/10.3201/eid2308.170059>
40. Hayakawa J., Masuko T., Takehana T., Suzuki T. Genetic and antigenic characterization and retrospective surveillance of bovine influenza D viruses identified in Hokkaido, Japan from 2018 to 2020. *Viruses*. 2020; 12 (8): 877. <https://doi.org/10.3390/v12080877>
41. Salem E., Cook E. A. J., Lbacha H. A., Oliva J., Awoume F., Aplogan G. L., et al. Serologic evidence for influenza C and D virus among ruminants and camelids, Africa, 1991–2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23 (9): 1556–1559. <https://doi.org/10.3201/eid2309.170342>
42. Murakami S., Odagiri T., Melaku S. K., Bazartseren B., Ishida H., Takenaka-Uema A., et al. Influenza D virus infection in dromedary camels, Ethiopia. *Emerging Infectious Diseases*. 2019; 25 (6): 1224–1226. <https://doi.org/10.3201/eid2506.181158>
43. Mitra N., Cernicchiaro N., Torres S., Li F., Hause B. M. Metagenomic characterization of the virome associated with bovine respiratory disease in feedlot cattle identified novel viruses and suggests an etiologic role for influenza D virus. *Journal of General Virology*. 2016; 97 (8): 1771–1784. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000492>
44. Zhang M., Hill J. E., Fernando C., Alexander T. W., Timsit E., van der Meer F., Huang Y. Respiratory viruses identified in western Canadian beef cattle by metagenomic sequencing and their association with bovine respiratory disease. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2019; 66 (3): 1379–1386. <https://doi.org/10.1111/tbed.13172>
45. Yilmaz A., Umar S., Turan N., Aydin O., Tali H. E., Oguzoglu T. C., et al. First report of influenza D virus infection in Turkish cattle with respiratory disease. *Research in Veterinary Science*. 2020; 130: 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.02.017>
46. Bailey E. S., Fieldhouse J. K., Alarja N. A., Chen D. D., Kovalik M. E., Zemke J. N., et al. First sequence of influenza D virus identified in poultry farm bioaerosols in Sarawak, Malaysia. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*. 2020; 6: 5. <https://doi.org/10.1186/s40794-020-0105-9>
47. Holwerda M., Kelly J., Laloli L., Stürmer I., Portmann J., Stalder H., Dijkman R. Determining the replication kinetics and cellular tropism of influenza D virus on primary well-differentiated human airway epithelial cells. *Viruses*. 2019; 11 (4): 377. <https://doi.org/10.3390/v11040377>
48. White S. K., Ma W., McDaniel C. J., Gray G. C., Lednicky J. A. Serologic evidence of exposure to influenza D virus among persons with occupational contact with cattle. *Journal of Clinical Virology*. 2016; 81: 31–33. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.05.017>
49. Borkenhagen L. K., Mallinson K. A., Tsao R. W., Ha S.-J., Lim W.-H., Toh T.-H., et al. Surveillance for respiratory and diarrheal pathogens at the

human-pig interface in Sarawak, Malaysia. *PLoS One*. 2018; 13 (7):e0201295. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201295>

50. Choi J. Y., Zemke J., Philo S. E., Bailey E. S., Yondon M., Gray G. C. Aerosol sampling in a hospital emergency room setting: a complementary surveillance method for the detection of respiratory viruses. *Frontiers in Public Health*. 2018; 6:174. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00174>

51. Bailey E. S., Choi J. Y., Zemke J., Yondon M., Gray G. C. Molecular surveillance of respiratory viruses with bioaerosol sampling in an airport. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*. 2018; 4:11. <https://doi.org/10.1186/s40794-018-0071-7>

52. Yu J., Li T., Wen Z., Wu S., Wang Z., Zheng J., et al. Identification of D/Yama2019 lineage-like influenza D virus in Chinese cattle. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:939456. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.939456>

53. Yesilbag K., Tokar E. B., Ates O. Recent strains of influenza D virus create a new genetic cluster for European strains. *Microbial Pathogenesis*. 2022; 172:105769. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105769>

54. Molini U., Curini V., Jacobs E., Tongo E., Berjaoui S., Hemberger M. Y., et al. First influenza D virus full-genome sequence retrieved from livestock in Namibia, Africa. *Acta Tropica*. 2022; 232:106482. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106482>

Поступила в редакцию / Received 12.01.2024

Поступила после рецензирования / Revised 19.01.2024

Принята к публикации / Accepted 12.02.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Котенева Светлана Владимировна, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник, ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия;
<https://orcid.org/0000-0003-2649-7505>,
e-mail: koteneva-sv@mail.ru

Глотов Александр Гаврилович, д-р вет. наук, профессор, главный научный сотрудник, ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>,
e-mail: glotov_vet@mail.ru

Глотова Татьяна Ивановна, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник, ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия;
<https://orcid.org/0000-0003-3538-8749>, e-mail: t-glotova@mail.ru

Нефедченко Алексей Васильевич, д-р вет. наук, доцент, ведущий научный сотрудник ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-4181-4268>,
e-mail: homeovet@yandex.ru

Svetlana V. Koteneva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2649-7505>,
e-mail: koteneva-sv@mail.ru

Alexander G. Glotov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>,
e-mail: glotov_vet@mail.ru

Tatyana I. Glotova, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3538-8749>, e-mail: t-glotova@mail.ru

Alexey V. Nefedchenko, Dr. Sci. (Veterinary), Associate Professor, Leading Researcher, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4181-4268>,
e-mail: homeovet@yandex.ru

Вклад авторов: Котенева С. В. – подбор литературных источников, работа с литературой; Глотов А. Г. – подготовка текста, работа с литературой, анализ и обобщение; Глотова Т. И. – администрирование, редактирование текста; Нефедченко А. В. – подбор литературных источников.

Contribution: Koteneva S. V. – literature searches; Glotov A. G. – text preparation, literature analysis and synthesis; Glotova T. I. – administration, editing; Nefedchenko A. V. – literature searches.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35>
УДК 619:618.19-002:636.22/28:616-036.22:616-08

Этиология и эпизоотология мастита коров (аналитический обзор)

А. А. Андреева, В. А. Евграфова, М. С. Воронина, О. В. Прунтова, Н. Б. Шадрова

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Мастит является одним из самых распространенных заболеваний молочного скота во всем мире, при разовом обследовании стада выявляется у 5–36% животных, а в течение года заболеваемость достигает 68%, при условии что некоторые коровы переболевают два раза и более. В Российской Федерации, как и во всем мире, болезнь наносит значительный экономический ущерб молочному животноводству. Мастит – это воспаление молочной железы, которое развивается в ответ на воздействие различных факторов внешней и внутренней среды, которые классифицируют как механические, физические, биологические и другие. На основании клинических симптомов заболевание можно разделить на две формы: клиническую и субклиническую. Для установления диагноза необходимо проведение всестороннего обследования как животного, так и молока. Завершающим этапом при диагностике мастита коров является выполнение лабораторных исследований, в данном случае преимущество по информативности отдается бактериологическому методу, с помощью которого удастся выделить чистую культуру возбудителя, провести его идентификацию и определить чувствительность к антимикробным препаратам. Последнее играет особую роль для определения вектора дальнейших лечебных мероприятий, поскольку полученная информация позволяет подобрать эффективный антибиотик против конкретного возбудителя. Неправильный выбор, несоблюдение предписанного курса лечения, а также нецелесообразное применение противомикробных средств может привести к генерации мультирезистентных бактерий. Вследствие широкого распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, несмотря на большое количество используемых в настоящее время препаратов, их эффективность постоянно снижается. Перспективы дальнейшего использования антибиотиков в качестве лекарственных средств многие исследователи и международные организации ставят под сомнение из-за быстро развивающейся к ним резистентности у многих возбудителей. Вакцинопрофилактика занимает значительное место в борьбе с инфекционными болезнями. Применение вакцин позволяет не только снизить количество маститов у коров, но и значительно улучшает качество получаемой молочной продукции.

Ключевые слова: обзор, мастит коров, этиология, эпизоотология, лечение, профилактика, вакцинация

Благодарности: Данное исследование финансировалось Министерством образования и науки Российской Федерации для реализации задач Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2030 гг. (номер соглашения 075-15-2021-1054).

Для цитирования: Андреева А. А., Евграфова В. А., Воронина М. С., Прунтова О. В., Шадрова Н. Б. Этиология и эпизоотология мастита коров (аналитический обзор). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 27–35. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35>

Конфликт интересов: Прунтова О. В. является членом редколлегии журнала «Ветеринария сегодня» с 2012 г., но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Рукопись прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Андреева Анна Андреевна, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики бактериальных болезней ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, e-mail: andreeva_aan@arriah.ru

Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review)

Anna A. Andreeva, Valeria A. Evgrafova, Margarita S. Voronina, Olga V. Pruntova, Natalya B. Shadrova

Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Mastitis is one of the most common global diseases of dairy cattle, it is detected in 5–36% animals in a herd undergoing a single examination, and the incidence reaches 68% within a year, given that some cows get reinfected more than once. The disease causes significant economic losses to dairy industry both in the Russian Federation and globally. Mastitis is an inflammation of the mammary gland that develops in response to the effects of various factors of the external and internal environment, which are classified as mechanical, physical, biological, etc. Based on the clinical symptoms, the disease has two forms: clinical and subclinical. Both the animal and its milk shall be subjected to a thorough examination for the diagnosis establishment. The final stage of the mastitis diagnosis in cows is laboratory testing. In this case, the most informative is the bacteriological method, which helps to isolate a pathogen's pure culture, identify it and determine sensitivity to antimicrobial drugs. The latter plays a specific role in indicating the direction of further therapeutic measures, since the obtained data facilitate selection of effective antibiotics against certain pathogens. Incorrect treatment, incompliance with the prescribed therapy, as well as unnecessary use of antimicrobials can lead to the generation of multi-resistant bacteria. Due to the widespread spread of antibiotic-resistant microorganism strains, despite the large number of drugs currently used,

their effectiveness is constantly decreasing. The prospects for the further use of antibiotics as therapeutics are questioned by many researchers and international organizations due to antibiotic resistance rapidly developing in many agents. Vaccination plays a significant role in infectious disease control. The use of vaccines not only reduces mastitis occurrence in cows, but also significantly improves the quality of dairy products.

Keywords: review, bovine mastitis, etiology, epizootology, treatment, prevention, vaccination

Acknowledgements: This study was funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within implementation of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies in 2019–2030 (Agreement No. 075-15-2021-1054).

For citation: Andreeva A. A., Evgrafova V. A., Voronina M. S., Pruntova O. V., Shadrova N. B. Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 27–35. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35>

Conflict of interests: Pruntova O. V. is a member of the editorial board of the “Veterinary Science Today” journal since 2012, but was not involved into the decision making process related to this article publication. The manuscript has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interests.

For correspondence: Anna A. Andreeva, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for Bacterial Disease Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, e-mail: andreeva_aan@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Мастит является одним из самых распространенных заболеваний молочного скота во всем мире, при разовом обследовании стада может быть выявлен у 5–36% поголовья. В связи с тем, что некоторые животные переболевают два раза и более, заболеваемость коров в течение года иногда достигает 68% [1].

Мастит – это воспаление молочной железы, развивающееся в ответ на воздействие различных факторов внешней и внутренней среды при снижении резистентности организма животного и осложненных инфекциях. Заболевание вызывают различные виды микроорганизмов, которые проникают в молочную железу и в результате интенсивного размножения провоцируют развитие инфекции. Основные факторы возникновения мастита делятся на механические, физические и биологические. Сопутствующими причинами являются: резистентность и иммунный статус животного, невыполнение преддоильной и постдоильной гигиены вымени, неудовлетворительная дезинфекция систем доения и др. На основании клинических симптомов мастит можно разделить на два типа, а именно: клинический и субклинический. Клинический мастит часто диагностируется непосредственно путем визуальной оценки воспаления вымени или изменения органолептических свойств молока, тогда как субклинический мастит представляет собой скрытую форму заболевания, при которой выраженные симптомы отсутствуют, при этом фиксируется увеличение в 3–4 раза количества соматических клеток в молоке [2, 3, 4].

Мастит наносит значительный экономический ущерб, складывающийся из потерь, связанных с сокращением удоев и ухудшением качества молока (66%), выбраковкой продукции из-за снижения пищевых и технологических свойств (6%), преждевременным выводом из стада высокопродуктивных коров из-за нарушения функции четвертой вымени (22%), повышением расходов на медикаменты для лечения животных (5%), а также увеличением затрат на оплату труда ветеринарных специалистов (1%). Косвенный, но существенный ущерб наносит выпойка молозива телятам от больных маститом коров, что, как правило, приводит к массовым желудочно-кишечным заболеваниям и яв-

ляется одной из причин гибели молодняка в раннем постнатальном периоде. Во всем мире мастит является одним из наиболее экономически значимых болезней коров. Так, к примеру, ущерб, наносимый этим заболеванием молочной промышленности, в России составляет около 1 млрд руб., в Англии убытки доходят до 50 млн фунтов стерлингов в год, а в США предполагаемые потери варьируют от 3 до 403 долларов на корову в год [1, 5]. Ввиду вышесказанного вопросы этиологии и эпизоотологии маститов коров являются актуальными для ветеринарии и развивающейся молочной промышленности.

Новизна данной работы состоит в систематизации и подробном рассмотрении современных данных о факторах, влияющих на возникновение и распространение мастита, методах его лечения и профилактики.

Целью обзора был анализ и систематизация данных из современных научных публикаций об этиологии и основных закономерностях развития, распространения, лечения и профилактики мастита коров.

Мастит – это многофакторное заболевание, которое развивается под действием механических, физических, биологических и других факторов.

Механические – это наиболее многочисленная группа негативных воздействий, которые вызывают повреждения вымени и сосков (микротравмы, ушибы, трещины и раны). Зачастую поражения являются следствием нарушения правил и технологии доения, наиболее распространенными причинами являются: завышенный вакуум или его колебания, высокая частота пульсации, использование нестандартной сосковой резины, неудовлетворительная преддоильная подготовка вымени, а также некачественная подготовка доильного оборудования.

К физическим факторам, предрасполагающим к возникновению патологии молочной железы, относят несоблюдение температурного режима при содержании животных. Воспаление может развиваться при воздействии высоких и низких температур, которые могут привести к обморожению либо ожогу тканей, из-за чего впоследствии может начаться воспалительный процесс [6, 7].

К биологическим факторам, вызывающим заболевание, относят различные виды микроорганизмов. Зачастую развитие воспалительного процесса в вымени начинается при попадании патогена из окружающей среды в организм животного через сосковый канал. Почти любой микроб-оппортунист при проникновении в молочную железу может привести к появлению мастита как в клинической форме его проявления, так и в субклинической [8, 9]. Изучение этиопатогенеза показывает, что мастит коров является полиэтиологическим заболеванием, наиболее частыми возбудителями которого являются: *Streptococcus* spp. (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* и др.), *Staphylococcus* spp. (*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. xylosus*, *S. epidermidis* и др.), *Escherichia coli*, *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. glabrata*, *C. rugosa*), *Mycoplasma* spp. (*M. bovis*, *M. dispar* и др.), *Trueperella pyogenes* [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Watts J. L. в своих исследованиях сделал вывод, что причиной воспаления молочной железы коровы могут быть 137 видов и подвидов микробов, некоторые из них являются частью нормальной микрофлоры и, за редким исключением, не вызывают патологических изменений в тканях вымени [19]. К условно-патогенным видам бактерий исследователь относит *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *Corynebacterium bovis*. Ряд авторов, изучающих проблему мастита коров, указывают, что наиболее тяжелые формы клинического мастита молочного скота были связаны с инфицированием гемолитичным стрептококком группы В (*S. agalactiae*) [20, 21, 22], золотистым стафилококком (*S. aureus*) [23, 24] и патогенной кишечной палочкой (*E. coli*) [25, 26, 27]. Анализируя научные работы отечественных и зарубежных авторов, можно заключить, что разнообразие микроорганизмов, способных вызвать мастит, очень велико, кроме того, в публикациях прослеживается определенная статистика по преобладающим возбудителям в разных странах мира [28, 29]. Так, в Российской Федерации преобладающее значение в развитии воспаления молочной железы имеют золотистый стафилококк, выявляемость которого составляет от 42,8 до 87,3%, агалактичный стрептококк (9,5–52,0%) и группа энтеробактерий (9,6–16,7%) [27]. Следует отметить, что возбудители мастита при исследовании биологического материала могут быть выделены как в монокультуре, так и в различных ассоциациях [30, 31].

Ряд ученых (С. А. Шевелёва [32], P. N. Gonzalez et al. [33]) придерживаются противоположного мнения. Они считают, что в этиологии мастита главную роль играют нарушения ветеринарно-зоотехнических правил кормления, содержания и доения коров, травмы и послеродовые осложнения. Причем основное значение придается кормлению, а микроорганизмам отводится второстепенная роль. Если в скотоводческом хозяйстве по производству молока проводится усиленный контроль за доением, содержанием, состоянием вымени и другими профилактическими мероприятиями, то заболевания вымени выявляются значительно реже.

Литературные данные свидетельствуют о том, что сезон года также влияет на эпизоотический процесс мастита коров. В своих исследованиях Н. В. Родин и соавт. [34] отмечают, что наблюдается тенденция к увеличению случаев возникновения мастита коров в осенние и весенние периоды, снижение, в свою очередь, происходит в зимние и летние месяцы. Так, на лето

приходится 14,8% заболеваний маститом, в то время как на зиму – 26,9%. Процент регистрации заболевания маститом в осенне-весенний период варьирует в диапазоне от 19,4 до 40,0%. Наибольшее число больных коров регистрируется в районах, в которых стойловый период является наиболее продолжительным [35].

Загазованность помещений, состояние и вид покрытия в животноводческих комплексах также имеют немаловажное значение в увеличении числа случаев возникновения мастита коров. По данным М. В. Осколковой и Э. В. Кузьминой [36], при содержании животных в деревянном помещении с деревянным настилом сокращается заболеваемость маститом в зимний период до 16,9%.

Мастит может возникать как в период лактации, так и во время запуска, сухостоя либо же сразу после отела. Трансформация тканей молочной железы во время запуска, сухостоя и перед отелом способствует снижению ее резистентности и при наличии инфекционного начала или скрыто протекающего воспалительного процесса запускает развитие клинического мастита. После отела мастит зачастую развивается вследствие интоксикации на фоне отеков вымени и других послеродовых заболеваний [37, 38, 39, 40].

Согласно литературным данным, один и тот же инфекционный агент, в зависимости от его количества и вирулентности, а также от локальной и общей резистентности организма животного, может спровоцировать возникновение как клинической, так и субклинической формы мастита [1, 2, 3].

Клинический мастит характеризуется наличием явно выраженных признаков воспаления вымени и изменением свойств и структуры молока. При физикальном осмотре пораженной молочной железы выявляют такие местные симптомы, как гиперемия, покраснение и боль при пальпации, припухлость и уплотнение тканей. Также заболевание может проявляться общей симптоматикой, которая выражается в изменении поведения, лихорадкой, анорексией, депрессией, вялостью, снижением аппетита и гипертермией. В молоке обнаруживают сгустки и хлопья выпавшего казеина, прозрачные или кровянистые включения, а также гной [3, 22, 39].

Субклинический мастит, протекающий без явных признаков местного воспаления или системного поражения, редко представляет непосредственную угрозу для жизни животного и встречается в 15–40 раз чаще, чем клинический. Но иногда регистрируются случаи кратковременного изменения структуры молока [3, 23]. Из-за бессимптомного течения фермеры часто упускают начало воспалительного процесса, не подозревают об ухудшении качества молока и о существующем риске распространения возбудителей мастита на других коров в стаде. При отсутствии лечения более двух месяцев заболевание переходит в хроническую форму. В зависимости от биологических свойств возбудителя инфекция может сохраняться в течение всей лактации или жизни коровы [9].

Мастит получил свою известность в конце XIX века. Накопленная с этого времени информация позволила охарактеризовать и разделить типы воспалительных процессов, возникающих в вымени при проявлении клинической формы заболевания. В практике наиболее часто пользуются классификацией А. П. Студенцова,

которая делит клинический мастит на 5 основных подгрупп по характеру воспаления.

Наиболее распространенным является *серозный* мастит (ранняя стадия заболевания), основным признаком которого считается отек. Пораженные части вымени уплотнены, увеличены в объеме, наблюдается выраженная гипертермия. Общее состояние животных расценивается как нормальное, без отклонений. При визуальном осмотре на начальной стадии заболевания молоко вписывается в рамки нормы, при прогрессировании воспалительного процесса в молоке обнаруживают примесь казеиновых хлопьев, а консистенция самого молока становится более жидкой [28].

Катаральный тип возникает преимущественно при локализации воспаления в молочной цистерне или в крупных протоках. В этом случае отмечают наличие хлопьев казеина только в начале доения, при воспалении альвеол вымени молоко неоднородное и содержит хлопья в течение всего доения. Характерной чертой катарального мастита считают секрет серого цвета, а также существенное снижение жирности молока за счет образования сгустков белка [4].

Геморрагический мастит зачастую развивается вследствие проявления серозного или катарального воспаления. При данном типе мастита у коров поражаются все четверти вымени. У животных отмечают интенсивное дыхание, потерю аппетита, температура тела может достигать 40,0–41,0 °C, на поверхности кожи обнаруживают выраженные пятна багрового цвета. Сдаиваемое молоко имеет розово-красные оттенки с включением хлопьев казеина [41].

Наиболее болезненным и одним из самых опасных для коровы является такой тип мастита, как *фиброзный*. При его проявлении наблюдается резкое снижение молочной продуктивности, угнетенное состояние животного, при пальпации пораженной части вымени отмечают болевую реакцию и слышен характерный звук крепитации. Большую часть времени корова лежит, встает с трудом, частым явлением является хромота обеих задних конечностей [4].

При развитии *гнойного* мастита общее состояние коровы заметно ухудшается. Данный тип характеризуется образованием плотных, не поддающихся сжатию уплотнений, у животных температура тела повышается на 1,0–2,0 °C. В молоке обнаруживают наличие гнояного содержимого. При таком развитии воспаления возможно образование абсцесса в пределах вымени. При возникновении абсцесса или флегмоны благоприятные прогнозы по излечению невозможны. Молочная железа покрывается гнойничками, которые захватывают все большую площадь и в конце концов сливаются воедино. Заболевание приводит к тому, что часть железы теряет способность к функционированию. Молоко, полученное из зараженной доли (долей), имеет серый цвет и содержит большое количество сгустков [3].

При возникновении любой формы мастита (клинической или субклинической) наблюдается снижение качества молока по органолептическим показателям, бактериальной обсемененности, а также содержанию соматических клеток. В случае развития мастита увеличение числа соматических клеток и бактерий в сыром молоке означает повышение активности протеолитических и липолитических ферментов. Плазмин, например, представляет собой казеинолитический фермент, синтезируемый из плазминогена, который развивается

в крови и, скорее всего, попадает в молоко за счет разрушения эпителия молочных желез. Разложение казеина способствует образованию метаболитов, наличие которых сопровождается неприятным и отторгающим запахом от молока [40, 42].

В Российской Федерации с 1 января 2016 г. заменен нормативный документ, согласно которому предъявлялись требования к молоку и молочным продуктам, вместо технического регламента России введен в действие технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013). Наиболее значимыми изменениями, касающимися качества и безопасности молока, стали отмена его сортности и ужесточение требований к содержанию антибиотиков. На сегодняшний день утверждены единые показатели молока, по которым оно может поступить в оборот, а в случае несоответствия – утилизироваться без возможности дальнейшей переработки и реализации по сниженной стоимости. Согласно данному документу допускается содержание в 1,0 см³ продукта КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) не более 5×10^5 КОЕ/см³, патогенных микроорганизмов – не более 25 м. к., соматических клеток – не более $7,5 \times 10^5$.

Кроме того, содержание антимикробных препаратов (АМП) в 1 кг (л) продукции не должно превышать: левомицетин – 0,01 мг, тетрациклины – 0,01 мг, стрептомицин – 0,2 мг, пенициллин – 0,004 мг. Допустимый уровень содержания АМП практически соответствует пределу аналитических методик, применяемых для выявления антибактериальных препаратов, и в целом его можно классифицировать как недопустимое содержание АМП.

Вышеизложенная информация подтверждает актуальность борьбы с маститом и необходимость предотвращения финансовых потерь, наносимых данным заболеванием. Предупреждение перехода субклинической формы мастита в клиническую является одним из самых важных звеньев в комплексе мероприятий, направленных на сохранение здоровья вымени. Это возможно при своевременной и регулярной диагностике (не реже 1 раза в месяц) [6].

Для установления диагноза необходимо провести осмотр животного с измерением температуры тела, частоты пульса и дыхания. Особое внимание при осмотре требуется уделять области паховых лимфатических узлов и молочных желез. Исследование вымени включает визуальный осмотр, пальпацию, а также пробное доение. При визуальном обследовании обращают внимание на целостность кожных покровов, их цвет и пропорциональность вымени. При пальпации признаками мастита являются гипертермия области вымени, болевая реакция при надавливании, а также характерные уплотнения в тканях молочных желез. При проведении пробного доения обращают внимание на усилие, прикладываемое для сцеживания молока, на количество и органолептические свойства выделяемого секрета [43, 44].

Скрытый (субклинический) мастит диагностируют одним из быстрых диагностических тестов (БМТ) – пробы с димастином, мастидином, мастотестом и др. Действие БМТ основано на выявлении превышающего количества лейкоцитов и изменения водородного показателя молока. Для исследования используют молочно-контрольные пластинки, которые разделены на 4 круглые секции по одной на каждую четверть вы-

мени. Для получения достоверных результатов необходимо исследовать пробы как цистерального, так и паренхимного молока [37].

Завершающим этапом при диагностике мастита коров является проведение лабораторных исследований, в данном случае преимущество по информативности отдается бактериологическому методу [45], с помощью которого удастся выделить чистую культуру возбудителя, провести его идентификацию, при необходимости всесторонне его изучить (ростовые, протеомические, патогенные свойства) и определить чувствительность к АМП. Определение чувствительности к АМП играет особую роль для выбора вектора дальнейших лечебных мероприятий, в силу того что в данном случае полученная информация помогает найти эффективный антибиотик против конкретного возбудителя. Неправильный выбор, несоблюдение предписанного курса, а также нецелесообразное применение противомикробных средств может привести к генерации мультирезистентных бактерий [46].

Антибиотикотерапия применяется при всех видах мастита, вызванных бактериальной микрофлорой, или в тех случаях, когда бактериальный фон является секундарной инфекцией. Терапия имеет ряд положительных сторон, таких как скорость улучшения клинического состояния животного, низкий процент выбраковки стада, прогнозируемые потери в надое, а также ряд отрицательных: утилизация молока во время и после лечения на период вывода антибиотика из организма. Наличие остаточных количеств антибиотиков в молоке опасно для здоровья человека и снижает качество молочных продуктов, большинство препаратов имеют длительный период выведения, кроме того, стоимость АМП достаточно высока [47, 48].

Вследствие широкого распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, эффективность препаратов, несмотря на их большое количество, постоянно снижается. Перспективы дальнейшего использования антибиотиков в качестве лекарственных средств многие исследователи и международные организации ставят под сомнение из-за быстро развивающейся к ним резистентности у многих возбудителей. В последние десятилетия возникновение устойчивости к АМП является глобальной проблемой не только в гуманной, но и ветеринарной медицине [49, 50, 51].

Увеличению популяций резистентных бактерий способствует нерациональное применение АМП, неправильный выбор лекарственных средств, несоблюдение рекомендаций, указанных в инструкции, а именно: дозировки, кратности, продолжительности лечения. Рост устойчивости к АМП вызвал серьезные опасения во всем мире как с точки зрения общественного здравоохранения, так и с точки зрения безопасности пищевых продуктов, в связи с чем их использование в животноводстве на протяжении многих лет находится под постоянным контролем [2].

Следует отметить, что к антибиотикотерапии необходимо прибегать только в крайних случаях, главным образом тогда, когда патологический процесс становится опасным для жизни животного. Во всех других случаях лечить больных маститом животных лучше всего не прибегая к этиотропной терапии, а если это невозможно, рекомендуется применять препараты из группы синтетических противомикробных средств. К наиболее распространенным относят сульфанил-

амиды и нитрофураны [52]. У данных АМП имеется ряд преимуществ: широкий спектр действия, малая токсичность, относительно низкая стоимость. Но также имеется существенный недостаток – неэффективность при лечении гнойных маститов [48].

Наряду с этиотропной широкое распространение получила патогенетическая терапия, которая включает в себя методы, оказывающие воздействие на нервную систему и опосредованно – на весь организм, что способствует активному влиянию на течение патологического процесса. Наиболее распространенной является новокаиновая блокада нервов вымени. Ее применение способствует излечиванию животных при мастите не только при сочетанном использовании с лекарственными препаратами, но и самостоятельно. Основными новокаиновыми блокадами, которые рекомендуется использовать для лечения мастита коров, являются: короткая новокаиновая блокада нервов вымени по Д. Д. Логвинову, блокада наружного срамного нерва по Б. А. Башкирову, метод внутриаортального введения новокаина по Д. Д. Логвинову. Патогенетическая терапия высокоэффективна при остропротекающем мастите, пока еще не наступили деструктивные изменения тканей, особенно при серозном, катаральном, гнойно-катаральном мастите [37, 44, 50].

Переболевание коров маститом зачастую не проходит бесследно, даже если препараты для лечения подобраны правильно. В литературе, главным образом зарубежной, имеются данные об эффективности профилактической вакцинации коров, больных маститами. В качестве иммунизирующих средств в разных странах применялись стафилококковые токсиды, бактериин-токсиды и их варианты с различными адъювантами [47, 53, 54, 55].

Вакцинопрофилактика занимает значительное место в борьбе с инфекционными болезнями. Применение вакцин позволяет не только снизить количество больных маститом коров, но и значительно улучшить качество получаемой молочной продукции [2, 56, 57].

Вакцинация животных является признанным способом сокращения затрат на ветеринарный сервис. Благодаря разработке препаратов для профилактики мастита стало возможным успешно бороться с одним из самых распространенных в молочном животноводстве заболеваний (эффективность применения составляет от 70 до 98%) [55, 56, 58, 59].

В настоящее время на мировом фармацевтическом рынке представлено несколько импортных вакцин против мастита коров: два препарата испанского производства и один французского. Сложившаяся политическая ситуация в мире, ввод расширенных санкций и ограничение препаратов, не соответствующих стандартам надлежащей производственной практики GMP (Good Manufacturing Practice), делают данный перечень вакцин труднодоступными для российских животноводов.

Данное обстоятельство стало ключевым моментом в проведении научно-исследовательской работы с целью разработки новых средств для специфической профилактики мастита коров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные научные данные подтверждают, что мастит является основной проблемой молочного животноводства во всех странах мира, а его субклиническая форма наиболее распространена,

в отличие от клинически выраженной. Кроме того, данные литературы позволяют заключить, что маститы представляют собой полиэтиологическое заболевание. С одной стороны, их возникновение обусловлено инфекционными агентами (бактерии, микоплазмы, грибы), а с другой – воздействием факторов окружающей среды, снижающих сопротивляемость организма животного. На развитие данной болезни большое влияние оказывают предрасполагающие и сопутствующие факторы. К первым относят резистентность организма и иммунный статус животного, ко вторым – несоблюдение зоотехнических, профилактических и лечебных мероприятий, невыполнение преддоильной и постдоильной гигиены вымени, отсутствие контроля за исправностью доильных аппаратов, а также неудовлетворительная дезинфекция систем доения. Ввиду того что мастит остается одним из самых встречаемых заболеваний молочного стада в мире, можно предположить, что хозяйства, занимающиеся разведением крупного рогатого скота молочного направления, не в полной мере соблюдают требуемые зоотехнологические, профилактические и лечебные мероприятия. При усиленном контроле за исполнением комплекса мер становится возможным сократить количество случаев возникновения клинического и субклинического мастита коров. Специфическая профилактика является самым действенным способом борьбы с маститом, однако формирование стойкого и напряженного иммунитета можно достичь только при строгом соблюдении определенного перечня зоогигиенических и технологических требований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bar D., Tauer L. W., Bennett G., González R. N., Hertl J. A., Schukken Y. H., et al. The cost of generic clinical mastitis in dairy cows as estimated by using dynamic programming. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91 (6): 2205–2214. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0573>
2. Argaw A. Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. *Food Science and Quality Management*. 2016; 52: 56–65. <https://www.iiste.org/Journals/index.php/FSQM/article/view/31012/31844>
3. Потоскуева А. С. Мастит у коров. В кн.: *Молодежь и наука – 2021. Ветеринария: сборник статей*. Екатеринбург: Уральский ГАУ; 2021; 146–152. EDN: VJKKGN
4. Кичириук Е. В. Виды маститов крупного рогатого скота. *Пермский период: сборник материалов IX Международного научно-спортивного фестиваля курсантов и студентов образовательных организаций. Т. 3. (Пермь, 16–20 мая 2022 г.)*. Пермь: ФКОУ ВО Пермский институт ФСИН России; 2022; 56–58. EDN: YRDPOQ
5. Bar D., Gröhn Y. T., Bennett G., González R. N., Hertl J. A., Schukken Y. H., et al. Effects of repeated episodes of generic clinical mastitis on mortality and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91 (6): 2196–2204. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0460>
6. Wollowski L., Bertulat S., Kossatz A., Heuwieser W. Short communication: Diagnosis and classification of clinical and subclinical mastitis utilizing a dynamometer and a handheld infrared thermometer. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102 (7): 6532–6539. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15509>
7. Никитина М. В., Столбова О. А., Скосырских Л. Н. Изучение этиологических факторов мастита крупного рогатого скота. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2019; 5 (79): 197–200. EDN: VNYLTW
8. Филатова А. В., Тшивале Б. М., Федотов С. В., Авдеенко В. С., Климов Н. Т. Инфекционный фактор в этиологии мастита у высокопродуктивных лактирующих коров. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2022; 58 (4): 86–91. <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91>
9. Erskine R. J. Mastitis in cattle. *MSD Veterinary Manual*. <https://www.msdsvetmanual.com/reproductive-system/mastitis-in-large-animals/mastitis-in-cattle> (дата обращения: 14.07.2023).
10. Werner C., Sauerwald C., Sundrum A., El-Sayed A., Zschöck M. Genotyping of *Streptococcus uberis* isolates in healing process of bovine clinical mastitis. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2018; 6 (2): 274–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.09.005>
11. Špakauskas V., Klimiene I. Investigations of efficacy and toxicity of a new antiseptic gel for treatment of udder skin diseases. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2006; 34 (56): 49–53.
12. Никулин Д. М. Стафилококковый мастит коров. *Эффективное животноводство*. 2013; (8): 16–18.
13. Авдеевская Н. Н., Капустин А. В., Горбатов А. В., Иванов Е. В. Сравнительный анализ видового состава и количественное соотношение микрофлоры при субклиническом и клиническом мастите коров. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 296–302. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302>
14. Ashraf A., Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews*. 2020; 21 (1): 36–49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>
15. Bradley A. J. Bovine mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal*. 2002; 164 (2): 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvj.2002.0724>
16. Cobirka M., Tancin V., Slama P. Epidemiology and classification of mastitis. *Animals*. 2020; 10 (12): 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
17. Dworecka-Kaszak B., Krutkiewicz A., Szopa D., Kleczkowski M., Biegańska M. High prevalence of *Candida* yeast in milk samples from cows suffering from mastitis in Poland. *The Scientific World Journal*. 2012; 2012:196347. <https://doi.org/10.1100/2012/196347>
18. Dyson R., Charman N., Hodge A., Rowe S. M., Taylor L. F. A survey of mastitis pathogens including antimicrobial susceptibility in southeastern Australian dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (2): 1504–1518. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20955>
19. Watts J. L. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 1988; 16 (1): 41–66. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90126-5)
20. Горбатов А. В., Соколова Н. А., Лощинин М. Н. Факторы вирулентности стрептококков и стафилококков и специфическая профилактика маститов у коров. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2019; 4 (32): 428–433. EDN: ZTBSFX
21. Долганов В. А., Епанчинцева О. С., Карабанова Л. В. Этиология мастита у коров. *Россия молодая: передовые технологии – в промышленности*. 2013; 3: 27–29. EDN: RQCWHZ
22. 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. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356008.1764>
23. Авдеевская Н. Н. Золотистый стафилококк – один из главных возбудителей мастита лактирующих коров. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2020; 2 (34): 245–249. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202002020>
24. Abril A. G., Villa T. G., Barros-Velázquez J., Cañas B., Sánchez-Pérez A., Calo-Mata P., Carrera M. *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. *Toxins*. 2020; 12 (9): 537. <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>
25. Долганов В. А., Епанчинцева О. С., Лютикова А. В., Завгородняя Н. В. Распространение и этиология маститов у дойных коров. *Динамика систем, механизмов и машин*. 2012; 5: 107–110. EDN: SHJXVB
26. Михайловская В. С., Юдина К. А., Жданова И. Н., Масленникова И. Л., Кузнецова М. В. *Escherichia coli* в спектре микробных культур, изолируемых от здоровых и больных маститом коров. *Симбиоз-Россия 2022: сборник статей XIII Международной конференции ученых-биологов (г. Пермь, 24–25 октября 2022 г.)*. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет; 2023; 132–137. EDN: BDZMGJ
27. Альгазали М. А. Д. Применение биохимических тестов и полимеразной цепной реакции для идентификации *Escherichia coli* в молоке крупного рогатого скота при подозрении на мастит. *Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей LVII Международной научно-практической конференции. В 2 ч. (г. Пенза, 15 июня 2022 г.)*. Т. 1. Пенза: Наука и просвещение; 2022; 22–24. EDN: LCDPEG
28. Пензеева Н. С. Этиология, признаки и лечение серозного мастита. *Горинские чтения. Инновационные решения для АПК: материалы Международной научной конференции (Майский, 14–15 марта 2023 г.)*. Т. 2. Майский: ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ; 2023; 80. EDN: MDYKEZ
29. Баркова А. С., Колчина А. Ф., Елесин А. В. Болезни сосков молочной железы коров. Этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика. LAP LAMBERT Academic Publishing; 2012. 233 с.
30. Млытыхан В. Х. Распространенность клинического мастита коров в хозяйствах Ростовской области. *Современные научные исследования: теория, методология, практика: сборник научных статей по материалам V Международной научно-практической конференции (г. Уфа, 22 июня 2021 г.)*. Уфа: НИЦ «Вестник науки»; 2021; 7–10. EDN: KXLQRT
31. Павленко О. Б., Фальков В. Распространение мастита у коров в Липецкой области. *Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции: материалы V Меж-*

дународной научно-практической конференции (г. Воронеж, 16 декабря 2021 г.). Ч. 2. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ; 2021; 258–262. EDN: PCCAIB

32. Шевелёва С. А. Актуальные вопросы качества и безопасности молочных продуктов. *Переработка молока*. 2014; 7 (177): 6–11. EDN: SHVMWJ

33. Gonzalez P. N., Jasper D. E., Kronlund N. C., Farver T. B., Cullor J. S., Bushnell R. B., Dellinger J. D. Clinical mastitis in two California dairy herds participating in contagious mastitis control programs. *Journal of Dairy Science*. 1990; 73 (3): 648–660. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78716-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78716-4)

34. Родин Н. В., Авдеенко А. В., Абдессемед Д., Авдеенко В. С. Этиология, диагностика и оценка молока при функциональных нарушениях молочной железы у коров. *Вестник Саратовского государственного университета им. Н. И. Вавилова*. 2013; 10: 27–29. EDN: RELJXP

35. Тогобицкая Д. Р. Совершенствование комплексных лечебно-профилактических мероприятий при мастите коров в условиях Республики Башкортостан: дис. ... канд. вет. наук. Уфа; 2019. 155 с.

36. Осколкова М. В., Кузьмина Э. В. Влияние физико-химических факторов на возникновение маститов у коров. *Известия ОГАУ*. 2015; 2 (52): 98–100. EDN: TSCGVN

37. Домотов В. В., Васильева С. Л., Нифонтов К. Р. Диагностика и лечение маститов у коров. *Академический вестник Якутской государственной сельскохозяйственной академии*. 2020; 8 (13): 12–17. EDN: LXXIQU

38. Ремизова Е. В. Распространение и этиология маститов и эндометритов у коров. *Эффективное животноводство*. 2021; (8): 96–98. <https://doi.org/10.24412/cl-33489-2021-8-96-98>

39. Дзюина Ю. А., Коваль И. В. Маститы у коров, этиология, приемы терапии. *Научное обеспечение агропромышленного комплекса: сборник статей по материалам 77-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2021 г. (г. Краснодар, 1 марта 2022 г.)*. Ч. 1. Краснодар: КубГАУ; 2022; 334–337. EDN: NIOTBG

40. Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hossein D., et al. Subclinical mastitis in dairy cows in south-Asian countries: A review of risk factors and etiology to prioritize control measures. *Veterinary Research Communications*. 2022; 46 (3): 621–640. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09948-x>

41. Diwakar R. P., Ojasvita, Kumar P., Deora A., Sharma H., Sharma S., et al. Bovine mastitis: A review. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2020; 28 (6): 497–507. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejrs.2020.497.507>

42. Saleem H. D., Razoqi M. A., Gharban H. A. J. Cumulative effect of subclinical mastitis on immunological and biochemical parameters in cow milk. *Archives of Razi Institute*. 2021; 76 (6): 1629–1638. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356311.1819>

43. Huang Q., Zheng X. M., Zhang M. L., Ning P., Wu M. J. Lactation mastitis: Promising alternative indicators for early diagnosis. *World Journal of Clinical Cases*. 2022; 10 (31): 11252–11259. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10i31.11252>

44. Ruegg P. L. A 100-year review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100 (12): 10381–10397. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>

45. Oliveira L., Hulland C., Ruegg P. L. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*. 2013; 96 (12): 7538–7549. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6078>

46. Лыткина А. М., Тришин Н. Д. Маститы у КРС – диагностика и профилактика. *Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса: сборник материалов Международной научно-практической конференции (г. Пенза, 24–25 марта 2022 г.)*. Т. 1. Пенза: Пензенский ГАУ; 2022; 160–162. EDN: EXAHDX

47. Zigo F., Vasil' M., Ondrašovičová S., Výrostková J., Bujok J., Pecka-Kielb E. Maintaining optimal mammary gland health and prevention of mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:607311. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.607311>

48. Sharun K., Dhama K., Tiwari R., Gugjoo M. B., Iqbal Yatoo M., Patel S. K., et al. Advances in therapeutic and management approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*. 2021. 41 (1): 107–136. <https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1882713>

49. Музыка В. П., Стецко Т. И., Пашковская М. В. Антибиотикорезистентность в ветеринарной медицине. *Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии: материалы V Международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов (г. Витебск, 26–30 мая 2015 г.)*. Витебск: ВГАВМ; 2015; 20–26. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/7963>

50. Горбенко А. В., Гадзевич Д. В., Гужвинская С. А., Гадзевич О. В., Кривогино Т. В., Дунаев Ю. К. Возбудители клинических и субклинических маститов коров и их чувствительность к антибактериальным препаратам. *Ветеринарная медицина*. 2013; 97: 176–180. EDN: STHPGT

51. Алиев А. Ю., Булатханов Б. Б., Магомедов М. З., Магомедов А. С., Климов Н. Т. Микрофлора молока больных субклиническим маститом

коров и овцематок и ее антибиотикочувствительность. *Ветеринарная патология*. 2019; (2): 43–48. EDN: PNLELM

52. Hiitö H., Vakkamäki J., Simojoki H., Autio T., Junnila J., Pelkonen S., Pyörälä S. Prevalence of subclinical mastitis in Finnish dairy cows: changes during recent decades and impact of cow and herd factors. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2017; 59 (1):22. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0288-x>

53. Гамаюнов В. М., Онуфриев В. А., Целуева Н. И. Комплексная система профилактики и лечения мастита у лактирующих коров. *Международный вестник ветеринарии*. 2022; (2): 169–172. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.169>

54. Слободяник В. И., Климов Н. Т., Ческидова Л. В., Зверев Е. В. Иммунологические аспекты борьбы с маститом коров: монография. Воронеж: Истоки; 2020. 222 с.

55. El-Sayed A., Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production*. 2021; 53 (2):236. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02680-9>

56. Климова Л. А., Ряпосова М. В., Шкуратова И. А., Тарасенко М. Н., Тарасов М., Павлова Н. А. Опыт применения вакцины Стартвак в ООО «Некрасово-1» Свердловской области. *Ветеринария*. 2014; 9: 34–37. EDN: SLPKXH

57. Quiroga J., Vidal S., Siel D., Caruffo M., Valdés A., Cabrera G., et al. Novel proteoliposome-based vaccine against *E. coli*: A potential new tool for the control of bovine mastitis. *Animals*. 2022; 12 (19):2533. <https://doi.org/10.3390/ani12192533>

58. Амануллин Р. А. Эффективность ассоциированной инактивированной вакцины «ВАКОЛИН» при маститах коров. *Прикладная микробиология*. 2015; 2 (1): 40–44. EDN: TYOUAR

59. Скосырских Л. Н. Перспективы применения вакцин против мастита коров. *Вестник Государственного аграрного университета Северного Зауралья*. 2013; 4 (23): 57–60. EDN: SDWOZR

REFERENCES

1. Bar D., Tauer L. W., Bennett G., González R. N., Hertl J. A., Schukken Y. H., et al. The cost of generic clinical mastitis in dairy cows as estimated by using dynamic programming. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91 (6): 2205–2214. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0573>

2. Argaw A. Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. *Food Science and Quality Management*. 2016; 52: 56–65. <https://www.iiste.org/Journals/index.php/FSQM/article/view/31012/31844>

3. Potoskueva A. S. Mastitis in cows. In: *Youth and Science – 2021. Veterinary medicine: collection of papers*. Ekaterinburg: Ural SAU; 2021; 146–152. EDN: VJUKGN (in Russ.)

4. Kichkiruk E. V. Vidy mastitov krupnogo rogatogo skota = Types of bovine mastitis. *Permskii period: sbornik materialov IX Mezhdunarodnogo nauchno-sportivnogo festivala kursantov i studentov obrazovatel'nykh organizatsii*. T. 3. (Perm', 16–20 maya 2022 g.) = Perm Period: collection of proceedings of IX International Scientific and Sports Festival of Cadets and Students of Educational Organizations. Vol. 3. (Perm, May 16–20, 2022). Perm: The Perm Institute of the FPS of Russia; 2022; 56–58. EDN: YRDPQQ (in Russ.)

5. Bar D., Gröhn Y. T., Bennett G., González R. N., Hertl J. A., Schulte H. F., et al. Effects of repeated episodes of generic clinical mastitis on mortality and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91 (6): 2196–2204. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0460>

6. Wollowski L., Bertulat S., Kossatz A., Heuwieser W. Short communication: Diagnosis and classification of clinical and subclinical mastitis utilizing a dynamometer and a handheld infrared thermometer. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102 (7): 6532–6539. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15509>

7. Nikitina M. V., Stolbova O. A., Skosyrskikh L. N. Studies on the ethiological factors of cattle mastitis. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2019; 5 (79): 197–200. EDN: VHYLTW (in Russ.)

8. Filatova A. V., Tshivale B. M., Fedotov S. V., Avdeenko V. S., Klimov N. T. Infectious factor in the etiology of mastitis in highly productive lactating cows. *Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine"*. 2022; 58 (4): 86–91. <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91> (in Russ.)

9. Erskine R. J. Mastitis in cattle. *MSD Veterinary Manual*. <https://www.msdvetmanual.com/reproductive-system/mastitis-in-large-animals/mastitis-in-cattle> (date access: 14.07.2023).

10. Werner C., Sauerwald C., Sundrum A., El-Sayed A., Zschöck M. Genotyping of *Streptococcus uberis* isolates in healing process of bovine clinical mastitis. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2018; 6 (2): 274–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.09.005>

11. Špakauskas V., Klimiene I. Investigations of efficacy and toxicity of a new antiseptic gel for treatment of udder skin diseases. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2006; 34 (56): 49–53.

12. Nikulin D. M. Stafilokokkovyi mastit korov = Staphylococcal mastitis in cows. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2013; (8): 16–18. (in Russ.)

13. Avduevskaya N. N., Kapustin A. V., Gorbato V. A., Ivanov E. V. Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 296–302. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302>
14. Ashraf A., Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews*. 2020; 21 (1): 36–49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>
15. Bradley A. J. Bovine mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal*. 2002; 164 (2): 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2002.0724>
16. Cobirka M., Tancin V., Slama P. Epidemiology and classification of mastitis. *Animals*. 2020; 10 (12): 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
17. Dworecka-Kaszak B., Krutkiewicz A., Szopa D., Kleczkowski M., Biegańska M. High prevalence of *Candida* yeast in milk samples from cows suffering from mastitis in Poland. *The Scientific World Journal*. 2012; 2012:196347. <https://doi.org/10.1100/2012/196347>
18. Dyson R., Charman N., Hodge A., Rowe S. M., Taylor L. F. A survey of mastitis pathogens including antimicrobial susceptibility in southeastern Australian dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (2): 1504–1518. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20955>
19. Watts J. L. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 1988; 16 (1): 41–66. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90126-5)
20. Gorbato V. A., Sokolova N. A., Loschinin M. N. Virulence factors of streptococci and staphylococci and specific prevention of mastitis of cows. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2019; 4 (32): 428–433. EDN: ZTBSFX (in Russ.)
21. Dolganov V. A., Epanchintseva O. S., Karabanova L. V. Etiologiya mastita u korov = Mastitis etiology in cows. *Rossiia molodaya: peredovye tekhnologii – v promyshlennost'*. 2013; 3: 27–29. EDN: RQCWHZ (in Russ.)
22. Zhylkaidar A., Oryntaev K., Altenov A., Kyplybai E., Chayxmet E. Prevention of bovine mastitis through vaccination. *Archives of Razi Institute*. 2021; 76 (5): 1381–1387. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356008.1764>
23. Avduevskaya N. N. *Staphylococcus aureus* is one of the main pathogens of mastitis of lactating cows. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2020; 2 (34): 245–249. <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>
24. Abril A. G., Villa T. G., Barros-Velázquez J., Cañas B., Sánchez-Pérez A., Calo-Mata P., Carrera M. *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. *Toxins*. 2020; 12 (9): 537. <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>
25. Dolganov V. A., Epanchintseva O. S., Lutikova A. V., Zavgorodnyaya N. V. Rasprostraneniye i etiologiya mastitov u doinykh korov = Distribution and etiology of mastitis in dairy cows. *Dynamics of Systems, Mechanisms and Machines*. 2012; 5: 107–110. EDN: SHJXVB (in Russ.)
26. Mihailovskaya V. S., Yudina K. A., Zhdanova I. N., Maslennikova I. L., Kuznetsova M. V. *Escherichia coli* in the spectrum of microbial cultures isolated from healthy cows and cows with mastitis. *Simbioz-Rossiya 2022: sbornik statei XIII Mezhdunarodnoi konferentsii uchenykh-biologov (g. Perm', 24–25 oktyabrya 2022 g.) = Simbiosis-Russia 2022: collection of papers of XIII International Conference of researchers-biologists (Perm, 24–25 October 2022)*. Perm: Perm State University; 2023; 132–137. EDN: BDZMGJ (in Russ.)
27. Alghazali M. A. Ja. Application of biochemical tests and polymerase chain reaction for the identification of *Escherichia coli* in cattle milk in suspected mastitis. *Fundamental'nye i prikladnye nauchnye issledovaniya: aktual'nye voprosy, dostizheniya i innovatsii: sbornik statei LVII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. V 2 ch. (g. Penza, 15 iyunya 2022 g.) T.1 = *Fundamental and applied scientific research: current issues, achievements and innovations: collection of papers of LVII International Scientific and Practical Conference*. In 2 parts (Penza, 15 June 2022) Vol. 1. Penza: Nauka i prosveshchenie; 2022; 22–24. EDN: LCDPEG (in Russ.)
28. Penzeva N. S. Etiologiya, priznaki i lechenie seroznogo mastita = Etiology, signs and treatment of serous mastitis. *Innovatsionnye resheniya dlya APK: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Mayskii, 14–15 marta 2023 g.) = Innovative solutions for the agro-industrial complex: proceedings of the International Scientific Conference (s. Mayskiy, 14–15 March 2023)*. Vol. 2. Mayskii: FSBEI HE Belgorod SAU; 2023; 80. EDN: MDYKEZ (in Russ.)
29. Barkova A. S., Kolchina A. F., Elesin A. V. Mammary gland nipple diseases. Etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention. LAP LAMBERT Academic Publishing; 2012. 233 p. (in Russ.)
30. Mitykhan V. Kh. Rasprostranennost' klinicheskogo mastita korov v khozyaystvakh Rostovskoi oblasti = Distribution of bovine clinical mastitis in holdings in Rostov Oblast. *Sovremennye nauchnye issledovaniya: teoriya, metodologiya, praktika: sbornik nauchnykh statei po materialam V Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (g. Ufa, 22 iyunya 2021 g.) = Modern scientific research: theory, methodology, practice: collection of papers based on proceedings of V International Scientific and Practical Conference (Ufa, 22 June 2021)*. Ufa: NITs "Vestnik nauki"; 2021; 7–10. EDN: KXLQRT (in Russ.)
31. Pavlenko O. B., Falkov B. Distribution of mastitis in cows in Lipetsk region. *Veterinarno-sanitarnye aspekty kachestva i bezopasnosti sel'skokhozyaystvennoi produktsii: materialy V Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Voronezh, 16 dekabrya 2021 g.) = Veterinary and sanitary aspects of quality and safety of agricultural products: proceedings of V International Scientific and Practical Conference (Voronezh, 16 December 2021)*. Pt. 2. Voronezh SAU; 258–262. EDN: PCCAIB (in Russ.)
32. Shevelyova S. A. Aktual'nye voprosy kachestva i bezopasnosti molochnykh produktov = Current issues of dairy product quality and safety. *Milk Processing*. 2014; 7 (177): 6–11. EDN: SHVMWJ (in Russ.)
33. Gonzalez P. N., Jasper D. E., Kronlund N. C., Farver T. B., Cullor J. S., Bushnell R. B., Dellinger J. D. Clinical mastitis in two California dairy herds participating in contagious mastitis control programs. *Journal of Dairy Science*. 1990; 73 (3): 648–660. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78716-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78716-4)
34. Rodin N. V., Avdeenko A. V., Abdessemed D., Avdeenko V. S. Etiology, diagnostics and veterinary-sanitary evaluation of milk in cows in case of mastitis. *The Bulletin of Saratov State Agrarian University in honor of N. I. Vavilov*. 2013; 10: 27–29. EDN: RELJXP (in Russ.)
35. Togobitskaya D. R. Improvement of complex treatment and preventive measures for cow mastitis in the Republic of Bashkortostan. Author's Thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Ufa; 2019. 155 p. (in Russ.)
36. Oskolkova M. V., Kuzmina E. V. Effect of physical and chemical factors on mastitis occurrence in cows. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2015; 2 (52): 98–100. EDN: TSCGVN (in Russ.)
37. Domotov V. V., Vasilyeva S. L., Nifontov K. R. Diagnosis and treatment of mastitis in cows. *Academic Bulletin of the Yakut State Agricultural Academy*. 2020; 8 (13): 12–17. EDN: LXXJQ (in Russ.)
38. Remizova E. V. Rasprostraneniye i etiologiya mastitov i endometritov u korov = Distribution and etiology of mastitis and endometritis in cows. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2021; (8): 96–98. <https://doi.org/10.24412/cl-33489-2021-8-96-98> (in Russ.)
39. Dzyuina Yu. A., Koval I. V. Mastitis in cows, etiology, methods of therapy. *Nauchnoe obespecheniye agropromyshlennogo kompleksa: sbornik statei po materialam 77-i nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov po itogam NIR za 2021 g. (g. Krasnodar, 1 marta 2022 g.) = Scientific support of the agro-industrial complex: a collection of papers based on the proceedings of the 77th Scientific and Practical Conference of Students based on research results in 2021 (Krasnodar, 1 March 2022)*. Pt. 1. Krasnodar: KubSAU; 2022; 334–337. EDN: NIOTBG (in Russ.)
40. Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hosain D., et al. Subclinical mastitis in dairy cows in south-Asian countries: A review of risk factors and etiology to prioritize control measures. *Veterinary Research Communications*. 2022; 46 (3): 621–640. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09948-x>
41. Diwakar R. P., Ojasvita, Kumar P., Deora A., Sharma H., Sharma S., et al. Bovine mastitis: A review. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2020; 28 (6): 497–507. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2020.497.507>
42. Saleem H. D., Razooqi M. A., Gharban H. A. J. Cumulative effect of subclinical mastitis on immunological and biochemical parameters in cow milk. *Archives of Razi Institute*. 2021; 76 (6): 1629–1638. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356311.1819>
43. Huang Q., Zheng X. M., Zhang M. L., Ning P., Wu M. J. Lactation mastitis: Promising alternative indicators for early diagnosis. *World Journal of Clinical Cases*. 2022; 10 (31): 11252–11259. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i31.11252>
44. Ruegg P. L. A 100-year review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100 (12): 10381–10397. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
45. Oliveira L., Hulland C., Ruegg P. L. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*. 2013; 96 (12): 7538–7549. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6078>
46. Litkina A. M., Trishin N. D. Mastitis in cattle – diagnosis and prevention. *Innovatsionnye idei molodykh issledovatelei dlya agropromyshlennogo kompleksa: sbornik materialov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (g. Penza, 24–25 marta 2022 g.) = Innovative ideas of young researchers for the agro-industrial complex: a collection of proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Penza, 24–25 March 2022)*. Pt. 1. Penza: Penza SAU; 2022; 160–162. EDN: EXAHDX (in Russ.)
47. Zigo F., Vasil' M., Ondrašovičová S., Výrostková J., Bujok J., Pecka-Kielb E. Maintaining optimal mammary gland health and prevention of mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8: 607311. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.607311>
48. Sharun K., Dhama K., Tiwari R., Gugjoo M. B., Iqbal Yatoo M., Patel S. K., et al. Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*. 2021. 41 (1): 107–136. <https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1882713>

49. Muzyka V. P., Stetsko T. I., Pashkovskaya M. V. Antibiotikorezistentnost' v veterinarnoi meditsine. = Antimicrobial resistance in veterinary medicine. *Aktual'nye problemy i innovatsii v sovremennoi veterinarnoi farmakologii i toksikologii: materialy V Mezhduнародного s'ezda veterinarnykh farmakologov i toksikologov* (g. Vitebsk, 26–30 maya 2015 g.) = Current problems and innovations in modern veterinary pharmacology and toxicology: proceedings of V International Congress of Veterinary Pharmacologists and Toxicologists (Vitebsk, 26–30 May 2015). Vitebsk: Vitebsk SAVM; 2015; 20–26. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/7963>
50. Gorbenko A. V., Gadzevich D. V., Guzhvinskaya S. A., Gadzevich O. V., Krivogina T. V., Dounaev Yu. K. The pathogen of clinical and subclinical mastitis cows and their sensitivity to antibacterial drugs. *Veterinary Medicine*. 2013; 97: 176–180. EDN: STHPGT (in Russ.)
51. Aliev A. U., Bulatkhonov B. B., Magomedov M. Z., Magomedov A. S., Klimov N. T. Milk microflora in sheep and cows with subclinical mastitis and its antibiotic sensitivity. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2019; (2): 43–48. EDN: PNLELM (in Russ.)
52. Hiitö H., Vakkamäki J., Simojoki H., Autio T., Junnila J., Pelkonen S., Pyörälä S. Prevalence of subclinical mastitis in Finnish dairy cows: changes during recent decades and impact of cow and herd factors. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2017; 59 (1):22. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0288-x>
53. Gamayunov V. M., Onufriev V. A., Tselueva N. I. Integrated system for the prevention and treatment of mastitis in lactating cows. *International bulletin of Veterinary Medicine*. 2022; (2): 169–172. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.169> (in Russ.)
54. Slobodyanik V. I., Klimov N. T., Cheskidova L. V., Zverev E. V. Immunological aspects of cow mastitis control: monograph. Voronezh: Istoki; 2020. 222 p. (in Russ.)
55. El-Sayed A., Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production*. 2021; 53 (2):236. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02680-9>
56. Klimova L. A., Riaposova M. V., Shkuratova I. A., Tarasenko M. N., Tarasov M., Pavlova N. A. Experience of Startvac use on LLC "Nekrasovo-1" against bovine mastitis, Sverdlovsk Region. *Veterinariya*. 2014; 9: 34–37. EDN: SLPKXH (in Russ.)
57. Quiroga J., Vidal S., Siel D., Caruffo M., Valdés A., Cabrera G., et al. Novel proteoliposome-based vaccine against *E. coli*: A potential new tool for the control of bovine mastitis. *Animals*. 2022; 12 (19):2533. <https://doi.org/10.3390/ani12192533>
58. Amanullin R. A. Effektivnost' assotsirovannoi inaktivirovannoi vaksiny "VAKOLIN" pri mastitakh korov = Effectiveness of "VACOLIN" combined inactivated vaccine against bovine mastitis. *Prikladnaya mikrobiologiya*. 2015; 2 (1): 40–44. EDN: TYOUAR (in Russ.)
59. Skosyrskikh L. N. Perspektivy primeneniya vaksiny protiv mastita korov = Prospects of vaccines against bovine mastitis. *Bulletin of the Northern Trans-Ural State Agricultural University*. 2013; 4 (23): 57–60. EDN: SDWOZR (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 25.12.2023

Поступила после рецензирования / Revised 19.02.2024

Принята к публикации / Accepted 29.02.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Андреева Анна Андреевна, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики бактериальных болезней ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0003-7681-3286>, e-mail: andreeva_aan@arriah.ru

Евграфова Валерия Андреевна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики бактериальных болезней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3053-6976>, e-mail: evgrafova@arriah.ru

Воронина Маргарита Сергеевна, канд. вет. наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики бактериальных болезней ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1531-004X>, voronina@arriah.ru

Прунтова Ольга Владиславовна, д-р биол. 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, канд. биол. наук, заведующий отделом микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

Anna A. Andreeva, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for Bacterial Disease Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0003-7681-3286>, e-mail: andreeva_aan@arriah.ru

Valeria A. Evgrafova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Bacterial Disease Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3053-6976>, e-mail: evgrafova@arriah.ru

Margarita S. Voronina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Bacterial Disease Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1531-004X>, voronina@arriah.ru

Olga V. Pruntova, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru

Natalya B. Shadrova, Cand. Sci. (Biology), Head of Department for Microbiological Testing, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

Вклад авторов: Андреева А. А. – концепция обзора, проведение поисково-аналитической работы, подготовка и написание статьи; Евграфова В. А. – курирование, концепция обзора; Воронина М. С. – проведение поисково-аналитической работы, подготовка и написание статьи; Прунтова О. В. – подготовка и написание статьи; Шадрова Н. Б. – подготовка и написание статьи.

Contribution: Andreeva A. A. – review concept, data search and analysis, text preparation and writing; Evgrafova V. A. – supervision, review concept; Voronina M. S. – data search and analysis, text preparation and writing; Pruntova O. V. – text preparation and writing; Shadrova N. B. – text preparation and writing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-36-43>
УДК 619:616.98:578.826.1:616-097.3



Аденовирусные инфекции птиц: многообразие возбудителей, опасность для птицеводства и проблемы иммунопрофилактики (обзор)

Ю. Р. Зеленский, М. С. Волков, И. А. Комаров, Н. В. Мороз, Н. С. Мудрак, Т. В. Жбанова

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Представлены данные о многообразии возбудителей аденовирусных инфекций в природе и роли основных патогенов семейства *Adenoviridae* в инфекционной патологии сельскохозяйственной птицы. Особое внимание уделено проблемным вопросам иммунопрофилактики ввиду отсутствия перекрестного иммунитета между разными серотипами вируса. В мире нет единого и эффективного подхода в стратегии иммунопрофилактики аденовириозов птиц, поэтому совершенствование средств борьбы с аденовирусными заболеваниями птиц является актуальной и важной задачей. Аденовирусные инфекции птиц представлены разными нозологическими единицами: синдромом снижения яйценоскости, синдромом гидроперикардита кур, эрозией желудка, болезнью мраморной селезенки фазанов, геморрагическим энтеритом индеек, гепатитом с тельцами-включениями и множеством неклассифицированных болезней. Приводится информация об основных нозологических формах аденовирусных инфекций, представляющих угрозу для рентабельного ведения птицеводства, освещены результаты исследований зарубежных авторов по изучению эффективности некоторых вакцин против аденовириозов. Большинство вакцин разработаны для профилактики синдрома гидроперикардита кур, однако существование множества серотипов возбудителя требует создания эффективных средств профилактики и диагностики в целях контроля и других инфекций, вызываемых аденовирусами. Нет ни одной зарегистрированной вакцины против аденовирусных инфекций, вызывающих гепатит с тельцами-включениями и эрозию желудка. При этом на долю только гепатита с тельцами-включениями приходится 2,9% от всех регистрируемых инфекционных заболеваний птиц. Вакцин, зарегистрированных на территории Российской Федерации, недостаточно для полного контроля данных инфекций, что требует своевременного решения проблемы. Многообразие возбудителей аденовирусных инфекций птиц обуславливает проблематику их дифференциальной диагностики и специфической профилактики.

Ключевые слова: обзор, аденовирусные инфекции птиц, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus*, *Siadenovirus*

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

Для цитирования: Зеленский Ю. Р., Волков М. С., Комаров И. А., Мороз Н. В., Мудрак Н. С., Жбанова Т. В. Аденовирусные инфекции птиц: многообразие возбудителей, опасность для птицеводства и проблемы иммунопрофилактики (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 36–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-36-43>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Зеленский Юрий Романович, ветеринарный фельдшер лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, e-mail: zelenskiy@arria.ru

Avian adenovirus infections: diversity of pathogens, hazard to poultry industry and problems of immunoprophylaxis (review)

Yuriy R. Zelenskiy, Mikhail S. Volkov, Ilya A. Komarov, Natalya V. Moroz, Natalia S. Mudrak, Tatyana V. Zhbanova

Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

The data on diversity of adenovirus pathogens in nature and the role of the main representatives of the *Adenoviridae* family in poultry infectious pathology are presented. Special attention is paid to problematic issues of immunoprophylaxis due to lack of cross-immunity between different virus serotypes. There is no single and effective approach in the global strategy of immunoprophylaxis of avian adenoviruses, therefore, improving the means of avian adenovirus disease control is an urgent and important task. Avian adenovirus infections are represented by different nosological units: egg drop syndrome, hydropericardium syndrome, adenoviral gizzard erosion, marbled spleen disease of pheasants, hemorrhagic enteritis of turkeys, inclusion body hepatitis and many unclassified diseases. The paper provides data on the main nosological forms of adenovirus infections that pose a threat to cost-effective poultry farming, and highlights test results obtained by foreign authors on the effectiveness of some vaccines against adenovirus infection. Most vaccines have been developed to prevent avian hydropericardium syndrome,

however, occurrence of many virus serotypes requires effective means of prevention and diagnosis in order to control other infections caused by adenoviruses. There is no registered vaccine against adenovirus infections that cause inclusion body hepatitis and adenoviral gizzard erosion. At the same time, inclusion body hepatitis alone accounts for 2.9% of all recorded avian infectious diseases. Vaccines registered in the Russian Federation are not enough to fully control these infections, and that requires a timely solution to the problem. The variety of avian adenoviruses determines the problems of their differential diagnosis and specific prevention.

Keywords: review, avian adenovirus infections, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus*, *Siadenovirus*

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

For citation: Zelenskiy Yu. R., Volkov M. S., Komarov I. A., Moroz N. V., Mudrak N. S., Zhananova T. V. Avian adenovirus infections: diversity of pathogens, hazard to poultry industry and problems of immunoprophylaxis (review). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 36–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-36-43>

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

For correspondence: Yuriy R. Zelenskiy, Paraveterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, e-mail: zelenskiy@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Продовольственная безопасность – проблема всей планеты, и в ее решении лидирующую роль играет птицеводство, на долю которого приходится около 39% от общего производства мяса в мире. В России доля производства мяса птицы составляет 46% от общей выработки мяса [1]. Следует отметить, что на продукцию птицеводства не распространяются конфессиональные ограничения – ни одна религия не запрещает употребления в пищу мяса и яиц кур [2].

Огромный ущерб отрасли птицеводства наносят инфекционные заболевания, при этом не только особо опасные, но и экономически значимые, например аденовирусные, имеющие тенденцию к широкому распространению. В прошлом исследователи не уделяли особого внимания аденовирусам птиц (fowl adenovirus, FAdV) из-за их ограниченной клинической значимости, но в последние десятилетия аденовирусы стали значимыми полевыми патогенами, вызывающими заболевания, оказывающие серьезное влияние на здоровье сельскохозяйственной птицы и рентабельность птицеводства. В связи с этим стало расти количество научных исследований, посвященных FAdV [3, 4]. В последние годы получены новые данные о перекрестном иммунитете между разными серотипами аденовирусов, разработаны инактивированные, живые и рекомбинантные вакцины против отдельных заболеваний аденовирусной этиологии, изучена их иммуногенная активность.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы обобщить разрозненные материалы по аденовиروزам птиц с особым акцентом на многообразие возбудителей и проблему эффективной иммунопрофилактики, а также показать роль отдельных аденовирусных заболеваний в инфекционной патологии птиц.

АДЕНОВИРУСЫ: СИСТЕМАТИКА, ОПИСАНИЕ, ВОСПРИИМЧИВЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Adenoviridae – это семейство безоболочечных вирусов с икосаэдрической симметрией диаметром 90 нм. Нуклеиновая кислота представлена двухцепочечной линейной ДНК длиной 25–48 тыс. пар нуклеотидов с инвертированными концевыми повторами и терминальным белком TP (55 кДа), ковалентно связанным с 5'-концами обеих цепей [5, 6, 7, 8]. Вирусный капсид

имеет псевдотриангуляционное число, равное 25, и состоит из 252 капсомеров: 240 гексонов и 12 пентонов с фибрильными отростками длиной от 9 до 77,5 нм [5, 9].

Аденовирусы обнаружены у многих позвоночных – от рыб до человека – и представлены шестью родами:

- *Mastadenovirus* – 51 вид, способный инфицировать млекопитающих, в том числе и человека;
- *Aviadenovirus* – 16 видов, инфицирующих птиц;
- *Atadenovirus* – 10 видов, способных заражать рептилий, птиц, жвачных и сумчатых млекопитающих;
- *Siadenovirus* – 8 видов, инфицирующих лягушек и птиц;
- *Ichtadenovirus* – 1 вид, инфицирующий белуг;
- *Testadenovirus* – 1 вид, инфицирующий красноухих ползунов.

Демаркация рода основана на филогенетических, биологических характеристиках, а также на организации генома [5, 10, 11].

Птиц поражают представители трех родов семейства *Adenoviridae*:

- *Aviadenovirus* (FAdV) – виды A, B, C, D, E, разделенные на 12 серотипов с помощью реакции перекрестной нейтрализации, вызывают как у домашних, так и синантропных птиц гепатиты с тельцами-включениями, синдромом гидроперикардита и эрозию желудка;
- *Siadenovirus* вызывает геморрагический энтерит индеек, мраморную болезнь селезенки фазанов, аденовирусную спленомегалию у кур;
- *Atadenovirus* – аденовирус уток, патогенный для кур и вызывающий синдром снижения яйценоскости (ССЯ-76) [5, 12].

Таким образом, многообразие возбудителей аденовирусных инфекций птиц и обуславливает проблематику их дифференциальной диагностики и специфической профилактики.

ОСНОВНЫЕ АДЕНОВИРОЗЫ ПТИЦ

Синдром снижения яйценоскости (ССЯ-76) – аденовирусная инфекция птиц, поражающая кур-несушек, проявляющаяся снижением яйценоскости, размягчением скорлупы (вплоть до полного ее отсутствия) и ее депигментацией. Впервые была описана голландскими учеными в 1976 г. [13]. Возбудителем ССЯ-76 является аденовирус уток (DAdV-1), контаминация которым

живой вакцины против болезни Марека привела к первичному заражению кур и адаптации к новому хозяину [14]. Ведущий признак ССЯ-76 – это снижение яйценоскости до 15% и более [15]. Для данного заболевания характерно вирусоносительство: в подавляющем большинстве случаев птица выглядит здоровой, болезнь не проявляется, а начинает развиваться, когда особь достигает половой зрелости и испытывает стресс в связи с началом яйцекладки. В настоящее время ССЯ-76 широко распространен во многих странах с развитым промышленным птицеводством [13].

Геморрагический энтерит индеек (*haemorrhagic enteritis, HE*) – вирусное заболевание домашней птицы, вызываемое аденовирусами из рода *Siadenovirus*, вида *Turkey siadenovirus A* (TadV-A), и проявляющееся иммуносупрессией у индюков старше 4-недельного возраста [16]. Для болезни характерно два варианта течения. При первом варианте геморрагический энтерит вызывается высоковирулентными штаммами возбудителя и протекает с выраженными клиническими признаками, такими как депрессия и желудочно-кишечные кровотечения. Вирус вызывает иммуносупрессию, на фоне которой происходит вторичное инфицирование условно-патогенными микроорганизмами. Данная болезнь часто заканчивается гибелью птицы (до 80%) из-за кровопотери и вторичной инфекции [17, 18]. При втором варианте геморрагический энтерит протекает без видимых симптомов и вызывается низковирулентными штаммами вируса, которые обуславливают иммуносупрессию, приводящую к развитию вторичных бактериальных осложнений. Это приводит к экономическим потерям, связанным с необходимостью применения антибактериальных препаратов и выбраковкой [19, 20]. Болезнь широко распространена в популяциях индеек во всем мире [21].

Болезнь мраморной селезенки фазанов (*marble spleen disease, MSD*) – инфекционное заболевание фазанов, поражающее птиц в возрасте от 3 до 8 мес., вызываемое аденовирусом II группы из рода *Siadenovirus*. Возбудитель тесно связан с двумя другими представителями рода: возбудителем аденовирусной спленомегалии цыплят и возбудителем геморрагического энтерита индеек [22]. Характерным признаком болезни, наблюдаемым при патолого-анатомическом вскрытии, является спленомегалия и мраморный рисунок селезенки. Выявляют застойные явления и отек легких. Наблюдаются некроз лимфоидных фолликулов и очаги некроза в печени. Клинически болезнь проявляется нарушением дыхания, асфиксией и внезапной смертью. Летальность может варьировать от 1–3 до 15% [23], заболевание является высококонтагиозным и встречается во всем мире [24].

Аденовирусная спленомегалия кур (*avian adenovirus splenomegaly, AAS*) – вирусная болезнь кур, клинически и патолого-анатомически схожая с болезнью мраморной селезенки фазанов. При вскрытии цыплят обнаруживают увеличенную «мраморную печень», дегенеративные изменения в лимфоидной ткани легких, реже – легочные кровоизлияния и отек легких [25].

Эрозия желудка (*adenoviral gizzard erosion, AGE*) – болезнь кур, вызываемая аденовирусом I группы FAdV-1. Долгое время способность аденовирусов птиц самостоятельно вызывать заболевания у птиц оспаривалась, но в последнее десятилетие была доказана ведущая роль FAdV-1 в этиологии аденовирусной эрозии желудка

кур [26]. FAdV-1 относится к роду *Aviadenovirus*, виду A (I группа птичьих аденовирусов) [5]. Болезнь имеет широкое распространение в Европе и Азии (Иран [27], Япония [28], Швеция [29], Корея [30]). Заболевание клинически проявляется угнетением, анорексией [28], снижением привесов и приводит к падежу. Часто инфекция протекает без видимой клинической картины и диагностируется только после убоя. При вскрытии выявляют некрозы и воспаление слизистой оболочки желудка, наблюдают наличие геморрагической жидкости в полости желудка [26]. Болезнь распространяется как вертикально, так и горизонтально (в основном фекально-оральным путем) и поражает как цыплят-бройлеров, так и кур-несушек, нанося серьезный экономический ущерб. Так, во время вспышки аденовирусной эрозии желудка в Иране в 2019 г. на ферме в провинции Мазендеран летальность цыплят-бройлеров составила 6%, а достижение требуемого убойного веса произошло с задержкой на одну неделю, к тому же на бойне было выбраковано множество пораженных желудков птиц [27].

Синдром гидроперикардита кур (СГПК) – вирусное заболевание домашней птицы, вызываемое аденовирусом птиц I группы FAdV-4 и приводящее к большим экономическим потерям в птицеводстве. Болеют преимущественно цыплята-бройлеры в возрасте от 3 до 5 недель. Летальность у бройлеров колеблется от 30 до 80%, у кур-молодок – от 2,6 до 15,29% [31]. Длительное время не удавалось установить причину данного заболевания. Его возникновение связывали с нарушением технологии кормления и содержания птицы, с дисбалансом минеральных веществ и витаминов, а также с токсикоинфекцией [32]. Но в дальнейшем подтверждения этой связи найти не удалось [33]. Обнаружение телец-включений в гепатоцитах при гистологических исследованиях дало основание полагать, что причиной СГПК является вирус [34]. Впоследствии патоген был выделен из печени павших от СГПК цыплят и идентифицирован как аденовирус птиц I группы [35]. Возбудитель СГПК распространяется как вертикально от вирусоносителей и больной птицы, так и горизонтально через контаминированные фекалиями и экскрементами больных птиц подстилку, корм, воду и инвентарь [36, 37]. Есть предположение, что вирус гидроперикардита может распространяться через живые вакцины, изготовленные с использованием контаминированных аденовирусом куриных эмбрионов. Такие случаи описаны в Пакистане [38]. Заболевание часто протекает бессимптомно, с внезапной гибелью. У больной птицы может наблюдаться взъерошенность, опускание крыльев, угнетение, затрудненное дыхание, отказ от корма, диарея с зелено-желтыми фекалиями [39]. Проявление клинических признаков болезни зависит от большого количества факторов и их сочетания: условий кормления и содержания, естественной резистентности организма, генетики, наличия сопутствующих заболеваний. СГПК чаще проявляется у птицы, находящейся в состоянии иммуносупрессии, вызванной такими причинами, как инфекционная бурсальная болезнь, кормовые токсикозы. Отмечается, что в бройлерном птицеводстве чистопородная птица болеет реже, чем гибриды [40]. При вскрытии больных цыплят обнаруживают следующие патолого-анатомические изменения: увеличенная, дряблая, с утолщенными краями печень бледно-коричневого или желтушного цвета,

иногда с очагами некроза; переполненный желчный пузырь с напряженными стенками; набухшие почки; деформированное, дряблкое сердце, часто с точечными кровоизлияниями. Полость перикарда заполнена прозрачной жидкостью соломенно-желтого цвета с вязкой консистенцией (до 20 мл) [41]. Могут наблюдаться анемия, отек подкожной жировой клетчатки, желтушность кожных покровов, геморрагии в органах и тканях [42]. При гистологических исследованиях в гепатоцитах обнаруживают базофильные и эозинофильные тельца-включения [43, 44].

Gepatit s тельцами-включениями (inclusion body hepatitis, IBH) – острое вирусное заболевание цыплят-бройлеров в возрасте от 2 до 7 недель, сопровождающееся задержкой роста и внезапной гибелью, при этом смертность варьирует от 10 до 30%. Изначально представлялось, что гепатит с тельцами-включениями является вторичным заболеванием, связанным с иммуносупрессией, но впоследствии было доказано, что заболевание имеет инфекционную природу, возбудителем является аденовирус птиц I группы – FAdV видов D (серотипы 2, 11) и E (серотипы 8a, 8b), поражающий как кур-несушек, так и бройлеров. Бройлеры наиболее подвержены заболеванию, болеет преимущественно молодняк старше 2 недель [45, 46, 47, 48]. Так, в Испании на цыплят-бройлеров в 2011–2021 гг. приходилось 92% всех случаев заболевания гепатитом с тельцами-включениями. Возбудитель преимущественно распространяется горизонтальным способом, но отмечен и вертикальный путь передачи [47]. Вирус имеет свойство реактивироваться с началом яйценоскости, вызывая субклиническое течение болезни, обеспечивающее вертикальную передачу [45]. Аденовирусы I группы способны инфицировать не только кур, но и другие виды птиц [48], в частности голубей, уток, перепелов, страусов [47]. Клинические признаки неспецифичны, как правило, наблюдаются в течение 4–5 дней и включают депрессию, взъерошенность оперения, малоподвижность, птица принимает сидячую позу. При вскрытии обнаруживают обширные или очаговые некрозы в печени, которая увеличивается в размере, становится рыхлой и бледной [45]. Встречаются случаи поражения поджелудочной железы – некрозы и атрофия, а также поражения почек [46] и селезенки [49]. При гистологическом исследовании обнаруживают лимфоидную инфильтрацию, очаги некроза, клеточную дегенерацию [46] и внутриядерные базофильные тельца-включения в гепатоцитах [45, 50].

Таким образом, аденовирусы птиц вызывают различные болезни, приводящие к серьезным экономическим потерям [49], которые выражаются в высокой летальности (при СГПК – до 80%), снижении продуктивности и необходимости вынужденной антибиотикотерапии против вторичных бактериальных инфекций, возникающих на фоне аденовирусной иммуносупрессии. Способность аденовирусов к длительной персистенции, реактивации, заражению не только сельскохозяйственных, но и синантропных и диких птиц, а также распространению с их помощью, кроме того, способность вызывать инфекцию без видимых клинических проявлений, преодолевать межвидовые барьеры (вирус ССЯ-76) обуславливают актуальность и насущность проблемы для промышленного птицеводства. Поэтому разработка методов борьбы с аденовирусными болез-

нями птиц является важной задачей и должна включать в себя не только совершенствование систем биобезопасности на промышленных предприятиях, но и разработку программ надзора, а также специфическую иммунопрофилактику.

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА

Иммунопрофилактика аденовирусных инфекций имеет большое значение и служит эффективным инструментом в контроле заболеваний. Снижение защитных сил организма, иммунодепрессивные состояния и стрессы, обусловленные как техногенными, так и биологическими факторами, являются причиной внезапной манифестации болезней, вызываемых вирусами FAdV [51]. А учитывая растущую интенсификацию производства продукции птицеводства [13], борьба с аденовирусными инфекциями становится все более актуальной проблемой [26]. С целью профилактики используют несколько видов вакцин: субъединичные, живые, аутогенные, инаktivированные. Для профилактики FAdV разработаны и применяются преимущественно инаktivированные вакцины, чаще всего используются органно-тканевые формолвакцины, изготовленные на основе гомогената печени. Данные препараты в полевых испытаниях продемонстрировали высокую иммуногенность. Так, по данным ряда исследований, они обеспечивали протективную активность при контрольном заражении вакцинированной птицы полевым изолятом гомологичного вируса в диапазоне 80–98,9% при 60–100%-й заболеваемости невакцинированных птиц в контрольной группе. Несмотря на высокую иммуногенность, данные препараты не лишены недостатков, таких как высокая стоимость, невозможность стандартизации по количеству антигена в одной дозе. Разработан ряд вакцинных инаktivированных препаратов на основе культурального вируса. В мире известны и живые вакцины, изготовленные на основе аттенуированного аденовируса. Большое преимущество таких биопрепаратов перед инаktivированными вакцинами – возможность их перорального применения. В полевых испытаниях данные вакцины обеспечили 94,7–100%-ю защиту от заражения гомологичным вирусом при 30–100%-й заболеваемости невакцинированных птиц. В последние годы проводятся испытания субъединичных вакцин на основе рекомбинантных белков F1, F2 и др., но недостатком таких препаратов является их низкая иммуногенность [26].

Все чаще публикуются сообщения о наличии перекрестной иммунной защиты между серотипами, принадлежащими не только к одному, но и к разным видам, хотя ранее считалось, что у аденовирусов птиц I группы отсутствует или слабо проявляется перекрестная иммунная защита между серотипами [52]. Некоторыми исследователями доказано существование перекрестной защиты как внутри, так и между видами [45]. В ряде исследований было установлено, что вакцинация птицы комбинированными (FAdV-8a и FAdV-11) инаktivированными [53] или живыми [45] вакцинами формирует перекрестную защиту не только от вируса серотипов FAdV-8a и FAdV-11, но и от других серотипов видов D и E [52]. Результаты еще одного эксперимента показали, что вакцина, созданная на основе FAdV-4, обеспечивала защиту не только от гомологичного серотипа, но еще и от серотипа FAdV-10, который является, как и FAdV-4, представителем вида C [54]. Исследование,

проведенное в 2019 г. Р. А. Steer-Cope et al., продемонстрировало перекрестную межвидовую защиту между видами D и E [52]. Из вышесказанного следует, что полиштамменные вакцины являются наиболее перспективными и могут обеспечивать защиту птиц от широкого спектра штаммов возбудителя.

В России зарегистрированы три вакцины против аденовирусных инфекций птиц, возбудителем которых являются аденовирусы I группы: вакцина против синдрома гидроперикардита кур инактивированная сорбированная (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия) [55], жидкая инактивированная против аденовирусного гепатита с включениями – гидроперикардита кур из штамма «Т-12» (ВНИВИП, Россия) и инактивированная эмульсионная вакцина против аденовирусного гепатита с включениями – гидроперикардита птиц (НПП «АВИВАК») [56]. К сожалению, нет ни одной зарегистрированной вакцины против гепатита с тельцами-включениями и эрозии желудка, вызываемых FAdV. При этом на долю только гепатита с тельцами-включениями приходится 2,9% от всех регистрируемых инфекционных заболеваний птиц [56]. Для защиты птиц от аденовируса III группы, обуславливающего синдром снижения яйценоскости, имеется несколько препаратов, выпускаемых в нашей стране: вакцина против ССЯ-76 из штамма «В8/78» производства ВНИВИП, инактивированные моно- и поливалентные вакцины против ССЯ-76 (штаммы «БИСС» и «В8/78») производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» и некоторые другие [57].

К сожалению, в мире нет единого и эффективного подхода в стратегии иммунопрофилактики аденовирусов птиц, поэтому совершенствование средств борьбы с аденовирусными заболеваниями птиц является актуальной и важной задачей [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аденовирусные инфекции птиц широко распространены в мире, в том числе России, и представляют опасность для рентабельного ведения птицеводства. Разнообразие серотипов вируса и выделение отдельных нозологических форм аденовирусов вызывают значительные трудности в диагностике и специфической профилактике данных инфекций. Учитывая отсутствие или недостаточность перекрестного иммунитета между разными серотипами аденовирусов, насущной проблемой является разработка средств специфической профилактики против каждого серотипа возбудителя аденовирусов, обуславливающих клинически значимую инфекцию. Вариабельность тропизма аденовирусов, способность к длительной персистенции, зарегистрированные случаи преодоления межвидового барьера, высокий уровень падежа при некоторых нозологических формах (СГПК, геморрагический энтерит индеек) требуют разработки программ контроля инфекций в промышленном птицеводстве, включая активный и пассивный мониторинг за циркуляцией патогена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бурмистров А. Фундамент мясного рациона: академик Владимир Фисинин о развитии птицеводства. *Научная Россия*. 15 октября 2022 г. <https://scientificrussia.ru/articles/fundament-masnogo-raciona-akademik-vladimir-fisinin-o-razviti-pticevodstva> (дата обращения: 25.03.2023).
- Фисинин В. И. Нарастаем производство мяса и яйца. *Животноводство России*. 2022; 53: 2–4. EDN: IUXECR

- Schachner A., Grafl B., Hess M. Spotlight on avian pathology: fowl adenovirus (FAdV) in chickens and beyond – an unresolved host-pathogen interplay. *Avian Pathology*. 2021; 50 (1): 2–5. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1810629>
- Schachner A., Hess M. Special issue: avian adenoviruses. *Viruses*. 2022; 14 (4):680. <https://doi.org/10.3390/v14040680>
- Benkő M., Aoki K., Arnberg N., Davison A. J., Echavarría M., Hess M., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Adenoviridae* 2022. *Journal of General Virology*. 2022; 103 (3):001721. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001721>
- Harrach B. Reptile adenoviruses in cattle? *Acta Veterinaria Hungarica*. 2000; 48 (4): 485–490. <https://doi.org/10.1556/004.48.2000.4.11>
- Lehmkuhl H. D., Hobbs L. A., Woods L. W. Characterization of a new adenovirus isolated from black-tailed deer in California. *Archives of Virology*. 2001; 146 (6): 1187–1196. <https://doi.org/10.1007/s007050170114>
- Zhu Y.-M., Yu Z., Cai H., Gao Y.-R., Dong X.-M., Li Z.-L., et al. Isolation, identification, and complete genome sequence of a bovine adenovirus type 3 from cattle in China. *Virology Journal*. 2011; 8:557. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-557>
- Benkő M., Aoki K., Arnberg N., Davison A. J., Echavarría M., Hess M., et al. Family: *Adenoviridae*. *International Committee on Taxonomy of Viruses*. <https://ictv.global/report/chapter/adenoviridae/adenoviridae> (дата обращения: 06.04.2023).
- Doszpoly A., Harrach B., LaPatra S., Benkő M. Unconventional gene arrangement and content revealed by full genome analysis of the white sturgeon adenovirus, the single member of the genus *Ichtadenovirus*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019; 75:103976. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103976>
- Harrach B., Tarján Z. L., Benkő M. Adenoviruses across the animal kingdom: a walk in the zoo. *FEBS Letters*. 2019; 593 (24): 3660–3673. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13687>
- McFerran J. B., Smyth J. A. Avian adenoviruses. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*. 2000; 19 (2): 589–601. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1238>
- Фомина Н. В. Аденовирусная инфекция животных: в 2 т. Т. 2. М.: Колос; 1995. 193 с.
- McFerran J. B. Egg drop syndrome, 1976 (EDS/76). *Veterinary Quarterly*. 1979; 1 (4): 176–180. <https://doi.org/10.1080/01652176.1979.9693744>
- Picault I. P. Chutes de ponte associes a la production sans coquille fragile propietes L agent infectieux isole an cours de la maladie. *Aviculteur*. 1978; 379: 57–60.
- Palomino-Tapia V., Mitevski D., Inglis T., van der Meer F., Abdul-Careem M. F. Molecular characterization of hemorrhagic enteritis virus (HEV) obtained from clinical samples in Western Canada 2017–2018. *Viruses*. 2020; 12 (9):941. <https://doi.org/10.3390/v12090941>
- Tykalowski B., Śmiałek M., Koncicki A., Ogniak K., Zduńczyk Z., Janowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15 (1):387. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2138-8>
- Fitzgerald S. D., Rautenschlein S., Mahsoub H. M., Pierson F. W., Reed W. M., Jack S. W. Adenovirus Infections. In: *Diseases of Poultry*. Eds. D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, et al. 14th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2020; 321–363. <https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch9>
- Koncicki A., Tykalowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Pestka D. Effect of infection of turkeys with haemorrhagic enteritis adenovirus isolate on the selected parameters of cellular immunity and the course of colibacillosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2012; 15 (2): 215–220. <https://doi.org/10.2478/v10181-011-0136-2>
- Chandra R., Kumar A. Haemorrhagic enteritis of turkeys and related infections of pheasants and domestic fowl: a review. *World's Poultry Science Journal*. 1998; 54 (3): 253–269. <https://doi.org/10.1079/WPS19980017>
- Dhama K., Gowthaman V., Karthik K., Tiwari R., Sachan S., Kumar M. A., et al. Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. *Veterinary Quarterly*. 2017; 37 (1): 31–42. <https://doi.org/10.1080/01652176.2016.1277281>
- Lee J.-K., Choi J.-H., Lee D.-W., Kim S.-J., Fitzgerald S. D., Lee Y.-S., Kim D.-Y. Marble spleen disease in pheasants in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2001; 63 (6): 699–701. <https://doi.org/10.1292/jvms.63.699>
- Некоторые болезни фазанов, их лечение и профилактика. Часть II. Инфекционные и инвазионные болезни. *Ветеринарная помощь*. <https://www.vetpomosh.ru/article45.php> (дата обращения: 07.06.2023).
- Fitzgerald S. D., Reed W. M. A review of marble spleen disease of ring-necked pheasants. *Journal of Wildlife Diseases*. 1989; 25 (4): 455–461. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-25.4.455>
- Veit H. P., Domermuth C. H., Gross W. B. Histopathology of avian adenovirus group II splenomegaly of chickens. *Avian Diseases*. 1981; 25 (4): 866–873. <https://doi.org/10.2307/1590061>

26. Schachner A., Matos M., Grafl B., Hess M. Fowl adenovirus-induced diseases and strategies for their control – a review on the current global situation. *Avian Pathology*. 2018; 47 (2): 111–126. <https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1385724>
27. Mirzazadeh A., Grafl B., Abbasnia M., Emadi-Jamali S., Abdi-Hachesoo B., Schachner A., Hess M. Reduced performance due to adenoviral gizzard erosion in 16-day-old commercial broiler chickens in Iran, confirmed experimentally. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:635186. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.635186>
28. Ono M., Okuda Y., Yazawa S., Shibata I., Tanimura N., Kimura K., et al. Epizootic outbreaks of gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens. *Avian Diseases*. 2001; 45 (1): 268–275. <https://doi.org/10.2307/1593040>
29. Lindgren Y., Banihashem F., Berg M., Eriksson H., Zohari S., Jansson D. S. Gizzard erosions in broiler chickens in Sweden caused by fowl adenovirus serotype 1 (FAdV-1): investigation of outbreaks, including whole-genome sequencing of an isolate. *Avian Pathology*. 2022; 51 (3): 257–266. <https://doi.org/10.1080/03079457.2022.2048631>
30. Lim T.-H., Kim B.-Y., Kim M.-S., Jang J.-H., Lee D.-H., Kwon Y.-K., et al. Outbreak of gizzard erosion associated with fowl adenovirus infection in Korea. *Poultry Science*. 2012; 91 (5): 1113–1117. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-02050>
31. Asthana M., Chandra R., Kumar R. Hydropericardium syndrome: current state and future developments. *Archives of Virology*. 2013; 158 (5): 921–931. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1570-x>
32. Proceedings of the 1st National Seminar on Hydropericardium-pulmonary-edema-hepatonephritis-syndrome. Karachi: Pakistan Veterinary Medical Association; 1988. 100 p.
33. Cowen B. S. Inclusion body hepatitis-anemia and hydropericardium syndromes: aetiology and control. *World's Poultry Science Journal*. 1992; 48 (3): 247–254. <https://doi.org/10.1079/WPS19920019>
34. Reece R. L., Barr D. A., Grix D. C., Forsyth W. M., Condron R. J., Hindmarsh M. Observations on naturally occurring inclusion body hepatitis in Victorian chickens. *Australian Veterinary Journal*. 1986; 63 (6): 201–202. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1986.tb02981.x>
35. Bergmann V. Einschlusskörperchenstruktur und elektronenmikroskopischer Virus-nachweis bei spontaner Einschlusskörperchen-hepatitis des Huhnes = Structure of inclusion bodies and electron microscopic virus detection in naturally occurring inclusion body hepatitis in chickens. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*. 1978; 32 (6): 831–840. PMID: 219796.
36. Shane S. M., Jaffery M. S. Hydropericardium-hepatitis syndrome (Angara disease). In: *Diseases of Poultry*. Ed. by B. W. Calnek. 10th ed. Ames: Iowa State University; 1997; 1019–1022.
37. Hess M., Blocker H., Brandt P. The complete nucleotide sequence of the egg drop syndrome virus: an intermediate between Mastadenoviruses and Aviadenoviruses. *Virology*. 1997; 238 (1): 145–156. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8815>
38. Akhtar S., Zahid S., Khan M. I. Risk factors associated with hydropericardium syndrome in broiler flocks. *Veterinary Record*. 1992; 131 (21): 481–484. <https://doi.org/10.1136/vr.131.21.481>
39. Anjum A. D. Study of pathogenicity of the hydropericardium syndrome agent. *Proceedings of the National Seminar on Hydropericardium Syndrome in Chickens in Pakistan (4 July 1988, Rawalpindi)*. 1988; 111–115.
40. Виноходов О. В., Виноходов В. О., Виноходов Д. О. Вирусные гепатиты птиц. *Архив ветеринарных наук: приложение к Т. 1 (48)*. СПб.; Ломоносов; 1988. 224 с.
41. Ahmad I., Afzal M., Malik M. I., Hussain Z., Hanif W. Disease pattern and etiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broiler chickens in Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Research*. 1989; 10 (2): 195–199.
42. Bickford A. A. Inclusion body hepatitis in chicken. *Poultry Digest*. 1972; 31: 345–347.
43. McFerran J. B. Adenovirus (group I) infection in chickens. In: *Diseases of Poultry*. Eds. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, H. W. Yoder. 9th ed. Ames: Iowa State University; 1991; 553–563.
44. Борисов В. В., Сурнев Д. С., Борисов А. В., Ирза В. Н., Лобанов В. А., Зуев Ю. В. и др. Вирусный синдром гидроперикардита кур. *Птица и птицепродукты*. 2003; 1: 29–32.
45. Popowich S., Gupta A., Chow-Lockerbie B., Ayalew L., Ambrose N., Ojic D., et al. Broad spectrum protection of broiler chickens against inclusion body hepatitis by immunizing their broiler breeder parents with a bivalent live fowl adenovirus vaccine. *Research in Veterinary Science*. 2018; 118: 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.03.003>
46. Abghour S., Zro K., Mouahid M., Tahiri F., Tarta M., Berrada J., Kichou F. Isolation and characterization of fowl aviadenovirus serotype 11 from chickens with inclusion body hepatitis in Morocco. *PLoS ONE*. 2019; 14 (12): e0227004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227004>
47. Bertran K., Blanco A., Antilles N., Nofrarias M., Valle R. M., Cobos A., et al. A 10-year retrospective study of inclusion body hepatitis in meat-type chickens in Spain (2011–2021). *Viruses*. 2021; 13 (11): 2170. <https://doi.org/10.3390/v13112170>
48. Schachner A., Grafl B., Hess M. Spotlight on avian pathology: fowl adenovirus (FAdV) in chickens and beyond – an unresolved host-pathogen interplay. *Avian Pathology*. 2021; 50 (1): 2–5. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1810629>
49. Cizmecigil U. Y., Umar S., Yilmaz A., Bayraktar E., Turan N., Tali B., et al. Characterisation of fowl adenovirus (FAdV-8b) strain concerning the geographic analysis and pathological lesions associated with inclusion body hepatitis in broiler flocks in Turkey. *Journal of Veterinary Research*. 2020; 64 (2): 231–237. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0026>
50. Ельникова Е. В., Борисов В. В. Изучение патогенных свойств полевых изолятов аденовирусов кур, выделенных на территории Российской Федерации. *Ветеринарная патология*. 2006; 4 (19): 126–131. EDN: OEDRKB
51. Чурина Е. Г., Новицкий В. В., Уразова О. И. Факторы иммуносупрессии при различных патологиях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011; 10 (4): 103–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-4-103-111>
52. Steer-Cope P. A., Sandy J. R., O'Rourke D., Scott P. C., Browning G. F., Noormohammadi A. H. Vaccination with FAdV-8a induces protection against inclusion body hepatitis caused by homologous and heterologous strains. *Avian Pathology*. 2019; 48 (5): 396–405. <https://doi.org/10.1080/03079457.2019.1612032>
53. Alvarado I. R., Villegas P., El-Attrache J., Jensen E., Rosales G., Perozo F., Purvis L. B. Genetic characterization, pathogenicity, and protection studies with an avian adenovirus isolate associated with inclusion body hepatitis. *Avian Diseases*. 2007; 51 (1): 27–32. [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2007\)051\[0027:GCPAPS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2007)051[0027:GCPAPS]2.0.CO;2)
54. Erny K., Pallister J., Sheppard M. Immunological and molecular comparison of fowl adenovirus serotypes 4 and 10. *Archives of Virology*. 1995; 140 (3): 491–501. <https://doi.org/10.1007/BF01718426>
55. Борисов В. В. Разработка средств и методов диагностики и специфической профилактики аденовирусных болезней кур: дис. ... д-ра вет. наук. Владимир; 2006. 350 с. EDN: NORKCN
56. Панкратов С. В., Придыбайло Н. Д., Крон Н. В. Вакцина против синдрома гидроперикардита птиц (АВИВАК-АДВГ). *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2009; 2: 41–42. EDN: JEMZQH
57. Куленкова И. В. Усовершенствование схемы применения вирусных вакцин для родительских и промышленных стад яичного направления в птицеводствах, неблагополучных по экто- и эндопаразитам кур: дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород; 2022. 127 с.

REFERENCES

1. Burmistrov A. Fundament myasnogo ratsiona: akademik Vladimir Fisinin o razvitiit pitsevodstva = Basis of meat diet: Academician Vladimir Fisinin on development of poultry industry. *Scientific Russia*. 15 October 2022. <https://scientificrussia.ru/articles/fundament-masnogo-ratsiona-akademik-vladimir-fisinin-o-razvitiit-pticevodstva> (date of access: 25.03.2023). (in Russ.)
2. Fisinin V. I. Increasing meat and egg production. *Animal Husbandry of Russia*. 2022; S3: 2–4. EDN: IUXECR (in Russ.)
3. Schachner A., Grafl B., Hess M. Spotlight on avian pathology: fowl adenovirus (FAdV) in chickens and beyond – an unresolved host-pathogen interplay. *Avian Pathology*. 2021; 50 (1): 2–5. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1810629>
4. Schachner A., Hess M. Special issue: avian adenoviruses. *Viruses*. 2022; 14 (4): 680. <https://doi.org/10.3390/v14040680>
5. Benkő M., Aoki K., Arnberg N., Davison A. J., Echavarría M., Hess M., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Adenoviridae* 2022. *Journal of General Virology*. 2022; 103 (3): 001721. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001721>
6. Harrach B. Reptile adenoviruses in cattle? *Acta Veterinaria Hungarica*. 2000; 48 (4): 485–490. <https://doi.org/10.1556/004.48.2000.4.11>
7. Lehmkühl H. D., Hobbs L. A., Woods L. W. Characterization of a new adenovirus isolated from black-tailed deer in California. *Archives of Virology*. 2001; 146 (6): 1187–1196. <https://doi.org/10.1007/s007050170114>
8. Zhu Y.-M., Yu Z., Cai H., Gao Y.-R., Dong X.-M., Li Z.-L., et al. Isolation, identification, and complete genome sequence of a bovine adenovirus type 3 from cattle in China. *Virology Journal*. 2011; 8: 557. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-557>
9. Benkő M., Aoki K., Arnberg N., Davison A. J., Echavarría M., Hess M., et al. Family: *Adenoviridae*. *International Committee on Taxonomy of Viruses*. <https://ictv.global/report/chapter/adenoviridae/adenoviridae> (date of access: 06.04.2023).
10. Doszpoly A., Harrach B., LaPatra S., Benkő M. Unconventional gene arrangement and content revealed by full genome analysis of the white sturgeon adenovirus, the single member of the genus *Ichtadenovirus*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019; 75: 103976. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103976>

11. Harrach B., Tarján Z. L., Benkő M. Adenoviruses across the animal kingdom: a walk in the zoo. *FEBS Letters*. 2019; 593 (24): 3660–3673. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13687>
12. McFerran J. B., Smyth J. A. Avian adenoviruses. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*. 2000; 19 (2): 589–601. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1238>
13. Fomina N. V. Adenovirus Infection of Animals: 2 volumes. Vol. 2. Moscow: Kolos; 1995; 193 p. (in Russ.)
14. McFerran J. B. Egg drop syndrome, 1976 (EDS'76). *Veterinary Quarterly*. 1979; 1 (4): 176–180. <https://doi.org/10.1080/01652176.1979.9693744>
15. Picault I. P. Chutes de ponte associées à la production sans coquille fragile propriétés L agent infectieux isolé au cours de la maladie. *Aviculteur*. 1978; 379: 57–60. (in French)
16. Palomino-Tapia V., Mitevski D., Inglis T., van der Meer F., Abdul-Careem M. F. Molecular characterization of hemorrhagic enteritis virus (HEV) obtained from clinical samples in Western Canada 2017–2018. *Viruses*. 2020; 12 (9):941. <https://doi.org/10.3390/v12090941>
17. Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A., Ognik K., Zduńczyk Z., Janowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15 (1):387. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2138-8>
18. Fitzgerald S. D., Rautenschlein S., Mahsoub H. M., Pierson F. W., Reed W. M., Jack S. W. Adenovirus Infections. In: *Diseases of Poultry*. Eds. D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, et al. 14th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2020; 321–363. <https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch9>
19. Koncicki A., Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Pestka D. Effect of infection of turkeys with haemorrhagic enteritis adenovirus isolate on the selected parameters of cellular immunity and the course of colibacillosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2012; 15 (2): 215–220. <https://doi.org/10.2478/v10181-011-0136-2>
20. Chandra R., Kumar A. Haemorrhagic enteritis of turkeys and related infections of pheasants and domestic fowl: a review. *World's Poultry Science Journal*. 1998; 54 (3): 253–269. <https://doi.org/10.1079/WPS19980017>
21. Dhama K., Gowthaman V., Karthik K., Tiwari R., Sachan S., Kumar M. A., et al. Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. *Veterinary Quarterly*. 2017; 37 (1): 31–42. <https://doi.org/10.1080/01652176.2016.1277281>
22. Lee J.-K., Choi J.-H., Lee D.-W., Kim S.-J., Fitzgerald S. D., Lee Y.-S., Kim D.-Y. Marble spleen disease in pheasants in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2001; 63 (6): 699–701. <https://doi.org/10.1292/jvms.63.699>
23. Nekotorye bolezni fazanov, ikh lechenie i profilaktika. Chast' II. Infektsionnye i invazionnye bolezni = Pheasant diseases, their treatment and prevention. Part II. Infectious and parasitic diseases. *Veterinarnaya pomoshch'*. <https://www.vetpomosh.ru/article45.php> (date of access: 07.06.2023). (in Russ.)
24. Fitzgerald S. D., Reed W. M. A review of marble spleen disease of ring-necked pheasants. *Journal of Wildlife Diseases*. 1989; 25 (4): 455–461. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-25.4.455>
25. Veit H. P., Domermuth C. H., Gross W. B. Histopathology of avian adenovirus group II splenomegaly of chickens. *Avian Diseases*. 1981; 25 (4): 866–873. <https://doi.org/10.2307/1590061>
26. Schachner A., Matos M., Grafl B., Hess M. Fowl adenovirus-induced diseases and strategies for their control – a review on the current global situation. *Avian Pathology*. 2018; 47 (2): 111–126. <https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1385724>
27. Mirzazadeh A., Grafl B., Abbasnia M., Emadi-Jamali S., Abdi-Hachesoo B., Schachner A., Hess M. Reduced performance due to adenoviral gizzard erosion in 16-day-old commercial broiler chickens in Iran, confirmed experimentally. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:635186. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.635186>
28. Ono M., Okuda Y., Yazawa S., Shibata I., Tanimura N., Kimura K., et al. Epizootic outbreaks of gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens. *Avian Diseases*. 2001; 45 (1): 268–275. <https://doi.org/10.2307/1593040>
29. Lindgren Y., Banihashem F., Berg M., Eriksson H., Zohari S., Jansson D. S. Gizzard erosions in broiler chickens in Sweden caused by fowl adenovirus serotype 1 (FAdV-1): investigation of outbreaks, including whole-genome sequencing of an isolate. *Avian Pathology*. 2022; 51 (3): 257–266. <https://doi.org/10.1080/03079457.2022.2048631>
30. Lim T.-H., Kim B.-Y., Kim M.-S., Jang J.-H., Lee D.-H., Kwon Y.-K., et al. Outbreak of gizzard erosion associated with fowl adenovirus infection in Korea. *Poultry Science*. 2012; 91 (5): 1113–1117. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-02050>
31. Asthana M., Chandra R., Kumar R. Hydropericardium syndrome: current state and future developments. *Archives of Virology*. 2013; 158 (5): 921–931. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1570-x>
32. Proceedings of the 1st National Seminar on Hydropericardium-pulmonary-edema-hepatonephritis-syndrome. Karachi: Pakistan Veterinary Medical Association; 1988. 100 p.
33. Cowen B. S. Inclusion body hepatitis-anemia and hydropericardium syndromes: aetiology and control. *World's Poultry Science Journal*. 1992; 48 (3): 247–254. <https://doi.org/10.1079/WPS19920019>
34. Reece R. L., Barr D. A., Grix D. C., Forsyth W. M., Condron R. J., Hindmarsh M. Observations on naturally occurring inclusion body hepatitis in Victorian chickens. *Australian Veterinary Journal*. 1986; 63 (6): 201–202. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1986.tb02981.x>
35. Bergmann V. Einschlusskörperchenstruktur und elektronenmikroskopischer Virus-nachweis bei spontaner Einschlusskörperchen-hepatitis des Huhnes = Structure of inclusion bodies and electron microscopic virus detection in naturally occurring inclusion body hepatitis in chickens. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*. 1978; 32 (6): 831–840. PMID: 219796 (in German).
36. Shane S. M., Jaffery M. S. Hydropericardium-hepatitis syndrome (Angara disease). In: *Diseases of Poultry*. Ed. by B. W. Calnek. 10th ed. Ames: Iowa State University; 1997; 1019–1022.
37. Hess M., Blocker H., Brandt P. The complete nucleotide sequence of the egg drop syndrome virus: an intermediate between Mastadenoviruses and Aviadenoviruses. *Virology*. 1997; 238 (1): 145–156. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8815>
38. Akhtar S., Zahid S., Khan M. I. Risk factors associated with hydropericardium syndrome in broiler flocks. *Veterinary Record*. 1992; 131 (21): 481–484. <https://doi.org/10.1136/vr.131.21.481>
39. Anjum A. D. Study of pathogenicity of the hydropericardium syndrome agent. *Proceedings of the National Seminar on Hydropericardium Syndrome in Chickens in Pakistan (4 July 1988, Rawalpindi)*. 1988; 111–115.
40. Vinokhodov O. V., Vinokhodov V. O., Vinokhodov D. O. Avian viral hepatitis. *Arkiv veterinarnykh nauk: Appendix to Vol. 1 (48)*. Saint Petersburg: Lomonosov; 1988. 224 p. (in Russ.)
41. Ahmad I., Afzal M., Malik M. I., Hussain Z., Hanif W. Disease pattern and etiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broiler chickens in Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Research*. 1989; 10 (2): 195–199.
42. Bickford A. A. Inclusion body hepatitis in chicken. *Poultry Digest*. 1972; 31: 345–347.
43. McFerran J. B. Adenovirus (group I) infection in chickens. In: *Diseases of Poultry*. Eds. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, H. W. Yoder. 9th ed. Ames: Iowa State University; 1991; 553–563.
44. Borisov V. V., Surnev D. S., Borisov A. V., Irza V. N., Lobanov V. A., Zuev Ju. V., et al. Virusnyj sindrom gidroperekardita kur = Avian hydropericardium viral syndrome. *Poultry & Chicken Products*. 2003; 1: 29–32. (in Russ.)
45. Popowich S., Gupta A., Chow-Lockerbie B., Ayalew L., Ambrose N., Ojick D., et al. Broad spectrum protection of broiler chickens against inclusion body hepatitis by immunizing their broiler breeder parents with a bivalent live fowl adenovirus vaccine. *Research in Veterinary Science*. 2018; 118: 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.03.003>
46. Abghour S., Zro K., Mouahid M., Tahiri F., Tarta M., Berrada J., Kichou F. Isolation and characterization of fowl aviadenovirus serotype 11 from chickens with inclusion body hepatitis in Morocco. *PLoS ONE*. 2019; 14 (12): e0227004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227004>
47. Bertran K., Blanco A., Antilles N., Nofrarias M., Valle R. M., Cobos A., et al. A 10-year retrospective study of inclusion body hepatitis in meat-type chickens in Spain (2011–2021). *Viruses*. 2021; 13 (11):2170. <https://doi.org/10.3390/v13112170>
48. Schachner A., Grafl B., Hess M. Spotlight on avian pathology: fowl adenovirus (FAdV) in chickens and beyond – an unresolved host-pathogen interplay. *Avian Pathology*. 2021; 50 (1): 2–5. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1810629>
49. Cizmecigil U. Y., Umar S., Yilmaz A., Bayraktar E., Turan N., Tali B., et al. Characterisation of fowl adenovirus (FAdV-8b) strain concerning the geographic analysis and pathological lesions associated with inclusion body hepatitis in broiler flocks in Turkey. *Journal of Veterinary Research*. 2020; 64 (2): 231–237. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0026>
50. Yelnikova Ye. V., Borisov V. V. Examination of pathogenicity of field chicken adenovirus isolates recovered in the Russian Federation. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2006; 4 (19): 126–131. EDN: OEDRKB (in Russ.)
51. Churina Ye. G., Novitsky V. V., Urazova O. I. Immunosuppression factors under various pathologies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2011; 10 (4): 103–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-4-103-111> (in Russ.)
52. Steer-Cope P. A., Sandy J. R., O'Rourke D., Scott P. C., Browning G. F., Noormohammadi A. H. Vaccination with FAdV-8a induces protection against inclusion body hepatitis caused by homologous and heterologous strains. *Avian Pathology*. 2019; 48 (5): 396–405. <https://doi.org/10.1080/03079457.2019.1612032>

53. Alvarado I. R., Villegas P., El-Attrache J., Jensen E., Rosales G., Perozo F., Purvis L. B. Genetic characterization, pathogenicity, and protection studies with an avian adenovirus isolate associated with inclusion body hepatitis. *Avian Diseases*. 2007; 51 (1): 27–32. [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2007\)051\[0027:GCPAPS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2007)051[0027:GCPAPS]2.0.CO;2)

54. Erny K., Pallister J., Sheppard M. Immunological and molecular comparison of fowl adenovirus serotypes 4 and 10. *Archives of Virology*. 1995; 140 (3): 491–501. <https://doi.org/10.1007/BF01718426>

55. Borisov V. V. Development of tools and methods for diagnosis and specific prevention of adenovirus diseases in chickens: Author's Thesis for degree of Dr. Sci. (Veterinary Medicine). Vladimir; 2006. 350 p. EDN: NORKCN (in Russ.)

56. Pankratov S. V., Pridibaylo N. D., Kron N. N. Vaccine against hydropericarditis syndrome of poultry (AVIVAK-ADVG). *Russian Veterinary Journal. Productive animals*. 2009; 2: 41–42. EDN: JEMZQH (in Russ.)

57. Kuklenkova I. V. Improvement of vaccination schemes used in parent and commercial egg production flocks in poultry farms infected with avian ecto- and endoparasitosis: Author's Thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Nizhny Novgorod; 2022. 127 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 23.10.2023

Поступила после рецензирования / Revised 13.11.2023

Принята к публикации / Accepted 28.12.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зеленский Юрий Романович, ветеринарный фельдшер лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0007-0467-0182>, e-mail: zelenskiy@arriah.ru

Волков Михаил Сергеевич, д-р вет. наук, заведующий лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

Комаров Илья Александрович, младший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2084-4484>, e-mail: komarov@arriah.ru

Мороз Наталья Владимировна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

Мудрак Наталья Станиславовна, д-р биол. наук, главный научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9788-9197>, e-mail: mudrak@arriah.ru

Жбанова Татьяна Валентиновна, канд. биол. наук, младший научный сотрудник отдела образования и научной информации ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9857-5915>, e-mail: zhbanova@arriah.ru

Yuriy R. Zelenskiy, Paraveterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0007-0467-0182>, e-mail: zelenskiy@arriah.ru

Mikhail S. Volkov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Epizootology and Monitoring, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

Ilya A. Komarov, Junior Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2084-4484>, e-mail: komarov@arriah.ru

Natalya V. Moroz, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

Natalia S. Mudrak, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9788-9197>, e-mail: mudrak@arriah.ru

Tatyana V. Zhbanova, Cand. Sci. (Biology), Junior Researcher, Education and Scientific Support Department, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9857-5915>, e-mail: zhbanova@arriah.ru

Вклад авторов: Зеленский Ю. Р. – подбор и анализ научной литературы по заявленной проблеме, интерпретация данных, подготовка текста; Волков М. С. – анализ данных, концепция представления материалов, подготовка текста; Комаров И. А. – научное консультирование по аденовириозам птиц; Мороз Н. В. – научное консультирование по аденовириозам птиц; Мудрак Н. С. – концепция исследования, подготовка текста; Жбанова Т. В. – концепция исследования, подготовка текста.

Contribution: Zelenskiy Yu. R. – selection and analysis of literature evidence on the stated problem, data interpretation, text preparation; Volkov M. S. – data analysis, concept of visualization, text preparation; Komarov I. A. – scientific advice on avian adenoviruses; Moroz N. V. – scientific advice on avian adenoviruses; Mudrak N. S. – research conceptualization, text preparation; Zhbanova T. V. – research conceptualization, text preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-44-56>

УДК 619:616.98:578.835.2:616-078



Изучение серотипоспецифичности диагностических тест-систем для выявления антител к структурным белкам вируса ящура иммуноферментным анализом

Н. Н. Луговская, Е. А. Силантьева, Т. В. Оковытая, А. А. Харитонов, Ы. М. Гочмурадов, Е. А. Разгуляева, О. О. Будина, Е. А. Яснева

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

При изучении серотипоспецифичности 24 диагностических иммуноферментных тест-систем для определения антител к структурным белкам вируса ящура 6 производителей (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Prionics, IZSLER, Innovative Diagnostics, BIONOTE и MEDIAN Diagnostics) было исследовано 138 образцов сыворотки крови свиней и крупного рогатого скота, вакцинированных против ящура одного или двух серотипов либо инфицированных вирусом ящура. Все использованные тест-системы наряду с ярко выраженной серотипоспецифической активностью (гомологичная реакция) выявляли также некоторое количество перекрестно-реагирующих вирусоспецифических антител, что было обусловлено рядом причин, связанных с консервативными эпитопами в аминокислотной последовательности капсидных полипептидов VP1–VP3 вириона возбудителя ящура, с доступностью внутренних консервативных эпитопов полипептида VP4 для иммунной системы животного при репликации вируса или деструкции вакцинного антигена (вируса) в организме животного в ходе иммунного процесса, а также с компонентным составом экспериментальной противоящурной вакцины и др. Тем не менее анализ большого массива данных (около 3500 исследований) показал, что гомотипоспецифическая реакция в целом была значительно выше и являлась доминирующей, доля вирусоспецифических незащитных антител, в том числе и перекрестно-реагирующих, была не столь значительной и не искажала результаты оценки иммуногенности противоящурной вакцины в иммуноферментном анализе. В сомнительных случаях требуется подтверждение результатов в других серологических реакциях. Оптимальным вариантом следует считать комплексные исследования на ящур с привлечением разных методов диагностики, таких как иммуноферментный анализ с использованием стандартных и референтных тест-систем и/или реакция вирусной нейтрализации в культуре клеток.

Ключевые слова: ящур, иммуноферментный анализ, серотипоспецифичность

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие». Авторы выражают благодарность сотрудникам сектора биотехнологии лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ»: младшему научному сотруднику канд. вет. наук Ю. С. Елькиной и ведущему ветврачу М. А. Шевченко за работу с животными, заведующему референтной лабораторией диагностики ящура В. В. Никифорову за предоставленные образцы сыворотки крови от переболевших ящуром серотипа SAT 2 свиней и крупного рогатого скота.

Для цитирования: Луговская Н. Н., Силантьева Е. А., Оковытая Т. В., Харитонов А. А., Гочмурадов Ы. М., Разгуляева Е. А., Будина О. О., Яснева Е. А. Изучение серотипоспецифичности диагностических тест-систем для выявления антител к структурным белкам вируса ящура иммуноферментным анализом. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 44–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-44-56>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Луговская Наталья Николаевна, канд. биол. наук, руководитель сектора лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, e-mail: lugovskaya@arriah.ru

Testing of diagnostic test-systems for detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus structural proteins with enzyme-linked immunosorbent assay for their serotype specificity

Natalia N. Lugovskaya, Ekaterina A. Silanteva, Tatyana V. Okovytaya, Anastasiya A. Kharitonova, Ykhlis M. Gochmuradov, Evgeniya A. Razgulyaeva, Olesya O. Budina, Elena A. Yasneva
Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

A total of 138 serum samples from pigs and cattle vaccinated against foot-and-mouth disease virus (FMDV) of one or two serotypes or infected with FMDV were used for testing of 24 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) diagnostic tests-systems for detection of antibodies against FMDV structural proteins produced by 6 manufacturers (Federal Centre for Animal Health, Prionics, IZSLER, Innovative Diagnostics, BIONOTE and MEDIAN Diagnostics) for their serotype-specificity. All used test-systems detected apparent serotype-specific activity (homologous reaction) as well as cross-reacting virus-specific antibodies that was accounted for

© Луговская Н. Н., Силантьева Е. А., Оковытая Т. В., Харитонов А. А., Гочмурадов Ы. М., Разгуляева Е. А., Будина О. О., Яснева Е. А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

some reasons related to conservative epitopes in amino acid sequence of FMDV virion capsid VP1–VP3 polypeptides, accessibility of internal conservative epitopes of VP4 polypeptide for the animal's immune system during virus replication or vaccine antigen (virus) destruction in the animal's body in the process of immunity development, as well as the pilot anti-FMD vaccine composition, etc. Nevertheless, the analysis of a large data set (about 3,500 tests) showed that the homologous serotype-specific reaction in general was significantly higher and predominant, the proportion of virus-specific non-protective antibodies, including cross-reacting ones, was not significant and did not distort the results of ELISA tests of anti-FMD vaccine for its immunogenicity. Inconclusive test results require confirmation with other serological tests. Complex tests for FMDV using different diagnostic methods such as ELISA with standard and reference test-systems and/or virus neutralization test in cell culture are to be considered as the best option.

Keywords: foot-and-mouth disease, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), serotype specificity

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health as a part of research activities "Veterinary Welfare". The authors express their gratitude to Yu. S. Yelkina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, and M. A. Shevchenko, Leading Veterinarian, staff-members of the Biotechnology Sector of the Laboratory for FMD Prevention of the Federal Centre for Animal Health for animal handling; V. V. Nikiforov, Head of the Reference Laboratory for FMD Diagnosis, for provided serum samples from SAT 2 FMD convalescent pigs and cattle.

For citation: Lugovskaya N. N., Silanteva E. A., Okovyta T. V., Kharitonova A. A., Gochmuradov Y. M., Razgulyaeva E. A., Budina O. O., Yasneva E. A. Testing of diagnostic test-systems for detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus structural proteins with enzyme-linked immunosorbent assay for their serotype specificity. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 44–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-44-56>

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

For correspondence: Nataliya N. Lugovskaya, Cand. Sci. (Biology), Head of Sector, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, e-mail: lugovskaya@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Ящур – одна из самых известных с давних времен высококонтагиозных вирусных болезней домашних и диких парнокопытных животных, последствия которой могут наносить колоссальный экономический, социальный, экологический ущерб. Заболевание вызывается афтовиром семейства *Picornaviridae* и сопровождается лихорадкой, развитием афтозных поражений слизистой и эпителиальной тканей животных и другими симптомами инфекции. Существуют 7 серотипов вируса ящура, отличающихся иммунологическими свойствами: O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 и Asia 1 [1, 2].

Одним из самых важных способов борьбы с ящуром, наряду с другими путями контроля над инфекцией, является специфическая вакцинация. Поскольку вирус разных серотипов практически не вызывает перекрестного иммунитета и при использовании вакцин на основе штаммов возбудителя, отличных от полевых, даже в рамках одного серотипа защита может быть слабой, при разработке вакцинных препаратов необходим тщательный подбор штаммов для обеспечения максимально возможной защиты поголовья от ящура в конкретном регионе [1, 2].

При оценке эффективности вакцины, иммунного фона и напряженности противоящурного иммунитета у восприимчивых животных в лабораторной диагностике используют два основных метода исследования образцов сыворотки крови на наличие антител к структурным белкам вируса ящура: реакцию нейтрализации вируса (РН) и иммуноферментный анализ (ИФА) [1, 2].

Реакция нейтрализации вируса ящура считается по праву золотым стандартом, поскольку позволяет выявлять непосредственно вируснейтрализующие антитела в сыворотке крови вакцинированных или переболевших животных, тем самым определяя уровень защиты против ящура определенного серотипа.

Иммуноферментный анализ, основанный на использовании в реакции инактивированного целого-

вирусного или рекомбинантного антигена, охватывает весь спектр вирусоспецифических антител, в первую очередь вируснейтрализующих, что обусловлено строением вириона. Это позволяет использовать ИФА для диагностики ящура в лабораторной практике наряду с РН как альтернативный или подтверждающий метод.

Однако в своих исследованиях мы не раз отмечали наличие перекрестно-реагирующих антител в сыворотке крови вакцинированных против ящура или переболевших ящуром животных, что обнаруживалось с помощью тест-систем для разных серотипов возбудителя. Данное явление в серологических реакциях также было описано другими исследователями [3, 4, 5]. Природа его не совсем ясна и требует изучения.

Вирион является безоболочечным и представляет собой капсид, окружающий РНК-геном. Капсид, имеющий структуру икосаэдра с коэффициентом седиментации 146S, сформирован из 60 копий протомерной субъединицы, состоящей из четырех структурных белков VP1–VP4. В процессе репликации вируса образуются также промежуточные формы: пустой, лишенный нуклеиновой кислоты капсид 75S, пентамеры 12S и протомеры 5S. При деградации капсид также, вероятно, может распадаться на отдельные субъединицы. Поверхностные белки VP1–VP3 несут эпитопы, отвечающие за серотипоспецифичность вируса ящура и выработку вируснейтрализующих антител, в то время как внутренний белок VP4 более консервативен у разных серотипов возбудителя и антитела против эпитопов VP4 не обеспечивают защиту от инфекции [3, 6].

Одной из причин перекрестной реакции антител между серотипами может быть доступность для иммунной системы животного внутренних консервативных эпитопов при определенном количестве 12S и 5S субъединиц наряду с интактным антигеном (капсидным антигеном с неизменной структурой) в вакцинном материале или присутствие промежуточных форм при репликации вируса ящура в момент инфекции.

Другой вероятной причиной может служить наличие консервативных эпитопов в аминокислотной последовательности поверхностных белков капсида (VP1–VP3). В пользу последнего предположения говорит обнаружение вируснейтрализующих антител с перекрестной реактивностью в РН, что может также свидетельствовать и о некоторой степени защиты между разными серотипами [4, 5].

В данной работе была сделана попытка объяснить природу перекрестной реакции в ИФА, а также оценить влияние данного явления на возможность серотипирования поствакцинальных и постинфекционных антител в сыворотке крови свиней и крупного рогатого скота (КРС). Для этой цели была сформирована моноспецифическая панель, включающая экспериментальные образцы сыворотки крови, отобранной от инфицированных или однократно иммунизированных противоящурной вакциной на основе одного штамма вируса ящура свиней и КРС. Параллельное тестирование проводилось с использованием коммерческих наборов для выявления антител к структурным белкам вируса ящура в ИФА разных производителей: ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Россия), Prionics (Нидерланды/Швейцария), IZSLER & The Pirbright Institute (Италия/Великобритания), Innovative Diagnostics (Франция), BIONOTE (Республика Корея), MEDIAN Diagnostics (Республика Корея). Наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» представляют собой штаммоспецифические поликлональные тест-системы на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА, наборы иностранных производителей являются серотипоспецифическими моноклональными конкурентными тест-системами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили архивные образцы сыворотки крови свиней и КРС, инфицированных вирусом ящура серотипов SAT 2 или О либо привитых противоящурной моновалентной или бивалентной вакциной. До исследования образцы хранились при температуре минус 20 °С. Моноспецифическая панель включала 81 образец сыворотки крови: 8 – от переболевших и 73 – от вакцинированных животных (к серотипам А – 25, О – 31, Asia 1 – 17 образцов сыворотки крови), а также 57 образцов сыворотки крови, отобранной от свиней, иммунизированных экспериментальной бивалентной эмульсионной вакциной против ящура серотипов А и О, до и после контрольного заражения вирусом серотипа О. Сыворотку исследовали в ИФА и отдельные образцы – в РН.

Два образца экспериментальной эмульсионной вакцины с разной концентрацией антигена вируса ящура штаммов О 2212/Приморский/2014 и А 2155/Забайкальский/2013 тестировали на подсвинках. Контрольные испытания проводили согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) [2]. Для проведения эксперимента было сформировано две группы свиней по 15 гол. в каждой. Животных иммунизировали подкожно в объеме 2,0 см³ (1 доза) вакциной, содержащей разное количество антигена: в цельном виде, в разведениях 1:5 и 1:25 (по 5 животных на разведение в каждой группе). Еще 2 невакцинированные особи служили контролем. На 21-е сут после иммунизации у всех животных отбирали кровь для серологических исследований и проводили контрольное заражение афтозным ви-

русом ящура штамма О 2212/Приморский/2014 в дозе 10⁴ ИД₅₀/0,2 см³. Учет результатов контрольного заражения и отбор крови производили на 8-е сут после инокуляции.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

В работе использовали тест-системы на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура разных штаммов типов А, О, Asia 1 (табл. 1), разработанные в ФГБУ «ВНИИЗЖ», в соответствии с инструкцией по применению, а также коммерческие наборы для обнаружения антител к вирусу ящура типов А, О или Asia 1 ведущих европейских и азиатских производителей в соответствии с рекомендациями к набору:

- PrioCHECK® FMDV Type A (Prionics, Нидерланды/Швейцария);
- PrioCHECK® FMDV Type O (Prionics, Нидерланды/Швейцария);
- PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 (Prionics, Нидерланды/Швейцария);
- SPCE for antibodies specific to FMDV Serotype A (IZSLER & The Pirbright Institute, Италия/Великобритания);
- SPCE for antibodies specific to FMDV Serotype O (IZSLER & The Pirbright Institute, Италия/Великобритания);
- ID Screen® FMD Type A Competition (Innovative Diagnostics, Франция);
- ID Screen® FMD Type O Competition (Innovative Diagnostics, Франция);
- ID Screen® FMD Type Asia1 Competition (Innovative Diagnostics, Франция);
- FMD Type O Ab ELISA (BIONOTE, Республика Корея);
- VDPPro® FMDV Type O Ab b-ELISA (MEDIAN Diagnostics, Республика Корея).

Результаты реакции интерпретировали в соответствии со значением процента ингибции (PI), определенным для каждого исследуемого образца по формуле и критериям оценки, установленными производителем. Для удобства восприятия большого массива данных результаты, полученные в ходе реакции с использованием наборов, предусматривающих выражение значений оптической плотности через отношение SN (Innovative Diagnostics – IDVet, MEDIAN), также пересчитывали в значение PI.

Антиген вируса ящура серотипировали в реакции непрямого «сэндвич»-варианта ИФА с использованием в качестве улавливающих и детекторных антител гипериммунной сыворотки крови кролика и морской свинки соответственно, полученной против интактного капсидного антигена одного из штаммов вируса ящура (146S-AG), как описано ранее, с некоторыми модификациями [2, 7]. Для постановки реакции 96-луночные планшеты для ИФА (NUNC, Дания) сенсибилизировали раствором штаммоспецифической сыворотки крови кролика (серотипы ящура А, О, Asia 1 или SAT 2) в 0,05М карбонатно-бикарбонатном буфере с pH 9,6. Затем осуществляли последовательные этапы внесения в лунки планшета образцов тестируемого или контрольного

антигена, детекторных антител (штаммоспецифическая сыворотка крови морской свинки соответствующего серотипа) и антивидового иммунопероксидазного конъюгата, разведенных в 0,01М трис-буферном солевом растворе с 0,001% детергента Tween 20, содержащем 10% фетальной сыворотки КРС. Все этапы реакции выполняли в течение 1 ч при температуре 37 °С и заканчивали промыванием лунок планшета для удаления несвязавшихся компонентов. Реакцию визуализировали с помощью хромогенного субстрата ABTS (2,2'-азино-ди(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота) за 20 мин при комнатной температуре, останавливали реакцию 1%-м додецилсульфатом натрия.

Также серотипирование образцов интактного антигена вируса ящура проводили в реакции прямого варианта ИФА, в ходе которого антиген, адсорбированный в лунках планшета, выявляли с помощью коммерческих пероксидазных конъюгатов с серотипоспецифическими моноклональными антителами производства фирм Prionics, IZSLER, Innovative Diagnostics, BIONOTE, MEDIAN Diagnostics. Условия проведения реакции были аналогичны реакции «сэндвич»-варианта ИФА.

Значения оптической плотности исследуемых образцов, в 2,5 раза превышавшие значения оптической плотности контроля конъюгата (контроля фона) в обеих реакциях, считали положительными.

Реакцию нейтрализации вируса ящура проводили в перевиваемой линии клеток почки свиньи IB-RS-2 в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ [2]. Постановку РН осуществляли микрометодом с использованием 96-луночных плоскодонных культуральных планшетов. К двукратным разведениям исследуемых и контрольных образцов сыворотки крови на питательной среде Игла МЕМ добавляли примерно 10^2 ТЦД₅₀/0,05 см³ (тканевая цитопатическая доза вируса, вызывающая гибель 50% клеток) вируса, допустимый диапазон $10^{1,5}$ – $10^{2,5}$ ТЦД₅₀/0,05 см³. Затем после инкубирования в течение 1 ч при температуре 37 °С в присутствии 5% CO₂ в каждую лунку планшета вносили по 0,05 см³ суспензии культуры клеток IB-RS-2 в концентрации 10^6 кл./см³, инкубировали в тех же условиях в течение 48–78 ч. Реакцию учитывали по мере развития цитопатического действия вируса (ЦПД) в контрольных лунках с зараженной культурой клеток без сыворотки крови от исследуемых животных. За титр вируснейтрализующих антител (ВНА) принимали последнее разведение сыворотки, тормозящее на 50% ЦПД вируса [2].

Выравнивание аминокислотных последовательностей белка VP1 вируса ящура разных серотипов выполняли согласно информации, полученной из NCBI и опубликованной в открытой печати [6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]:

- A (A/TAN/26/2013); GenBank: AXI68858.1;
- A (A₂₂/IRQ/24/64); GenBank: ARO74643.1;
- A (A/TUR/2/2014); GenBank: QWL55674.1;
- A (A/TUR/2006); GenBank: ACC63168.1;
- A (A/PAK/2013); GenBank: APZ88528.1;
- O (wild type of type O FMDV); PDB: 7ENP_1;
- O (O/TUR/33/2011); GenBank: QWL56951.1;
- O (O/PAK/2019); GenBank: UFI08025;
- Asia1 (Asia1/BAN/DH/Sa-319/2018); GenBank: QED10746.1;
- Asia1 (Asia1/284-3/4_ISB/Pak_2012); GenBank: APZ88631.1;
- Asia1 (Asia1/Shamir/89); GenBank: ASV50713.1;

Таблица 1

Штаммы вируса ящура, использованные в наборах производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», в реакции вирусной нейтрализации и/или для получения моноспецифической сыворотки крови

Table 1

FMD virus strains used in the test-kits produced by the Federal Centre for Animal Health for virus neutralization tests and/or for monospecific serum preparation

Тип вируса ящура	Название производственного штамма вируса ящура	Краткое обозначение штамма	Топотип	Генетическая линия
A	A 2155/Забайкальский/2013	A/Zab/13	ASIA	Sea-97
	A 2029/Турция/2006	A/TUR/06	ASIA	Iran-05
	A 2269/ВНИИЗЖ/2015	A/ARRIAH/15	ASIA	G-VII
	A ₂₂ /Ирак/24/64	A ₂₂ /IRQ/64	ASIA	Iraq-64
	A/Танзания/2013	A/TAN/13	AFRICA	G-1
O	O 2047/Саудовская Аравия/2008	O/SAU/08	ME-SA	PanAsia2
	O 2356/Пакистан/2018	O/PAK/18	ME-SA	PanAsia2
	O 2212/Приморский/2014	O/Prim/14	SEA	Mya-98
	O ₁ /Маниса/Турция/1993	O ₁ /Manisa/93	SEA	Mya-98
	O ₁ /Campos/1994	O ₁ /Campos/94	EURO-SA	–
	O 2344/Монголия/2017	O/MOG/17	ME-SA	Ind 2001
	O 2311/Забайкальский/2016	O/Zab/16	ME-SA	Ind 2001
	O 2620/Оренбургский/2021	O/Orenburg/21	ME-SA	Ind 2001
	O/Кения/2017	O/KEN/17	EA-2	–
	Азия-1 1946/Шамир 3/89	Asia1/Shamir/89	ASIA	Shamir
Asia 1	Азия-1 2145/Таджикистан/2011	Asia1/TAJ/11	ASIA	Singh-08
	Азия-1 2356/14/Пакистан/2018	Asia1/PAK/18	ASIA	Singh-08
SAT 2	SAT2/LIB/39/2012	SAT2/LIB/12	VII	Lib-12
	SAT2/ERI/98	SAT2/ERI/98	VII	–

– C1 (C1/Loupogne BEL/53); GenBank: AAA91488.1;

– SAT2 (SAT2/LIB/2012); GenBank: AFU55197.1;

– SAT2 (SAT2/EGY/Ismailia/2018); GenBank: QZE50286.1.

Электрофоретическое разделение белков в полиакриламидном геле проводили, как описано ранее [16, 17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Серотипоспецифичность 24 иммуноферментных тест-систем для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура разных производителей изучали, исследуя панель образцов моноспецифической сыворотки крови свиней и КРС. Наборы для диагностики ящура ведущих иностранных производителей, таких как Prionics, IZSLER, Innovative Diagnostics, BIONOTE и MEDIAN Diagnostics, основаны на реакции прямого конкурентного варианта ИФА. За специфическое связывание с вирусным или рекомбинантным антигеном борются иммуноглобулины в сыворотке крови и моноклональные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена. Наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» представляют собой специфические и неспецифические компоненты для проведения реакции непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА. Данный вариант для определения антител к структурным белкам вируса ящура является разновидностью конкурентного варианта ИФА и отличается наличием

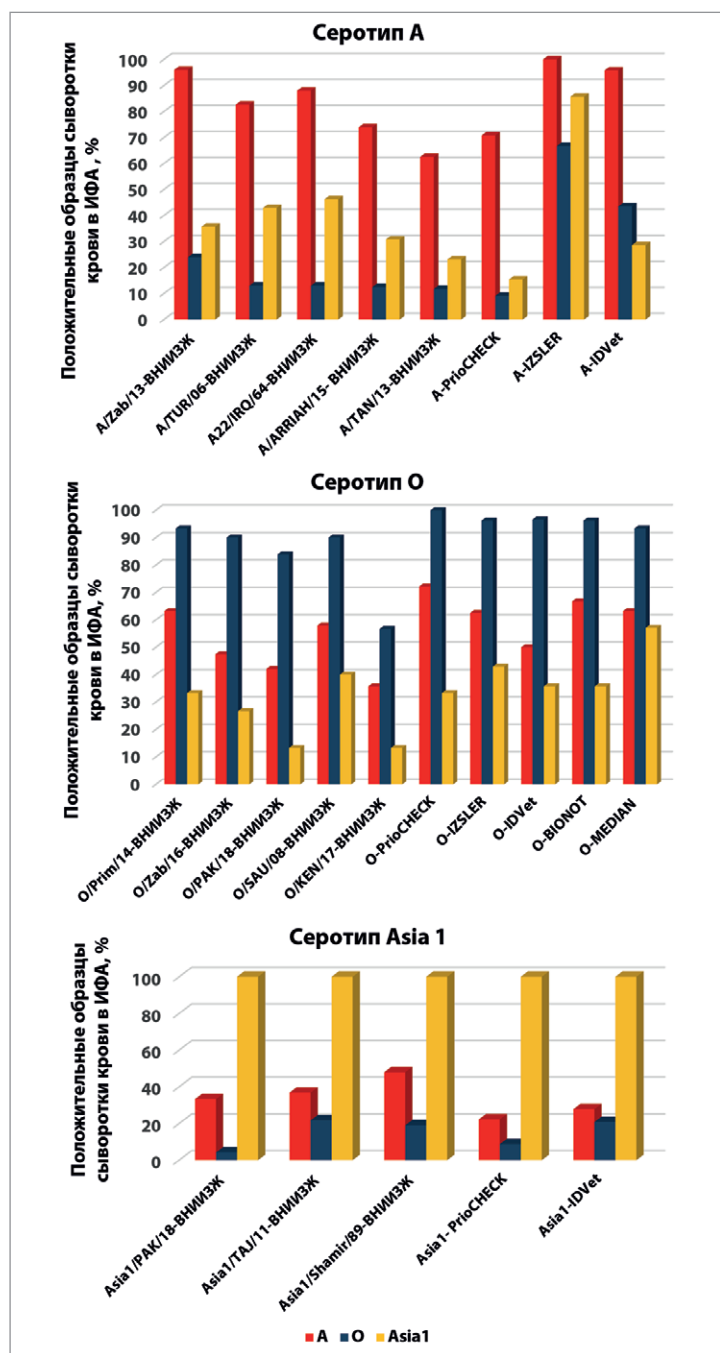


Рис. 1. Результаты исследования в ИФА образцов сыворотки крови от животных, иммунизированных моновалентной против ящура (n = 73)

Fig. 1. Results of ELISA tests of serum samples from animals immunized with monovalent anti-FMD vaccine (n = 73)

предварительного этапа взаимодействия антигена вируса ящура с исследуемой сывороткой («жидкая фаза»), в процессе которого происходит блокирование иммунодоминантных эпитопов в аминокислотной последовательности антигена вируса ящура специфическими иммуноглобулинами. Остальные этапы реакции в целом аналогичны другим вариантам ИФА. Конкурирующими антителами выступают гомологичные штаммоспецифические поликлональные антитела в сыворотке крови морской свинки (детекторные антитела), связывающиеся со свободными антигенными детерминантами [2, 18, 19, 20].

Таблица 2
Результаты исследования в ИФА образцов сыворотки крови от животных, инфицированных вирусом ящура серотипа SAT 2

Table 2
Results of ELISA tests of serum samples from animals infected with SAT 2 FMDV

Диагностическая тест-система	Образцы сыворотки крови КРС и свиней, 21–31 dpi SAT2/ERI/98 (n = 6)	
	PI _{сред.} , %	pos/n
A/Zab/13-ВНИИЗЖ	64,9	5/6
A/TUR/06-ВНИИЗЖ	66,7	5/6
A ₂₂ /IRQ/64-ВНИИЗЖ	62,8	4/6
A/ARRIAH/15-ВНИИЗЖ	54,5	5/6
A/TAN/13-ВНИИЗЖ	62,6	3/6
A-PrioCHECK	36,3	0/6
A-IZSLER	74,8	4/6
A-IDVet	45,0	3/6
O/Prim/14-ВНИИЗЖ	60,2	5/6
O/Zab/16-ВНИИЗЖ	51,8	4/6
O/PAK/18-ВНИИЗЖ	52,8	4/6
O/SAU/08-ВНИИЗЖ	64,8	5/6
O/KEN/17-ВНИИЗЖ	61,9	3/6
O-PrioCHECK	34,8	0/6
O-IZSLER	45,6	0/6
O-IDVet	35,8	3/6
O-BIONOT	15,5	1/6
O-MEDIAN	37,0	3/6
Asia1/PAK/18-ВНИИЗЖ	37,4	2/6
Asia1/TAJ/11-ВНИИЗЖ	57,8	4/6
Asia1/Shamir/89-ВНИИЗЖ	71,9	5/6
Asia1-PrioCHECK	52,8	4/6
Asia1-IDVet	31,4	0/6
SAT2/LIB/12-ВНИИЗЖ	97,6	6/6

dpi – дни после заражения; pos/n – количество положительных результатов в ИФА к общему числу исследованных образцов сыворотки крови; курсивом выделены результаты исследования в гетерологичных тест-системах ИФА, жирным шрифтом – положительные значения PI.

dpi – days post infection; pos/n – number of ELISA positive serum samples to total number of tested serum samples; results of tests with heterologous ELISA test-systems are given in italics, positive PI values are given in bold.

Как видно на рисунке 1, ни одна из представленных тест-систем не обладала 100%-й серотипоспецифичностью при исследовании образцов сыворотки крови животных, полученной на 21–28-й день после вакцинации противоящурной моновалентной из штаммов, указанных в таблице 1. Реакция с гомологичными сыворотками была преобладающей, однако количество перекрестно-реагирующих образцов оказалось значительным.

Степень перекрестной реакции антител также оценивали при тестировании 6 образцов сыворотки крови от переболевших ящуром серотипа SAT 2 свиней и КРС (табл. 2).

Таблица 3
Результаты исследования в ИФА и РН образцов сыворотки крови от свиней, привитых бивалентной вакциной против ящура серотипов А и О, до и после контрольного заражения вирусом ящура серотипа О

Table 3
ELISA and NT results for serum samples from pigs vaccinated with bivalent vaccines against type A and O FMDV before and after challenge test using type O FMDV

Диагностическая тест-система	Образцы сыворотки крови свиней					
	21 dpv против ящура серотипов А и О		29 dpv против ящура серотипов А и О, 8 dpi вирусом ящура серотипа О		8 dpi вирусом ящура серотипа О (невакцинированный контроль)	
	PI сред., %	pos/n	PI сред., %	pos/n	PI сред., %	pos/n
A/Zab/13-PH	н/о***	12/29	н/о	12/28	н/о	2/2
A/Zab/13-ВНИИЗЖ	39,6	13/28	59,2	18/28	76,0	2/2
A/TUR/06-ВНИИЗЖ	36,9	10/28	57,9	18/28	75,1	2/2
A ₂₂ /IRQ/64-ВНИИЗЖ	48,0	15/28	67,6	22/28	80,7	2/2
A/ARRIAH/15-ВНИИЗЖ	28,7	4/28	54,1	17/28	73,2	2/2
A/TAN/13-ВНИИЗЖ	38,2	9/28	58,7	17/28	65,5	2/2
A- PrioCHECK	36,0	3/28	41,8	9/28	52,4	1/2
A-IZSLER	77,3	23/29	76,1	21/28	84,5	2/2
A-IDVet	51,54	15/29	58,52	19/28	78,6	2/2
O/Prim/14-PH	н/о	10/29	н/о	28/28	н/о	2/2
O/Prim/14-ВНИИЗЖ	74,3	26/28	87,8	28/28	91,3	2/2
O/Zab/16-ВНИИЗЖ	53,1	18/28	76,8	24/28	90,0	2/2
O/PAK/18-ВНИИЗЖ	50,9	16/28	75,6	23/28	94,2	2/2
O/SAU/08-ВНИИЗЖ	51,9	16/28	73,4	23/28	89,8	2/2
O/KEN/17-ВНИИЗЖ	45,3	12/28	73,1	21/28	93,9	2/2
O-PrioCHECK	73,5	25/28	82,0	27/28	89,9	2/2
O-IZSLER	58,6	5/29	71,2	16/28	71,4	2/2
O-IDVet	63,4	13/29	77,9	21/28	77,7	2/2
O-BIONOT	49,4	18/29	73,1	25/28	80,1	2/2
O-MEDIAN	52,0	23/29	68,0	27/28	60,0	2/2
Asia1/PAK/18-ВНИИЗЖ	23,0	0/29	39,9	6/28	78,5	2/2
Asia1/TAJ/11-ВНИИЗЖ	28,7	3/29	50,3	13/28	80,3	2/2
Asia1/Shamir/89-ВНИИЗЖ	29,4	1/29	47,9	13/28	76,2	2/2
Asia1-PrioCHECK	21,5	0/29	24,8	0/28	35,9	0/2
Asia1-IDVet	6,6	0/29	5,8	0/28	2,0	0/2
SAT2/LIB/12-ВНИИЗЖ	6,8	0/29	19,0	4/28	61,6	2/2

dpv – дни после вакцинации; dpi – дни после заражения; pos/n – количество положительных результатов в ИФА к общему числу исследованных образцов сыворотки крови; н/о – не определяется; курсивом выделены результаты исследования в гетерологических тест-системах ИФА, жирным шрифтом – положительные значения PI.
dpv – days post vaccination; dpi – days post infection; pos/n – number of ELISA positive serum samples to total number of tested serum samples; n/d – not detected; results of tests with heterologous ELISA test-systems are given in italics, positive PI values are given in bold.

Анализ полученных результатов показал, что большинство использованных тест-систем зарегистрировали наличие перекрестно-реагирующих антител в сыворотке крови животных через 21–31 день после заражения штаммом SAT2/ERI/98 вируса ящура. При этом уровень перекрестной реакции был значительно ниже, чем в тест-системе SAT2/LIB/12-ВНИИЗЖ: все 6 образцов показали положительный результат с $PI_{\text{сред.}} = 97,6\%$. Четыре моноклональных тест-системы A-PrioCHECK, O-PrioCHECK, O-IZSLER и Asia1-IDVet не обнаружили противовирусных антител у переболевших животных. Однако при исследовании 2 образцов сыворотки крови от кон-

трольных свиней, инфицированных суспензией афтозного вируса ящура серотипа О при испытании вакцины, одно животное из двух оказалось серопозитивным в гетерологической тест-системе A-PrioCHECK (табл. 3).
В опыте по испытанию бивалентной эмульсионной вакцины против ящура из штаммов А 2155/Забайкальский/2013 и О 2212/Приморский/2014 также наблюдали перекрестную реакцию у свиней после заражения вирусом штамма О 2212/Приморский/2014 (табл. 3). Шесть гетерологических тест-систем для серотипов Asia 1 и SAT 2 обнаруживали в слабой степени либо не обнаруживали перекрестного реагирования

Таблица 4

Результаты исследования в РН сыворотки крови контрольных животных ($n = 2$), зараженных вирусом ящура штамма О 2212/Приморский/2014 (8 dpi)

Table 4

Results of testing of serum samples from control animals ($n = 2$) infected with FMDV O2122/Primorsky/2014 strain with NT (8 dpi)

Штамм вируса ящура	Доза вируса, ТЦД ₅₀ /0,05 см ³	T _{сред.} ВНА, Ig
A 2029/Турция/2006	10 ^{1,58}	1,08
A 2155/Забайкальский/2013	10 ^{1,46}	1,65
A 2269/ВНИИЗЖ/2015	10 ^{1,76}	0,98
A ₂₂ /Ирак/24/64	10 ^{1,69}	1,34
A/Танзания/2013	10 ^{1,5}	1,34
O 2356/Пакистан/2018	10 ^{1,69}	2,56
O 2311/Забайкальский/2016	10 ^{1,58}	2,03
O 2212/Приморский/2014	10 ^{1,76}	2,26
O 2047/Саудовская Аравия/2008	10 ^{2,06}	2,10
O/Кения/2017	10 ^{1,8}	2,40
Азия-1 1946/Shamir/Израиль/3/89	10 ^{1,5}	1,20
Азия-1 2145/Таджикистан/2011	10 ^{1,69}	1,08
Азия-1 2356/14/Пакистан/2018	10 ^{1,69}	1,65
SAT2/LIB/39/2012	10 ^{1,76}	1,08

T_{сред.} ВНА – средний титр вируснейтрализующих антител; курсивом выделены результаты исследования в гетерологичной РН, жирным шрифтом – защитный уровень ВНА.

T_{mean} VNA – mean titre of virus neutralizing antibodies; results of tests with heterologous NT are given in italics, protective level of virus neutralizing antibodies is given in bold.

с серотипами А и О, тем не менее после заражения только два набора (Asia1-PrioCHECK и Asia1-IDVet) не выявили никаких противоящурных антител в сыворотке крови ни у вакцинированных, ни у контрольных животных. При исследовании сывороток крови в тест-системах для серотипа А наблюдали любопытную зависимость: увеличилось количество серопозитивных животных и значительно возрос уровень антител через 8 дней после заражения ящуром серотипа О по сравнению с уровнем до заражения, однако среднее значение PI по группе было ниже, чем у контрольных (невакцинированных) животных. Это может быть свидетельством частичной нейтрализации вируса серотипа А, то есть перекрестной защиты. Данный факт подтверждался результатами РН вируса ящура штамма А 2155/Забайкальский/2013. Как видно из таблиц 3 и 4, число положительно реагирующих в РН на серотип А животных до и после заражения осталось неизменным, однако выделить долю перекрестно-реагирующих вируснейтрализующих антител (ВНА) не представлялось возможным, поскольку животные были вакцинированы против серотипа А. Но образцы сыворотки крови от контрольных животных обнаруживали данную категорию вирусспецифических антител и имели титр ВНА защитного уровня 1:45 или 1,65 Ig, как и в реакции с вирусом штамма Азия-1 2356/14/Пакистан/2018.

После инокуляции афтозного вируса генерализованной формой ящура заболело по одному животному, иммунизированному вакциной в разведении 1:25,

в обеих группах свиней. При этом данные особи до заражения при исследовании в ИФА не имели антител к антигену вируса ящура серотипа А, а в тест-системах для серотипа О, кроме тест-систем ФГБУ «ВНИИЗЖ» для штаммов О 2356/Пакистан/2018, О 2311/Забайкальский/2016, О 2047/Саудовская Аравия/2008, О/Кения/2017, отмечали пороговый уровень антител. Титр ВНА в данных образцах сыворотки крови к вирусу ящура штаммов А 2155/Забайкальский/2013 и О 2212/Приморский/2014 был равен 1,08 и 0,78 Ig соответственно, что ниже уровня защиты (данные не показаны). В то же время тестирование образцов сыворотки крови от зараженных контрольных свиней в 22 из 24 тест-систем ИФА и в 7 из 14 реакций нейтрализации, как гомологичных для серотипа О, так и гетерологичных, показало положительный результат (табл. 3 и 4).

В наших исследованиях был установлен и неоднократно подтвержден факт наличия перекрестно-реагирующих антител в ИФА и в меньшей степени – в РН. Причин, на наш взгляд, может быть несколько:

- наличие консервативных эпитопов в аминокислотной последовательности капсидных полипептидов VP1–VP3;

- доступность внутренних консервативных эпитопов полипептида VP4 для иммунной системы животного вследствие наличия субъединиц 12S и 5S в вакцинном материале, при репликации вируса или деградации вакцинного антигена (вируса) в организме животного в ходе иммунного процесса.

Диагностические наборы, использованные в работе, имели свои отличительные особенности. В первую очередь это касается происхождения конкурентных антител. Тест-системы иностранных производителей (Prio-nics, IZSLER, Innovative Diagnostics, BIONOTE и MEDIAN Diagnostics) используют для конкуренции моноклональные антитела, ФГБУ «ВНИИЗЖ» изготавливает наборы на основе поликлональных антител. В любом варианте основной целью разработчиков тест-систем является серотипоспецифичность, за которую отвечают поверхностные капсидные эпитопы. Для решения этой задачи иммунизацию лабораторных животных, доноров антител, производят интактным антигеном вируса ящура, в основной массе состоящего из 146S субъединиц. При получении гипериммунной поликлональной сыворотки крови кроликов и морских свинок для изготовления улавливающих и детекторных антител соответственно в ФГБУ «ВНИИЗЖ» используют высокоочищенный антиген вируса ящура, фракционированный в градиенте плотности сахарозы, представляющий собой цельные капсиды, не разделенные на более мелкие субъединицы. Таким образом, вероятность выработки антител к внутренним высококонсервативным эпитопам мала. Однако, как свидетельствуют публикации ряда исследователей, и поверхностные полипептиды обнаруживают консервативные антигенные детерминанты, индуцирующие образование вируснейтрализующих антител с перекрестной реактивностью [4, 5].

Не Y. et al. [4], используя метод выделения В-клеточных антител, изолировали от КРС и идентифицировали перекрестно-реагирующие нейтрализующие антитела (NAb) серотипа О/А (R50), а также определили структуру комплекса FMDV-NAb с помощью криоэлектронной микроскопии. Показано, что R50 захватывали капсиды как FMDV-О, так и FMDV-А и связывались с BC/EF/GH-loop полипептида VP1 и с GH-loop полипеп-

A/TAN/26/2013	1	ttatgesadp	vtttvenygg	etqvrqrhht	svefimdrfv	klgvsspthv	idlmqthqhg
A ₂₂ /IRQ/24/64	1	--t-----	-----	-----	d-t-t----	-i-nln----	-----
A/TUR/2/2014	1	--ta-----	-----	---a-----	d-g-----	-inpv-----	-----a
A/TUR/2006	1	--ta-----	-----	---a-----	d-g-----a	-ispv-----	-----a
A/PAK/2013	1	--ta-----	-----	---a-----	d-g-v-----	-inpv-----	-----a
O, wild type of FMDV	1	-s-----	--a-----	-----	d-s--l----	-vtpkdsin-	l-----ps-t
O/TUR/33/2011	1	--s-----	--a-----	v-----	d-s--l----	-vtpkdsin-	l-----pa-t
O/PAK/2019	1	--s-----	-----	-----	d-s--l----	-vtpkdsin-	l-----pa-t
Asia1/BAN/DH/2018	1	-----	-----	---ta--l--	d-a-vl----	-nepks-q	l-----ipa-t
Asia1/ISB/Pak_2012	1	--tv-----	-----	---aa--l--	d-g-vl----	-tnpka-qt	l-----ipp-t
Asia1/Shamir/89	1	--t-----	-----	---ta--l--	d-a--l----	-tapkniqt	l-----ips-t
C1/Loupogne BEL/53	1	-----	-----	-----	d-a-vl----	-vt--gnq-t	l-v--a-kdn
SAT2/LIB/39/2012	1	--sa-g-v	--dpsth--	nvqeg--k--	e-a-ll--st	hvtgktsf-	v---n-kkka
SAT2/EGY/Ismailia/2018	1	--sa-g-v	--dpsth--	nvqeg--k--	e-a-ll--st	hvtgktsf-	v---n-keka
A/TAN/26/2013	61	lv gallraat	yyfsdlevvv	rhegnltwvp	ngapeaalan	tsnptayhke	pftrlalpyt
A ₂₂ /IRQ/24/64	61	-----i--	-----i--	-----d--	-----s--	-g-----l-a	-----
A/TUR/2/2014	61	-----i--	-----i--	-----	-----g-v-	-----	-----
A/TUR/2006	61	-----i--	-----i--	-----d--	-----ve--	-----q	-----
A/PAK/2013	61	-----i--	-----i--	-----d--	-----vg--	-----q	-----
O, wild type of FMDV	61	-----t--	-----a--	k-k-d----	-----v--d-	-t-----a	-l-----
O/TUR/33/2011	61	-----t--	-----a--	k-----	-----d-	-t-----a	-l-----
O/PAK/2019	61	-----t--	-----a--	k-----	-----d-	-t-----a	-l-----
Asia1/BAN/DH/2018	61	-----s--	-----al	v-t-pa----	---s-kt--d	qt-----q-q	-i-----
Asia1/ISB/Pak_2012	61	-----s--	-----al	v-t-pv----	---kt--dc	qt-----q-q	-i-----
Asia1/Shamir/89	61	-----s--	-----al	v-a-pv----	---kd--n-	qt-----q-k	-i-----
C1/Loupogne BEL/53	61	i-----	-----ia-	t-t-k----	---vs--d-	-t-----g	-l-----
SAT2/LIB/39/2012	61	-----i--s	-----c--iac	vgdhtrvfwq	pngaprttqp	gd--mvfa-g	gv--f-i-f-
SAT2/EGY/Ismailia/2018	61	-----i--s	-----c--iac	vg-htrvfwq	pngapr--tql	gd--mvfa-g	gv--f-i-f-
A/TAN/26/2013	121	aphrvlatvy	ngtksysaat	sgrrgdigs1	aarvaaqlpa	sfnygalrat	tihellvrmk
A ₂₂ /IRQ/24/64	121	-----	-----gg	t-----p-	-----	---f--iq--	-----
A/TUR/2/2014	121	-----	---v---ttg	g-----	-----s	---f--i--	n-----
A/TUR/2006	121	-----	---v---ttg	n-----p-	-----s	---f--i--	-----
A/PAK/2013	121	-----	---v---tts	g-----	-----g	---f--ik--	-----
O, wild type of FMDV	121	-----	---c--aegs	lpnvrgdlqv	l-qk--rplp	tsfnysgaika	-rvte-lyrm
O/TUR/33/2011	121	-----	---nc--gesh	tanvrgdlqv	l-qk--rtlp	tsfnysgaika	-rvse-lyrm
O/PAK/2019	121	-----	---nc--geg-	vtnvrgdlqv	l-qk--rtlp	tsfnysgaika	-rvte-lyrm
Asia1/BAN/DH/2018	121	-----	---ktt-get-	-r-gdlaala	qrvsrqlpts	fnygavkaen	itel-irmkr
Asia1/ISB/Pak_2012	121	-----	---kta-gqe-	pr-gdlaaia	qrvtstlpts	fnygavkadn	itel-irmkr
Asia1/Shamir/89	121	-----	---kta-get-	sr-gdmaala	qrsls-rlpts	fnygavkad-	itel-irmkr
C1/Loupogne BEL/53	121	-----a-	t--tt-t-s-	r-dlah-aat	h--hlptsfn	fgavk-eti-	ellvrmk-ae
SAT2/LIB/39/2012	121	-----l-s--	---ecd-nktv	tai---raa-	---ky-dntht	lpstfnfgfv	-vdkpvdvyy
SAT2/EGY/Ismailia/2018	121	-----l-s--	---ecv-kkpv	asi---raa-	---ky-dstht	lpptfnfgfv	-vdkpvdvyy
A/TAN/26/2013	181	raelycprpl	latevsager	ykqkiiapak	qll		
A ₂₂ /IRQ/24/64	181	-----	-----sqd-	h-----	---		
A/TUR/2/2014	181	-----	-----sqd-	h-----	---		
A/TUR/2006	181	-----	-----lsqd-	h-----	---		
A/PAK/2013	181	-----	-----sqd-	h--q-----	-		
O, wild type of FMDV	181	kraetycprp	-lavhpsaa-	h---v----			
O/TUR/33/2011	181	kraetycprp	-laihpnea-	h---v----	--		
O/PAK/2019	181	kraetycprp	-laihp-a-	h---v----			
Asia1/BAN/DH/2018	181	aetycprpl-	aldttqdrk	qeiiapekv	l		
Asia1/ISB/Pak_2012	181	aetycprpl-	aldttqdrk	qeiiapekv			
Asia1/Shamir/89	181	aetycprpl-	aldttqdrk	q-iiapekv	lnf		
C1/Loupogne BEL/53	181	lycprpil-i	qp-gdrhkqp	lvapakqll			
SAT2/LIB/39/2012	181	rmkraelycp	rpllpdydha	grdrfd--ig	verq		
SAT2/EGY/Ismailia/2018	181	rmkraelycp	rpllpaydha	grdrfd--ig	verq		

Рис. 2. Аминокислотная последовательность поверхностного полипептида VP1 вируса ящура разных серотипов, 214 а. о. (по данным GenBank NCBI; красным цветом выделена зона GH-loop)

Fig. 2. Amino acid sequence of surface VP1 polypeptide of FMDV of different serotypes, 214 a. a. (according to the GenBank NCBI data; GH-loop region is indicated in red)

тида VP3, выявляя ранее неизвестный антигенный сайт. Перекрестный эпитоп, распознаваемый R50, высококонсервативен среди серотипов O/A.

Для иллюстрации данного утверждения были проанализированы 14 аминокислотных последовательностей, включающих до 214 а. о., одного из поверхностных белков вируса ящура VP1 разных серотипов с целью определить потенциальную вероятность наличия консервативных эпитопов [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Выравнивание последовательностей проводили относительно вируса ящура штамма A/TAN/26/2013 (GenBank: AXI68858.1). Как видно из рисунка 2, такая вероятность существует, так как обнаруживаются консервативные участки с минимальным количеством замен.

Иммуногенность предполагаемых эпитопов поверхностных полипептидов оценивали в антигенных вариантах ИФА при серотипировании интактного антигена разных штаммов вируса ящура: в «сэндвич»-варианте ИФА с поликлональными улавливающими и детекторными антителами, прямом варианте ИФА с моноклональными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (табл. 5 и 6).

Как показывает анализ полученных данных, при использовании как поликлональных, так и моноклональных антител наблюдали четкое серотипирование интактного антигена вируса ящура в концентрации 0,025 мг/мл в большинстве реакций ИФА. В двух случаях обнаружили перекрестную реакцию в прямом

Таблица 5

Результаты серотипирования интактного антигена вируса ящура в «сэндвич»-варианте ИФА

Table 5

Results of serotyping of FMDV intact antigen with sandwich ELISA

Образцы 146S-АГ ВЯ (C ≈ 0,025 мг/мл)	«Сэндвич»-вариант ИФА (ФГБУ «ВНИИЗЖ») для АГ ВЯ серотипа							
	А		О				Asia 1	SAT 2
	A/Zab/13	A/TUR/06	O/Zab/16	O/PAK/18	O/SAU/08	O/Prim/14	Asia1/Shamir/89	SAT2/LIB/12
A/Zab/13	пол.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
A/TUR/06	пол.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
A/ARRIAH/15	пол.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
A ₂₂ /IRQ/64	пол.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
O/Zab/16	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.	пол.	отр.	отр.
O/PAK/18	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.	пол.	отр.	отр.
O/SAU/08	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.	пол.	отр.	отр.
O/Prim/14	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.	пол.	отр.	отр.
O/KEN/17	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.	пол.	отр.	отр.
Asia1/Shamir/89	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.
Asia1/TAJ/11	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.
Asia1/PAK/18	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.
SAT2/LIB/12	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.

АГ ВЯ – антиген вируса ящура.

FMDV Ag – antigen of FMDV.

Таблица 6

Результаты серотипирования интактного антигена вируса ящура в прямом варианте ИФА с использованием коммерческих конъюгатов моноклональных антител с пероксидазой хрена

Table 6

Results of FMDV intact antigen serotyping with direct ELISA using commercial monoclonal antibody-horse radish peroxidase conjugates

Образцы 146S-АГ ВЯ (C ≈ 0,025 мг/мл)	Прямой вариант ИФА для АГ ВЯ с коммерческим конъюгатом										
	PrioCHECK		IZSLER				IDVet			BIONOTE	MEDIAN
	A	O	A	O	Asia 1	SAT 2	A	O	Asia 1	O	O
A/Zab/13	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.
A/TUR/06	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.
A/ARRIAH/15	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.
A ₂₂ /IRQ/64	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.
O/Zab/16	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	пол.
O/PAK/18	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.
O/SAU/08	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	пол.
O/Prim/14	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.
O/KEN/17	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	пол.
Asia1/Shamir/89	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.
Asia1/TAJ/11	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.
Asia1/PAK/18	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	отр.
SAT2/LIB/12	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.

АГ ВЯ – антиген вируса ящура.

FMDV Ag – antigen of FMDV.

варианте с конъюгатами A-IZSLER (антиген серотипа SAT2/LIB/12) и A-IDVet (антигены серотипа Asia 1), что с учетом перекреста в РН подтверждало, на наш взгляд, предположение о наличии консервативных эпитопов в составе поверхностных полипептидов. Вероятно, данные эпитопы обладают меньшей иммуногенно-

стью по сравнению с loop-участками (рис. 2) ввиду их расположения на поверхности капсида. Выступающие loop-участки аминокислотной последовательности формируют первичный иммунный ответ. Уровень перекрестной реактивности антител у переболевших животных был значительно ниже как в ИФА, так и в РН

по сравнению с гомологичным (серотипоспецифическим) ответом (табл. 2, 3 и 4), аналогичную картину наблюдали в ИФА и у вакцинированных животных (рис. 1).

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что для серотипирования противоящурных антител в сыворотке крови инфицированных животных необходимо проведение параллельных исследований в тест-системах для разных серотипов ящура. Серотип должен определяться по доминирующему результату. При изучении поствакцинального иммунитета уровень перекрестно-реагирующих антител не имеет значения, поскольку данная категория антител, независимо от причины их появления, является вирусоспецифической и свидетельствует о состоянии иммунной системы животного. Степень защиты животного от инфекции прямо пропорциональна общему количеству вирусоспецифических антител, среди которых преобладают вируснейтрализующие антитела в силу особенностей строения вириона ящура.

В таблице 7 отражены результаты оценки реагирования организма двух животных (КРС № 1 и 2) на введение экспериментальной моновакцины против ящура на основе штамма Азия-1 1946/Shamir/Израиль/3/89. Клинически здоровые одновозрастные бычки при одинаковом режиме содержания демонстрировали особенности в развитии иммунного ответа. Если на 14-й день после вакцинации оба животных при исследовании в ИФА имели реакцию практически только на серотип Asia 1, то на 23-й день после вакцинации в сыворотке крови КРС № 1 обнаруживали антитела также с помощью 7 из 8 тест-систем для серотипа А и 3 из 10 – для серотипа О, в то время как сыворотка крови животного № 2 сохранила серотипоспецифичность. При этом уровень специфических антител против ящура серотипа Asia 1 у обоих животных был одинаковым. Это можно объяснить разной скоростью иммунного процесса в организме бычков, способного спровоцировать деstrukцию введенного вакцинного антигена. По нашим

Таблица 7
Результаты исследования в ИФА образцов сыворотки крови КРС, иммунизированного моновакциной против ящура серотипов О и Asia 1

Table 7
Results of ELISA tests of serum samples from cattle immunized with monovalent vaccine against type O and Asia 1 FMDV

Диагностическая тест-система	Сыворотка крови КРС, PI _{сред.} (%)				
	21 dpv O/Orenburg/21	№ 1 Asia1/Shamir/89		№ 2 Asia1/Shamir/89	
		14 dpv	23 dpv	14 dpv	23 dpv
A/Zab/13-ВНИИЗЖ	97,1	35,4	82,2	21,7	17,3
A/TUR/06-ВНИИЗЖ	93,8	6,5	63,0	1,1	22,3
A ₂₂ /IRQ/64-ВНИИЗЖ	89,2	36,4	68,8	3,8	6,56
A/ARRIAH/15-ВНИИЗЖ	90,1	4,4	40,5	23,3	25,9
A/TAN/13-ВНИИЗЖ	н/и	3,1	81,5	8,7	37,3
A-PrioCHECK	58,3	23,3	63,8	17,9	35,1
A-IZSLER	95,8	71,0	81,6	67,4	70,3
A-IDVet	97,7	35,6	81,4	36,6	34,3
O/Prim/14-ВНИИЗЖ	96,6	48,3	58,4	31,2	39,5
O/Zab/16-ВНИИЗЖ	95,9	16,7	38,3	6,4	14,7
O/PAK/18-ВНИИЗЖ	96,1	35,2	33,7	12,4	18,6
O/SAU/08-ВНИИЗЖ	96,0	34,5	68,2	22,8	25,2
O/KEN/17-ВНИИЗЖ	н/и	2,1	3,3	5,3	7,1
O-PrioCHECK	97,3	40,5	48,4	23,9	25,5
O-IZSLER	95,8	56,1	41,5	38,6	55,6
O-IDVet	85,9	4,2	1,0	-26,6	-43,6
O-BIONOT	98,9	32,0	39,7	21,0	22,9
O-MEDIAN	90,0	40,0	54,0	30,0	20,0
Asia1/PAK/18-ВНИИЗЖ	92,2	67,3	84,6	63,7	84,5
Asia1/TAJ/11-ВНИИЗЖ	88,7	62,3	72,1	61,6	71,5
Asia1/Shamir/89-ВНИИЗЖ	90,6	72,8	90,8	71,9	89,9
Asia1-PrioCHECK	47,1	74,8	80,4	74,2	81,7
Asia1-IDVet	81,9	85,2	88,9	78,9	75,9
SAT2/LIB/12-ВНИИЗЖ	81,5	н/и	н/и	н/и	н/и

dpv – дни после вакцинации; н/и – не исследовали; курсивом выделены результаты исследования в гетерологичных тест-системах ИФА, жирным шрифтом – положительные значения PI.
dpv – days post vaccination; n/t – not tested; results of tests with heterologous ELISA test-systems are given in italics, positive PI values are given in bold.

наблюдениям, как правило, на 21-й день после вакцинации уровень гуморального иммунитета достигает пика и выходит на плато, с течением времени (период наблюдения: 14–45 дней после вакцинации) количество серотипоспецифических антител практически не изменяется или изменения несут незначительный характер, а перекрестно-реагирующие антитела имеют устойчивую динамику (данные не показаны).

В случае если для иммунизации используется антиген с нарушенной по разным причинам структурой, можно получить масштабную перекрестную реакцию вирусоспецифических антител, затрудняющую серотипирование в ИФА.

Так, сыворотка крови КРС, отобранная на 21-й день после вакцинации против ящура препаратом на основе штамма О 2620/Оренбургский/2021, демонстрировала сильную перекрестную реакцию в 11 из 13 тест-систем для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа А, Asia 1 или SAT 2, сопоставимую с гомологичной реакцией, в двух других тест-системах (А-PríoCHECK, Asia1-PríoCHECK) ответ был слабый (табл. 7). В данном случае перекрестная реактивность была вызвана нарушением целостности капсидного антигена, что вызвало образование большого количества антител против внутренних консервативных эпитопов полипептида VP4.

При электрофоретическом анализе антигенного материала, использованного для приготовления экспериментального образца вакцины, был установлен факт расщепления молекул структурных полипептидов VP1–VP3. Для сравнения приведен образец полноценного 146S-АГ вируса ящура штамма Азия-1 2145/Таджикистан/2011 (интактный антиген) – дорожка 1 (рис. 3).

Однако количество ВНА 2,70 Ig (титр ВНА – 1:512), определенное в РН вируса ящура штамма О 2620/Оренбургский/2021, было достаточным для защиты от инфекции (табл. 8). При исследовании данной сыворотки крови на перекрестную вируснейтрализующую активность в РН наблюдали нейтрализацию вируса ящура штамма А 2155/Забайкальский/2013 до конечного разведения сыворотки 1:128 (2,10 Ig). В то же время

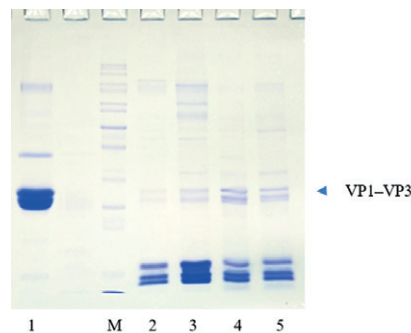


Рис. 3. Электрофорез в 12%-м полиакриламидном геле образцов антигена вируса ящура:

М – белковый маркер 10–200 kDa; 1 – 146S-АГ Asia1/TAJ/11 (интактный антиген); 2 – АГ_{УЦФ35} О/Оренбург/21; 3 – АГ_{ПЦ} О/Оренбург/21; 4 – АГ_{УЦФ35} Asia1/PAK/18; 5 – АГ_{ПЦ} Asia1/PAK/18.

АГ_{УЦФ35} – антиген, сконцентрированный при ультрацентрифугировании через 35%-й слой сахарозы; АГ_{ПЦ} – антиген, преципитированный 8% полиэтиленгликоля 6000

Fig. 3. Polyacrylamide gel (12%) electrophoresis of FMDV antigen specimens: M – protein marker, 10–200 kDa;

1 – 146S-Ag Asia1/TAJ/11 (intact antigen); 2 – Ag_{UCF35} O/Orenburg/21; 3 – Ag_{PRECIP} O/Orenburg/21; 4 – Ag_{UCF35} Asia1/PAK/18; 5 – Ag_{PRECIP} Asia1/PAK/18.

Ag_{UCF35} – antigen concentrated with 35% sucrose gradient ultracentrifugation (UCF); Ag_{PRECIP} – antigen precipitated with 8% polyethylene glycol 6,000

тестирование в РН сыворотки крови КРС против штамма О 2356/Пакистан/2018 также показало межтипную нейтрализацию вируса ящура штамма SAT2/LIB/39/2012 на значимом уровне (1,65 Ig).

Таким образом, измененная структура вакцинного антигена не помешала формированию иммунного ответа, однако могла стать препятствием для оценки защитных свойств вакцины в ИФА.

Тем не менее при промышленном производстве вакцины такие случаи должны быть исключены, поскольку строго контролируется компонентный состав вакцины. Этот пример был использован для лучшего понимания возможных причин возникновения перекрестной реакции в ИФА.

Результаты проведенных нами исследований перекликаются с опубликованными данными Института Пирбрайта (Великобритания) [3]. При исследовании 294 моновалентных сывороток крови, в основном бычьих, собранных после заражения, вакцинации или прививки и инфицирования одним из пяти серотипов ящура, более половины из образцов, представляющих все три категории иммунизации, показали положительный результат по крайней мере на один гетерологичный серотип, а некоторые имели положительный результат на все протестированные серотипы. Предварительные исследования со стабилизированными рекомбинантными капсидными антигенами серотипов О и А, которые не выявляли внутренние эпитопы, обнаруживали сниженную перекрестную реактивность образцов сыворотки крови, что подтверждало гипотезу о влиянии целостности капсида на серотипоспецифичность SP-ELISA. Остаточная перекрестная реактивность, связанная с поверхностными эпитопами капсида, соответствовала нейтрализации вируса перекрестного серотипа.

Таблица 8

Результаты исследования образцов сыворотки крови КРС, привитого противоящурной вакциной на основе штаммов О 2620/Оренбургский/2021 или О 2356/Пакистан/2018, в РН вируса ящура гомологичных и гетерологичных серотипов

Table 8

Results of tests of serum samples from cattle vaccinated with anti-FMD vaccine based on O 2620/Orenburgsky/2021 or O 2356/Pakistan/2018 strain with neutralization test using homologous and heterologous FMDV serotypes

Штамм вируса ящура	Доза вируса, ТЦД ₅₀ /0,05 см ³	T _{сред.} ВНА, Ig	
		О/Оренбург/21	О/ПАК/18
А 2155/Забайкальский/2013	10 ^{1,46}	2,10	1,38
О 2356/Пакистан/2018	10 ^{1,35}	≥ 2,86	3,00
О 2620/Оренбургский/2021	10 ^{1,88}	2,70	1,70
Азия-1 1946/Shamir/Израиль/3/89	10 ^{2,29}	≤ 0,78	1,08
SAT2/LIB/39/2012	10 ^{1,16}	0,90	1,65

T_{сред.} ВНА – средний титр вируснейтрализующих антител; курсивом выделены результаты исследования в гетерологичной РН, жирным шрифтом – защитный уровень ВНА.

T_{mean} VNA – mean titre of virus neutralizing antibodies; results of tests with heterologous NT are given in italics, protective level of virus-neutralizing antibodies is given in bold.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было показано, что все использованные в работе иммуноферментные диагностические тест-системы для определения антител к структурным белкам вируса ящура разных производителей: ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Россия), Prionics (Нидерланды/Швейцария), IZSLER & The Pirbright Institute (Италия/Великобритания), Innovative Diagnostics (Франция) BIONOTE (Республика Корея), MEDIAN Diagnostics (Республика Корея) – обнаруживали некоторое количество перекрестно-реагирующих антител между серотипами вируса ящура. Индукция данной категории антител могла быть вызвана рядом факторов: наличием консервативных эпитопов в аминокислотной последовательности поверхностных полипептидов вируса ящура, нарушением целостности капсида, что провоцировало выработку антител против внутреннего высококонсервативного полипептида. Тем не менее анализ большого массива данных (около 3500 исследований) показал, что гомологичная серотипоспецифическая реакция в целом была значительно выше и являлась доминирующей, доля вирусоспецифических незащитных антител, в том числе и перекрестно-реагирующих, была не столь значительной и не искажала результаты оценки иммуногенности противоящурной вакцины в ИФА. В исключительных случаях требуется подтверждение результатов в других серологических реакциях. Оптимальным вариантом следует считать комплексные исследования на ящур с привлечением разных методов диагностики, таких как иммуноферментный анализ с использованием стандартных и референтных тест-систем и/или реакция вирусной нейтрализации в культуре клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Феррари Д., Пейтон Д., Дюффи С., Бартелс К., Найт-Джонс Т. Вакцинация против ящура и поствакцинальный мониторинг: руководство. Под ред. С. Метвалли, С. Мюнстерманн. Рим: ФАО, ВОЗЖ; 2020. 88 с. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/15975RU>
2. Ferrari G., Paton D., Duffy S., Bartels C., Knight-Jones T. Foot and mouth disease vaccination and post-vaccination monitoring: Guidelines. Ed. by S. Metwally, S. Münstermann. Rome: FAO, OIE; 2016. 111 p. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/56c4f441-1aad-46b5-bc7a-c0b-a17c1a11d>
3. Ludi A. B., Morris A., Gubbins S., Asfor A., Afzal M., Browning C. F., et al. Cross-serotype reactivity of ELISAs used to detect antibodies to the structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Viruses*. 2022; 14 (7):1495. <https://doi.org/10.3390/v14071495>
4. He Y., Li K., Cao Y., Sun Z., Li P., Bao H., et al. Structures of foot-and-mouth disease virus with neutralizing antibodies derived from recovered natural host reveal a mechanism for cross-serotype neutralization. *PLoS Pathogens*. 2021; 17 (4):e1009507. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009507>
5. Meloen R. H., Briaire J. A study of the cross-reacting antigens on the intact foot-and-mouth disease virus and its 12S Subunits with antisera against the structural proteins. *Journal of General Virology*. 1980; 51 (1): 107–116. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-1-107>
6. Dong H., Lu Y., Zhang Y., Mu S., Wang N., Du P., et al. A heat-induced mutation on VP1 of foot-and-mouth disease virus serotype O enhanced

capsid stability and immunogenicity. *Journal of Virology*. 2021; 95 (16):e00177–21. <https://doi.org/10.1128/JVI.00177-21>

7. Roeder P. L., Le Blanc Smith P. M. Detection and typing of foot-and-mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay: A sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Research in Veterinary Science*. 1987; 43 (2): 225–232. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30778-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30778-1)

8. Casey-Bryars M., Reeve R., Bastola U., Knowles N. J., Auty H., Bachanek-Bankowska K., et al. Waves of endemic foot-and-mouth disease in eastern Africa suggest feasibility of proactive vaccination approaches. *Nature Ecology and Evolution*. 2018; 2 (9): 1449–1457. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0636-x>

9. Dill V., Beer M., Hoffmann B. Simple, quick and cost-efficient: A universal RT-PCR and sequencing strategy for genomic characterization of foot-and-mouth disease viruses. *Journal of Virological Methods*. 2017; 246: 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.04.007>

10. Di Nardo A., Ferretti L., Wadsworth J., Mioulet V., Gelman B., Karnieli S., et al. Evolutionary and ecological drivers shape the emergence and extinction of foot-and-mouth disease virus lineages. *Molecular Biology and Evolution*. 2021; 38 (10): 4346–4361. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab172>

11. Ali M. R., Alam A. S. M. R. U., Amin M. A., Siddique M. A., Sultana M., Hossain M. A. Emergence of novel lineage of foot-and-mouth disease virus serotype Asia1 BD-18 (G-IX) in Bangladesh. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 67 (2): 486–493. <https://doi.org/10.1111/tbed.13381>

12. Dill V., Hoffmann B., Zimmer A., Beer M., Eschbaumer M. Adaption of FMDV Asia-1 to suspension culture: Cell resistance is overcome by virus capsid alterations. *Viruses*. 2017; 9 (8):231. <https://doi.org/10.3390/v9080231>

13. Martínez M. A., Dopazo J., Hernández J., Mateu M. G., Sobrino F., Domingo E., Knowles N. J. Evolution of the capsid protein genes of foot-and-mouth disease virus: Antigenic variation without accumulation of amino acid substitutions over six decades. *Journal of Virology*. 1992; 66 (6): 3557–3565. <https://doi.org/10.1128/JVI.66.6.3557-3565.1992>

14. Hassan A. M., El-Mayet F. S., El-Habbaa A. S., Shahein M. A., El Zowalaty M. E., Hagag N. M., Sharawi S. S. A. Molecular characterization of newly emerging foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 of Lib-12 lineage isolated from Egypt. *Virus Research*. 2022; 311:198651. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198651>

15. Ahmed H. A., Salem S. A. H., Habashi A. R., Arafa A. A., Aggour M. G. A., Salem G. H., et al. Emergence of foot-and-mouth disease virus SAT 2 in Egypt during 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59 (6): 476–481. <https://doi.org/10.1111/tbed.12015>

16. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227 (5259): 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>

17. Lugovskaya N. N., Scherbakov A. V., Yakovleva A. S., Tsyvanyuk M. A., Mudrak N. S., Drygin V. V., Borisov A. V. Detection of antibodies to avian infectious bronchitis virus by a recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Virological Methods*. 2006; 135 (2): 292–296. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.03.019>

18. Hamblin C., Barnett I. T. R., Hedger R. S. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 115–121. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90441-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90441-2)

19. Hamblin C., Barnett I. T. R., Crowther J. R. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: II. Application. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 123–129. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90442-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90442-4)

20. Hamblin C., Kitching R. P., Donaldson A. I., Crowther J. R., Barnett I. T. R. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination. *Epidemiology and Infection*. 1987; 99 (3): 733–744. <https://doi.org/10.1017/s0950268800066590>

Поступила в редакцию / Received 25.12.2023

Поступила после рецензирования / Revised 15.01.2024

Принята к публикации / Accepted 27.02.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Луговская Наталия Николаевна, канд. биол. наук, заведующий сектором лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-0029-6345>, e-mail: lugovskaya@arriah.ru

Natalia N. Lugovskaya, Cand. Sci. (Biology), Head of Sector, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-0029-6345>, e-mail: lugovskaya@arriah.ru

Силантьева Екатерина Андреевна, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0007-5877-178X>, e-mail: silantyeva_ea@arriah.ru

Оковитая Татьяна Владимировна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, e-mail: okovitaya@arriah.ru

Харитонов Анастасия Александровна, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; e-mail: haritonova_aa@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

Разгуляева Евгения Александровна, главный специалист лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия

Будина Олеся Олеговна, главный специалист лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; e-mail: budina@arriah.ru

Яснева Елена Анатольевна, канд. вет. наук, руководитель испытательной лаборатории ветеринарных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0004-1556-5538>, e-mail: jasneva@arriah.ru

Ekaterina A. Silanteva, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0007-5877-178X>, e-mail: silantyeva_ea@arriah.ru

Tatyana V. Okovytaya, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, e-mail: okovitaya@arriah.ru

Anastasiya A. Kharitonova, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; e-mail: haritonova_aa@arriah.ru

Ykhlal M. Gochmuradov, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

Evgeniya A. Razgulyaeva, Chief Specialist, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia

Olesya O. Budina, Chief Specialist, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; e-mail: budina@arriah.ru

Elena A. Yasneva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of the VMP Testing Laboratory, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0004-1556-5538>, e-mail: jasneva@arriah.ru

Вклад авторов: Луговская Н. Н. – очистка и концентрирование антигена вируса ящура, электрофоретический анализ белковых продуктов, разработка и валидация тест-систем, исследования образцов сыворотки в ИФА, статистический анализ результатов, изучение научных публикаций по теме, разработка концепции исследования и подготовка статьи; Силантьева Е. А. – исследования образцов сыворотки в ИФА; Оковитая Т. В. – исследования образцов сыворотки в ИФА, получение компонентов реакции: очистка и концентрирование антигена вируса ящура, получение улавливающих и детекторных антител; Харитонов А. А. – получение компонентов реакции: очистка и концентрирование антигена вируса ящура, получение улавливающих и детекторных антител, электрофоретический анализ белковых продуктов; Гочмурадов Ы. М. – исследования образцов сыворотки в ИФА; Разгуляева Е. А. – исследования образцов сыворотки в РН; Будина О. О. – исследования образцов сыворотки в ИФА; Яснева Е. А. – помощь в проведении опыта с контрольным заражением животных.

Contribution: Lugovskaya N. N. – FMDV antigen purification and concentration, electrophoresis of protein products, test-system development and validation, ELISA tests of serum samples, statistical analysis of obtained results, analysis of scientific publications on the subject, conceptualization and paper preparation; Silantyeva E. A. – ELISA tests of serum samples; Okovytaya T. V. – ELISA tests of serum samples, preparation of the reaction components: FMDV antigen purification and concentration, preparation of capture and detection antibodies; Kharitonova A. A. – preparation of the reaction components: FMDV antigen purification and concentration, preparation of capture and detection antibodies, electrophoresis of protein products; Gochmuradov Y. M. – ELISA tests of serum samples; Razgulyaeva E. A. – neutralization tests of serum samples; Budina O. O. – ELISA tests of serum samples; Yasneva E. A. – assistance in conducting of animal challenge test.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-57-63>
УДК 619:616.98.578:636.4:575.113:616-085.37

Конструирование прокариотической системы экспрессии фрагмента гена *ORF-2* цирковируса свиней 2-го типа

А. Г. Галеева¹, А. Р. Ахунова¹, К. В. Усольцев¹, Н. И. Хаммадов¹, М. А. Ефимова^{1,2}

¹ ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), Научный городок-2, г. Казань, 420075, Республика Татарстан, Россия

² ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», ул. Сибирский тракт, 35, г. Казань, 420029, Республика Татарстан, Россия

РЕЗЮМЕ

Цирковиральные болезни свиней на сегодняшний день являются одной из наиболее значимых проблем свиноводства в развитых странах. Цирковир свиней 2-го типа (ЦВС-2) считается основным этиологическим агентом синдрома мультисистемного послеотъемного истощения поросят. Случаи массовой заболеваемости свиней цирковиральными болезнями зарегистрированы в большинстве регионов мира, что влечет за собой серьезные экономические последствия. Известно, что оптимальный профилактический эффект в отношении данных инфекций достигается за счет проведения комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий в сочетании с вакцинацией. Учитывая высокую эволюционную изменчивость вируса, способствующую появлению новых генотипов и штаммов, вопрос разработки новых кандидатных рекомбинантных вакцин против цирковиральной инфекции, вызванной ЦВС-2, остается открытым. Целями настоящего исследования явились конструирование прокариотической системы экспрессии фрагмента гена *ORF-2* ЦВС-2 и оценка ее функциональности. Генетическая вставка, сконструированная из наиболее иммуногенных типоспецифических эпитопов ЦВС-2 на основании консенсусной последовательности штаммов и изолятов генотипов 2a, 2b, 2d, клонирована в экспрессионный вектор pET-22b(+), который был реципирован в штамм *Escherichia coli* Rosetta 2(DE3). Отбор трансформантов осуществляли на селективной среде по маркерному гену устойчивости к ампициллину. Индукцию экспрессии целевого гена проводили внесением различных концентраций изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозидов. В результате исследований был сконструирован штамм *Escherichia coli* Rosetta 2(DE3)/pET-22b-ORF-2 – продуцент фрагмента капсидного белка (92–233 а. о.). Установлено, что в присутствии 1 мМ изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозидов уровень экспрессии растворимого укороченного гСар достигает 35–40 мг/л через 6 ч постиндукции. Специфичность продукта экспрессии оценивали в непрямом иммуноферментном анализе с сывороткой крови свиньи, гипериммунизированной цельновирионным ЦВС-2. Было показано, что коэффициент позитивности лизатов клеток штамма-продуцента составлял в среднем 4,34 ($p < 0,005$). Рекомбинантный белок гСар пригоден для целей серологической диагностики, а также представляет интерес в качестве компонента вакцины, что является целью наших дальнейших исследований.

Ключевые слова: цирковир свиней 2-го типа, синдром мультисистемного послеотъемного истощения, *ORF-2*, прокариотическая система экспрессии

Благодарности: Авторы благодарят старшего научного сотрудника НИЛ OpenLab «Генные и клеточные технологии» ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» канд. биол. наук Р. Ф. Хайруллина за предоставление экспрессирующего штамма *Escherichia coli*, а также сотрудников ФКП «Щелковский биокомбинат»: д-ра биол. наук, проф. И. Н. Матвееву и канд. биол. наук Н. В. Хаустову – за предоставление гипериммунной сыворотки к цирковирису свиней 2-го типа и плодотворную дискуссию.

Для цитирования: Галеева А. Г., Ахунова А. Р., Усольцев К. В., Хаммадов Н. И., Ефимова М. А. Конструирование прокариотической системы экспрессии фрагмента гена *ORF-2* цирковируса свиней 2-го типа. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 57–63. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-57-63>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Галеева Антонина Глебовна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией вирусных антропозоонозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Научный городок-2, г. Казань, 420075, Республика Татарстан, Россия, e-mail: antonina-95@yandex.ru

Construction of prokaryotic system for expression of porcine circovirus type 2 *ORF-2* gene fragment

Antonina G. Galeeva¹, Alsu R. Akhunova¹, Konstantin V. Usoltsev¹, Nail I. Khammadox¹, Marina A. Efimova^{1,2}

¹ Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Nauchnyi gorodok-2, Kazan 420075, Republic of Tatarstan, Russia

² Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, 35 Sibirskiy tract str., Kazan 420029, Republic of Tatarstan, Russia

ABSTRACT

Porcine circovirus-associated diseases (PCVDs) are among the most significant challenges for pig farming in developed countries. Porcine circovirus type 2 (PCV-2) is considered the main etiological agent of postweaning multisystemic wasting syndrome in piglets. Mass PCVD occurrence has been

© Галеева А. Г., Ахунова А. Р., Усольцев К. В., Хаммадов Н. И., Ефимова М. А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

reported in most regions of the world, that results in serious economic consequences. Optimal PCVD prevention is known to be achieved through a set of veterinary and sanitary measures in combination with vaccination. High evolutionary virus variability facilitating new genotype and strain emergence requires development of new candidate recombinant vaccines against PCV-2 infection. The study was aimed at construction of prokaryotic system for PCV-2 ORF-2 gene fragment expression and its functionality assessment. A genetic insert constructed from the most immunogenic type-specific PCV-2 epitopes based on genotype 2a, 2b, 2d strain and isolate consensus sequence was cloned into the expression vector pET-22b(+) that was incorporated into the *Escherichia coli* strain Rosetta 2(DE3). The transformants were selected based on the marker gene of ampicillin resistance on a selective medium. Target gene expression was induced by adding of isopropyl- β -D-1-thiogalactopyranoside at different concentrations. As a result, *Escherichia coli* Rosetta 2(DE3)/pET-22b-ORF-2 strain, a producer of capsid protein fragment (92–233 amino acid residues), was constructed. It was found that in the presence of 1 mM isopropyl- β -D-1-thiogalactopyranoside, the expression level of soluble truncated rCap was 35–40 mg/L 6 hours after induction. The expression product was tested for its specificity with indirect ELISA using whole-virion PCV-2-hyperimmunized porcine serum. It was shown that the positivity coefficient of producer strain cell lysates averaged to 4.34 ($p < 0.005$). The recombinant rCap protein is suitable for serological diagnosis and is also of interest as a vaccine component, which is the goal of our further studies.

Keywords: porcine circovirus type 2, postweaning multisystemic wasting syndrome, ORF-2, prokaryotic expression system

Acknowledgements: The authors thank senior researcher of the Laboratory "OpenLab Gene and cell technologies", Kazan (Volga Region) Federal University, Cand. Sci. (Biology) R. F. Khairullin for providing of *Escherichia coli* expressing strain, as well as employees of the Shchelkovo Biocombinat, Dr. Sci. (Biology), Professor I. N. Matveeva and Cand. Sci. (Biology) N. V. Khaustova for providing PCV-2 hyperimmune serum and fruitful discussion.

For citation: Galeeva A. G., Akhunova A. R., Usoltsev K. V., Khammadow N. I., Efimova M. A. Construction of prokaryotic system for expression of porcine circovirus type 2 ORF-2 gene fragment. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 57–63. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-57-63>

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

For correspondence: Antonina G. Galeeva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory of Viral Anthroozoonoses, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Nauchnyi gorodok-2, Kazan 420075, Republic of Tatarstan, Russia, e-mail: antonina-95@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Цирковирозные болезни свиней на сегодняшний день являются одной из наиболее значимых проблем свиноводства в экономически развитых странах. Цирковир свиней 2-го типа (ЦВС-2) считается основным этиологическим агентом синдрома мультисистемного послеотъемного истощения (СМПИ, PMWS – postweaning multisystemic wasting syndrome) поросят, а также встречается при синдроме дерматита и нефропатии свиней, респираторном симптомокомплексе и инфекционном врожденном треморе поросят [1]. Цирковирозные болезни у свиней могут проявляться в виде субклинической и клинической инфекций, при этом субинфекция является наиболее распространенной формой инфекционного процесса, вызываемого ЦВС-2, и выражается в потере среднесуточного прироста массы тела без специфических клинических признаков [2]. Системное заболевание поражает поросят преимущественно в возрасте 6–15 недель и характеризуется анорексией, диспептическими явлениями и лимфаденопатией [3]. Случаи массовой заболеваемости свиней цирковирозными инфекциями зарегистрированы в большинстве регионов мира, что влечет за собой серьезные экономические последствия для свиноводческой отрасли [4, 5, 6, 7].

Цирковир свиней 2-го типа, относящийся к роду *Circovirus* семейства *Circoviridae*, представляет собой мелкий икосаэдрический безоболочечный ДНК-содержащий вирус с кольцевым геномом длиной 1766–1768 п. н. [8]. Известно о существовании 4 типов ЦВС, обладающих высокой нуклеотидной идентичностью (68–76%) и схожей геномной организацией [9, 10]. Геномная ДНК ЦВС-2 состоит из нескольких открытых рамок считывания, кодирующих основные вирусные

протеины – ORF-1 (репликативный протеин), ORF-2 (капсидный протеин), ORF-3 (апоптотический протеин), ORF-4 (ингибитор апоптоза) [11]. Наибольший интерес с точки зрения разработки средств специфической профилактики и диагностики заболеваний, вызванных ЦВС-2, представляет ORF-2, кодирующий капсидный протеин молекулярной массой ≈ 30 кДа [12]. На сегодняшний день идентифицировано 5 основных генотипов ЦВС-2: 2a, 2b, 2c, 2d, 2e; в течение последних 20 лет доминирующими в разных регионах мира являлись генотипы 2a, 2b и 2d [13].

Известно, что оптимальный профилактический эффект в отношении цирковирозных болезней свиней достигается за счет проведения комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий в сочетании с вакцинацией. В настоящее время российский рынок вакцин против цирковирозной инфекции, обусловленной ЦВС-2, представлен цельновирионной инактивированной вакциной «Циркостоп» (ФКП «Щелковский биоконбинат») и рекомбинантной вакциной на основе белка ORF-2, полученного в бакуловирусной системе экспрессии, «ВЕРРЕС-ЦИРКО» (ООО «Ветбиохим») [14]. Однако, учитывая высокую эволюционную изменчивость ЦВС-2, способствующую потенциальному появлению различных генотипов и штаммов [15], можно утверждать, что вопрос разработки новых кандидатных рекомбинантных вакцин, обеспечивающих перекрестную защиту от штаммов разных генотипов, остается дискуссионным. Анализ существующих в мире коммерческих вакцин показал, что успешно применяются преимущественно препараты на основе рекомбинантного белка Cap, полученного в бакуловирусной системе экспрессии. Однако применение данной эукариотической системы зачастую является трудоемким и дорогостоящим [16],

в связи с чем весьма актуальным является получение вакцинного белка при помощи других инструментов экспрессии.

Целями настоящего исследования явились конструирование прокариотической системы экспрессии фрагмента гена *ORF-2* ЦBC-2 и оценка ее функциональности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы и плазмиды. Для формирования консенсусной последовательности фрагмента гена *ORF-2* использовали нуклеотидные последовательности геномов эпизоотически значимых штаммов и изолятов ЦBC-2 генотипов 2a, 2b и 2d, депонированные в базе данных GenBank Национального центра биотехнологической информации (NCBI), а именно:

– генотип 2a: IAF2897 (ID AF408635.1), ID AY094619.1, DE99/2014 (ID MW262923.1), AUT-1 (ID AY424401.1), SPA1 (ID AF201308.1), 212 (ID AY256455.1);

– генотип 2b: QZ0401 (ID AY691169.1), NL_Control_1 (ID AY484407.1), 24657 NL (ID AF201897.1), n10eu (ID DQ629116.1), ADDLPP 10069 (ID EU594437.1), DE1054/2014 (ID MW262924.1), AUT5 (ID AY424405.1);

– генотип 2d: 28031_Mantova_32_13/12/2013 (ID KP231140.1), Uy99 (ID KP867050.1), BDH (ID HM038017.1), DE222-13 (ID KP698398.1).

Для клонирования целевого гена использовали экспрессионный вектор pET-22b(+) (Novagen, Германия), для экспрессии – штамм *Escherichia coli* Rosetta 2(DE3): F-ompT hsd SB (rB- mB-) gal dcm (DE3) pRARE2 (CamR) (Novagen, Германия), любезно предоставленный канд. биол. наук Р. Ф. Хайруллин.

Дизайн антигенной конструкции. Анализ аминокислотных последовательностей ЦBC-2 осуществляли при помощи ресурсов The Immune Epitope Database (IEDB, США), при этом основным критерием выбора фрагмента для экспрессии служила плотность расположения B-клеточных эпитопов. Поиск гомологичных аминокислотных последовательностей эпизоотически значимых штаммов и изолятов ЦBC-2 осуществляли при помощи BLAST-анализа. Прогнозирование основных физико-химических свойств укороченного гена *ORF-2* проводили с использованием ресурса Peptide Property Calculator (Innovagen AB, Швеция), гомологическое моделирование трехмерной белковой структуры – веб-сервера SWISS-MODEL (SIB, Швейцария). Укороченная последовательность гена *ORF-2* (276–699 п. н.) была оптимизирована по кодонной для экспрессии в *E. coli* без изменения аминокислотного состава и синтезирована на аутсорсе (ЗАО «Евроген», Россия), после чего клонирована в вектор pET-22b по сайтам рестрикции BamHI и EcoRI. Наличие целевого гена в векторе было подтверждено секвенированием. Трансформацию клеток штамма-реципиента осуществляли методом теплового шока с дальнейшей селекцией на агаризованной среде с добавлением антибиотиков (200 мкг/мл ампициллина, 34 мкг/мл хлорамфеникола).

Экспрессия rORF-2. Для индукции экспрессии целевого гена клетки штамма *E. coli* Rosetta 2(DE3)/pET-22b/ORF-2 культивировали в питательной среде Лурия – Бертини, содержащей ампициллин и хлорамфеникол, на термошейкере ES-20 (Biosan, Латвия) при температуре +37 °C и 180 rpm до достижения оптической плотности (ОП) 0,7 единиц. Экспрессию гена индуцировали добавлением изопропил-β-D-1-тио-

галактопиранозид – ИПТГ (Promega, США) в концентрации 1 mM, после чего культивировали клетки в течение 5–6 ч. Клеточные лизаты получали путем механической дезинтеграции биомассы в L-буфере (50 mM трис-HCl, pH 8,0; 0,3% KCl; 2 mM PMSF); первичную очистку целевого продукта осуществляли при помощи набора для экстракции бактериального белка «НЭББ-10» (ООО «Диаэм», Россия). Концентрацию белка определяли методом М. Bradford [17]. Наличие зрелого рекомбинантного белка rCap устанавливали в аналитическом disc-электрофорезе клеточных лизатов в 15%-м полиакриламидном геле с окраской Кумасси G250.

Непрямой иммуоферментный анализ. Серологическую активность rCap оценивали в непрямом иммуоферментном анализе (НИФА). Для этого из сыворотки крови, полученной путем гипериммунизации свиней ЦBC-2 (ФКП «Щелковский биокомбинат», Россия), методом одноступенчатой ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе [18] выделяли иммуноглобулины класса G, которыми сенсибилизировали поверхность полистироловых иммунологических планшетов средней сорбции (Corning, США) в концентрации 50 нг на лунку и инкубировали в течение 16 ч при температуре +4 °C. После трехкратной отмывки фосфатно-буферным раствором с твином (ФБР-Т) в лунки вносили клеточные лизаты в разведении 1:10 на ФБР и инкубировали в течение 1 ч при температуре +37 °C. В качестве отрицательного контроля использовали лизат клеток, трансформированных плазмидой pET-22b без вставки, гетерологичного контроля – рекомбинантный антиген E2 вируса классической чумы свиней, полученный в аналогичной системе экспрессии. После отмывки вносили специфический пероксидазный конъюгат, полученный по модифицированной методике Р. К. Nakane and A. Kawaoi [19], в концентрации 20 нг на лунку и инкубировали аналогично предыдущему шагу. После пятикратной отмывки вносили субстрат – тетраметилбензидин (ТМБ) и инкубировали планшет в темноте при комнатной температуре в течение 15–20 мин. Учет результатов проводили после внесения стоп-раствора (0,2 M раствора серной кислоты) на планшетном ридере Model 680 (Bio-Rad, США) при длине волны 450 нм. Значения ОП интерпретировали полуколичественно с указанием коэффициента позитивности (отношения ОП опытного образца к пороговому значению), вычисленного по минимальному оптическому сигналу образцов, отобранных на стадии пост-индукции. Анализ данных проводили при помощи пакета программ Statistica 7.0 (StatSoft, США) по критерию Манна – Уитни с поправкой на множественное сравнение. За пороговое значение статистически значимых отличий принимали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате биоинформатического анализа было выявлено, что наибольший интерес для дизайна антигенной композиции в структуре белка Cap представляет фрагмент с 92 по 233 а. о., так как он характеризуется наиболее высокой плотностью расположения типоспецифических эпитопов. Более того, иммуогенный потенциал разных доменов данного фрагмента был ранее подтвержден рядом исследователей (табл.).

Таким образом, модифицированный фрагмент укороченной аминокислотной последовательности Cap содержит основные значимые эпитопы, являющиеся

Таблица

Основные эпитопы белка Cap, вошедшие в структуру антигенной композиции

Table

The main epitopes of Cap protein included in the antigenic composition

Эпитоп (последовательность, название)	Позиция в протеоме, а. о.	Характеристики
RPWLVHPRHRY (внешний коровой эпитоп)	26–36	Конформационный эпитоп реагировал с ЦБС-позитивными сыворотками крови свиней; по нейтрализующему эффекту в отношении ЦБС-2 считается одним из преобладающих доменов [20]
TRLSRTFGYTVK (P100)	47–58	Пептиды демонстрировали высокие коэффициенты связывания с сыворотками крови иммунных к ЦБС-2 свиней. Сообщается о возможности их использования для дифференциации вакцинированных и переболевших животных [21]
PFEEYRIRKVKVEFWP (P102)	92–107	
CSPITQGDRGVGSSAVILDDNFVT KATALTY (C2)	108–137	
VTMYVQFREFNLKDPPLKP (P106)	215–233	Идентифицирован как типоспецифический нейтрализующий эпитоп. Показана возможность использования для дифференциации патогенного ЦБС-2 от непатогенного ЦБС-1 [22]
KATALT (EF-регион)	134–139	
YHSRYFT	156–162	
VLDSTIDYFQPNNKR	166–180	Эпитоп в составе кандидатной вакцины на основе инфекционного клона ЦБС-2b предотвращал репликацию вируса при экспериментальном заражении свиней [24]
VDHVLGTAFENSIY	193–203	Потенциально является одним из сайтов связывания гепарансульфата, ответственных за прикрепление ЦБС-2 к клеткам-мишеням [25]

мишенями для серологической диагностики. По результатам прогнозирования физико-химических свойств данного мультиэпитопного полипептида было установлено, что он обладает молекулярной массой 17,8 кДа, хорошей растворимостью и оптимальным периодом полураспада (более 20 ч) *in vivo* для *E. coli*.

На следующем этапе исследований сконструировали экспрессионный вектор pET-22b/ORF-2, которым были трансформированы клетки *E. coli* Rosetta 2(DE3), после чего отработали условия культивирования штамма-продуцента. Так, был испытан диапазон значений ОП культуры до индукции (от 0,5 до 1,0 OE), концентрации вносимого ИПТГ (от 0,2 до 2,0 mM), времени (от 2 до 6 ч) и температуры (от +25 до +37 °C) культивирования индуцированных клеток. В результате исследования полипептидных профилей клеточных лизатов, соответствующих каждому режиму культивирования, было установлено, что оптимальными параметрами являются: ОП культуры до индукции – 0,6 OE, концентрация ИПТГ – 1 mM, условия культивирования пост-индукции – 6–7 ч при температуре +37 °C. Данный режим культивирования позволяет достичь выхода рекомбинантного продукта на уровне 35–40 мг/л, что составляет 1,75–2% от общего объема биомассы продуцента.

Серологическая активность и специфичность rCap была подтверждена в ИФА. Так, ОП суммарного белкового препарата составила $(1,065 \pm 0,144)$ OE, коэффициент позитивности – 4,34 ($p < 0,005$). Основные характеристики прокариотической системы экспрессии rCap представлены на рисунке.

Представленные данные подтверждают функциональность разработанной системы экспрессии, что открывает перспективу для использования полученного rCap как в диагностических, так и профилактических целях.

Возможность успешного применения коли-экспрессии для получения компонентов вакцин против цирковирусной инфекции, вызванной ЦБС-2, задокументирована некоторыми исследователями. К примеру, X. Xi et al. сообщают, что полноразмерный растворимый Cap при экспрессии в *E. coli* при нейтральном pH самоорганизуется в гомогенную вирусоподобную частицу (VLP), по размерам соответствующую интактному ЦБС-2 и демонстрирующую протективный эффект *in vivo*, сопоставимый с таковым коммерческих вакцин [26]. Особый интерес представляет экспрессия Cap, слитого с различными модифицированными белками. В частности, имеются сведения о том, что рекомбинантный Cap, слитый с флагеллином, обеспечивал на мышинной модели достижение более высоких уровней вируснейтрализующих антител, стимулируя гуморальное и клеточное звенья иммунитета [27]. Однако сообщается и об ограничениях прокариотических систем экспрессии. Известно, что экспрессия полноразмерного Cap возможна только в тех штаммах *E. coli*, которые содержат плазмиды, несущие гены tRNA редких для *E. coli* кодонов (pRARE). Более того, зачастую продукт экспрессии не поддается очистке в нативных и денатурирующих условиях, что требует дополнительной оптимизации вставки [28].

Несмотря на то что в представленном исследовании удалось достичь приемлемых уровней синтеза укороченного rCap и подтвердить специфичность продукта, ключевую роль в масштабировании производства вакцинного белка будет играть разработка экономичного и эффективного способа его очистки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе представленной работы была сконструирована прокариотическая система экспрессии фрагмента гена ORF-2 ЦБС-2, содержащего наиболее зна-

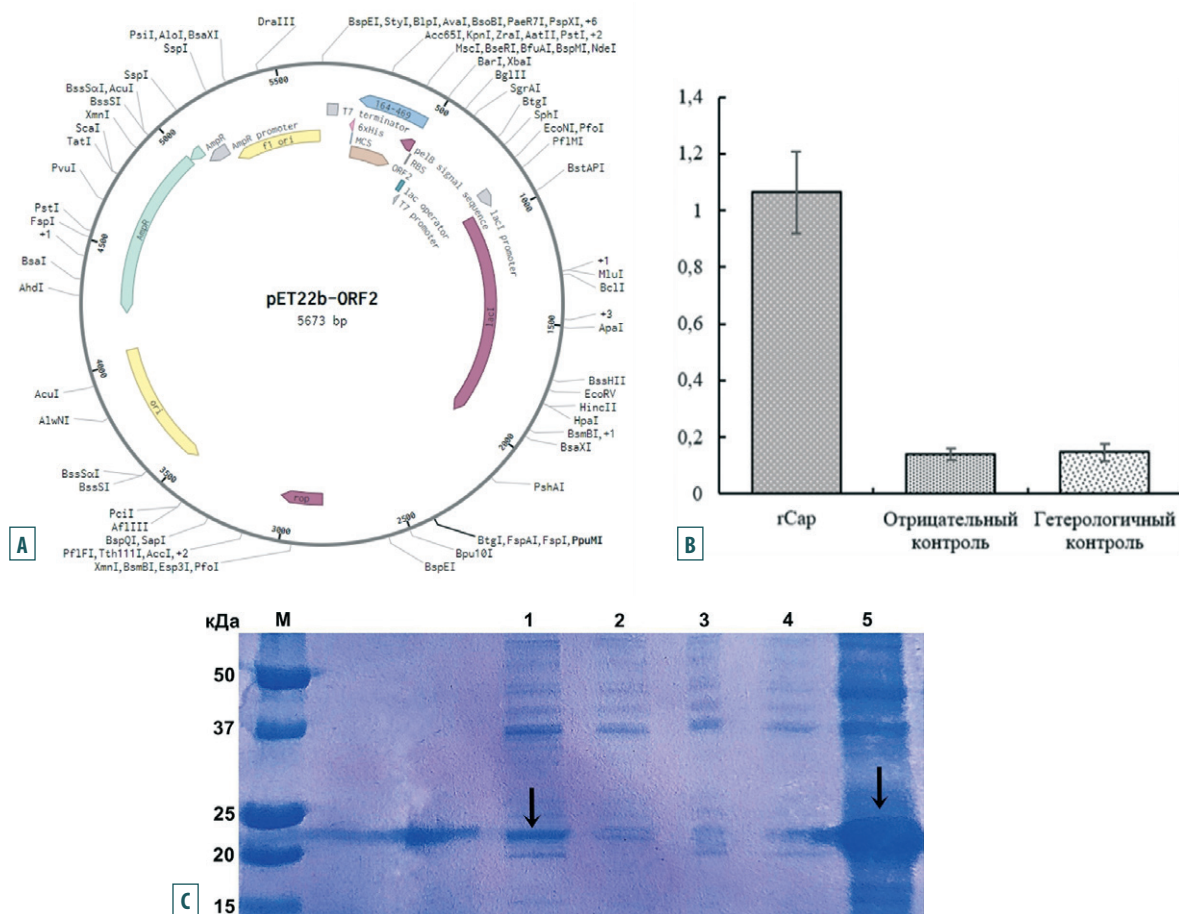


Рис. Характеристики прокариотической системы экспрессии rCap ЦВС-2:

A – схема экспрессионного вектора pET-22b/ORF-2;

B – оптическая плотность rCap в НИФА с гипериммунной свиной сывороткой, где отрицательный контроль – лизат клеток, трансформированных плазмидой pET-22b без вставки, гетерологичный контроль – рекомбинантный белок E2 вируса классической чумы свиней, полученный в аналогичной системе экспрессии;

C – электрофореграмма продуктов экспрессии, где M – маркер молекулярных масс Precision Plus Protein™ Unstained Protein Standards (Bio-Rad, США); треки: 1 – препарат целевого белка после первичной очистки; 2 – отрицательный контроль (лизат клеток, трансформированных плазмидой pET-22b без вставки); 3, 4 – лизаты клеток, трансформированных плазмидой pET-22b/ORF-2, до индукции; 5 – лизат клеток штамма-продуцента через 6 ч после индукции.

Стрелками обозначена целевая белковая фракция

Fig. Characteristics of the prokaryotic PCV-2 rCap expression system: A – scheme of the pET-22b/ORF-2 expression vector; B – optical density of rCap tested with indirect ELISA using hyperimmune porcine serum, where negative control is lysate of cells transformed with pET-22b plasmid without insertion, and heterologous control is a recombinant E2 protein of classical swine fever virus, produced in the same expression system; C – electrophoregram of expression products, where M band is the molecular weight marker Precision Plus Protein™ Unstained Protein Standards (Bio-Rad, USA), bands: 1 – target protein after primary purification; 2 – negative control (lysate of cells transformed with the pET-22b plasmid without insertion); 3, 4 – lysates of cells transformed with the pET-22b/ORF-2 plasmid before induction; 5 – producer strain cell lysate 6 hours after induction. The target protein fraction is indicated by arrows

чимые иммуногенные эпитопы капсидного протеина. Функциональность системы экспрессии подтверждена наличием зрелого мультиэпитопного полипептида в клеточных лизатах продуцента, а также его серологической активностью в НИФА с гипериммунными к ЦВС-2 сыворотками крови свиней. На основании этих данных можно утверждать, что экспрессируемый полипептид пригоден к использованию в целях серодиагностики, а также представляет интерес в качестве основы для рекомбинантной вакцины, что является целью наших дальнейших изысканий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baekbo P., Kristensen C. S., Larsen L. E. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59 (Suppl. 1): 60–67. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01288.x>
2. Tassis P. D., Tsakmakidis I., Papatsiros V. G., Koulialis D., Nell T., Brel-lou G., Tzika E. D. A randomized controlled study on the efficacy of a novel combination vaccine against enzootic pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*) and porcine Circovirus type 2 (PCV2) in the presence of strong maternally derived PCV2 immunity in pigs. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13 (1):91. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1014-7>
3. Young M. G., Cunningham G. L., Sanford S. E. Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *Journal of Swine Health and Production*. 2011; 19 (3): 175–180. <https://www.aasv.org/shap/issues/v19n3/v19n3p175.pdf>

4. Булгаков А. Д., Гребенникова Т. В., Южаков А. Г., Алипер Т. И., Непоклонов Е. А. Молекулярно-генетический анализ геномов вирусов респираторно-репродуктивного синдрома свиней и цирковируса второго типа, циркулирующих на территории Российской Федерации. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; (4): 29–33. EDN: TEOVVZ
5. Литенкова И. Ю., Богомолова О. А., Матвеева И. Н., Чумакова М. С. Эффективность вакцинации поросят инактивированной цельновирионной вакциной против цирковируса свиней второго типа. *Эффективное животноводство*. 2022; (2): 64–65. EDN: NEMMUB
6. Раев С. А., Южаков А. Г., Алексеев К. П., Аноятбеков М., Верховский О. А., Алипер Т. И. Мониторинг цирковиральных болезней свиней в условиях промышленных свиноподкомплексов. *Аграрная наука*. 2019; 11–12: 30–32. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-333-10-30-32>
7. Карпова О. О., Матвеева И. Н. Культивирование клеток: сравнительный анализ традиционных и инновационных технологий. *Ветеринарный врач*. 2022; (5): 14–18. EDN: RRYWMM
8. Lv Q.-Z., Guo K.-K., Zhang Y.-M. Current understanding of genomic DNA of porcine circovirus type 2. *Virus Genes*. 2014; 49 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11262-014-1099-z>
9. Zhou J., Wang Y., Zhou L., Qiu Y., Zhao J., Dai B., et al. Interaction network of porcine circovirus type 3 and 4 capsids with host proteins. *Viruses*. 2022; 14 (5):939. <https://doi.org/10.3390/v14050939>
10. Parthiban S., Ramesh A., Karuppannan A. K., Dhinakar Raj G., Hemalatha S., Kirubakaran J. J., et al. Molecular prevalence of porcine circovirus 2 infection: foremost report in southern states of India. *Exploratory Animal and Medical Research*. 2022; 12 (1): 99–108. <https://doi.org/10.52635/eamr/12.1.99-108>
11. He J., Cao J., Zhou N., Jin Y., Wu J., Zhou J. Identification and functional analysis of the novel ORF4 protein encoded by porcine circovirus type 2. *Journal of Virology*. 2013; 87 (3): 1420–1429. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/jvi.01443-12>
12. Truong C., Mahe D., Blanchard P., Le Dimna M., Madec F., Jestin A., Albina E. Identification of an immunorelevant ORF2 epitope from porcine circovirus type 2 as a serological marker for experimental and natural infection. *Archives of Virology*. 2001; 146 (6): 1197–1211. <https://doi.org/10.1007/s007050170115>
13. Davies B., Wang X., Dvorak C. M. T., Marthaler D., Murtaugh M. P. Diagnostic phylogenetics reveals a new porcine circovirus 2 cluster. *Virus Research*. 2016; 217: 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.02.010>
14. Раев С. А. Специфическая профилактика цирковиральных болезней свиней: современное состояние и перспективы. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2014; (1): 26–29. EDN: SAHYWN
15. Correa-Fiz F., Franco G., Llorens A., Segalés J., Kekarainen T. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genetic variability under natural infection scenario reveals a complex network of viral quasispecies. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1):15469. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33849-2>
16. Wu P.-C., Chen T.-Y., Chi J.-N., Chien M.-S., Huang C. Efficient expression and purification of porcine circovirus type 2 virus-like particles in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*. 2016; 220: 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.01.017>
17. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976; 72 (1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
18. Page M., Thorpe R. Purification of IgG using DEAE-sepharose chromatography. In: *The Protein Protocols Handbook*. Ed. by J. M. Walker. Totowa: Humana Press; 2002; 987–988. <https://doi.org/10.1385/1-59259-169-8:987>
19. Мухамеджанова А. Г., Ахмадеев Р. М., Мифтахов Н. Р., Насыров Ш. М., Алеева З. З., Яруллина Г. М., Арутюнян Г. С. Оптимизация схем гипериммунизации лабораторных животных высокоочищенным антигеном вируса бешенства. *Ветеринария*. 2020; (10): 25–29. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29>
20. Guo L., Lu Y., Huang L., Wei Y., Liu C. Identification of a new antigen epitope in the nuclear localization signal region of porcine circovirus type 2 capsid protein. *Intervirology*. 2011; 54 (3): 156–163. <https://doi.org/10.1159/000319838>
21. Hung L.-C. Carboxyl-terminal decoy epitopes in the capsid protein of porcine circovirus type 2 are immunogenicity-enhancers that elicit predominantly specific antibodies in non-vaccinated pigs. *Viruses*. 2022; 14 (11):2373. <https://doi.org/10.3390/v14112373>
22. Mo X., Li X., Yin B., Deng J., Tian K., Yuan A. Structural roles of PCV2 capsid protein N-terminus in PCV2 particle assembly and identification of PCV2 type-specific neutralizing epitope. *PLoS Pathogens*. 2019; 15 (3):e1007562. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007562>
23. Shang S.-B., Jin Y.-L., Jiang X.-T., Zhou J.-Y., Zhang X., Xing G., et al. Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine circovirus, and antigenic phenotype of porcine circovirus type 2. *Molecular Immunology*. 2009; 46 (3): 327–334. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.10.028>
24. Triple B. R., Kerrigan M., Crossland N., Potter M., Faaberg K., Hesse R., Rowland R. R. R. Antibody recognition of porcine circovirus type 2 capsid protein epitopes after vaccination, infection, and disease. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2011; 18 (5): 749–757. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cvi.00418-10>
25. Khayat R., Brunn N., Speir J. A., Hardham J. M., Ankenbauer R. G., Schneemann A., Johnson J. E. The 2.3-angstrom structure of porcine circovirus 2. *Journal of Virology*. 2011; 85 (15): 7856–7862. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/jvi.00737-11>
26. Xi X., Mo X., Xiao Y., Yin B., Lv C., Wang Y., et al. Production of *Escherichia coli*-based virus-like particle vaccine against porcine circovirus type 2 challenge in piglets: Structure characterization and protective efficacy validation. *Journal of Biotechnology*. 2016; 223: 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.025>
27. Zhang C., Zhu S., Wei L., Yan X., Wang J., Quan R., et al. Recombinant flagellin-porcine circovirus type 2 cap fusion protein promotes protective immune responses in mice. *PLoS ONE*. 2015; 10 (6):e0129617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129617>
28. Rai V., Upmanyu V., Mohd G., Kumar R., Koppad S., Ansari A., et al. Comparing the efficiency of different *Escherichia coli* strains in producing recombinant capsid protein of porcine circovirus type 2. *Molecular and Cellular Probes*. 2020; 52:101556. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101556>

REFERENCES

1. Baekbo P., Kristensen C. S., Larsen L. E. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59 (Suppl. 1): 60–67. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01288.x>
2. Tassis P. D., Tsakmakidis I., Papatsiros V. G., Koulialis D., Nell T., Brelou G., Tzika E. D. A randomized controlled study on the efficacy of a novel combination vaccine against enzootic pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*) and porcine Circovirus type 2 (PCV2) in the presence of strong maternally derived PCV2 immunity in pigs. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13 (1):91. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1014-7>
3. Young M. G., Cunningham G. L., Sanford S. E. Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *Journal of Swine Health and Production*. 2011; 19 (3): 175–180. <https://www.aasv.org/shap/issues/v19n3/v19n3p175.pdf>
4. Bulgakov A. D., Grebennikova T. V., Yuzhakov A. G., Aliper T. I., Nepoklonov E. A. Molecular genetic analysis of genomes of porcine respiratory and reproductive syndrome viruses and porcine circovirus type 2 circulating on the territory of the Russian Federation. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2014; 29 (4): 190–194. <https://doi.org/10.3103/S0891416814040028>
5. Litenkova I. Yu., Bogomolova O. A., Matveeva I. N., Chumakova M. S. Effectivnost' vaktsinatsii porosyat inaktivirovannoi tsel'novirionnoi vaktsinnoi protiv tsirkovirusa svinei vtorogo tipa = Effectiveness of vaccination of piglets with inactivated whole-virion vaccine against porcine circovirus virus type 2. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2022; (2): 64–65. EDN: NEMMUB (in Russ.)
6. Raev S. A., Yushakov A. G., Alekseev K. P., Anoyatbekov M., Verhovskij O. A., Aliper T. I. Porcine circovirus associated diseases diagnosis at industrial pig farm conditions. *Agrarian Science*. 2019; (11–12): 30–32. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-333-10-30-32> (in Russ.)
7. Karpova O. O., Matveeva I. N. Cell cultivation: a comparative analysis of traditional and innovative technologies. *Veterinarian*. 2022; (5): 14–18. EDN: RRYWMM (in Russ.)
8. Lv Q.-Z., Guo K.-K., Zhang Y.-M. Current understanding of genomic DNA of porcine circovirus type 2. *Virus Genes*. 2014; 49 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11262-014-1099-z>
9. Zhou J., Wang Y., Zhou L., Qiu Y., Zhao J., Dai B., et al. Interaction network of porcine circovirus type 3 and 4 capsids with host proteins. *Viruses*. 2022; 14 (5):939. <https://doi.org/10.3390/v14050939>
10. Parthiban S., Ramesh A., Karuppannan A. K., Dhinakar Raj G., Hemalatha S., Kirubakaran J. J., et al. Molecular prevalence of porcine circovirus 2 infection: foremost report in southern states of India. *Exploratory Animal and Medical Research*. 2022; 12 (1): 99–108. <https://doi.org/10.52635/eamr/12.1.99-108>
11. He J., Cao J., Zhou N., Jin Y., Wu J., Zhou J. Identification and functional analysis of the novel ORF4 protein encoded by porcine circovirus type 2. *Journal of Virology*. 2013; 87 (3): 1420–1429. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/jvi.01443-12>
12. Truong C., Mahe D., Blanchard P., Le Dimna M., Madec F., Jestin A., Albina E. Identification of an immunorelevant ORF2 epitope from porcine circovirus type 2 as a serological marker for experimental and natural infection. *Archives of Virology*. 2001; 146 (6): 1197–1211. <https://doi.org/10.1007/s007050170115>
13. Davies B., Wang X., Dvorak C. M. T., Marthaler D., Murtaugh M. P. Diagnostic phylogenetics reveals a new Porcine circovirus 2 cluster. *Virus Research*. 2016; 217: 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.02.010>

14. Raev S. A. Vaccination against porcine circovirus diseases: the present state and future prospects. *Russian Veterinary Journal. Productive animals*. 2014; (1): 26–29. EDN: SAHYWN (in Russ.)
15. Correa-Fiz F, Franzo G, Llorens A, Segalés J, Kekkarainen T. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genetic variability under natural infection scenario reveals a complex network of viral quasispecies. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1):15469. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33849-2>
16. Wu P.-C., Chen T.-Y., Chi J.-N., Chien M.-S., Huang C. Efficient expression and purification of porcine circovirus type 2 virus-like particles in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*. 2016; 220: 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.01.017>
17. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976; 72 (1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
18. Page M., Thorpe R. Purification of IgG using DEAE-sepharose chromatography. In: *The Protein Protocols Handbook*. Ed. by J. M. Walker. Totowa: Humana Press; 2002; 987–988. <https://doi.org/10.1385/1-59259-169-8:987>
19. Mukhamedzhanova A. G., Akhmadeev R. M., Miftakhov N. R., Nasyrov Sh. M., Aleeva Z. Z., Yarullina G. M., Arutyunjan G. S. Optimization of laboratory animals hyperimmunization schemes with a highly purified rabies virus antigen. *Veterinariya*. 2020; (10): 25–29. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29> (in Russ.)
20. Guo L., Lu Y., Huang L., Wei Y., Liu C. Identification of a new antigen epitope in the nuclear localization signal region of porcine circovirus type 2 capsid protein. *Intervirology*. 2011; 54 (3): 156–163. <https://doi.org/10.1159/000319838>
21. Hung L.-C. Carboxyl-terminal decoy epitopes in the capsid protein of porcine circovirus type 2 are immunogenicity-enhancers that elicit predominantly specific antibodies in non-vaccinated pigs. *Viruses*. 2022; 14 (11):2373. <https://doi.org/10.3390/v14112373>
22. Mo X., Li X., Yin B., Deng J., Tian K., Yuan A. Structural roles of PCV2 capsid protein N-terminus in PCV2 particle assembly and identification of PCV2 type-specific neutralizing epitope. *PLoS Pathogens*. 2019; 15 (3):e1007562. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007562>
23. Shang S.-B., Jin Y.-L., Jiang X.-T., Zhou J.-Y., Zhang X., Xing G., et al. Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine circovirus, and antigenic phenotype of porcine circovirus type 2. *Molecular Immunology*. 2009; 46 (3): 327–334. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.10.028>
24. Triple B. R., Kerrigan M., Crossland N., Potter M., Faaberg K., Hesse R., Rowland R. R. Antibody recognition of porcine circovirus type 2 capsid protein epitopes after vaccination, infection, and disease. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2011; 18 (5): 749–757. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cvi.00418-10>
25. Khayat R., Brunn N., Speir J. A., Hardham J. M., Ankenbauer R. G., Schneemann A., Johnson J. E. The 2.3-angstrom structure of porcine circovirus 2. *Journal of Virology*. 2011; 85 (15): 7856–7862. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/jvi.00737-11>
26. Xi X., Mo X., Xiao Y., Yin B., Lv C., Wang Y., et al. Production of *Escherichia coli*-based virus-like particle vaccine against porcine circovirus type 2 challenge in piglets: Structure characterization and protective efficacy validation. *Journal of Biotechnology*. 2016; 223: 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.025>
27. Zhang C., Zhu S., Wei L., Yan X., Wang J., Quan R., et al. Recombinant flagellin-porcine circovirus type 2 cap fusion protein promotes protective immune responses in mice. *PLoS ONE*. 2015; 10 (6):e0129617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129617>
28. Rai V., Upmanyu V., Mohd G., Kumar R., Koppad S., Ansari A., et al. Comparing the efficiency of different *Escherichia coli* strains in producing recombinant capsid protein of porcine circovirus type 2. *Molecular and Cellular Probes*. 2020; 52:101556. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101556>

Поступила в редакцию / Received 13.12.2023

Поступила после рецензирования / Revised 17.01.2024

Принята к публикации / Accepted 14.02.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Галеева Антонина Глебовна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией вирусных антропоознозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>, e-mail: antonina-95@yandex.ru

Ахунова Алсу Рузалева, младший научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0009-0006-0211-3334>, e-mail: aahunova@mail.com

Усольцев Константин Валерьевич, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5279-9836>, e-mail: ukv3@mail.ru

Хаммадов Наиль Ильдарович, канд. биол. наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетического анализа ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5669-1486>, e-mail: nikhammadov@mail.ru

Ефимова Марина Анатольевна, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; профессор ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>, e-mail: marina-2004r@mail.ru

Antonina G. Galeeva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Viral Anthropozoonoses, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>, e-mail: antonina-95@yandex.ru

Alsu R. Akhunova, Junior Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0009-0006-0211-3334>, e-mail: aahunova@mail.com

Konstantin V. Usoltsev, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for Molecular and Genetic Analysis, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5279-9836>, e-mail: ukv3@mail.ru

Nail I. Khammatov, Cand. Sci. (Biology), Head of Laboratory for Molecular and Genetic Analysis, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5669-1486>, e-mail: nikhammadov@mail.ru

Marina A. Efimova, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety; Professor, Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>, e-mail: marina-2004r@mail.ru

Вклад авторов: Галеева А. Г. – концепция исследования, работа с литературой, проведение экспериментов, подготовка текста; Ахунова А. Р. – проведение экспериментов, сбор материала, подготовка текста; Усольцев К. В. – биоинформатический анализ, работа с литературой; Хаммадов Н. И. – проведение экспериментов, интерпретация данных; Ефимова М. А. – администрирование, анализ и обобщение результатов исследования.

Contribution: Galeeva A. G. – development of the study design, literature analysis, conducting experiments, preparation of the paper text; Akhunova A. R. – conducting experiments, data collection, preparation of the paper text; Usoltsev K. V. – bioinformatic analysis, literature analysis; Khammatov N. I. – conducting experiments, data interpretation; Efimova M. A. – administering, study result analysis and generalization.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-64-72>
УДК 619:616.98:578.842.1:639.111.14:616-036.22(470)

Факторы риска распространения африканской чумы свиней среди диких кабанов в Российской Федерации

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

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ); Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. Ветеринарная, 3, г. Нижний Новгород, 603950, Россия

² ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Анализ и оценка факторов риска, связанных с возникновением, распространением и персистенцией вируса африканской чумы свиней в популяции диких кабанов, представляет собой важный инструмент в определении стратегических мер, направленных на ликвидацию и смягчение последствий эпизоотий. Детальное изучение зарубежной и отечественной литературы позволило сделать вывод, что факторы управления популяциями диких кабанов, социально-экономические и связанные с внешней средой, в основном определяющие плотность и численность животных, являлись наиболее значимыми и ассоциированными с риском возникновения очагов африканской чумы свиней в дикой фауне. Для выявления факторов риска распространения заболевания среди диких кабанов в субъектах Российской Федерации была построена регрессионная модель, исследующая взаимосвязь между ежегодным количеством вспышек африканской чумы свиней среди кабанов на уровне муниципальных районов, плотностью популяции кабана и рядом других факторов за период с 2007 по 2022 г. По результатам проведенного регрессионного моделирования на уровне субъектов в 42,5% модельных регионов Российской Федерации была выявлена положительная взаимосвязь интенсивности вспышек заболевания и плотности популяции кабана. Другими значимыми факторами явились протяженность автодорог, наличие лесного покрова и вспышек среди домашних свиней. Однако в целом для всех неблагополучных субъектов регрессионная модель показала несостоятельность фактора плотности популяции кабана для объяснения наблюдаемого распределения вспышек африканской чумы свиней, что может указывать на наличие иных эпизоотических драйверов распространения заболевания в дикой природе. Одним из таких механизмов может являться сохранение инфекционного потенциала во внешней среде и в сформированных стационарных локальных очагах африканской чумы свиней, несмотря на принимаемые противоэпизоотические мероприятия, включающие в себя и меры по регулированию численности восприимчивого поголовья – депопуляцию.

Ключевые слова: африканская чума свиней, факторы риска, кабан, плотность популяции, регрессионный анализ, Российская Федерация

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

Для цитирования: Захарова О. И., Блохин А. А., Бурова О. А., Яшин И. В., Коренной Ф. И. Факторы риска распространения африканской чумы свиней среди диких кабанов в Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 64–72. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-64-72>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и биоинформатики, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, ул. Ветеринарная, 3, г. Нижний Новгород, 603950, Россия, e-mail: ozakharova@fivim.ru

Risk factors for African swine fever spread in wild boar in the Russian Federation

Olga I. Zakharova¹, Andrey A. Blokhin¹, Olga A. Burova¹, Ivan V. Yashin¹, Fedor I. Korennoy²

¹ Federal Research Center for Virology and Microbiology; Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, 3 Veterinarnaya str., Nizhny Novgorod 603950, Russia

² Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

The analysis and assessment of risk factors associated with the occurrence, spread and persistence of African swine fever (ASF) virus in wild boar population are an important tool in determining the strategic measures aimed at eradicating epizootics and mitigating their consequences. A thorough examination of foreign and domestic literature revealed that wild boar population management factors, socio-economic and environmental ones, that mainly account for the density and number of animals were the most significant and associated with the risk of ASF outbreak occurrence in wild animals. In order to identify risk factors for the spread of the disease in wild boar in the Russian Federation Subjects, a regression model was built to examine the relationship between the annual number of ASF outbreaks in wild boar at the municipal raion level, wild boar population density and some other factors for the period between 2007 and 2022. Based

on the Subject-level regression modelling results, a positive association between the intensity of the disease outbreaks and wild boar population density was identified in 42.5% of the model regions of the Russian Federation. Other significant factors were the length of roads, the presence of forest cover and outbreaks in domestic pigs. However, on the whole, for all the infected Subjects, the regression model demonstrated the failure of the wild boar population density factor to explain the observed ASF outbreak distribution, and this may be indicative of the existence of other epizootic drivers of the disease spread in the wild. One of such mechanisms may be the persistence of infectious potential in the external environment and in the formed stationary local foci of African swine fever, despite the anti-epizootic measures taken, including the measures aimed at regulating the number of susceptible population – depopulation.

Keywords: African swine fever, risk factors, wild boar, population density, regression analysis, Russian Federation

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

For citations: Zakharova O. I., Blokhin A. A., Burova O. A., Yashin I. V., Korennoy F. I. Risk factors for African swine fever spread in wild boar in the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 64–72. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-64-72>

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

For correspondence: Olga I. Zakharova, Researcher, Laboratory of Epizootology and Bioinformatics, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, 3 Veterinarnaya str., Nizhny Novgorod 603950, Russia, e-mail: ozakharova@frcvm.ru

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – трансграничное вирусное заболевание, поражающее как домашних, так и диких свиней, наносящее огромный ущерб свиноводству [1, 2, 3, 4]. АЧС может демонстрировать уникальные региональные особенности проявления, связанные с комплексом факторов риска, которые следует оценивать при выборе надлежащих стратегий надзора и контроля [5]. Многочисленные исследования посвящены выяснению роли домашних и диких свиней в возникновении вспышек и распространении инфекции.

Особый интерес представляет анализ факторов риска, способствующих распространению болезни среди кабанов, в том числе заносу на благополучные от АЧС территории [6]. Экологический цикл с участием дикого кабана и присутствием вируса АЧС в окружающей среде – основная проблема современной эпизоотологии АЧС, так как еще не раскрыты все механизмы сохранения персистенции возбудителя на неблагополучных территориях [7, 8].

Анализируя эпизоотическую ситуацию по АЧС в Российской Федерации, можно сказать, что болезнь получила широкое распространение как в популяции дикого кабана, так и в популяции домашних свиней почти на всей территории, включая даже те регионы, где, как утверждается, плотность популяции кабана очень низкая [9].

Несмотря на многочисленные попытки ученых многих стран создать безопасную и эффективную вакцину против АЧС, стратегия эрадикации болезни в настоящее время основывается на принципах оценки риска и выявления основных факторов, способствующих распространению инфекции, а также на соблюдении строгих мер биобезопасности содержания животных. Большинство мероприятий при ликвидации и профилактики АЧС базируются на классических принципах борьбы с болезнью, включая эпизоотологический надзор, расследование и убой инфицированных стад, установление зон защиты и наблюдения. Эти меры со-

четаются с запретом на кормление свиней пищевыми отходами, строгим карантинном и мерами биобезопасности, а также контролем за перемещением животных и свиноводческой продукции [2, 10, 11].

Важность оценки текущей эпизоотической ситуации и динамики распространения этой разрушительной для свиноводческой отрасли болезни диктует необходимость разработки методов модельного прогнозирования возникновения очагов АЧС на благополучных и стационарно неблагополучных территориях РФ.

Удаленность локальных очагов инфекции среди диких кабанов от первоначальных вспышек подчеркивает значимость хозяйственной деятельности человека как главного, если не основного, фактора, связанного с распространением болезни [12, 13, 14]. Необходимо учитывать, что распространение АЧС происходит не только через прямой контакт между животными, но и опосредованно, например, через инфицированные туши кабанов, погибших от болезни, и загрязненные вирусом предметы окружающей среды [12, 15, 16]. Во время текущей в Европе эпизоотии был установлен факт возникновения АЧС в местах обитания диких кабанов и связи этого с факторами окружающей среды, что позволило выявить и описать цикл передачи возбудителя, названный «дикий кабан – среда обитания» [17, 18]. Таким образом, представляется справедливым заключить, что дикие кабаны играют важную роль в распространении и циркуляции вируса АЧС в европейских странах. Сложная биология диких кабанов и факторы окружающей среды, влияющие на среду их обитания, должны быть в центре усилий, направленных на борьбу с АЧС [19].

В настоящее время ведутся дискуссии по вопросу зависимости скорости распространения возбудителя АЧС от плотности популяции дикого кабана. Исходя из опыта стран Европы, данная взаимосвязь преобладает, но наблюдается не всегда [5]. Pejsak Z. et al. предположили, что для обеспечения устойчивой циркуляции вируса среди диких кабанов в Польше необходима плотность более 2 животных на квадратный

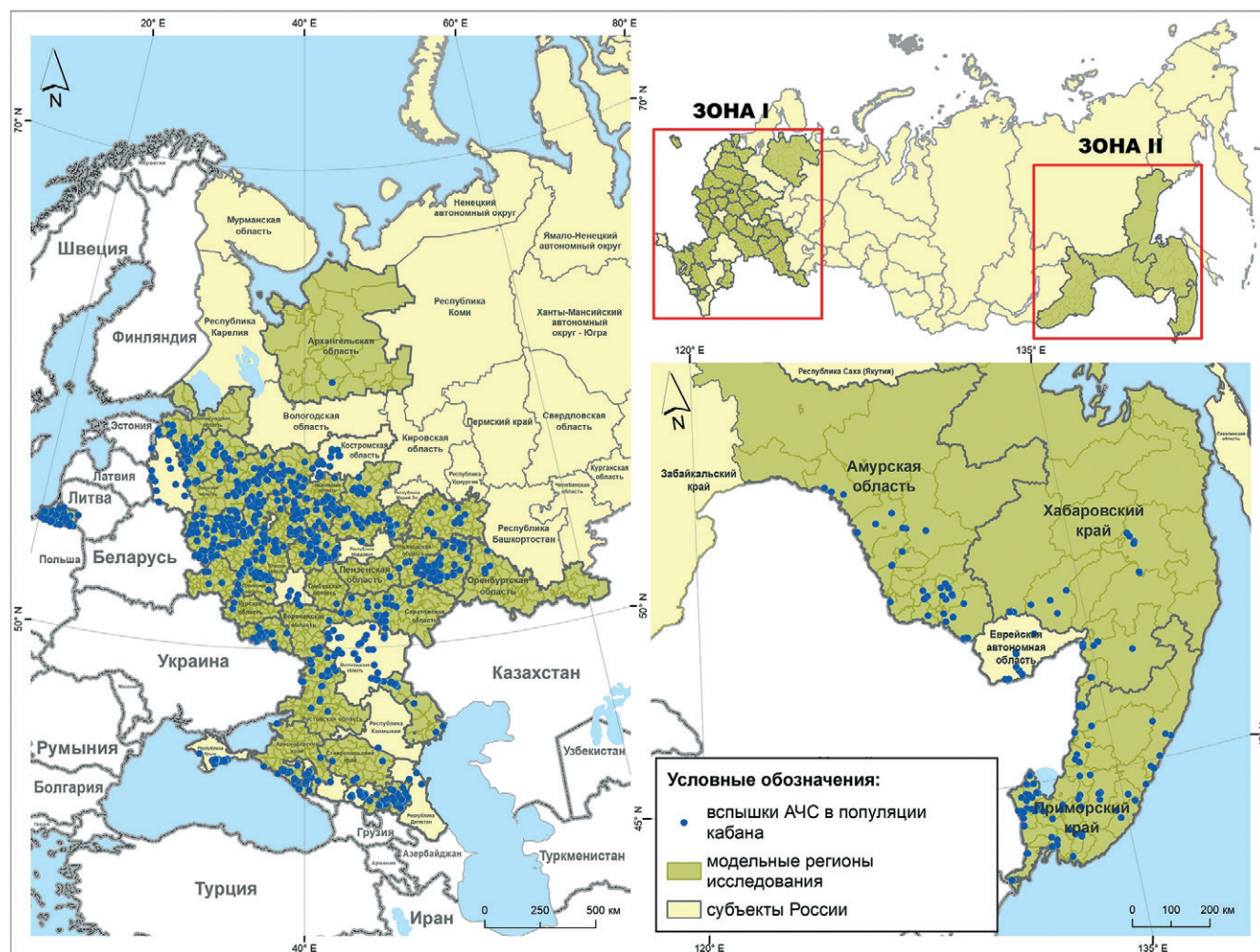


Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по АЧС в популяции кабана в субъектах РФ (2007–2022 гг.)

Fig. 1. ASF situation in wild boar population in the Russian Federation Subjects (2007–2022)

километр [19]. Из-за особенностей эпизоотического процесса при АЧС такая тенденция в основном зависит от структуры и социальных взаимоотношений как внутри самой восприимчивой популяции кабана, так и между половозрастными группами.

Теория пороговых значений плотности не дает однозначных ответов о закономерностях распространения вируса АЧС, поддержания вспышек в популяции диких кабанов и передачи возбудителя болезни в другие восприимчивые популяции, в том числе домашних свиней. Модельные подходы основаны на таких ключевых условиях, как однородное и случайное взаимодействие больных и здоровых особей, что вряд ли воспроизводимо в дикой природе.

Обозначенная актуальность изучения вопросов биологии кабанов и устойчивости вируса АЧС в окружающей среде определяет экологические и ландшафтно-климатические факторы риска заноса и распространения инфекции как особую категорию предикторов, которые необходимо рассматривать в первую очередь [19, 20].

Целью данной работы было выявление основных факторов риска распространения АЧС в популяции кабана, включая определение значимости плотности восприимчивых животных в эпизоотическом процессе на территории неблагополучных по заболеванию субъектов РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модельный регион. Для данного исследования были выбраны субъекты РФ, в которых вспышки АЧС в популяции кабана регистрировались в 2007–2022 гг. и для которых была получена информация о численности поголовья дикого кабана на уровне районов за данный период. Модельные регионы, представленные на рисунке 1, включают 40 субъектов, расположенных в европейской (зона I) и дальневосточной (зона II) частях России. Модельными единицами, к которым были привязаны показатели неблагополучия и факторы, явились муниципальные районы.

Данные по АЧС. Сведения о регистрации АЧС в популяции дикого кабана в РФ за 2007–2022 гг. взяты из официальной базы данных Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ)¹. Ежегодная информация о численности и плотности популяции кабана в период с 2007 по 2022 г. была получена в результате запросов от региональных министерств экологии и природных ресурсов, а также комитетов по охране, использованию и воспроизводству объектов животного мира субъектов РФ.

Регрессионный анализ. Зависимость между возникновением и интенсивностью вспышек АЧС и фактора-

¹ WOAH. Disease situation. <https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>

ми риска, включая плотность популяции кабана, была изучена с применением отрицательной биномиальной многофакторной регрессионной модели для модельных субъектов, длительно неблагополучных по АЧС в дикой фауне. При этом зависимой величиной (переменной ответа) являлось число вспышек заболевания среди диких кабанов за данный год в данном муниципальном районе, а объясняющими переменными – ряд социально-экономических и экологических факторов, описанных ниже.

Модель отрицательной биномиальной регрессии – это определенный тип регрессии, применяемый для счетных данных, когда вариация переменной ответа превышает ее среднее значение (то есть когда наблюдается сверхдисперсия) [21]. Выбор отрицательной биномиальной регрессии в нашем случае был оправдан распределением числа вспышек среди диких кабанов в муниципальных районах, где среднее значение равно 0,84, вариация – 38,41.

Значимость переменных оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента с соответствующим *p*-значением (величина $p \leq 0,05$ свидетельствует о достаточной статистической значимости переменной как предиктора в регрессионной модели). Общее качество соответствия моделей оценивалось с помощью скорректированного коэффициента детерминации R^2 , представляющего долю вариации объясняемой величины, учтенную моделью.

Моделирование производилось в два этапа:

- 1) для всех районов модельных субъектов в целом;
- 2) для районов каждого субъекта в отдельности.

Выбор потенциальных факторов риска возникновения АЧС у диких кабанов. В результате анализа литературных данных была собрана информация по потенциальным факторам риска распространения АЧС в популяции кабана, представленная в таблице 1.

Выбранные факторы явились объясняющими переменными в регрессионном моделировании по выявлению зависимости вспышек АЧС от плотности популяции и других факторов риска с применением отрицательной биномиальной регрессии.

Программное обеспечение. Первичная обработка и оценка данных проводились с помощью программы Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Картографирование эпизоотической ситуации по АЧС, численности популяции дикого кабана и кластерный анализ выполнялись при помощи программы ArcMap 10.8.1 (Esri, Redlands, California, USA). Для регрессионного моделирования использовалась статистически ориентированная программная среда R (R Core Team, 2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ретроспективная оценка эпизоотической ситуации по АЧС в популяции кабана. За анализируемый период (с 2007 по 2022 г.) на территории модельных субъектов было зарегистрировано 1054 очага АЧС в популяции дикого кабана, что составило 41,7% от всех вспышек заболевания. Наибольшее число вспышек в популяции кабана наблюдалось в 2013 (116 очагов), 2016 (118 очагов), 2020 (170 очагов) и 2021 (104 очага) годах. Географически вспышки АЧС были сконцентрированы в таких субъектах, как Рязанская, Московская, Тульская, Тверская, Владимирская, Смоленская, Самарская области, и расположенных на границе с Эстони-

ей – Псковской, Ленинградской. На Дальнем Востоке длительное неблагополучие и стационарность очагов АЧС отмечены в Приморском крае и приграничных областях – локальных территориях, на которых в настоящее время еще сохраняется достаточно высокая плотность популяции дикого кабана.

Проявление АЧС в популяции кабана в некоторых регионах носит спорадический характер с тенденцией к персистенции вируса в окружающей среде, при этом вспышки болезни регистрируются на всем протяжении эпизоотии (например, в Нижегородской области), а в других проявляются массовой эпизоотией, поражая большое количество животных за короткий период. Такое проявление эпизоотии можно было наблюдать

Таблица 1
Факторы риска распространения АЧС в популяции кабана (обзорная информация)

Table 1
Risk factors for ASF spread in wild boar population (overview)

Факторы риска	Единицы измерения	Информация о возможном эффекте	Источники
Лесные насаждения (доля от площади района)	%	Наличие большой площади леса, близость к лесным массивам увеличивает вероятность обнаружения больных животных	[15, 22, 23, 24]
Водные объекты (доля от площади района)	%	Наличие и близость к поверхностным водоемам связаны с распространением АЧС	[15, 24]
Поля с кустарниковой растительностью (площадь)	км ²	Высота луговой и кустарниковой растительности более 1,5 м связана с выявлением инфицированных животных	[15]
Высота над уровнем моря	м	Высокая вероятность обнаружения зараженных животных при оптимальной среде обитания	[25, 26, 27]
Плотность населения	чел/км ²	Высокая плотность населения связана с инфекцией	[24]
Плотность населенных пунктов, включая села и деревни	единиц/км ²	Изменение плотности может влиять на выявление больных животных	[15, 22, 25, 26, 27]
Добытые на охоте кабаны	особи	Вероятность обнаружения больных животных увеличивается с числом охотничьих добыч	[26, 27]
Протяженность и плотность дорожной сети	км и км/км ²	Увеличение количества дорог может повысить выявляемость инфицированных животных, а также является косвенным индикатором экономической активности населения	[15, 22, 25, 26, 27]
Сельское хозяйство, наличие мелких свиноводческих ферм	единиц	Увеличение количества свиноферм, особенно небольших, связано с повышенной частотой инфицирования животных	[26, 27]
Вспышки АЧС среди домашних свиней	единиц	Близость к вспышкам повышает вероятность возникновения инфекции	[26, 27]
Плотность популяции кабана	особей/км ²	Высокая плотность связана с вероятностью возникновения болезни	[22, 25, 26, 27, 28]

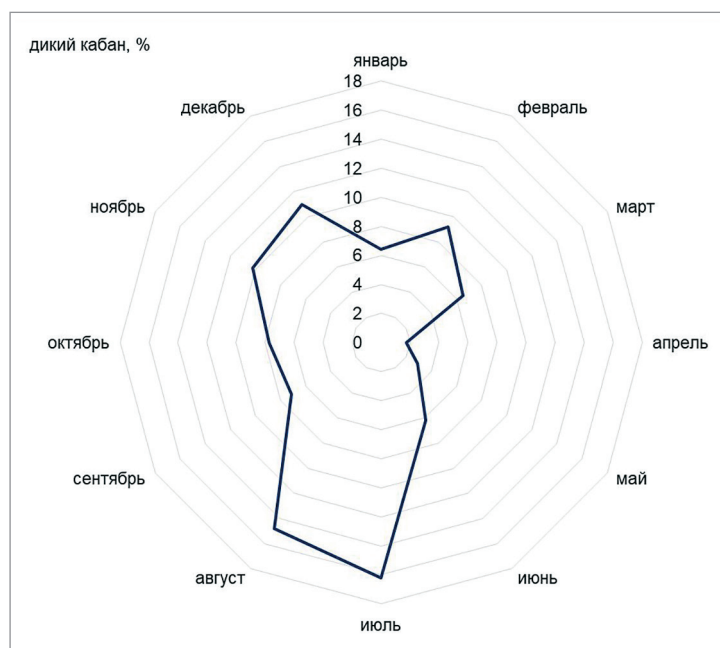


Рис. 2. Сезонность вспышек АЧС среди кабанов в субъектах РФ с 2007 по 2022 г.

Fig. 2. Seasonality of ASF outbreaks in wild boar in the Russian Federation Subjects, 2007–2022

в Самарской области в 2020 г., где за год зафиксировано 60 очагов АЧС среди кабанов.

Заболевание кабанов имело ярко выраженную сезонность с пиками в летние месяцы (июль – август), а также в ноябре – декабре и феврале (рис. 2).

Выявление зависимости возникновения вспышек АЧС среди кабанов от плотности популяции и других факторов риска. Моделирование по всем модельным субъектам в целом показало статистически незначимость плотности популяции кабанов как объясняющего фактора ($p_i = 0,546$) и низкое значение коэффициента взаимной детерминации $R^2 = 0,256$. Это позволяет сделать вывод о невозможности установления однозначного соответствия между плотностью популяций кабанов и наличием повторяющихся вспышек АЧС в масштабе всех модельных субъектов (табл. 2).

В то же время моделирование для отдельных субъектов РФ показало, что в 17 из 40 регионов (что составляет 42,5%) все же наблюдается наличие статистически значимой ($p_i < 0,05$) положительной зависимости регистрации вспышек АЧС от плотности популяции кабанов, представленной в таблице 3.

Несмотря на выявленную зависимость интенсивности эпизоотии от плотности кабана в отдельных субъектах РФ, в некоторых регионах вспышки АЧС среди кабанов регистрировались даже в тех районах, где плотность популяции кабана была существенно ниже рекомендуемого значения в 0,25 особи на 1000 га (0,025 особи/км²), утвержденного распоряжением Правительства РФ от 30.09.2016 № 2048-р (ред. от 04.02.2021) «О плане действий по предотвращению заноса на территорию Российской Федерации африканской чумы свиней и ее распространения на территории Российской Федерации». Данный факт дает основание предполагать, что плотность популяции кабана является не единственным фактором риска распространения АЧС.

На рисунке 3 представлены результаты регрессионного моделирования зависимости возникновения вспышек АЧС от плотности популяции кабана в модельных субъектах РФ. Для регионов, в которых выявлена достоверная зависимость распространения АЧС от плотности популяции кабана, представлено также распределение плотности популяции восприимчивых животных в 2022 г.

Результаты регрессионного анализа зарегистрированных случаев АЧС среди диких кабанов с учетом ряда климатических и социально-демографических факторов с использованием отрицательной биномиальной модели представлены в таблице 2. Было выявлено, что основными предикторами эпизоотий являются доля лесных насаждений, протяженность дорог и вспышки среди домашних свиней.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как показал анализ литературных источников, описывающих факторы риска экспансии АЧС в странах мира, деятельность человека представлена как наиболее значимый предиктор, особенно в отношении перемещения и импорта живых свиней и продукции свиноводства [12, 22, 25]. При этом многие исследователи указывают, что павшие от АЧС кабаны выступают не менее важным фактором в передаче вируса как внутри популяции, так и домашним свиньям, являясь источником распространения инфекции, что может свидетельствовать о персистенции вируса с участием сохраняющихся инфицированных трупов кабанов или их останков [16, 29, 30].

Рассматривая условия среды обитания кабанов при анализе риска распространения АЧС, необходимо учитывать как биотические, так и абиотические факторы, такие как климатические (температура, количество осадков, влажность, облачность, уровень УФ-излучения), ландшафтные (тип растительности, площадь растительного покрова, высота над уровнем моря, тип почвы, наличие водных объектов и их доступность), антропогенная деятельность и опосредованные этой деятельностью изменения в среде обитания кабанов (плотность населения, искусственные сооружения, здания, дороги, плотность ферм и сельскохозяйственных животных), а также факторы, связанные с популяцион-

Таблица 2
Результаты регрессионного анализа зависимости вспышек АЧС от факторов риска в субъектах Российской Федерации (2007–2022 гг.)

Table 2
Results of regression analysis of ASF outbreak dependence on risk factors in the Russian Federation Subjects (2007–2022)

Переменные	Коэффициент регрессии	Стандартная ошибка	p-значение
Доля лесных насаждений, %	0,657	0,342	0,0001
Протяженность дорог, км	0,354	0,235	0,0001
Вспышки АЧС среди домашних свиней	1,032	0,657	0,003
Плотность популяции кабана, особей/км ²	3,056	3,415	0,546

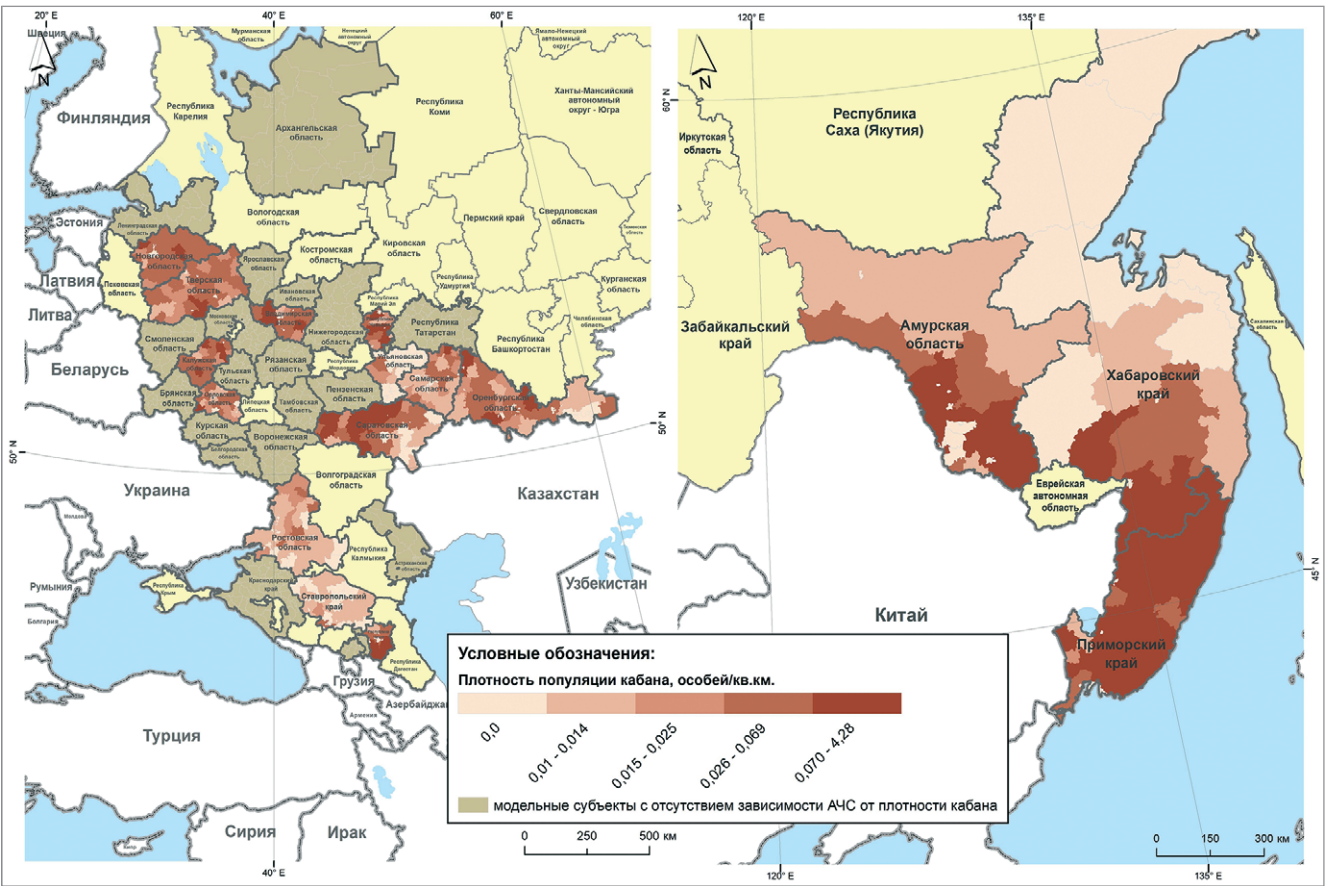


Рис. 3. Зависимость распространения АЧС в районах субъектов РФ от плотности популяции кабана по результатам регрессионного моделирования. На рисунке представлена плотность популяции кабана в 2022 г.

Fig. 3. Dependence of ASF spread in the raions of the Russian Federation Subjects on wild boar population density based on regression modelling results. The figure shows the wild boar population density as of 2022

ными характеристиками кабана (плотность популяции кабана, распределение животных по географической территории) и биологическими свойствами вируса АЧС – форма и стадия болезни (доля серопозитивных кабанов в популяции), вирусная нагрузка, уровень инцидентности и превалентности [31].

Таким образом, всестороннее понимание потенциальных факторов риска распространения АЧС среди диких кабанов крайне необходимо и имеет решающее значение для успешного управления заболеванием. В этой связи представляется очевидным, что при однофакторном анализе риска при АЧС существует вероятность упустить важные элементы, имеющие значение в передаче инфекции диким кабанам. Поэтому для моделирования связи возникновения АЧС среди кабанов с потенциальными предикторами во многих исследованиях применялись многофакторные подходы, тем самым подчеркивая значимость выявленных факторов риска [23, 26, 32, 33].

Факторы окружающей среды, непосредственно оказывающие влияние на возможность проявления болезни, обуславливают пространственные и временные закономерности распространения АЧС. Как известно, на сохранение благоприятных условий среды обитания

Таблица 3
Характеристика регрессионных показателей зависимости вспышек АЧС среди кабанов от плотности популяции кабана в субъектах РФ (2007–2022 гг.)

Table 3
Characteristics of regression indicators of dependence of ASF outbreaks in wild boar on wild boar population density in the Russian Federation Subjects (2007–2022)

Субъект	Регрессионный коэффициент	Стандартная ошибка	95% CI (доверительный интервал)	p-значение
Калужская область	5,565	1,811	1,421–15,634	0,002
Новгородская область	8,834	3,869	0,679–19,679	0,022
Оренбургская область	34,163	15,493	5,325–25,456	0,027
Орловская область	13,296	5,807	3,911–28,044	0,022
Чеченская Республика	4,345	3,211	1,658–2,213	0,032
Чувашская Республика	39,070	12,047	7,579–91,482	0,001
Ростовская область	33,495	0,785	31,944–135,024	0,000
Самарская область	27,656	8,844	10,487–50,677	0,001
Саратовская область	7,278	2,167	2,269–15,414	0,000
Ставропольский край	87,722	11,827	64,026–110,587	0,000
Ульяновская область	96,345	35,817	12,109–260,338	0,000
Владимирская область	13,059	3,137	1,244–25,423	0,000
Волгоградская область	18,234	5,342	5,341–21,231	0,000
Тверская область	8,274	1,539	3,661–14,281	0,000
Амурская область	21,052	9,438	9,438–34,887	0,000
Приморский край	1,051	0,713	0,123–4,063	0,014
Хабаровский край	6,870	3,398	0,01–10,456	0,043

дикого кабана потенциально воздействует состояние лесного покрова, еще одним из ключевых предикторов возникновения АЧС является наличие водных объектов [34].

С точки зрения оптимальной среды обитания кабана любой тип земельного покрова, обеспечивающий убежищем, водой и пищей животных, необходимо брать во внимание как экологический фактор риска возникновения АЧС [28, 35, 36]. Возможно, что для поддержания численности популяций диких кабанов на заданном уровне требуется оптимальная среда обитания, включающая лесной покров с определенными видами деревьев [35]. В соответствии с этой точкой зрения исследователями была показана связь возникновения АЧС у кабанов с площадью лесного покрова в различных географических регионах Европы, включая страны Балтии [25, 26] и Италию [23], указывающая на то, что вероятность обнаружения возбудителя инфекции у данного вида животных выше в регионах с большими лесными массивами [37]. Результаты пространственно-временного исследования, проведенного в Чехии на территории, пострадавшей от АЧС в 2017–2018 гг., предоставили дополнительную информацию об относительном влиянии лесного покрова на выявление инфицированных вирусом АЧС диких кабанов. Хотя поисковые мероприятия по обнаружению трупов животных проводились на относительно небольшой территории, пораженной АЧС, более 70% всех туш были найдены в лесах [15]. Регрессионное моделирование факторов, обуславливающих риск распространения АЧС в субъектах РФ, показало значимость такого параметра, как наличие лесного покрова, что подтверждает вышесказанное утверждение.

Факторы риска возникновения АЧС среди кабанов, обусловленные популяционными характеристиками вида, включают общую численность или плотность, распределение особей в пространстве и времени. Концентрация восприимчивых к АЧС животных – домашних свиней, диких кабанов – имеет важное значение в эпизоотической цепи передачи инфекции. Несмотря на потенциальную значимость в распространении АЧС такого фактора риска, как плотность популяции диких кабанов [38], определить фактическую численность данного вида животных и вести постоянный мониторинг очень сложно, практически невыполнимо из-за постоянных миграций животных. Поэтому во многих странах оценку плотности популяции проводят по показателям количества добытых кабанов в пересчете на площадь района [35, 39] или при помощи других методов, например фотоловушек [40]. Важно учитывать, что фактические оценки плотности диких кабанов, скорее всего, являются грубыми приближениями истинного абсолютного значения и, вероятно, смещены в соответствии с исходными данными об охотничьих добычах.

Выявленные пространственно-временные закономерности распространения вспышек АЧС в субъектах РФ дают возможность предположить, что даже при наличии низкой плотности популяции кабана (менее 0,25 особи на 1000 га площади охотничьих угодий) сохраняется возможность передачи возбудителя от инфицированных объектов восприимчивым животным и распространения вируса в окружающей среде [41, 42]. Общая регрессионная модель зависимости возникновения вспышек АЧС от плотности популяции кабана в неблагополучных по заболеванию

субъектах РФ в период с 2007 по 2022 г. показала, что интенсивность вспышек АЧС в целом не зависит от плотности популяции, что может быть связано с неравномерным районным пространственным распределением данного вида. Несмотря на указанный факт, в ряде субъектов такая зависимость все же присутствует, это подтверждает предположения о том, что в ряде регионов отмечаются географические места районного масштаба с повышенными значениями плотности восприимчивых животных и в результате миграций происходит распространение вируса АЧС на новые, ранее благополучные территории. При этом следует обратить внимание на характер выявленной зависимости: положительные значения регрессионных коэффициентов подтверждают, что более высокая плотность популяции способствует более интенсивному распространению заболевания.

В нашем исследовании была показана значимость такого фактора, как протяженность автомобильных дорог, что может быть объяснено возможностью перемещения людей при мониторинге АЧС, особенно летом и осенью, а также является косвенным индикатором интенсивности транспортно-хозяйственных связей, способствующих разносу контаминированной возбудителем продукции по территории. Аналогичный вывод получен в исследованиях, проведенных на территории Эстонии в период с 2014 по 2017 г. Было доказано, что длина дорог в регионе является фактором, который увеличивает шансы обнаружения инфицированных животных [25].

Неоднократно в литературных источниках охота указывается как фактор риска распространения АЧС в связи с потенциальными миграциями кабанов в результате охотхозяйственной деятельности человека. Поэтому при обнаружении инфицированного вирусом АЧС кабана и установлении карантина на территории охотничьего угодья рекомендуют прекратить все возможные виды охоты в пределах зоны наблюдения, кроме мероприятий по регулированию численности кабана специально обученными людьми с соблюдением необходимых мер по недопущению передвижения животных за периметр данной зоны [43, 44].

Анализ данных, полученных в Эстонии в 2018 и 2019 гг., показал, что плотность поголовья свиней в небольших хозяйствах, содержащих до 10 голов, является фактором риска развития АЧС у диких кабанов [6, 27]. Это может объясняться потенциальными контактами между домашними и дикими свиньями, характерными для малых хозяйств с отсутствием мер биологической защиты. Результаты нашего исследования также показывают, что наличие вспышек АЧС среди домашних свиней является важным фактором риска распространения инфекции среди кабанов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного анализа литературы позволяют сделать выводы, что важную роль в распространении АЧС в популяции кабанов играют факторы внешней среды и человеческая деятельность, определяющие основные направления стратегии борьбы с инфекцией в дикой фауне. Регрессионное моделирование было направлено на выявление основных факторов риска распространения АЧС в популяции диких кабанов на территории неблагополучных по заболеванию субъектов Российской Федерации. В целом по

всей территории России общая регрессионная модель показала несостоятельность такого показателя, как плотность популяции кабана, что может указывать на сохранение инфекционного потенциала во внешней среде и в сформированных стационарных локальных очагах АЧС. При этом необходимо отметить сильную зависимость результатов от достоверности имеющихся данных о численности популяции кабана. В результате моделирования эпизоотии были выявлены такие факторы распространения вспышек АЧС среди дикого кабана, как процент лесного покрова, протяженность дорог и наличие вспышек АЧС среди домашних свиней, подтверждающие значимость как природных, так и социально-демографических предикторов. Дикий кабан, являясь участником эпизоотической цепи АЧС, может выступать в качестве фактора риска только при наличии высокой плотности восприимчивых животных на начальной стадии эпизоотии. При выборе стратегии борьбы с АЧС необходимо учитывать все звенья цепи передачи вируса и возможности искоренения инфекции на оздоравливаемой территории.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Blome S., Franzke K., Beer M. African swine fever – a review of current knowledge. *Virus Research*. 2020; 287:198099. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198099>
- Dixon L. K., Sun H., Roberts H. African swine fever. *Antiviral Research*. 2019; 165: 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.02.018>
- Dixon L. K., Stahl K., Jori F., Vial L., Pfeiffer D. U. African swine fever epidemiology and control. *Annual Review of Animal Biosciences*. 2020; 8: 221–246. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-animal-021419-083741>
- De la Torre A., Bosch J., Sánchez-Vizcaíno J. M., Ito S., Muñoz C., Iglesias I., Martínez-Avilés M. African swine fever survey in a European context. *Pathogens*. 2022; 11 (2):137. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020137>
- Bellini S., Casadei G., De Lorenzi G., Tamba M. A review of risk factors of African swine fever incursion in pig farming within the European Union scenario. *Pathogens*. 2021; 10 (1):84. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010084>
- European Food Safety Authority (EFSA), Desmecht D., Gerbier G., Gortázar Schmidt C., Grigaliuniene V., Helyes G., et al. Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union (September 2019 to August 2020). *EFSA Journal*. 2021; 19 (5):e06572. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6572>
- Gervasi V., Guberti V. African swine fever endemic persistence in wild boar populations: Key mechanisms explored through modelling. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (5): 2812–2825. <https://doi.org/10.1111/tbed.14194>
- Pepin K. M., Golnar A. J., Abdo Z., Podgórski T. Ecological drivers of African swine fever virus persistence in wild boar populations: Insight for control. *Ecology and Evolution*. 2020; 10 (6): 2846–2859. <https://doi.org/10.1002/ece3.6100>
- Khomenko S., Beltrán-Alcrudo D., Rozstalnyy A., Gogin A., Kolbasov D., Pinto J., et al. African swine fever in the Russian Federation: risk factors for Europe and beyond. *Empres Watch*. 2013; 28: 1–14. <https://www.fao.org/3/aq240e/aq240e.pdf>
- Penrith M.-L., Bastos A., Chenais E. With or without a vaccine – A review of complementary and alternative approaches to managing African swine fever in resource-constrained smallholder settings. *Vaccines*. 2021; 9 (2):116. <https://doi.org/10.3390/vaccines9020116>
- Borca M. V., Rai A., Ramirez-Medina E., Silva E., Velazquez-Salinas L., Vuono E., et al. A cell culture-adapted vaccine virus against the current African swine fever virus pandemic strain. *Journal of Virology*. 2021; 95 (14):e00123-21. <https://doi.org/10.1128/jvi.00123-21>
- Taylor R. A., Podgórski T., Simons R. R. L., Ip S., Gale P., Kelly L. A., Snary E. L. Predicting spread and effective control measures for African swine fever – should we blame the boars? *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (2): 397–416. <https://doi.org/10.1111/tbed.13690>
- Podgórski T., Śmietanka K. Do wild boar movements drive the spread of African swine fever? *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (6): 1588–1596. <https://doi.org/10.1111/tbed.12910>
- European Food Safety Authority (EFSA), Baños J. V., Boklund A., Gogin A., Gortázar C., Guberti V., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union: (September 2020 to August 2021). *EFSA Journal*. 2022; 20 (5):e07290. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7290>
- Cukor J., Linda R., Václavěk P., Šatráň P., Mahlerová K., Vacek Z., et al. Wild boar deathbed choice in relation to ASF: Are there any differences between positive and negative carcasses? *Preventive Veterinary Medicine*. 2020; 177:104943. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104943>
- Lange M., Thulke H. H. Elucidating transmission parameters of African swine fever through wild boar carcasses by combining spatio-temporal notification data and agent-based modelling. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*. 2017; 31: 379–391. <https://doi.org/10.1007/s00477-016-1358-8>
- Chenais E., Ståhl K., Guberti V., Depner K. Identification of wild boar-habitat epidemiologic cycle in African swine fever epizootic. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24 (4): 810–812. <https://doi.org/10.3201/eid2404.172127>
- Chenais E., Depner K., Guberti V., Dietze K., Viltrop A., Ståhl K. Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porcine Health Management*. 2019; 5:6. <https://doi.org/10.1186/s40813-018-0109-2>
- Pejsak Z., Truszczyński M., Niemczuk K., Kozak E., Markowska-Daniel I. Epidemiology of African swine fever in Poland since the detection of the first case. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2014; 17 (4): 665–672. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0097>
- Lim J. S., Andraud M., Kim E., Vergne T. Three years of African swine fever in South Korea (2019–2021): A scoping review of epidemiological understanding. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2023; 2023:4686980. <https://doi.org/10.1155/2023/4686980>
- Hilbe J. M. Negative Binomial Regression. 2nd ed. New York: Cambridge University Press; 2011. 572 p.
- Podgórski T., Borowik T., Łyjak M., Woźniakowski G. Spatial epidemiology of African swine fever: Host, landscape and anthropogenic drivers of disease occurrence in wild boar. *Preventive Veterinary Medicine*. 2020; 177:104691. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104691>
- Loi F., Laddomada A., Coccollone A., Marrocu E., Piseddu T., Masala G., et al. Socio-economic factors as indicators for various animal diseases in Sardinia. *PLoS ONE*. 2019; 14 (6):e0217367. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217367>
- European Food Safety Authority (EFSA), Cortiñas Abrahantes J., Gogin A., Richardson J., Gervelmeyer A. Epidemiological analyses on African swine fever in the Baltic countries and Poland. *EFSA Journal*. 2017; 15 (3):e4732. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4732>
- European Food Safety Authority (EFSA), Depner K., Gortázar C., Guberti V., Masiulis M., More S., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the Baltic States and Poland (Update September 2016 – September 2017). *EFSA Journal*. 2017; 15 (11):e05068. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5068>
- European Food Safety Authority (EFSA), Boklund A., Bøtner A., Chesnoiu V. T., Depner K., Desmecht D., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019). *EFSA Journal*. 2020; 18 (1):e5996. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5996>
- European Food Safety Authority (EFSA), Boklund A., Cay B., Depner K., Földi Z., Guberti V., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2017 until November 2018). *EFSA Journal*. 2018; 16 (11):e05494. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5494>
- Śmietanka K., Woźniakowski G., Kozak E., Niemczuk K., Frańczyk M., Bocian Ł., et al. African swine fever epidemic, Poland, 2014–2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2016; 22 (7): 1201–1207. <https://doi.org/10.3201/eid2207.151708>
- Carlson J., Fischer M., Zani L., Eschbaumer M., Fuchs W., Mettenleiter T., et al. Stability of African swine fever virus in soil and options to mitigate the potential transmission risk. *Pathogens*. 2020; 9 (11):977. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110977>
- Zani L., Masiulis M., Bušauskas P., Dietze K., Pridotkas G., Globig A., et al. African swine fever virus survival in buried wild boar carcasses. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 67 (5): 2086–2092. <https://doi.org/10.1111/tbed.13554>
- Bergmann H., Schulz K., Conraths F. J., Sauter-Louis C. A review of environmental risk factors for African swine fever in European wild boar. *Animals*. 2021; 11 (9):2692. <https://doi.org/10.3390/ani11092692>
- Croft S., Massei G., Smith G. C., Fouracre D., Aegerter J. N. Modelling spatial and temporal patterns of African swine fever in an isolated wild boar population to support decision-making. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:154. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00154>
- Lim J. S., Vergne T., Pak S. I., Kim E. Modelling the spatial distribution of ASF-positive wild boar carcasses in South Korea using 2019–2020 national surveillance data. *Animals*. 2021; 11 (5):1208. <https://doi.org/10.3390/ani11051208>

34. Alexander N. S., Massei G., Wint W. The European distribution of *Sus scrofa*. Model outputs from the project described within the poster – where are all the boars? An attempt to gain a continental perspective. *Journal of Open Health Data*. 2016; 4 (1):e1. <https://doi.org/10.5334/ohd.24>

35. Bosch J., Iglesias I., Muñoz M. J., de la Torre A. A cartographic tool for managing African swine fever in Eurasia: Mapping wild boar distribution based on the quality of available habitats. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (6): 1720–1733. <https://doi.org/10.1111/tbed.12559>

36. Ballari S. A., Barrios-Garsia M. N. A review of wild boar *Sus scrofa* diet and factors affecting food selection in native and introduced ranges. *Mammal Review*. 2014; 44 (2): 124–134. <https://doi.org/10.1111/mam.12015>

37. Schulz K., Conraths F. J., Staubach C., Viltrop A., Oļševskis E., Nurmoja I., et al. To sample or not to sample? Detection of African swine fever in wild boar killed in road traffic accidents. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 67 (5): 1816–1819. <https://doi.org/10.1111/tbed.13560>

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

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

39. Nurmoja I., Schulz K., Staubach C., Sauter-Louis C., Depner K., Conraths F. J., Viltrop A. Development of African swine fever epidemic among

wild boar in Estonia – two different areas in the epidemiological focus. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1):12562. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12952-w>

40. Ebert C., Knauer F., Spielberger B., Thiele B., Hohmann U. Estimating wild boar *Sus scrofa* population size using faecal DNA and capture-recapture modelling. *Wildlife Biology*. 2012; 18 (2): 142–152. <https://doi.org/10.2981/11-002>

41. Blokhin A., Toropova N., Burova O., Sevskikh T., Gogin A., Debeljak Z., Zakharova O. Spatio-temporal analysis of the spread of ASF in the Russian Federation in 2017–2019. *Acta Veterinaria*. 2020; 70 (2): 194–206. <https://doi.org/10.2478/acve-2020-0014>

42. Zakharova O. I., Korennoy F. I., Yashin I. V., Burova O. A., Liskova E. A., Gladkova N. A., et al. Spatiotemporal patterns of African swine fever in wild boar in the Russian Federation (2007–2022): Using clustering tools for revealing high-risk areas. *Animals*. 2023; 13 (19):3081. <https://doi.org/10.3390/ani13193081>

43. European Food Safety Authority (EFSA), Álvarez J., Bicot D., Boklund A., Bøtner A., Depner K., et al. Research gap analysis on African swine fever. *EFSA Journal*. 2019; 17 (8):e05811. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5811>

44. Beltran-Alcrudo D., Falco J. R., Raizman E., Dietze K. Transboundary spread of pig diseases: the role of international trade and travel. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15 (1):64. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1800-5>

Поступила в редакцию / Received 28.12.2023

Поступила после рецензирования / Revised 19.01.2024

Принята к публикации / Accepted 20.02.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и биоинформатики ННИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: ozakharova@ficvim.ru

Блохин Андрей Александрович, канд. вет. наук, заведующий лабораторией эпизоотологии и биоинформатики ННИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru

Бурова Ольга Александровна, заместитель руководителя группы эпизоотологии и биоинформатики ННИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru

Яшин Иван Вячеславович, канд. биол. наук, директор ННИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru

Коренной Федор Игоревич, канд. геогр. наук, старший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

Olga I. Zakharova, Researcher, Laboratory of Epizootology and Bioinformatics, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: ozakharova@ficvim.ru

Andrey A. Blokhin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory of Epizootology and Bioinformatics, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru

Olga A. Burova, Deputy Head of the Group of Epizootology and Bioinformatics, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru

Ivan V. Yashin, Cand. Sci. (Biology), Director, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru

Fedor I. Korennoy, Cand. Sci. (Geography), Senior Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

Вклад авторов: Захарова О. И. – концепция исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Блохин А. А. – подготовка текста; Бурова О. А. – анализ научной литературы по заявленной проблеме; Яшин И. В. – подготовка текста; Коренной Ф. И. – концепция представления материалов, подготовка текста, интерпретация данных.

Contribution: Zakharova O. I. – conceptualization, data analysis and interpretation, text preparation; Blokhin A. A. – text preparation; Burova O. A. – analysis of scientific literature on the subject; Yashin I. V. – text preparation; Korennoy F. I. – visualization, text preparation, data interpretation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-73-77>
УДК 619:616.98:579.873.21:636.5:616-036.22(470.67)

Научное обоснование полиадаптогенности микобактерий птичьего вида в объектах внешней среды в условиях Республики Дагестан

М. О. Баратов, А. Р. Мустафаев

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, 367000, Республика Дагестан, Россия

РЕЗЮМЕ

Для птицеводческих хозяйств актуальной проблемой остается загрязнение окружающей среды возбудителями инфекционных болезней. Микобактерии туберкулеза птичьего вида могут длительное время расти и размножаться в органических отходах птицефабрик, загрязняя огромные примыкающие территории и являясь при этом источником заражения не только диких и домашних животных и птицы, но и человека. Целью работы являлось изучение продолжительности жизнеспособности *Mycobacterium avium* в объектах внешней среды в двух географических зонах Республики Дагестан с разными почвенно-климатическими характеристиками. Исследованию подверглись загрязненные микобактериями птичьего вида пробы (поверхностные и с глубины 5 см) почвы пастбищ, выгульного двора и помета. Эксперименты показали, что в образцах из предгорной зоны, отобранных в летнее время, когда температура воздуха колебалась от 15,1 до 30 °С, поверхности почвы – от 17 до 38 °С, влажность воздуха – от 44 до 94% и среднее количество осадков составляло 1,5 мм, жизнеспособность патогенных для кур микобактерий сохранялась до 30 дней. С сентября по май при температуре воздуха от –10,8 до +25 °С, почвы от –14 до +30 °С, влажности воздуха от 26 до 100% и среднем количестве осадков 0,39 мм на поверхности почвы пастбищ и выгульного двора бактерии оставались жизнеспособными до 213 дней, на глубине 5 см и в помете – до 243 дней. В равнинной зоне в этот же временной период в слабозасоленной почве со значительным содержанием гумуса при температуре воздуха от –11,9 до +27,3 °С, почвы от –13 до +45 °С, относительной влажности от 37 до 100% и среднемесячных осадках 20,4 мм микобактерии птичьего вида выживали как в условиях предгорной зоны – в течение 213 и 243 дней соответственно. Патолого-анатомические изменения во внутренних органах птиц соответствовали клиническим признакам туберкулеза у 86 (50,3%) из 171 особи. Полученные результаты позволяют разработать оптимальный алгоритм проведения комплекса ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий для оздоровления птицеводческих предприятий от туберкулеза.

Ключевые слова: микобактерии птичьего вида, туберкулез, пробы, почва, помет, птицекомплекс, пастбища, устойчивость, заражение, загрязненность, источник инфекций

Для цитирования: Баратов М. О., Мустафаев А. Р. Научное обоснование полиадаптогенности микобактерий птичьего вида в объектах внешней среды в условиях Республики Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 73–77. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-73-77>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Баратов Магомед Омарович, д-р вет. наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, 367000, Республика Дагестан, Россия, e-mail: alama500@rambler.ru

Scientific justification of *Mycobacterium avium* survival in natural environment of Republic of Dagestan

Magomed O. Baratov, Arkif R. Mustafayev

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia

ABSTRACT

Contamination of the environment with the infectious animal disease agents is still a pressing problem for the poultry farms. *Mycobacterium avium* can grow and replicate in organic wastes from the poultry farms for a long time thus contaminating vast adjacent areas and being the source of infection not only for wild and domestic animals but also for humans. The studies were aimed at the examination of the duration of *Mycobacterium avium* survival in the natural environment in two geographical regions of the Republic of Dagestan characterized by different soil and climate. Samples of *Mycobacterium avium*-contaminated feces and soil collected from pastures and farmyards (on the surface and from 5 cm depth) were tested. The experiments demonstrated that pathogenic for chickens mycobacteria survived for up to 30 days in the samples collected in the sub-mountainous areas in summertime, when the air temperature ranged from 15.1 to 30 °C, land surface temperature – from 17 to 38 °C, air humidity – from 44 to 94% and average monthly precipitation amounted to 1.5 mm. From September to May, with the air temperature ranging from –10.8 to +25 °C, land surface temperature from –14 to +30 °C, air humidity 26–100% and average precipitation 0.39 mm, the bacteria survived for up to 213 days on the soil surface on the pastures and farmyards, and for up to 243 days at the depth of 5 cm and in the feces. In the plain area,

© Баратов М. О., Мустафаев А. Р., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

in the same time period in the slightly saline soil with high humus content and at air temperature from -11.9 to $+27.3$ °C, soil temperature from -13 to $+45$ °C, air humidity from 37 to 100% and average precipitation 20.4 mm, *Mycobacterium avium* survived just like in the sub-mountainous area, i.e. for 213 and 243 days, respectively. The post-mortem lesions in the internal organs of the poultry corresponded to the tuberculosis clinical signs in 86 of 171 birds (50.3%). The study results will allow for the development of the optimal algorithm for animal health and management measures aimed at tuberculosis eradication on the poultry farms.

Keywords: *Mycobacterium avium*, tuberculosis, samples, soil, feces, poultry farm, pastures, stability, infection, contamination, source of infections

For citation: Baratov M. O., Mustafayev A. R. Scientific justification of *Mycobacterium avium* survival in natural environment of Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 73–77. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-73-77>

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

For correspondence: Magomed O. Baratov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia, e-mail: alama500@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Одной из отличительных особенностей микобактерий является их жизнеспособность в организме и различных объектах экосистемы, что создает большие проблемы при эпизоотологическом контроле и диагностике туберкулеза. Несмотря на кажущееся благополучие Республики Дагестан по данному заболеванию животных, циркуляция возбудителя, в том числе и в объектах внешней среды, продолжается, сохраняя тенденцию к распространению инфекции в ранее благополучных хозяйствах [1, 2].

Промышленное птицеводство и связанные с ним короткие сроки эксплуатации кур, содержание и кормление с учетом экстерьерных и зоогигиенических параметров, бесспорно, сделали проблему туберкулеза птиц менее значимой [3, 4, 5].

В то же время вследствие высокой устойчивости *Mycobacterium avium* в объектах внешней среды (по литературным данным, в почве сохраняется на глубине до 60 см более 3 лет) эпизоотический процесс туберкулеза кур не прерывался. Более того, случаи заболевания выявляются и в частном секторе, где зачастую практикуется бесконтрольное и бессистемное перемещение птицы и продуктов убоя без соответствующего ветеринарного контроля. Больная птица, являясь основным источником инфекции, в том числе и для диких птиц, расширяет и дополняет природный резервуар [6, 7, 8].

При оздоровлении хозяйств важно своевременное удаление из стада больных особей, однако проблема заключается в том, что у ослабленных и истощенных птиц отсутствует реакция на туберкулин, поэтому они в течение некоторого времени остаются невыявленными, при этом риск заражения здоровой птицы пропорционален длительности совместного нахождения с больной [9, 10].

В этой связи проведение исследований по динамическому слежению за возбудителем туберкулеза, в том числе и в объектах внешней среды, с использованием предложенных современных методов может иметь существенное значение в плане контроля и предупреждения заболевания кур [11, 12].

По некоторым литературным данным, больные туберкулезом куры зачастую становятся источником заражения крупного рогатого скота, вызывая сенсификацию к ППД-туберкулину для млекопитающих [13, 14, 15].

Известно, что одной из причин, способствующих распространению данной инфекции, является контаминированная внешняя среда, которая заслуживает особого внимания при эпизоотологическом обследовании [16].

Изучение устойчивости возбудителя туберкулеза в почве пастбищ, выгульного двора и помете и связанный с этим вопрос об источниках и путях распространения инфекции приобретает большое значение, так как дезинфекция больших территорий пастбищ, инфицированных выделениями больных кур, по экономическим соображениям затруднительна. В этой связи, по нашему мнению, правильным подходом к решению вопроса является расчет на самоочищение их естественным путем [17, 18, 19, 20].

Учитывая эти обстоятельства, была поставлена задача выяснить продолжительность жизнеспособности микобактерий туберкулеза птичьего вида в почве пастбищ, птичьего двора и помете в двух климатических зонах Республики Дагестан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась в условиях предгорной и равнинной зон республики. Определенные участки с различным рельефом и составом почвы были изолированы и поверхностно, и на глубине 5 см. В почву данных участков, а также в помет внесли контаминированные микобактериями птичьего вида полоски шелка. Заражение материала проводилось культурой микобактерий второй генерации, выделенной от павшей от туберкулеза курицы.

С данных участков отбирались образцы для определения выживаемости микобактерий. Каждая проба в отдельности измельчалась в 2 мл стерильного физиологического раствора. Полученная масса фильтровалась через беззольные бумажные фильтры. Суспензия по 1 мл вводилась серонегативным здоровым курам 2-месячного возраста внутримышечно. Зараженные куры содержались в изолированных условиях. Через каждый месяц они проверялись аллергическим и клиническим методами. Одновременно из эмульсии после соответствующей обработки делались посевы и готовились мазки.

Положительно реагирующие на аллерген куры подвергались диагностическому убою, проводилось патолого-анатомическое вскрытие. Из пораженных органов производились посевы на питательные среды для получения исходной культуры и готовились мазки для обнаружения *M. avium*.

При проведении работы соблюдались основные этические принципы проведения экспериментов на животных, изложенные в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Протокол Комиссии по биоэтике Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» № 7 от 16.11.2023.

В предгорной зоне опыты проводились на черноземной почве со слабощелочной реакцией. Образцы почвы содержали анионы угольной и серной кислот, катионы хлора, кальция, магния, калия и натрия. Количество гумуса составляло 5,69%.

В предгорной зоне проводилось два опыта. Первый (июнь – август 2019 г.) проходил в следующих метеорологических условиях: температура воздуха колебалась от 15,1 до 30 °С, температура поверхности почвы – от 17 до 38 °С, влажность воздуха – от 44 до 94%, среднемесячное количество осадков составляло 1,5 мм.

Для определения устойчивости микобактерий пробы для исследования отбирались на 30-й и 61-й день.

Второй опыт проводили с сентября 2019 по май 2020 г. при колебаниях температуры воздуха от –10,8 до +25 °С, температуры почвы от –14 до +30 °С, влажности воздуха от 26 до 100%. За период проведения эксперимента выпало 0,39 мм осадков. Пробы для исследования брались на 61, 91, 122, 153, 182, 213 и 243-й день.

В равнинной зоне опыты проводились с сентября 2019 по май 2020 г. на слабозасоленной почве со значительным содержанием гумуса в следующих метеорологических условиях: температура воздуха колебалась от –11,9 до +27,3 °С, температура почвы была в пределах от –13 до +45 °С, относительная влажность воздуха – от 37 до 100%, среднемесячное количество осадков – 20,4 мм. Образцы содержали большое количество фосфора и солей в виде хлоридов.

Пробы исследовались аналогично опыту, проведенному в предгорной зоне.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первом опыте, проведенном в предгорной зоне, на 30-й день пребывания возбудителя туберкулеза в помете и почве пастбищ, выгульного двора как поверхностно, так и на глубине 5 см обнаружены жизнеспособные и патогенные для кур микобактерии.

Ни в одной из проб, отобранной на 61-й день, выявить *M. avium* не удалось (табл. 1).

По результатам второго опыта установлено, что микобактерии туберкулеза птичьего вида погибают на поверхности почвы пастбищ и выгульного двора на 213-й день, на глубине 5 см и в помете – на 243-й день (табл. 2).

В условиях равнинной зоны микобактерии птичьего вида, внесенные на поверхность почвы пастбищ

Таблица 1
Показатели устойчивости *M. avium* в объектах внешней среды предгорной зоны (первый опыт)

Table 1
Parameters of *M. avium* survival in sub-mountainous environment (experiment one)

Пробы	День	Температура воздуха, °С	Температура почвы, °С	Влажность воздуха, %	Среднемесячные осадки, мм	Наличие микобактерий
Почва	30	15,1–30	17–38	44–94	1,5	+
	61	15,1–30	17–38	44–94	1,5	–
Помет	30	15,1–30	17–38	44–94	1,5	+
	61	15,1–30	17–38	44–94	1,5	–

Таблица 2
Показатели устойчивости *M. avium* в объектах внешней среды предгорной зоны (второй опыт)

Table 2
Parameters of *M. avium* survival in sub-mountainous environment (experiment two)

Пробы	День	Температура воздуха, °С	Температура почвы, °С	Влажность воздуха, %	Среднемесячные осадки, мм	Наличие микобактерий
Почва	61	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	91	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	122	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	153	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	182	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	213	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	–
	243	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	–
Почва на глубине 5 см и помет	61	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	91	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	122	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	153	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	182	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	213	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	+
	243	–10,8...+25	–14...+30	26–100	0,39	–

Таблица 3
Патолого-анатомически выраженные изменения во внутренних органах птицы

Table 3
Macroscopic post-mortem lesions of internal organs of poultry

Количество птиц	Туберкулезные поражения								Всего
	печени	селезенки	кишечника	печени и селезенки	печени и кишечника	печени, селезенки и кишечника	кишечника и брыжейки	Генерализованный процесс	
171	9	10	6	9	16	13	7	16	86
%	5,3	5,8	3,5	5,3	9,4	7,6	4,1	9,4	50,3

и выгульного двора, погибают также в течение 213 дней, а на глубине 5 см и в помете – в течение 243 дней.

В целях выявления патолого-анатомических изменений во внутренних органах и установления роли истощенной и ослабленной птицы в заражении туберкулезом восприимчивого к данному заболеванию поголовья в нескольких птицеводческих хозяйствах провели диагностический убой такой птицы в количестве 171 особи. Перед убоем при клиническом осмотре обращали внимание на истощенность, наличие хромоты, малую подвижность, опущенность крыльев, потерю блеска перьев. У некоторых кур отмечались желудочно-кишечные расстройства, анемия сережек и борода, при этом регистрировали значительный отход (табл. 3).

При патолого-анатомическом вскрытии 171 гол. ослабленной и истощенной птицы туберкулезные гранулемы, особенно в паренхиматозных органах, обнаружены у 86 особей, что составило 50,3%.

Результаты проведенных исследований показали, что микобактерии туберкулеза птичьего вида в условиях предгорной и равнинной зон Республики Дагестан на поверхности пастбищ, выгульного двора и на глубине 5 см, а также в помете в летнее время погибают в течение 61 дня; в осенне-зимне-весенний период – в течение 243 дней.

Таким образом, можно отметить, что при оздоровлении неблагополучных по туберкулезу птицеводческих хозяйств убой птицы целесообразно проводить в летнее время. При убое птицы в июне пастбища, инфицированные возбудителем туберкулеза, освобождаются в максимально короткий срок, равный 61 дню. Этот период совпадает со временем комплектования птицеводческих хозяйств молодняком текущего года выращивания. Инкубирование яиц в республике начинают в феврале, а уже в марте птицеводства получают цыплят, которые в августе достигают 6-месячного возраста.

Учитывая установленные сроки освобождения пастбищ, комплектуемый молодняк можно перевести в птичники, откуда птица будет отправлена на убой в июне и произведена дезинфекция помещений. В этом случае пастбища, где до июня паслась неблагополучная птица, не будут представлять опасности для заражения молодняка текущего года.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований были сделаны следующие выводы и даны практические рекомендации.

1. Карантинирование пастбищ, загрязненных возбудителем туберкулеза птичьего вида, в летнее время установить продолжительностью 2,5 мес., в осенний период – 8,5 мес.

2. Убой птицы на неблагополучных фермах с целью оздоровления хозяйств от туберкулезной инфекции проводить в июне, так как в летний период происходит самоочищение пастбищ от возбудителя туберкулеза в течение более короткого времени. При убое в такие сроки создается возможность использования пастбищ комплектуемым молодняком текущего года и исключается возможность заражения птиц туберкулезом.

3. При проведении оздоровительных мероприятий вся ослабленная и истощенная птица периодически должна быть выбракована и уничтожена в специально отведенном месте с последующим проведением ветеринарно-санитарных мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баратов М. О. Распространение нетуберкулезных микобактерий в объектах эпизоотологического надзора в Республике Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 140–146. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-2-140-146>
2. Ощепков В. Г. Современные проблемы бруцеллеза и туберкулеза и решение их во ВНИИБТЖ в 2006–2010 гг. *Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных: сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающегося организатора сибирской ветеринарной науки А. В. Копырина (Омск, 21–23 сентября 2010 г.)*. Омск: Вариант-Омск; 2010; 11–28. EDN: RWHRMJ
3. Найманов А. Х. Проблемы диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота в современных условиях. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2 (9): 18–23. EDN: HSOVZT
4. Тузова Р. В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы. Минск: Ураджай; 1983. 263 с.
5. Zhu D. K., Song X. H., Wang J. B., Zhou W. S., Ou X. M., Chen H. X., et al. Outbreak of avian tuberculosis in commercial domestic Pekin ducks (*Anas platyrhynchos domestica*). *Avian Diseases*. 2016; 60 (3): 677–680. <https://doi.org/10.1637/11396-021916-ResNote.1>
6. Гуславский И. И., Апалькин В. А., Густокашин К. А. Краевая эпизоотология инфекционных болезней, основы прогнозирования, профилактики и борьбы с ними: учебное пособие. 2-е изд., доп. Барнаул: Изд-во АГАУ; 2009. 202 с.
7. Юсоев М. К., Тузова Р. В. Пути ликвидации туберкулеза животных в Белоруссии. *Ветеринария*. 1963; 10: 14–17.
8. Мезенцев С. В. Инфекционные и инвазионные болезни сельскохозяйственных птиц: практические рекомендации. Барнаул: Пять плюс; 2012. 167 с.
9. Бессарабов Б. Ф., Мельникова И. И., Сушкова Н. К., Садчиков С. Ю. Болезни птиц. СПб.: Лань; 2007. 445 с.
10. Власенко В. В., Лысенко А. П., Дзюмак М. А., Конопко И. Г., Березовский И. В., Гирич С. В. Экологический мониторинг при туберкулинодиагностике крупного рогатого скота. *Агроэкологічний журнал*. 2003; (1): 76–79.
11. Баратов М. О. Оценка эффективности кровяно-капельной реакции агглютинации при диагностике туберкулеза кур. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 66–72. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-1-66-72>
12. Колычев Н. М., Кисленко В. Н., Шведова Н. И. Выживаемость микобактерий туберкулеза в объектах внешней среды и методы их обезвреживания: монография. Омск: Фил. изд-ва ИВМ ОмГАУ; 2004. 439 с.
13. Потапова Н. И., Гребенникова Т. В., Забережный А. Д., Алипер Т. И., Непоклонов Е. А. ПЦР в реальном времени для диагностики туберкулеза. *Ветеринария*. 2006; 9: 54–56. EDN: HUGTEN
14. Барышников П. И., Бондарев А. Ю., Федорова Г. А., Разумовская В. В. Влияние инфицированности диких птиц на эпизоотическую обстановку

в лесостепной области Алтайского края. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2014; 4 (114): 100–104. EDN: SABSWP

15. Debelu T., Abunna F., Mamo Kassa G., Ameni G. Epidemiology of avian tuberculosis in selected districts of Oromia Region, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*. 2022; 2022:6933701. <https://doi.org/10.1155/2022/6933701>

16. Кассич Ю. Я., Борзяк А. Т., Кочмарский А. Ф., Мартма О. В., Нечвалъ И. Т., Овдиенко Н. П., и др. Туберкулез животных и меры борьбы с ним. Под ред. Ю. Я. Кассича. Киев: Урожай; 1990. 303 с.

17. Смирнов А. М. Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2 (9): 10–13. EDN: HSOVYZ

18. Першикова Н. Л., Донченко Н. А. Использование полимеразной цепной реакции для обнаружения ДНК микобактерий туберкулеза. *Вестник КрасГАУ*. 2007; 5: 129–131. EDN: IARSHT

19. Найманов А. Х. Дифференциация аллергических реакций на туберкулин. *Ветеринария*. 2002; 3: 10–13. EDN: WMCLVL

20. Nestic V., Marinkovic D., Matovic K., Radakovic M., Davitkov D., Vaskovic N., Davitkov D. Avian tuberculosis in a free-living Eurasian griffon vulture. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2022; 34 (4): 723–726. <https://doi.org/10.1177/10406387221102432>

REFERENCES

1. 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. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-2-140-146>

2. Oschepkov V. G. Sovremennyye problemy brutselleza i tiberkuleza i reshenie ikh vo VNIIBTZh v 2006–2010 gg. = Современные проблемы бруцеллеза и туберкулеза и решение их во ВНИИБТЖ в 2006–2010 гг. *Aktual'nye problemy infektsionnykh i nezaraznykh patologiy zhivotnykh: sbornik materialov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati vydayushchegosya organizatora sibirskoi veterinarnoi nauki A. V. Kopyrina (Omsk, 21–23 sentyabrya 2010 g.) = Current issues of infectious and non-infectious animal pathologies: proceedings of the International research to practice conference dedicated to the memory of the outstanding institutor of the Siberian veterinary science A. V. Kopyrin (Omsk, September 21–23, 2010)*. Omsk: Variant-Omsk; 2010; 11–28. EDN: RWHRMJ (in Russ.)

3. Naimanov A. Kh. Problemy diagnostiki i profilaktiki tiberkuleza krupnogo rogatogo skota v sovremennykh usloviyakh = Challenges of bovine tuberculosis diagnosis and prevention in current conditions. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2004; 1–2 (9): 18–23. EDN: HSOVZT (in Russ.)

4. Tuzova R. V. Tuberculosis in livestock and poultry. Minsk: Uradzhai; 1983. 263 p. (in Russ.)

5. Zhu D. K., Song X. H., Wang J. B., Zhou W. S., Ou X. M., Chen H. X., et al. Outbreak of avian tuberculosis in commercial domestic Pekin ducks (*Anas platyrhynchos domestica*). *Avian Diseases*. 2016; 60 (3): 677–680. <https://doi.org/10.1637/11396-021916-ResNote.1>

6. Guslavskiy I. I., Apalkin V. A., Gustokashin K. A. Regional epizootology of infectious diseases, basics of their prognosis, prevention and control: study guide. 2nd ed. supplemented. Barnaul: Publishing house of Altai SAU; 2009. 202 p. (in Russ.)

7. Yuskovets M. K., Tuzova R. V. Puti likvidatsii tiberkuleza zhivotnykh v Belorussii = Methods for tuberculosis eradication in Byelorussia. *Veterinariya*. 1963; 10: 14–17. (in Russ.)

8. Mezentsev S. V. Infectious and invasive poultry diseases: practical recommendations. Barnaul: Pyat' plus; 2012. 167 p. (in Russ.)

9. Bessarabov B. F., Mel'nikova I. I., Sushkova N. K., Sadchikov S. Yu. Avian Diseases. Saint Petersburg: Lan'; 2007. 445 p. (in Russ.)

10. Vlasenko V. V., Lysenko A. P., Dzumak M. A., Konopko I. G., Berezhovskiy I. V., Girich S. V. Ekologicheskii monitoring pri tiberkulinoznoy krupnogo rogatogo skota = Ecological monitoring at diagnostic TB tests of cattle. *Azroekologicheskii zhurnal*. 2003; (1): 76–79. (in Russ.)

11. Baratov M. O. Evaluation of the effectiveness of blood-drop agglutination test for chicken tuberculosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 66–72. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-1-66-72>

12. Kolychev N. M., Kislenco V. N., Shvedova N. I. Survival of tuberculosis mycobacteria in the environment and methods of their inactivation: monograph. Omsk: Branch of publishing house of Omsk SAI VMI; 2004. 439 p. (in Russ.)

13. Potapova N. I., Grebennikova T. V., Zaberezhny A. D., Aliper T. I., Nepoklonov E. A. PTsR v real'nom vremeni dlya diagnostiki tiberkuleza = Real-time PCR for tuberculosis diagnosis. *Veterinariya*. 2006; 9: 54–56. EDN: HUGTEN (in Russ.)

14. Baryshnikov P. I., Bondarev A. Yu., Fedorova G. A., Razumovskaya V. V. Influence of wild birds' infection on epizootic situation in the forest-steppe area of the Altai region. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2014; 4 (114): 100–104. EDN: SABSWP (in Russ.)

15. Debelu T., Abunna F., Mamo Kassa G., Ameni G. Epidemiology of avian tuberculosis in selected districts of Oromia Region, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*. 2022; 2022:6933701. <https://doi.org/10.1155/2022/6933701>

16. Kassich Yu. Ya., Borzyak A. T., Kochmarsky A. F., Martma O. V., Nечвалъ I. T., Овдиенко N. P., et al. Animal tuberculosis and measures to control it. Ed. by Yu. Ya. Kassich. Kiev: Urozhay; 1990. 303 p. (in Russ.)

17. Smirnov A. M. Sovremennyye problemy diagnostiki i profilaktiki tiberkuleza zhivotnykh = Current problems of animal tuberculosis diagnosis and prevention. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2004; 1–2 (9): 10–13. EDN: HSOVYZ (in Russ.)

18. Pershikova N. L., Donchenko N. A. Ispol'zovanie polimeraznoi tsepoi reaktsii dlya obnaruzheniya DNK mikobakterii tiberkuleza = Use of polymerase chain reaction for detection of tuberculosis mycobacterium DNA. *Bulletin of KrasSAU*. 2007; 5: 129–131. EDN: IARSHT (in Russ.)

19. Naimanov A. Kh. Differentsiatsiya allergicheskikh reaktsii na tuberculin = Differentiation of hypersensitivity reactions to tuberculin. *Veterinariya*. 2002; 3: 10–13. EDN: WMCLVL (in Russ.)

20. Nestic V., Marinkovic D., Matovic K., Radakovic M., Davitkov D., Vaskovic N., Davitkov D. Avian tuberculosis in a free-living Eurasian griffon vulture. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2022; 34 (4): 723–726. <https://doi.org/10.1177/10406387221102432>

Поступила в редакцию / Received 15.11.2023

Поступила после рецензирования / Revised 01.12.2023

Принята к публикации / Accepted 25.01.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Баратов Магомед Омарович, д-р вет. 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

Мустафаев Аркиф Рамазанович, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5682-2765>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

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

Arkif R. Mustafayev, Cand. Sci. (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/0000-0001-5682-2765>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

Вклад авторов: Баратов М. О. – концепция обзора, поведения поисково-аналитической работы, составление таблиц для визуализации данных, подготовка и написание статьи; Мустафаев А. Р. – проведение поисково-аналитической работы, составление таблиц для визуализации данных.

Contribution: Baratov M. O. – concept of review, exploratory and analysis activities, compilation of tables for data visualization, preparation and writing the paper; Mustafayev A. R. – exploratory and analysis activities, compilation of tables for data visualization.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-78-86>
УДК 576.895.42-047.37(476)



Роль иксодовых клещей в распространении и циркуляции возбудителей клещевых инфекций и инвазий на территории Белорусского Поозерья

А. А. Осмоловский, И. А. Субботина

УО «Витебская ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины» (УО «ВГАВМ»), ул. 1-я Доватора, 7/11, г. Витебск, 210026, Республика Беларусь

РЕЗЮМЕ

Приведены результаты анализа эколого-эпизоотологической и эпидемиологической значимости иксодовых клещей в распространении и циркуляции возбудителей клещевых инфекций на территории Белорусского Поозерья. Сбор образцов проводили с апреля по ноябрь 2022 г. на объектах открытой природы Витебского района, при этом пройдено 8 маршрутов, оработано 18 флаго-километров, собрано 529 экземпляров клещей, в том числе 350 взрослых имаго и 179 нимф. Родовую и видовую принадлежность иксодовых клещей устанавливали с помощью определителя Н. А. Филипповой. Все отловленные особи были исследованы на наличие генетического материала *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.), *Babesia* spp. и *Tick-borne encephalitis virus* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием набора реагентов для экстракции нуклеиновых кислот из объектов окружающей среды в соответствии с инструкцией производителя. Группировку проб осуществляли в соответствии с МУ 3.1.1027-01 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций», при этом в одну пробу включали только одного клеща. Определено, что различия в показателях численности иксодовых клещей и встречаемости в них генетических маркеров возбудителей клещевых инфекций имеют определенную связь с экологическими особенностями изучаемых территорий. Установлено, что в Белорусском Поозерье фауна эпидемически и эпизоотически значимых видов клещей, способствующих распространению трансмиссивных инфекций и инвазий, представлена клещами родов *Ixodes* и *Dermacentor*, индекс встречаемости составил 70,1 и 29,9% соответственно. Показано, что спектр возбудителей инфекционных заболеваний, передаваемых иксодовыми клещами, на исследуемых территориях Витебского района в 61,7% случаев представлен *Borrelia* spp., в 25,8% – *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.) и в 25% – *Babesia* spp., при этом микст-инфицированность переносчиков составила 10,8%. Генетический материал вируса клещевого энцефалита в пробах обнаружен не был. Общая инфицированность иксодовых клещей составляла 22,7%.

Ключевые слова: Белорусское Поозерье, иксодовые клещи, трансмиссивные инфекции, боррелиоз, анаплазмоз (эрлихиоз), babesиоз

Для цитирования: Осмоловский А. А., Субботина И. А. Роль иксодовых клещей в распространении и циркуляции возбудителей клещевых инфекций и инвазий на территории Белорусского Поозерья. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 78–86. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-78-86>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Субботина Ирина Анатольевна, канд. вет. наук, доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «ВГАВМ», ул. 1-я Доватора, 7/11, г. Витебск, 210026, Республика Беларусь, e-mail: irin150680@mail.ru

Role of ixodid ticks in tick-borne pathogen spread and circulation in the Belarusian Lakeland

Alexandr A. Osmolovsky, Iryna A. Subotsina

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 7/11 Dovatora str., Vitebsk 210026, Republic of Belarus

ABSTRACT

Results of ixodid tick analysis for their ecological, epizootological and epidemiological significance for tick-borne pathogen spread across the Belarusian Lakeland are presented. The ticks were collected in publicly accessible areas of the Vitebsk Raion in April – November 2022: 8 routes were tracked, 18 flag-km were passed, 529 tick specimens were collected, including 350 imago ticks and 179 nymph ticks. The ixodid tick genus and species were determined using N. A. Filippova's ixodid tick determinator. All caught ticks were tested for *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.), *Babesia* spp. and *Tick-borne encephalitis virus* genetic materials with real-time polymerase chain reaction using the reagent kit for nucleic acid extraction from environmental samples in accordance with the manufacturer's instructions. The specimens were grouped in accordance with the MG 3.1.1027-01 "Collection, recording and preparation for laboratory tests of blood-sucking arthropods being vectors of natural focal infections"; therewith, one specimen includes only one tick. Differences in the numbers of ixodid ticks and the occurrence of genetic markers of tick-borne pathogens in them were found to be associated with ecological characteristics of the examined territories. The following epidemically and epizootically significant ticks contributing to transmissible infection and invasion spread were found in the Belarusian Lakeland: ticks of *Ixodes* and *Dermacentor* genera; their frequency index was 70.1 and 29.9%, respectively. Tick-transmitted pathogen prevalence rate in the examined territories of the Vitebsk Raion was as

follows: 61.7% for *Borrelia* spp., 25.8% for *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.) and 25% for *Babesia* spp., mixed infections were found in 10.8% of the ticks. No tick-borne encephalitis virus genetic materials were found in the specimens. Total infection rate for ixodid ticks was 22.7%.

Keywords: Belarusian Lakeland, ixodid ticks, transmission infections, borreliosis, anaplasmosis (ehrlichiosis), babesiosis

For citation: Osmolovsky A. A., Subotsina I. A. Role of ixodid ticks in tick-borne pathogen spread and circulation in the Belarusian Lakeland. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 78–86. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-78-86>

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Iryna A. Subotsina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 7/11 Dovatora str., Vitebsk 210026, Republic of Belarus, e-mail: irin150680@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие на территории Европы, в том числе Республики Беларусь, и Азии отмечается устойчивая направленность к повышению уровня заболеваемости животных и людей инфекциями, передающимися клещами, расширению их нозоареалов, выявлению микст-инфекций, а также регистрации ранее неизвестных патогенов и новых нозологических форм болезней [1, 2, 3, 4, 5].

До недавних пор на территории Республики Беларусь практически все внимание было сосредоточено только на двух клещевых инфекциях – вирусном клещевом энцефалите и Лайм-боррелиозе. В реальности же значительно чаще стали регистрироваться нетипичные для Беларуси трансмиссивные заболевания – анаплазмоз, туляремия, клещевые риккетсиозы, а в соседних странах интенсивно стали распространяться крымская геморрагическая лихорадка, моноцитарный эрлихиоз и др. [6]. Наибольший интерес для практического здравоохранения представляет выявление в ряде граничащих с республикой стран гранулоцитарного анаплазмоза человека. Антитела к анаплазмам чаще всего (18,2%) обнаруживались в сыворотках крови хронических пациентов с поражением нервной системы, которые отмечали в анамнезе присасывание клеща, а также у пациентов, переносящих Лайм-боррелиоз (13,5%) [1]. В этой связи в последние годы внимание эпидемиологов и инфекционистов привлечено к проблеме клещевых микст-инфекций.

К настоящему времени достоверно доказано, что зараженность клеща 2–3 возбудителями не только вирусных, но бактериальных и/или протозойных инфекций – это не исключение, а закономерность [7]. По литературным данным, микст-инфекция в структуре клещевых инфекций на эндемичных территориях может достигать 36% [8]. При этом до 5% иксодовых клещей в своем организме содержат возбудителей Лайм-боррелиоза и клещевого энцефалита [9]. Клинико-серологическими исследованиями установлено, что у лиц, отмечавших присасывание клещей, может развиваться клещевой энцефалит как в виде моно-, так и смешанных клещевых вирусно-бактериальных заболеваний [10, 11], которые протекают значительно тяжелее. Поэтому любое заболевание, возникшее в результате присасывания клеща, следует рассматривать как потенциальную микст-инфекцию [6].

При анализе имеющейся литературы установлено, что наибольшее количество эколого-эпизоотологических исследований по иксодовым клещам проводи-

лось на территории центрального и южных регионов Беларуси (Гомельская, Брестская, Минская области и г. Минск), также имеются немногочисленные данные по Гродненской и Могилевской областям и лишь единичные исследования по Витебскому региону (Белорусскому Поозерью) [12].

Географически Белорусское Поозерье представляет собой озерное плато на севере страны, формирующее юго-восточную часть Балтийской гряды между средним течением Западной Двины и средней частью бассейна Немана, и занимает около 19% территории Беларуси. Основная (большая) часть Поозерья расположена на территории Витебской области, и лишь небольшие участки находятся в Минской и Гродненской областях [13]. Свое название регион получил благодаря большому количеству озер – свыше 3000. Озера образуют живописные ландшафтные группы: Браславскую, Нарочанскую, Лепельскую, Глубокскую.

Климат Поозерья – самый холодный и влажный в Беларуси. Регион относится к северной умеренно теплой влажной агроклиматической области.

Основу природной растительности Поозерья составляют леса. Ими занято около 40% территории, что соответствует среднему республиканскому показателю. Наиболее лесистые (до 50%) – песчаные низины, часто заболоченные. В составе лесов преобладают хвойные породы (в основном сосна), доля которых достигает 60%. Отличительной чертой растительности Поозерья является самый высокий в республике процент еловых лесов – 17%. Дубовых лесов очень мало (менее 2%), а другие широколиственные породы почти не встречаются. Среди мелколиственных лесов преобладают березовые, ольховые и осиновые [14].

Совсем небольшую площадь занимают луга. Среди них преобладают суходольные, значительно меньше низинных и пойменных лугов. Луга сильно закустарены.

Болот в Поозерье немного, но местами они образуют большие массивы (Ельня, Обольские болота, Бельмонт). Отличительной чертой является широкое распространение верховых сфагновых и переходных болот.

Таким образом, все вышеописанные природно-географические особенности Белорусского Поозерья соответствуют подтаежным ландшафтам, что создает уникальные условия для обитания иксодовых клещей.

Цель работы – проанализировать эколого-эпизоотологическую и эпидемиологическую значимость иксодовых клещей в распространении и циркуляции возбудителей клещевых инфекций на территории Белорусского Поозерья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учет численности и видового разнообразия половозрелых иксодовых клещей осуществляли с апреля по ноябрь 2022 г. В связи с особенностями суточного хода активности иксодовых клещей учеты проводились в период ее максимума: в ясные дни – утром (от момента высыхания росы до наступления дневной жары) и вечером (после спада жары до наступления сумерек или вечернего понижения температуры); в пасмурные дни при отсутствии полуденной жары – в течение дня. При этом ночная температура воздуха должна была быть не менее 8 °C [15].

Взрослых клещей (имаго) и нимф собирали на объектах открытой природы на следующих территориях Витебского района: ботанический заказник «Туловский», агрогородок (а/г) Тулово; парк имени Советской Армии; пляжная и окрестные территории детского оздоровительного лагеря «Буревестник», д. Зуи; биологический заказник «Придвинье», д. Шевино; дендропарк «Лужеснянский», д. Лужесно; ботанический заказник «Чертова Борода», территория горнолыжной базы «Руба»; лесной массив в окрестностях д. Сокольники. Все территории имели подтаежный тип ландшафта.

Координатные точки обследования определяли с помощью спутниковых навигаторов (ГЛОНАСС/GPS-приемников) в системе глобального позиционирования.

На открытых (полянах, лужайках, просеках) и лесных участках с высокой травой и кустарником клещей собирали на флаг из однотонной светлой ворсистой ткани (вафельной, фланелевой). Кусок ткани 60 × 100 см прикрепляли узкой стороной к палке и протаскивали по растительности в развернутом виде перед собой или сбоку, периодически проводя осмотр флага.

Подсчет длины маршрута вели по 10-метровым отрезкам, заранее определив соответствующее им количество пар шагов. В промежутках между отрезками делали остановки для записей, осмотра собственной одежды.

Основной единицей учета численности являлась протяженность маршрута наблюдения (1 флаго-км природного биотопа).

Всего пройдено 8 маршрутов, отработано 18 флаго-км, собрано 529 экземпляров клещей, из них 350 имаго и 179 нимф.

Родовую и видовую принадлежность иксодовых клещей устанавливали с помощью определителя Н. А. Филипповой¹. Видовую идентификацию клещей выполняли прижизненно на бинокулярном микроскопе (16×).

Собранных клещей помещали в стеклянные пробирки с ватно-марлевой пробкой или пластиковые пробирки с завинчивающейся крышкой. На каждую пробирку наклеивали этикетку со сведениями о месте и времени сбора, виде, поле, фазе развития клеща и степени насыщения особи^{2,3}.

Наличие возбудителей заболеваний животных и человека в отловленных клещах оценивали по выявлению генетического материала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени при помощи амплификатора. Группировку проб осуществляли в соответствии с МУ 3.1.1027-01 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций»⁴, при этом в одну пробу включали только одного клеща. Генетический материал из полученных проб выделяли с помощью набора реагентов для экстракции нуклеиновых кислот из объектов окружающей среды в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическую значимость различия средних величин оценивали по критерию Стьюдента (t).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных сборов иксодовых клещей на объектах открытой природы на обозначенных маршрутах отобрано 529 клещей, в том числе 350 (66,2%) имаго и 179 (33,8%) нимф (табл. 1). При этом нимфы попадались только на трех маршрутах из восьми.

Видовой и половой состав собранных клещей представлен в таблице 2. На основании полученных данных рассчитали индекс встречаемости: число проб, в которых обнаружены особи определенного вида, выраженное в процентах от общего числа исследованных проб.

Определено, что фауну эпидемически и эпизоотически значимых видов клещей в Белорусском Поозерье (Витебском районе), отвечающих за распространение клещевых инфекций и инвазий, составляют представители родов *Ixodes* и *Dermacentor*, что в целом не противоречит другим исследованиям. Так, для клещей рода *Ixodes* индекс встречаемости составил 70,1%, а для *Dermacentor* – всего лишь 29,9%.

Ixodes ricinus (европейский лесной, собачий, скотский клещ) относится к временным эктопаразитам с длительным питанием и пастбищно-подстерегающим типом нападения.

Взрослые клещи в голодном состоянии абсолютно плоские, имеют небольшой размер, всего 3–4 мм, а голодные нимфы – около 2 мм. Во время напивания размеры увеличиваются в разы, особенно у самок (в сотни раз), и форма приближается к яйцевидной. Тело взрослого паразита представляет собой кожистый мешок, более плотный на спине (щиток), глаза и крылья отсутствуют, но есть 4 пары ног. Щиток полностью покрывает тело самцов, а у самок занимает лишь переднюю треть. Самки крупнее самцов, красноватого цвета, который после напивания трансформируется в серый. Нимфы – светло-коричневые, после «еды» – бурые. Отличительной фенотипической особенностью *Ixodes ricinus* является прерывистая или нечеткая краевая борозда.

Все активные фазы жизненного цикла паразита (развитие яиц и линька) протекают в лесной подстилке.

Особенностью обитания *Ixodes ricinus* является приверженность к изреженным вырубкам и молодым

¹ Филиппова Н. А. Фауна СССР. Новая серия, № 114. Паукообразные. Т. 4. Вып. 4. Иксодовые клещи подсемейства *Ixodinae*. Л.: Наука; 1977. 396 с.

² МУ 3.1.3012-12 Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2012. 55 с.

³ Домонова Э. А., Творогова М. Г., Подколзин А. Т., Шипулина О. Ю., Карань Л. С., Яцышина С. Б. и др. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации. М: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии; 2021. 112 с.

⁴ Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций: методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2002. 55 с.

мелколиственным лесам (береза, осина, ольха), где имеются поляны с высоким травостоем, а почва покрыта толстым слоем листвы. Также клещи любят селиться в зарослях ивы, образующихся вдоль мелиорационных канав, тянущихся между полями.

Ixodes ricinus является переносчиком европейского генотипа вируса клещевого энцефалита, менее патогенного для человека, боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (иксодовые клещевые боррелиозы, или болезнь Лайма), *Anaplasma phagocytophilum* (гранулоцитарный анаплазмоз), *Babesia* spp. (пироплазмоз собак, бабезиоз скота) [16].

Dermacentor reticulatus (луговой клещ) может населять открытые пространства лиственных и смешанных лесов – лесные поляны, опушки леса, но предпочитает луга и пастбища с густым высоким травостоем, способен переносить затопление, обитает на заливных лугах, может встречаться на газонах, любит влажные места – овраги, дорожные канавы, родники. Таким образом, в местах выпаса скота могут создаваться очаги массового размножения паразита [17]. Отличается высокой холодостойкостью. Активность луговых клещей начинается практически на месяц раньше, чем лесных, – в апреле – мае.

Клещи рода *Dermacentor* имеют особенности: все фазы жизненного цикла паразита проходят в течение одного года, а голодные имаго могут выдерживать две-три зимовки [18].

Характерными морфологическими признаками рода *Dermacentor* являются светлые эмалевые пигменты в виде пятен различной формы и размеров, лучше всего выраженных на спинном щитке и в меньшей мере – на ногах и хоботке. Форма эмалевых пятен и их количество весьма значительно варьируют. Самец имеет светлую окраску с темными отметинами. У самки подобную окраску имеет только щиток, а тело – темно-коричневое [19].

Луговой клещ является переносчиком вируса клещевого энцефалита, боррелиоза, бабезиоза (пироплазмоза), анаплазмоза, эрлихиоза, риккетсиоза, туляремии, листериоза, эризипелоида, Ку-лихорадки, клещевого сыпного тифа, омской геморрагической лихорадки [18, 19].

Все собранные особи были проверены на наличие генетического материала *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.), *Babesia* spp. и *Tick-borne encephalitis virus* при помощи ПЦР в режиме реального времени.

Установлено, что 120 (22,7%) из 529 паразитов являлись носителями определенных возбудителей инфекционных заболеваний животных и человека – клещи-носители, а 409 (77,3%) были условно «чистыми», так как спектр определяемых ДНК-маркеров был ограничен. При этом у наибольшего количества особей, 74 (61,7%) из 120, обнаружена ДНК *Borrelia* spp., у 31 (25,8%) – *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.) и у 30 (25,0%) – *Babesia* spp. (рис. 1).

Среди трансмиссивных природно-очаговых инфекций иксодовые клещевые боррелиозы являются одной из актуальных проблем здравоохранения многих стран, в том числе и Республики Беларусь, из-за постоянно растущей социальной, медицинской и экономической значимости [20, 21, 22]. В целом боррелиоз является выраженным трансмиссивно-клещевым заболеванием человека и животных. Например, по литературным данным [23], на территории России доля иксодовых

Таблица 1
Абсолютное количество иксодовых клещей в обследованных природных биотоценозах

Table 1
Absolute numbers of ixodid ticks in examined natural biocenoses

Территория обследования	Количество имаго, абс. единицы	Количество нимф, абс. единицы
Ботанический заказник «Туловский», а/г Тулово	31	–
Парк имени Советской Армии	32	–
Пляжная и окрестные территории детского оздоровительного лагеря «Буревестник», д. Зуи	11	–
Биологический заказник «Придвинье», д. Шевино	47	–
Дендропарк «Лужеснянский», д. Лужесно	78	–
Ботанический заказник «Чертова Борода»	26	39
Территория горнолыжной базы «Руба»	48	8
Лесной массив в окрестностях д. Сокольники	77	132

Таблица 2
Видовой и половой состав иксодовых клещей в обследованных природных биотоценозах, абс. единицы

Table 2
Species and sex composition of ixodid ticks in the examined natural biocenoses, absolute units

Территория обследования	<i>Dermacentor</i>			<i>Ixodes</i>		
	♀	♂	нимфы	♀	♂	нимфы
Ботанический заказник «Туловский», а/г Тулово	18	12	–	1	–	–
Парк имени Советской Армии	22	9	–	1	–	–
Пляжная и окрестные территории детского оздоровительного лагеря «Буревестник», д. Зуи	2	1	–	3	5	–
Биологический заказник «Придвинье», д. Шевино	23	20	–	2	2	–
Дендропарк «Лужеснянский», д. Лужесно	4	1	–	34	39	–
Ботанический заказник «Чертова Борода»	4	2	8	18	2	31
Территория горнолыжной базы «Руба»	5	3	2	32	8	6
Лесной массив в окрестностях д. Сокольники	4	8	10	56	9	122
Всего, n = 529	82	56	20	147	65	159

клещевых боррелиозов составляет около 30% от общего количества природно-очаговых инфекций и более 55% от инфекций, возбудителей которых передают иксодовые клещи. Как показывают результаты других исследований, спонтанная бактериофорность (инфицированность клещей боррелиями) иксодовых клещей в природных очагах может достигать 70 и даже 90% [24].

Природные очаги иксодовых клещевых боррелиозов напрямую зависят от природных ландшафтов: особенно их много в смешанных лесах умеренно влажного климатического пояса, что абсолютно соответствует Витебскому району. Резервуаром и переносчиком

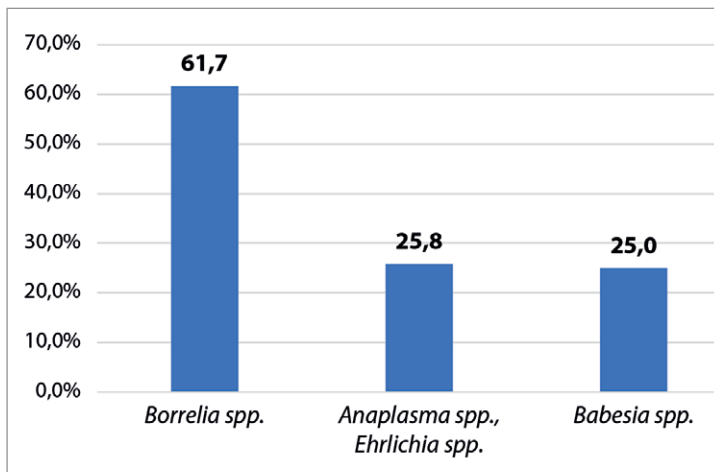


Рис. 1. Результаты выявления ДНК возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций в иксодовых клещах-носителях

Fig. 1. Detection of tick-borne pathogen DNAs in ixodid ticks-carriers

боррелий служат многие виды инфицированных диких и домашних позвоночных животных (грызуны, олени, лоси, козы, коровы, собаки, лошади и др.), а также птицы, распространяющие зараженных иксодовых клещей на большие расстояния при миграционных перелетах.

По данным сотрудников группы арбовирусных инфекций Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии), отслеживающих динамику циркуляции возбудителей трансмиссивных инфекций на территории Республики Беларусь, на протяжении последнего десятилетия отмечается рост бактериофорности клещей в открытой природе в среднем по республике с 12,4 до 19,1%.

Анаплазмы являются возбудителями трансмиссивного сезонного заболевания крупного рогатого скота и человека.

До недавнего времени анаплазмы были известны только как возбудители заболеваний животных, а анаплазмозы были сферой интересов ветеринарной медицины, но на сегодняшний день доказано, что люди также подвержены инфекции [25]. А метод ПЦР-амплификации позволил внести существенные поправки в таксономию анаплазм, что значительно облегчает диагностику заболевания.

Источником инвазии служат больные животные и анаплазмозители. Передачу возбудителя осуществляют 11 видов иксодовых и один вид аргасовых клещей и насекомые. Кроме крупного рогатого скота к *Anaplasma marginale* восприимчивы северные олени, зебу, буйволы, лоси, косули и антилопы [26].

Анаплазмоз распространен практически повсеместно. Заболевание, как правило, регистрируют весной, летом и осенью. Однако при плохих условиях содержания и кормления, а также из-за нарушения правил асептики и антисептики при проведении ветеринарно-зоотехнических манипуляций (забор крови одной иглой, биркование и др.) возможны случаи заболевания животных и зимой. Очень часто анаплазмоз протекает в виде смешанной инвазии с пироплазмидозами [27].

В Российской Федерации, согласно ветеринарной отчетности, неблагополучными по анаплазмозу являются граничащие с территорией Республики Беларусь

Брянская, Псковская области, а также Рязанская, Калининградская, Владимирская и другие регионы [5, 11]. Массовое заражение и болезнь скота приводят к падежу, снижению роста молодняка и уменьшению молочной продуктивности коров, неэффективному использованию кормов, увеличению затрат на дорогостоящее лечение, проведение обширных исследовательских работ и мероприятий по борьбе с заболеванием. Все это причиняет огромный экономический ущерб.

Эрлихиоз, так же как и анаплазмоз, относится к риккетсиозным клещевым трансмиссивным инфекциям. Болеют эрлихиозом и животные (собаки, кошки, дикие животные семейств псовых, кошачьих и др.), и человек. Особенностью данных клещевых риккетсиозов является различный тропизм к клеткам крови. Так, *Anaplasma* поражает лейкоцитарные гранулоциты (в основном нейтрофилы), а *Ehrlichia* обладает тропизмом к моноцитам, что и дало название передаваемым ими болезням (гранулоцитарный анаплазмоз человека, моноцитарный эрлихиоз человека). И анаплазмоз, и эрлихиоз являются новыми для Республики Беларусь инфекциями и требуют более детального изучения. По результатам научных исследований, опубликованным РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, среди 64 пациентов с клещевыми инфекциями удельный вес гранулоцитарного анаплазмоза человека составлял 23,4%, а случаи заболеваемости людей моноцитарным эрлихиозом носили спорадический характер [1].

Бабезиоз (пироплазмоз) – природно-очаговое кровепаразитарное трансмиссивное заболевание, передающееся иксодовыми клещами, вызываемое простейшими микроорганизмами рода *Babesia* [28]. Основными переносчиками инфекции и главными хозяевами паразита являются иксодовые клещи из родов *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Ixodes ricinus*, *Hemaphysalis leachi*, а также аргасовые клещи [29]. В основном болеют крупный рогатый скот и представители семейства псовых. У человека заболевание вызывают три вида бабезий: в Америке – *Babesia microti*, в Европе – *Babesia divergens* и *Babesia rothhaini*. В литературе описано более 100 случаев бабезиоза у человека, в основном с летальным исходом [30].

Западный клещевой энцефалит относится к арбовирусным заболеваниям, в жизненном цикле возбудителя которого обязательно присутствует клещ *Ixodes ricinus* в качестве участника циркуляции и резервуара вируса в природе. В Беларуси клещевой энцефалит начал изучаться с начала 40-х годов прошлого столетия, когда на территории Беловежской Пуши были выявлены его природные очаги, а из клещей *Ixodes ricinus* выделен вирус [12].

По данным сотрудников РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, на протяжении последнего десятилетия в Республике Беларусь отмечается медленный, с периодами стабилизации, но неуклонный рост количества зараженных *Tick-borne encephalitis virus* клещей *Ixodes ricinus* [20].

Обращает на себя внимание тот факт, что ни один из собранных нами паразитов не имел генетических маркеров *Tick-borne encephalitis virus*. В то же время считается, что клещевой энцефалит продолжает оставаться приоритетной клещевой инфекцией для региона Полесья, где, как и в целом по республике, в последние годы отмечается постоянный рост численности иксодовых клещей в природных биотопах,

повышение уровня их естественной зараженности возбудителями различной природы, расширение ареалов распространения инфицированных переносчиков [12].

В литературе описано довольно много случаев микст-инфекции у иксодид (от 18 до 32%) [1, 2, 4, 10, 15], но в нашем исследовании сочетанное инфицирование выявлено только у 13 из 120 клещей (рис. 2). При этом более двух возбудителей обнаружено лишь в двух пробах.

Факт выявления в организме одного клеща нескольких патогенных возбудителей переводит клещевые микст-инфекции в ранг важной и приоритетной для Республики Беларусь проблемы и диктует необходимость ее всестороннего изучения.

При проведении исследования установили, что наибольшее число инфицированных клещей собрано на территории ботанического заказника «Чертова Борода» (38,5%), наименьшее – на пляже и в окрестностях детского оздоровительного лагеря «Буревестник», д. Зуи (9,1% при $p = 0,00015$). На остальных объектах открытой природы количество зараженных паразитов было примерно одинаковым и находилось в интервале от 15,6 до 21,5% (рис. 3).

Результаты определения наличия ДНК возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций в иксодовых клещах-носителях на территории ботанического заказ-



Рис. 2. Микст-инфицированность обследованных клещей

Fig. 2. Mixed infections in examined ticks

ника «Чертова Борода», а также на пляже и в окрестностях детского оздоровительного лагеря «Буревестник» (д. Зуи) представлены на рисунке 4.

Выявленные различия в показателях численности иксодовых клещей и встречаемости в них генетических маркеров возбудителей клещевых инфекций имеют определенную связь с экологическими особенностями изучаемых территорий.

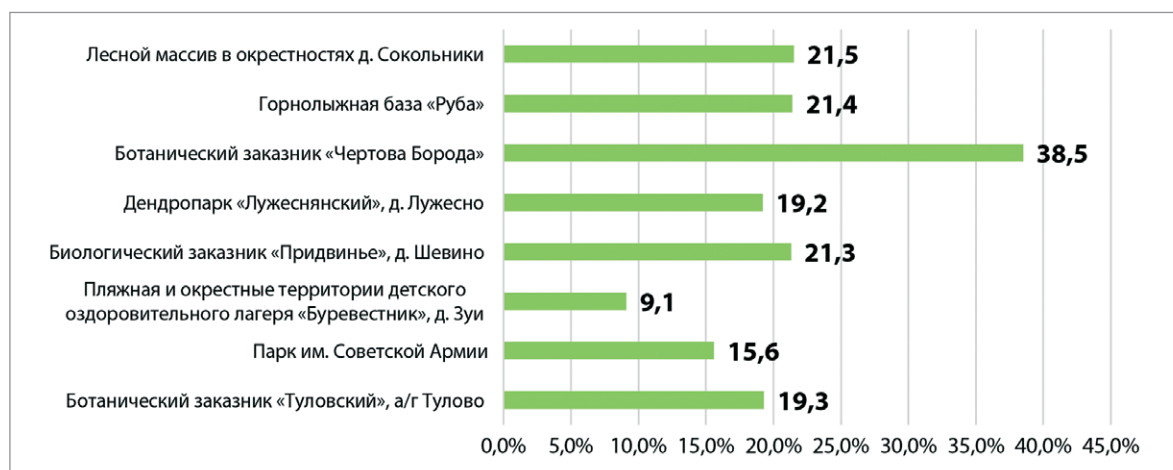


Рис. 3. Общая зараженность иксодовых клещей на обследованных территориях

Fig. 3. Proportion of infected ticks in the examined territories



Рис. 4. Результаты выявления ДНК возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций в иксодовых клещах-носителях на территории ботанического заказника «Чертова Борода» и на пляже и в окрестностях детского оздоровительного лагеря «Буревестник» (д. Зуи)

Fig. 4. Results of tests for detection of tick-borne pathogen DNAs in ixodid ticks-carriers in the "Chertova Boroda" botanic reserve as well as on the beach of "Burevestnik" children's health camp and in the territories adjacent to it (s. Zui)

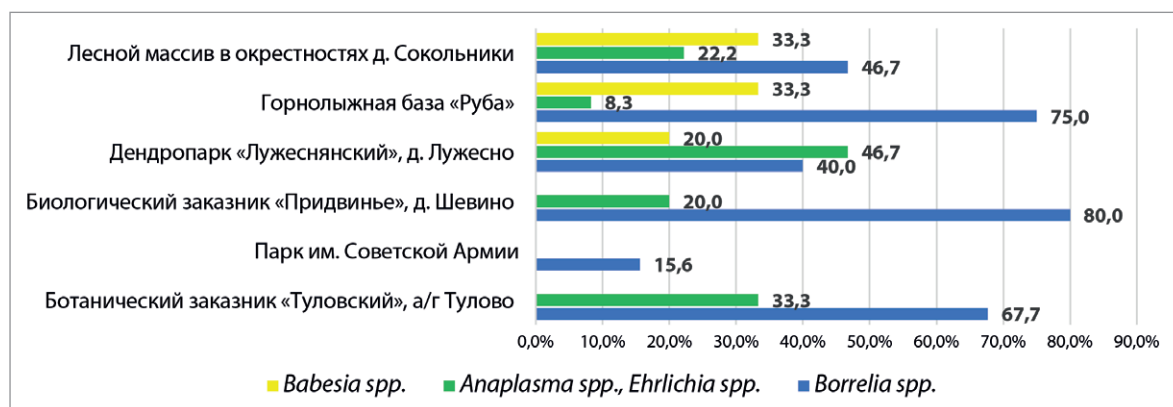


Рис. 5. Результаты выявления ДНК возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций в иксодовых клещах-носителях на шести других обследованных территориях

Fig. 5. Detection of tick-borne pathogen DNAs in ixodid ticks-carriers in other six examined territories

Ботанический заказник «Чертова Борода» является природным заказником местного значения, располагается в урочище Чертова Борода на юго-западе Витебска, к западу от микрорайона Орехово, на правом берегу Западной Двины. Рельеф холмистый, прерывающийся влажными ложбинами, с характерным смешанно-лесным ландшафтом, со множеством кустарниковых зарослей и травяного сухостоя. Территория идеально подходит для стационарного ареала иксодовых клещей.

Маршрут, пролегающий по территории, относящейся к детскому оздоровительному лагерю «Буревестник», находился в смешанном лесу, в д. Зуи Витебского района, в 6 км от Витебска. Ландшафт преимущественно смешанно-лесной, с лугами ближе к северо-восточной части лагеря и берегу р. Лучосы. Малое количество клещей можно объяснить регулярным проведением на прилегающих к лагерю территориях мероприятий по уничтожению эктопаразитов и их личинок.

Результаты определения ДНК возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций в иксодовых клещах-носителях на шести других обследованных территориях представлены на рисунке 5.

Установлено, что на обследованных территориях спектр возбудителей трансмиссивных инфекций, переносимых иксодовыми клещами, имел различия.

Так, на территории парка имени Советской Армии в клещах-носителях была выявлена только ДНК *Borrelia* spp.; на растительности биологического заказника «Придвинье» (д. Шевино) и ботанического заказника «Туловский» (а/г Тулово) – только ДНК *Borrelia* spp. и *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.). А на маршрутах дендропарка «Лужеснянский» (д. Лужесно), территории горнолыжной базы «Руба» и лесного массива в окрестностях д. Сокольники в клещах-носителях обнаружили генетический материал и *Borrelia* spp., и *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.), и *Babesia* spp.

Важно отметить, что на всех маршрутах в клещах-носителях чаще всего выявляли *Borrelia* spp. (от 15,6 до 80% бактериофорности). Таким образом, клещевые боррелиозы являются лидирующей трансмиссивной инфекцией на территории Белорусского Поозерья.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в Белорусском Поозерье фауна эпидемически и эпизоотически значимых видов клещей, отвечающих за распространение трансмиссивных

инфекций и инвазий, представлена клещами родов *Ixodes* и *Dermacentor*, индекс встречаемости составил 70,1 и 29,9% соответственно.

Показано, что 22,7% иксодовых клещей на территориях Белорусского Поозерья являются потенциальными носителями возбудителей таких инфекционных заболеваний животных и человека, как клещевой боррелиоз, анаплазмоз (эрлихиоз) и бабезиоз.

При проведении исследовании ни в одной из проб не обнаружили генетический материал вируса клещевого энцефалита.

Определили, что спектр возбудителей инфекционных заболеваний, передаваемых иксодовыми клещами, на территории Белорусского Поозерья (Витебского района) представлен в 61,7% случаев *Borrelia* spp., в 25,8% – *Anaplasma* spp. (*Ehrlichia* spp.) и в 25% – *Babesia* spp. При этом микст-инфицированность переносчиков составила 10,8%.

Выявлена определенная связь показателей численности иксодовых клещей и встречаемости в них генетических маркеров возбудителей клещевых инфекций с экологическими особенностями изучаемых территорий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Мишаева Н. П., Дракина С. А., Стегний В. А. Мультизараженность иксодовых клещей возбудителями вирусно-бактериальных инфекций в Республике Беларусь. *Национальные приоритеты России*. 2011; 2 (5): 43–44. EDN: XQXLUL
- Ястребов В. К., Рудаков Н. В., Шпынов С. Н. Трансмиссивные клещевые природно-очаговые инфекции в Российской Федерации: тенденции эпидемического процесса, актуальные вопросы профилактики. *Сибирский медицинский журнал*. 2012; 111 (4): 91–93. EDN: OZHWNX
- Medlock J. M., Leach S. A. Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *Lancet Infectious Diseases*. 2015; 15 (6): 721–730. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70091-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70091-5)
- Dantas-Torres F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2015; 4 (3): 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.07.001>
- Лубова В. А., Леонова Г. Н., Шутикова А. Л. Роль иксодовых клещей в циркуляции возбудителей клещевых инфекций на юге Дальнего Востока. *Экология человека*. 2020; 27 (2): 58–64. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2020-2-58-64>
- Стасюкевич С. И., Патафеев В. А., Столярова Ю. А., Кузнецова Д. С. Анализ и обзор состояния мер борьбы с паразитическими членистоногими Республики Беларусь. *Российский паразитологический журнал*. 2018; 12 (3): 92–96. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-3-92-96>
- Korenberg E. I. Problems in the study and prophylaxis of mixed infections transmitted by ixodid ticks. *International Journal of Medical*

Microbiology Supplements. 2004; 293 (37): 80–85. [https://doi.org/10.1016/s1433-1128\(04\)80012-3](https://doi.org/10.1016/s1433-1128(04)80012-3)

8. Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Козлов С. С. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). СПб.: Фолиант; 2000. 155 с.

9. Трофимов Н. П., Счесленок Е. П., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Постик Д., Барантон Г. Генотипирование штаммов *Borrelia burgdorferi sensu lato*, выделенных в Беларуси от клещей *Ixodes ricinus*. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1998; (4): 21–22.

10. Мишаева Н. П., Протас И. И., Игнатев Г. М., Верещак Н. С., Дракина С. А., Володкович О. И. и др. Зараженность иксодовых клещей патогенными для человека возбудителями инфекций в Минске. *Здоровье охранение*. 2011; 1: 26–29. EDN: RDYRWL

11. Рудакowa С. А., Теслова О. Е., Канешова Н. Е., Штрек С. В., Якименко В. В., Пеневская Н. А. Генотиповое разнообразие боррелий в иксодовых клещах на территории юга Западной Сибири. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (4): 92–96. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-92-96>

12. Самойлова Т. И., Цвирко Л. С., Сеньковец Т. А., Логинов Д. Н. Зараженность иксодовых клещей (*Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*) вирусом клещевого энцефалита в Белорусском Полесье. *Вестник Палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук*. 2014; 1: 23–27. EDN: TVQCNN

13. Марцинкевич Г. И., Клицунова Н. К., Хараничева Г. Т., Якушко О. Ф., Логинова Л. В. Ландшафты Белоруссии. Минск: Университетское; 1989. 239 с.

14. Андриевская А. С. Глава 1. История изучения и природные условия Белорусского Поозерья. <https://geoekoproekt.by/stories/glava-1-istoriya-izucheniya-i-prirodnye-usloviya-belorusskogo-poozerya-andrievskaya-data-obrasheniya:20.11.2023>.

15. Астапов А. Клещевые инфекции в Беларуси: эпидемиология, клиника, лечение и профилактика. <https://www.bsmu.by/universitet/universitet-v-smi/kleshchevye-infektsii-v-belarusi-epidemiologiya-klinika-lechenie-i-profilaktika/?ysclid=lrk9p8iehe329786699> (дата обращения: 05.11.2023).

16. Беспятова Л. А., Бугмырин С. В. Иксодовые клещи Карелии (распространение, экология, клещевые инфекции): учебно-методическое пособие. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН; 2012. 100 с. EDN: QKUVXJ

17. Береснев В. В., Ефимик В. Е. Особенности экологии клещей *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 в Пермском крае. *Вестник Пермского университета*. Серия: Биология. 2022; 3: 204–211. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2022-3-204-211>

18. Козлова Т. В., Игнаткова А. С., Дорофеев Э. М., Попов В. П., Орлов Д. С. Распространение, численность и эпизоотологическое значение клеща *Dermacentor reticulatus* на территории Тульской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (4): 20–24. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-4-20-24>

19. Волков С. А., Бессолицына Е. А., Столбова Ф. С., Дармов И. В. Анализ инфицированности клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus* возбудителями трансмиссивных заболеваний на территории Кировской области. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (2): 173–178. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-173-178>

20. Островский А. М. Иксодовые клещи – переносчики возбудителей трансмиссивных инфекций в Беларуси. *Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии*. 2017; 26 (4): 16–36. <https://cyberleninka.ru/article/n/iksodovye-kleschi-perenoschiki-vozbuditeliev-transmissivnyh-infektsiy-v-belarusi> (дата обращения: 05.11.2023).

21. Ониценко Г. Г. Распространение вирусных природно-очаговых инфекций в Российской Федерации и меры по их профилактике. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2000; 4: 4–8.

22. Bush L. M., Vazquez-Pertejo M. T. Tick borne illness – Lyme disease. *Disease-a-Month*. 2018; 64 (5): 195–212. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2018.01.007>

23. Шестопалов Н. В., Шашина Н. И., Германт О. М., Олехнович Е. И., Паккина Н. Д., Морозова Н. С. и др. Информационно-методическое письмо «Заболеемость природно-очаговыми клещевыми инфекциями в Российской Федерации и неспецифическая профилактика клещевого вирусного энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов, Крымской геморрагической лихорадки и других инфекций, возбудителей которых передают иксодовые клещи (по состоянию на 01.01.2016 г.)». *Дезинфекционное дело*. 2016; 1 (95): 57–61. EDN: VPICGH

24. Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Ющук Н. Д., Бургасова О. А., Кареткина Г. Н. Иксодовые клещевые боррелиозы (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика). М.: ВУНМЦ Росздрава; 2007. 46 с.

25. Горбатов А. В., Чулкина И. А. Современная таксономия анаплазмоза животных. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: сборник научных статей по материалам конференции (18–20 мая 2022 г., Москва)*. 2022; 23: 142–148. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.142-148>

26. Гулякин М. И., Заблочкий В. Т., Белименко В. В., Христиановский П. И., Саруханян А. Р. Кровепаразитарные болезни домашних животных: атлас. М.: ЗооВетКнига; 2013. 86 с.

27. Казаков Н. А., Георгиу Х., Мутузкина З. П., Заблочкий В. Т. О природной очаговости анаплазмоза крупного рогатого скота. *Биолого-экологические проблемы заразных болезней диких животных и их роль в патологии сельскохозяйственных животных и людей: международная научно-практическая конференция (Покров, 16–18 апреля 2002 г.)*. Покров; 2002; 276–277. EDN: TEPNXZ

28. Ятусевич А. И., Хомченко Н. Г. Некоторые вопросы экологии и биологии иксодовых клещей в северо-восточной части Витебской области. *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2019; 2 (11): 116–119. EDN: YFHBVA

29. Ятусевич А. И., Каплич В. М., Ятусевич И. А., Скуловец М. В., Герасимчик В. А., Стасюкевич С. И. и др. Анаплазмозные болезни животных: монография. Витебск: ВГАВМ; 2019. 304 с.

30. Малов В. А., Токмалаев А. К., Еровиченков А. А., Цветкова Н. А., Садыкова В. Д., Сметанина С. В. и др. Бабезиоз человека. *Терапевтический архив*. 2013; 85 (11): 62–66. EDN: RTKZET

REFERENCE

1. Mishaeva N. P., Drakina S. A., Stegny V. A. Mul'tizarazhennost' ikso-dovykh kleshchei vozbuditelyami virusno-bakterial'nykh infektsii v Respublike Belarus' = Multi-infection of ixodid ticks with pathogens of viral and bacterial infections in the Republic of Belarus. *National priorities of Russia*. 2011; 2 (5): 43–44. EDN: XQXLUL (in Russ.)

2. Yastrebov V. K., Rudakov N. V., Shpynov S. N. Transmissible tick-borne natural focal infections in the Russian Federation: trends of the epidemiological process, actual prophylaxis problems. *Siberian Medical Journal*. 2012; 111 (4): 91–93. EDN: OZHWXN (in Russ.)

3. Medlock J. M., Leach S. A. Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *Lancet Infectious Diseases*. 2015; 15 (6): 721–730. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70091-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70091-5)

4. Dantas-Torres F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2015; 4 (3): 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.07.001>

5. Lubova V. A., Leonova G. N., Shutikova A. L. Role of ixodid ticks in circulation of tick-borne infections in the south of the Far East. *Ekologiya Cheloveka (Human Ecology)*. 2020; 27 (2): 58–64. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2020-2-58-64> (in Russ.)

6. Stasiukevich S. I., Patafeev V. A., Stolarova Yu. A., Kuznetsova D. S. Analysis and review of situation with control measures against parasitic arthropods of the Republic of Belarus. *Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (3): 92–96. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-3-92-96> (in Russ.)

7. Korenberg E. I. Problems in the study and prophylaxis of mixed infections transmitted by ixodid ticks. *International Journal of Medical Microbiology Supplements*. 2004; 293 (37): 80–85. [https://doi.org/10.1016/s1433-1128\(04\)80012-3](https://doi.org/10.1016/s1433-1128(04)80012-3)

8. Lobzin Yu. V., Uskov A. N., Kozlov S. S. Lyme borreliosis (ixodid ticks-borne borreliosis). Saint Petersburg: Foliant; 2000. 155 p. (in Russ.)

9. Trofimov N. M., Scheslenok E. P., Korenberg E. I., Gorelova N. B., Postic D., Baranton G. The genotyping of strains of *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolated in Byelarus from *Ixodes ricinus* ticks. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 1998; (4): 21–22. PMID: 10050547 (in Russ.)

10. Mishaeva N. P., Protas I. I., Ignatiev G. M., Vereshchako N. S., Drakina S. A., Volodkovich O. I., et al. Contamination of ixodidododea with pathogenic for humans agents causing infections in Minsk. *Healthcare*. 2011; 1: 26–29. EDN: RDYRWL (in Russ.)

11. Rudakova S. A., Teslova O. E., Kaneshova N. E., Shtrek S. V., Yakimenko V. V., Penyevskaya N. A. Genospecies diversity of *Borrelia* in *Ixodes* ticks of the West Siberia. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019; (4): 92–96. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-92-96> (in Russ.)

12. Samoilova T. I., Tsvirko L. S., Sencovets T. A., Loginov D. N. Investigation of ixodoidea ticks (*Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*) infectiousness by tick-borne encephalitis virus in Belarussian Polesseye. *Bulletin of Polesky State University. Series in Natural Sciences*. 2014; 1: 23–27. EDN: TVQCNN (in Russ.)

13. Martsinkevich G. I., Klitsounova N. K., Kharanicheva G. T., Yakushko O. F., Loginova L. V. Landscapes of Byelorussia. Minsk: Universitetskoe; 1989. 239 p. (in Russ.)

14. Andrievskaya A. S. Glava 1. Istoriya izucheniya i prirodnye usloviya Belorusskogo Poozerya = Chapter 1. History of the Belarussian Lakeland investigation and it natural conditions. <https://geoekoproekt.by/stories/glava-1-istoriya-izucheniya-i-prirodnye-usloviya-belorusskogo-poozerya-andrievskaya> (date of access: 20.11.2023). (in Russ.)

15. Astopov A. Kleshchevye infektsii v Belarusi: epidemiologiya, klinika, lechenie i profilaktika = Tick-borne infections in Belarus: epidemiology, clinical picture, treatment and prevention. <https://www.bsmu.by/universitet/>

universitet-v-smi/kleshchevye-infektsii-v-belarusi-epidemiologiya-klinika-lechenie-i-profilaktika/?ysclid=lrk9p8iexe329786699 (date of access: 05.11.2023). (in Russ.)

16. Bespyatova L. A., Bugmyrin S. V. Ixodid ticks of Karelia (expansion, ecology, the main tick-borne infect): study manual. Petrozavodsk: Karelian Research Centre of RAS; 2012. 100 p. EDN: QKUVXJ (in Russ.)

17. Beresnev V. V., Efimik V. E. Features of the ecology of ticks *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 in Perm Krai. *Bulletin of Perm University. Biology*. 2022; 3: 204–211. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2022-3-204-211> (in Russ.)

18. Kozlova T. V., Ignat'kova A. S., Dorofeev E. M., Popov V. P., Orlov D. S. Dissemination, abundance rates and epizootiological significance of the tick *Dermacentor reticulatus* in the territory of the Tula Region. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; (4): 20–24. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-4-20-24> (in Russ.)

19. Volkov S. A., Bessolysina E. A., Stolbova F. S., Darmov I. V. Analysis of ticks of *Ixodes persulcatus* and *Dermacentor reticulatus* species with transmissible diseases in Kirov Region. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016; 6 (2): 173–178. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-173-178> (in Russ.)

20. Ostrovsky A. M. Ixodes ticks are vectors of pathogens transmissible infections in Belarus. *Samarskaya Luka: problems of regional and global ecology*. 2017; 26 (4): 16–36. <https://cyberleninka.ru/article/n/ixodovye-kleshchi-perenoschiki-vzbuditeley-transmissivnyh-infektsiy-v-belarusi> (date of access: 05.11.2023). (in Russ.)

21. Onishchenko G. G. Rasprostranenie virusnykh prirodno-ochagovykh infektsii v Rossiiskoi Federatsii i mery po ikh profilaktike = Natural focal viral infection occurrence in the Russian Federation and measures for their prevention. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2000; 4: 4–8. (in Russ.)

22. Bush L. M., Vazquez-Pertejo M. T. Tick borne illness – Lyme disease. *Disease-a-Month*. 2018; 64 (5): 195–212. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2018.01.007>

23. Shestopalov N. V., Shashina N. I., Germant O. M., Olekhovich E. I., Paksina N. D., Morozova N. S., et al. The information and methodical letter "Incidence of natural and focal tick-borne infections in the Russian Federation and nonspecific preventive measures of tick-borne viral encephalitis,

ixodic tick-borne borreliosis, crimean-congo hemorrhagic fever and different infections, which agents are passed by ixodic ticks (according to 01.01.2016)". *Disinfection Affairs*. 2016; 1 (95): 57–61. EDN: VPICGH (in Russ.)

24. Lobzin Yu. V., Uskov A. N., Yushchuk N. D., Burgasova O. A., Karetkina G. N. Lyme's borreliosis (aetiology, epidemiology, clinical symptoms, diagnosis, treatment and prevention). Moscow: ARTSMC Roszdrav; 2007. 46 p. EDN: TBLNHX (in Russ.)

25. Gorbato V. A., Chulkin A. I. Current taxonomy of animal anaplasmosis. *Theory and Practice of Parasitic Disease Control: Collection of Scientific Articles adapted from the International Scientific Conference (18–20 May 2022, Moscow)*. 2022; 23: 142–147. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.142-148> (in Russ.)

26. Gulyukin M. I., Zablotsky V. T., Belimenko V. V., Khristianovsky P. I., Sarukhanyan A. R. Blood protozoan diseases of domestic animals: Atlas. Moscow: ZooVetKniga; 2013. 86 p. (in Russ.)

27. Kazakov N. A., Georgiou Kh., Mutuzkina Z. P., Zablotsky V. T. O prirodnoi ochagovosti anaplazmoza krupnogo rogatogo skota = About bovine anaplasmosis nidality. *Biologo-ekologicheskie problemy zarazykh boleznei dikikh zhivotnykh i ikh rol' v patologii sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh i lyudei: mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya (Pokrov, 16–18 aprelya 2002 g.) = Biological and ecological aspects of contagious wild animal diseases and their role in livestock animal and human pathology: International Scientific and Practical Conference (Pokrov, 16–18 April, 2002)*. Pokrov; 2002; 276–277. EDN: TEPNXZ (in Russ.)

28. Yatushevich A. I., Khomchenko N. G. Some questions of ecology and biology of ixodic mites in the north-east part of Vitebsk region. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi*. 2019; 2 (11): 116–119. EDN: YFHBVA (in Russ.)

29. Yatushevich A. I., Kaplich V. M., Yatushevich I. A., Skulovets M. V., Gerasimchik V. A., Gerasimchik V. A., et al. Arachnoentomous diseases of animals. Vitebsk: VSAMV; 2019. 304 p. (in Russ.)

30. Malov V. A., Tokmalaev A. K., Eroichenkov A. A., Tsvetkova N. A., Sadykova V. D., Smetanina S. V., et al. Human babesiasis. *Terapevticheskie arkhiv*. 2013; 85 (11): 62–66. EDN: RTKZET (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 11.12.2023

Поступила после рецензирования / Revised 15.01.2024

Принята к публикации / Accepted 31.01.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Осмоловский Александр Александрович, магистр вет. наук, аспирант кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «ВГАВМ», г. Витебск, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-6829-1639>, e-mail: alexandr-osmolovsky1997@yandex.by

Субботина Ирина Анатольевна, канд. вет. наук, доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «ВГАВМ», г. Витебск, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0000-0001-8346-2988>, e-mail: irin150680@mail.ru

Alexandr A. Osmolovsky, Master of Sci. (Veterinary Medicine), Postgraduate Student, Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-6829-1639>, e-mail: alexandr-osmolovsky1997@yandex.by

Iryna A. Subotsina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0000-0001-8346-2988>, e-mail: irin150680@mail.ru

Вклад авторов: Осмоловский А. А. – разработка концепции исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста статьи; Субботина И. А. – общее руководство и разработка концепции исследования, постановка задачи и контроль за выполнением эксперимента.

Contribution: Osmolovsky A. A. – development of the study design, conducting experiments, data collection, analysis and interpretation, preparation of the paper text; Subotsina I. A. – overall guidance and study conceptualization, formulation of goals and control over the experiment implementation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-87-94>
УДК 619:578.824.11:57.082.26

Исследование методом проточной цитометрии динамики трансформации ДНК в культуре клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства

М. Н. Гусева, М. И. Доронин, М. А. Шевченко, Д. В. Михалишин, А. В. Борисов, Ю. С. Елькина, Т. В. Оковытая, В. М. Захаров, В. В. Михалишин
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Исследование посвящено изучению динамики трансформации ДНК клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции в них вируса бешенства. Инфицированные возбудителем и контрольные интактные клетки культивировались в аналогичных условиях. При выявлении зависимости инфекционности вируса от времени репродукции установили, что титр его инфекционной активности увеличивался от $(3,2 \pm 0,2)$ Ig ККИД₅₀/см³ при инокуляции до $(7,63 \pm 0,3)$ Ig ККИД₅₀/см³ через 48 ч репродукции, но более интенсивно он возрастал в первые 24 ч. Концентрация клеток при этом изменилась с 0,5 до 1,9 млн/см³, то есть выросла в 3,8 раза. Спустя 24 ч кратность прироста клеток замедлялась. В процессе изучения фаз клеточного цикла при репродукции в клетке-хозяине вируса бешенства получены результаты, позволяющие оценить продолжительность и доминирование фаз G1, S, G2 + M на разных этапах культивирования. Динамика изменений популяции клеток, находящихся в апоптозе, в контроле и опыте была одинаковой в течение 36 ч культивирования. По прошествии данного времени инфицированных клеток в стадии апоптоза было на 28–42% больше по сравнению с таковыми в контроле. Доля клеток, находящихся в стадии фазы G1, через 9 ч в опытных образцах увеличилась на 11,7%, в контрольных, наоборот, уменьшилась на 16,6%. В дальнейшем количество клеток в G1-фазе и в контроле, и в опыте изменялось одинаково: через 15–18 ч наблюдали уменьшение на 40%, далее – ростовой скачок на 45–46%, потом опять снижение на 39–40%, затем вновь увеличение. После 33 ч репродукции и до окончания культивирования доля инфицированных клеток, находящихся в фазе G1, была значительно больше (на 12–21%), чем контрольных. Количество клеток в фазе S в опыте и контроле в первые сутки репродукции вируса было одинаковым, при этом наблюдали резкое скачкообразное увеличение через 15 и 24 ч в 3,4 и 2,4 раза соответственно. Через 24 ч между инфицированными и контрольными клетками начали проявляться различия, которые постепенно возрастали с 8 до 137% к окончанию репродукции. В фазе G2 + M через 30 ч репродукции количество клеток опытных образцов начинало уменьшаться на 17–28% по сравнению с контрольными. Перестройка клетки на синтез полных частиц вируса бешенства наступала через 24 ч репродукции. Об этом говорят изменения в фазах клеточного цикла клетки-хозяина и замедление прироста самой популяции клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH.

Ключевые слова: проточная цитометрия, фазы клеточного цикла, суспензия клеток ВНК-21, вирус бешенства

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

Для цитирования: Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Борисов А. В., Елькина Ю. С., Оковытая Т. В., Захаров В. М., Михалишин В. В. Исследование методом проточной цитометрии динамики трансформации ДНК в культуре клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 87–94. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-87-94>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гусева Марина Николаевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

Flow cytometry study of DNA transformation dynamics in ВНК-21/SUSP/ARRIAH cell culture during rabies virus reproduction

Marina N. Guseva, Maksim I. Doronin, Maxim A. Shevchenko, Dmitry V. Mikhilishin, Alexey V. Borisov,
Yulia S. El'kina, Tatyana V. Okovytaya, Valery M. Zakharov, Valery V. Mikhilishin
Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

The study examines the DNA transformation dynamics of ВНК-21/SUSP/ARRIAH subline cells during rabies virus reproduction. Cells infected with the virus and control intact cells were cultivated under similar conditions. The identification of dependence of the virus infectivity on reproduction time revealed that the virus infectivity titre increased from (3.2 ± 0.2) Ig CCID₅₀/cm³ at the time of inoculation to (7.63 ± 0.3) Ig CCID₅₀/cm³ after 48 hours of reproduction, with the most

© Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Борисов А. В., Елькина Ю. С., Оковытая Т. В., Захаров В. М., Михалишин В. В., 2024
© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

intensive increase having been observed within the first 24 hours. The cell concentration changed from 0.5 to 1.9 million/cm³, i.e. increased by a factor of 3.8. After 24 hours, the cell growth rate slowed down. Findings from the examination of cell cycle phases during rabies virus reproduction in the host cell allowed for the estimation of duration and predominance of G1, S, G2 + M phases at different stages of cultivation. The dynamics of changes in the apoptotic cell population in the control and test samples was similar within 36 hours of cultivation. After the said period, the proportion of apoptotic infected cells was 28–42% higher than that of apoptotic control cells. After 9 hours, the proportion of cells undergoing G1 phase increased by 11.7% in the test samples, whereas it decreased by 16.6% in the control samples. Subsequently, the number of G1 phase cells in the control and test samples changed in the same way: a 40% decrease was observed after 15–18 hours, it was followed by a 45–46% growth jump, then again a 39–40% decrease and an increase were observed. After 33 hours of reproduction and till the end of cultivation, the proportion of infected cells undergoing G1 phase was significantly higher (by 12–21%) as compared with control cells. The percentage of S phase cells in the test and control samples was the same during the first day of the virus reproduction, with sharp jump-like 3.4- and 2.4-fold increases having been observed after 15 and 24 hours, respectively. After 24 hours, the infected and control cells began to demonstrate differences, which gradually increased from 8 to 137% by the end of reproduction. After 30 hours of reproduction, the proportion of test sample cells undergoing G2 + M phase began to decrease by 17–28% as compared with the control cells. The cell switch-over to the synthesis of complete rabies virus particles occurred after 24 hours of reproduction. This is indicated by changes in the host cell cycle phases, as well as by the slowing down of BHK-21/SUSP/ARRIAH cell population growth.

Keywords: flow cytometry, cell cycle phases, BHK-21 cell suspension, rabies virus

Acknowledgements: This work was funded by the Federal Centre for Animal Health within the scope of research activities “Veterinary Welfare”.

For citation: Guseva M. N., Doronin M. I., Shevchenko M. A., Mikhailishin D. V., Borisov A. V., El'kina Yu. S., Okovyitaya T. V., Zakharov V. M., Mikhailishin V. V. Flow cytometry study of DNA transformation dynamics in BHK-21/SUSP/ARRIAH cell culture during rabies virus reproduction. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 87–94. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-87-94>

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

For correspondence: Marina N. Guseva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство – остро протекающая болезнь теплокровных животных, характеризующаяся поражением центральной нервной системы. К заболеванию восприимчивы домашние и дикие животные всех видов, а также человек [1, 2, 3, 4, 5].

Цикл репродукции вируса включает его адсорбцию на поверхности клеток, проникновение в клетку, раздевание, транскрипцию, трансляцию, репликацию, сборку и почкование.

Для первичной транскрипции нет необходимости в синтезе структурных белков. Для вируса бешенства присущи 2 типа транскрипции: 1) с геномной РНК сначала транскрибируется лидерная РНК, затем последовательно 5 моноцистронных мРНК, с которых в цитоплазме транслируются белки N, P, M, L, а мРНК G-гена транслируется в полисомах, связанных с мембраной комплекса Гольджи; 2) транскрипция с геномной РНК антигеномных (позитивно-полярных) РНК, которые служат матрицами для синтеза новых генераций геномных РНК отрицательной полярности. В отличие от первичной транскрипции, репликация геномной РНК по описанному механизму может происходить только одновременно с трансляцией и синтезом структурных белков, в особенности N и P, необходимых для инкапсидации РНК в нуклеокапсидные структуры. Если белки L, N и P контролируют главным образом транскрипцию и репликацию РНК, то М-белок занимает промежуточное положение между нуклеокапсидом и оболочкой вириона, участвуя в конденсации РНК. Кроме того, М-белок играет ключевую роль в регуляции синтеза РНК и почковании вируса [6, 7]. На финальной стадии сборки и почкования нуклеокапсиды «надевают» вирусную оболочку, представленную G-белком, который

интегрирован в клеточную мембрану. Гликопротеин детерминирует нейровирулентность и нейроинвазивность вируса бешенства.

Место формирования вирусных частиц зависит от вируса и клеток хозяина. Для представителей рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*, к которому относится вирус бешенства, синтез и сборка нуклеокапсидов происходят в цитоплазме, а почкование – через плазматическую мембрану клетки, от которой вирион получает дополнительный липидный слой.

Вирус бешенства не вызывает в клетках характерные цитопатические изменения. Все события транскрипции и репликации происходят в цитоплазме внутри телец Бабеша – Негри. Данные структуры являются типичными при бешенстве и, таким образом, могут быть использованы в качестве патогномического симптома наличия инфекции [8].

Проточная цитометрия – это современная технология, обеспечивающая быстрый, качественный и мультипараметрический анализ клеток, которая получила широкое распространение в таких областях медицины, как иммунология, фармакология, цитология, онкология, гематология, генетика, инфектология [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Методом проточной цитометрии можно получить самые разные данные: определить содержание в клетке ДНК и РНК, суммарное количество белков и количество специфических белков, узнаваемых моноклональными антителами; исследовать клеточный метаболизм; изучить транспортировку ионов кальция и кинетику ферментативных реакций [15, 16, 17, 18, 19, 20].

У каждой клетки есть период существования от момента ее образования путем деления материнской клетки до митоза или гибели, получивший название

клеточного цикла. Он состоит из двух периодов: 1) период клеточного роста (интерфаза); 2) период клеточного деления – М-фаза (от греч. *mitos* – нить). В свою очередь, в каждом периоде выделяют несколько фаз. Обычно интерфаза занимает не меньше 90% времени всего клеточного цикла. Большая часть компонентов клетки синтезируется на протяжении всей интерфазы, это затрудняет выделение в ней отдельных стадий.

Интерфаза подразделяется на подфазы G1, S и G2. Период интерфазы, когда происходит репликация ДНК клеточного ядра, был назван «фаза S» (от греч. *synthesis* – синтез). Нужно отметить, что в интерфазе (в основном в фазе S) наблюдается не только репликация ДНК, но и основной биосинтез структурных и функциональных белков клетки. Период между фазой M и началом фазы S обозначен как фаза G1 (от англ. *gap* – промежуток), а период между концом фазы S и последующей фазой M – как фаза G2 [21].

Благодаря использованию в исследованиях проточных цитометров определены важные данные, касающиеся принадлежности клеток к фазам репродуктивного цикла, а также получены результаты, позволяющие оценить продолжительность и доминирование соответствующих фаз клеточного цикла G1, S, G2 + M на разных этапах культивирования [18, 19, 20, 22, 23]. С учетом вышеизложенного можно сделать вывод, что характер изменений клеточного цикла при репликации в клетке вируса является важным для понимания процесса его репродукции, но малоизученным фактом.

Целью работы было изучение методом проточной цитометрии динамики трансформации ДНК в культуре клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточная линия. В работе использовали суспензионную перевиваемую культуру клеток почки новорожденного сирийского хомячка BHK-21/SUSP/ARRIAH [24]. Клетки выращивали согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов», утвержденному директором ФГБУ «ВНИИЗЖ», в культиваторах металлических с рабочим объемом до 1800 дм³.

Вирус бешенства. Для заражения клеток применяли производственный штамм «ВНИИЗЖ» вируса бешенства.

Питательная среда для выращивания клеток. Использовали среднюю Игла с добавлением 5% фетальной сыворотки крупного рогатого скота фирмы Serana (Германия) и 0,25%-го гидролизата белков крови (Россия).

Культивирование вируса бешенства. Репродукцию вируса бешенства проводили на протяжении 48 ч во флаконах объемом 0,5 дм³, используя фильтры к флакону Minisart® RC25 Syringe Filters 17764-ACK Ø 25 mm (Sartorius, Германия).

Кратность прироста высчитывали как отношение конечной (через 48 ч) и исходной концентрации клеток в пределах одного пассажа.

Заражение клеток вирусом бешенства. Культуральный вирус бешенства инокулировали в суспензионную культуру клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH в дозе 0,1 ККИД₅₀/кл. Образцы с инфицированными клетками обозначали как опытные, не зараженные вирусом клетки служили контролем и культивировали в аналогичных условиях.

Определение стадий клеточного цикла осуществляли на проточном цитометре Accuri™ C6 с помощью набора для работы с цитометром BD Cycletest™, а также набора реактивов для анализа количества ДНК в клетках C6 Flow Cytometer Fluid Kit (Becton Dickinson and Company, США).

Определение титра инфекционной активности вируса бешенства проводили согласно «Методическим рекомендациям по опосредованному определению титра инфекционной активности культурального вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» в сырье для вакцины методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ)»¹.

Пробы отбирали каждые 3 ч в течение всего времени репродукции вируса бешенства. Концентрацию клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH в суспензии определяли с помощью камеры Горяева для счета форменных элементов крови dA0.000.851, которая соответствует ТУ 64-1-816-84. К 1 см³ клеточной взвеси добавляли равный объем 0,2%-го раствора трипановой сини, тщательно перемешивали и заправляли камеру. Количество клеток в 1 см³ суспензии рассчитывали по формуле [21]:

$$X = \frac{A \times B \times 4000}{3600} \times 1000,$$

где X – количество клеток в 1 см³; A – общее количество клеток в камере; B – разведение суспензии.

Подсчет проводили при 10-кратном увеличении микроскопа.

Статистическая обработка данных. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамику репродукции вируса оценивали по следующим показателям:

- зависимость титра инфекционной активности вируса от времени репродукции;
- изменения апоптоза и дебриса;
- изменения стадий клеточного цикла (G1, S, G2 + M).

При культивировании водородный показатель (pH) суспензии контролировали каждые 3 ч.

На рисунке 1 отображена динамика уровня инфекционной активности вируса бешенства при репродукции в культуре клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH.

Отмечено, что титр инфекционной активности вируса увеличивался от (3,2 ± 0,2) Ig ККИД₅₀/см³ при инокуляции до (7,63 ± 0,3) Ig ККИД₅₀/см³ через 48 ч репродукции, но более интенсивно он рос первые 24 ч (до 6,76 ККИД₅₀/см³).

Концентрация клеток за 48 ч изменилась с 0,5 до 1,9 млн/см³, то есть выросла в 3,8 раза (рис. 2).

На следующем этапе были проведены опыты по исследованию изменения титра инфекционной активности вируса бешенства в клетках BHK-21/SUSP/ARRIAH, имеющих разную исходную концентрацию: (0,77 ± 0,1);

¹ Доронин М. И., Михалишин Д. В., Борисов А. В., Балашов А. Н., Мудрак Н. С., Захаров В. М. Методические рекомендации по опосредованному определению титра инфекционной активности культурального вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» в сырье для вакцины методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ): утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 23.12.2021 № 66-21. Владимир; 2021. 59 с.

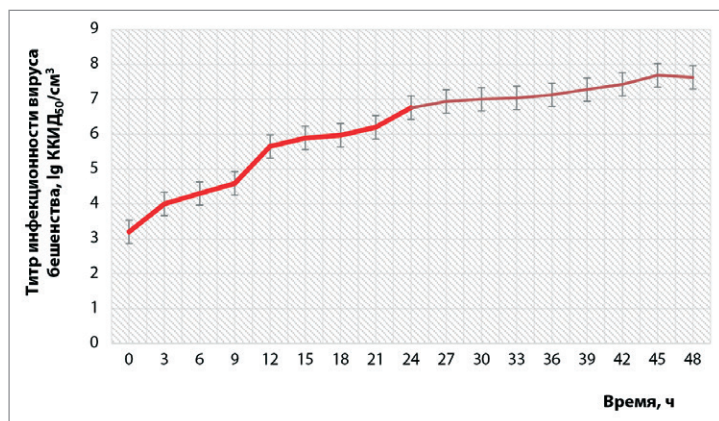


Рис. 1. Динамика уровня инфекционной активности вируса бешенства при репродукции в культуре клеток ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 1. Rabies virus infectivity dynamics during its reproduction in cell culture ($n = 3, p < 0.05$)

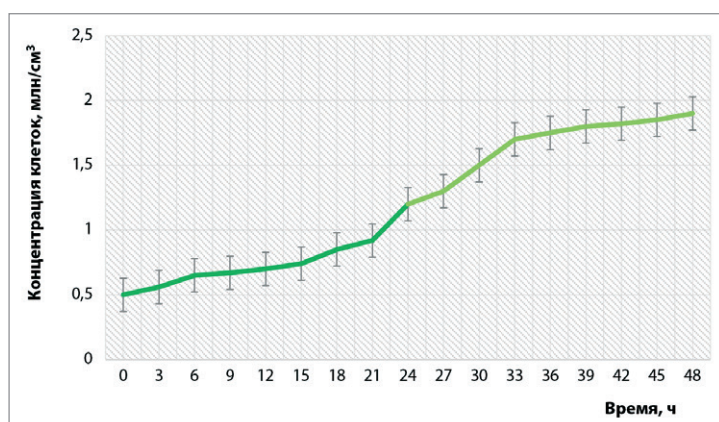


Рис. 2. Динамика изменения концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 2. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics during rabies virus reproduction ($n = 3, p < 0.05$)

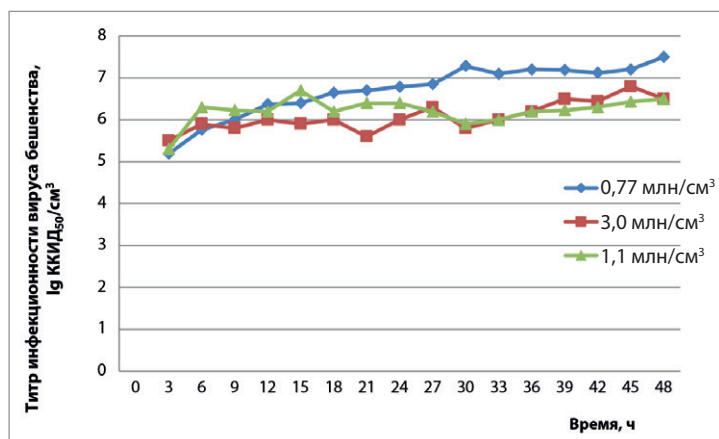


Рис. 3. Динамика накопления вируса бешенства при репродукции в клетках с различной исходной концентрацией ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 3. Rabies virus accumulation dynamics during its reproduction in cells with different initial concentrations ($n = 3, p < 0.05$)

($3,0 \pm 0,2$) и ($1,1 \pm 0,1$) млн/см³. Установлено, что накопление цельных вирусных частиц в зараженных клетках разных концентраций происходило в первые 12 ч репродукции (рис. 3). В дальнейшем в культуре с исходной концентрацией клеток ($0,77 \pm 0,1$) млн/см³ ви-

рус накапливался в 1,1–1,2 раза интенсивнее. Вероятно, это связано с ограниченным количеством питательных веществ для размножения и роста клеток с большей концентрацией.

Провели исследование, направленное на изучение изменений фаз клеточного цикла при культивировании вируса бешенства в клетках суспензионной линии BHK-21/SUSP/ARRIAH. В стандартных оптимальных условиях интактные популяции распределяются по фазам клеточного цикла следующим образом: G1 – 30–75%, G2 + M – 2–18%, S – 2–33%, полиплоиды – до 4% и дебрис – 1–20% [23].

Отмечено, что динамика изменений популяции клеток, находящихся в апоптозе, в контроле и опыте была аналогичной в течение 36 ч культивирования (наблюдали небольшой временной сдвиг в 3 ч между опытом и контролем через 9 и 12 ч репродукции). После 36 ч культивирования инфицированных клеток в стадии апоптоза было на 28–42% больше по сравнению с таковыми в контроле (рис. 4).

Доля клеток, находящихся в стадии фазы G1, через 9 ч в опытных образцах увеличилась на 11,7%, а в контрольных, наоборот, уменьшилась на 16,6%. В дальнейшем количество клеток в G1-фазе и в контроле, и в опыте изменялось одинаково: через 15–18 ч отмечалось уменьшение на 40%, далее – ростовой скачок на 45–46%, затем опять снижение на 39–40%, после чего вновь наблюдалось увеличение. После 33 ч репродукции и до окончания культивирования доля инфицированных клеток, находящихся в фазе G1, была значительно больше (на 12–21%), чем контрольных.

При сравнении количества клеток, находящихся в апоптозе + дебрисе и фазе G1, установили некоторую синхронность между этими фазами: через 9 ч культивирования вируса фаза G1 увеличилась на 10–12%, в то же время уменьшился на 10–11% апоптоз, после чего пошло снижение процента клеток в фазе G1 и увеличение доли клеток в апоптозе и дебрисе. Более выраженную зеркальность данных фаз клеточного цикла наблюдали после 24 ч культивирования. Аналогичная закономерность была замечена и при исследовании клеточного цикла при репродукции вируса ящура [22].

В клеточном цикле интактной популяции BHK-21/SUSP/ARRIAH также преобладала диплоидная фаза клеточного цикла (G1), во время которой начинался синтез мРНК, структурных белков, других клеточных компонентов. На эту фазу приходилось от 30 до 75% клеток в зависимости от условий культивирования, что отражено в более ранних исследованиях [23].

Известно, что в период G1-фазы клетки начинают увеличиваться в размерах, активируется мРНК и ферменты, необходимые для будущей репликации ДНК [21].

Клетки, находящиеся в фазе G1, в суспензионной культуре поддерживались на уровне 37–70% на протяжении всего времени репродукции вируса, то есть инфицированные вирусом клетки служили источником энергии и материалом для синтеза вирусных компонентов, а также для сборки цельных вирионов.

Переход от диплоидной фазы G1 в синтетическую (S-фазу) является одной из контрольных точек клеточного цикла. В зависимости от количества питательных веществ и энергии, а также от внешних факторов культивирования клетка «принимает решение» вступать в клеточный цикл или же перейти в неделящееся состояние покоя, известное как G0-фаза, которая пере-

ходит в апоптоз. Основным событием S-фазы является репликация ДНК, которая имеет свои особенности [21].

В наших исследованиях процент клеток в S-фазе в опыте и контроле в первые сутки репродукции вируса был одинаковым, при этом наблюдали резкое его увеличение в виде скачков через 15 и 24 ч в 3,4 и 2,4 раза соответственно (рис. 5). Через 24 ч между инфицированными и контрольными клетками начали проявляться различия, которые постепенно возрастали с 8 до 137% к окончанию репродукции. Можно предположить, что клетки, находящиеся в этой фазе, также участвовали в репродукции вируса.

В фазе G2 – последней из трех последовательных фаз интерфазной стадии клеточного цикла – и M-фазе образовывалась тетраплоидная популяция. В интактных и инфицированных вирусом бешенства клетках линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH на фазу подготовки к митозу и сам митоз приходилось от 2 до 20% всей популяции. Через 30 ч репродукции количество клеток опытных образцов в данных фазах начинало уменьшаться на 17–28% по сравнению с контрольными (рис. 6). Вероятно, это было связано с тем, что ингибировались общий биосинтез и функции клетки-хозяина в результате биосинтеза компонентов вируса бешенства, поэтому уменьшался процент клеток, находящихся в фазе G2 + M.

Количество полиплоидных клеток в опыте было примерно равным на протяжении 45 ч, только в последние часы репродукции вируса наблюдали их резкий скачок в 2,0–2,5 раза, в то время как в контрольных клетках плоидность популяции имела скачкообразный характер: увеличение через 9, 21, 42 и 48 ч в 2,06; 2,7; 1,56 и 3,18 раза соответственно. Можно предположить, что имела частичная резистентность полиплоидных клеток к вирусу. Данный факт уже был отмечен раньше при исследовании репродукции ящура в клетках ВНК-21 [22].

ДНК-гистограммы клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции в них вируса бешенства через 24 ч после начала заражения и через 42 ч культивирования (рис. 7) обобщают графики, представленные на рисунках 4–6.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы фазы клеточного цикла при репродукции в клетке-хозяине вируса бешенства, получены результаты, позволяющие оценить продолжительность и доминирование соответствующих фаз клеточного цикла G1, S, G2 + M на разных этапах культивирования.

При изучении динамики изменений, происходящих в ДНК инфицированных вирусом бешенства клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, замечено, что через 24 ч культивирования вируса росло количество клеток в фазе G1 по сравнению с контролем (на 12–21%). Так как в фазе G1 идет синтез мРНК, структурных белков, других клеточных компонентов, которые необходимы и для сборки вирионов возбудителя бешенства, то рост клеток в данной фазе цикла можно считать закономерным.

Обнаружено, что поскольку главным событием фазы S является репликация ДНК, то линейное уменьшение фазы S при культивировании вируса бешенства после 24 ч репродукции также может указывать на перестройку клетки на синтез вирусной РНК, а не репликацию клеточной ДНК.

Выявлено, что фаза G2 и фаза M (постсинтетическая, или премитотическая, и сам митоз) жизненного цикла

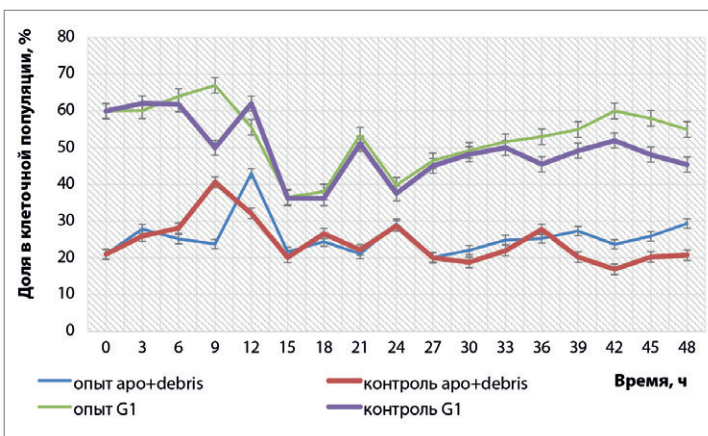


Рис. 4. Изменение процентного соотношения клеток, находящихся на стадиях апоптоза + дебриса и фазы G1, в культуре ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 4. Changes in percentages of cells undergoing apoptosis + debris and G1 phase in BHK-21/SUSP/ARRIAH culture during rabies virus reproduction ($n = 3, p < 0.05$)

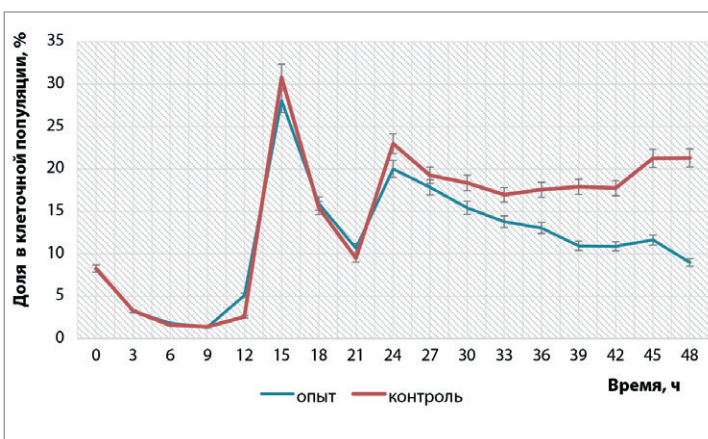


Рис. 5. Изменение процентного соотношения клеток, находящихся на стадии S-фазы, в культуре ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 5. Changes in percentages of cells undergoing S phase in BHK-21/SUSP/ARRIAH culture during rabies virus reproduction ($n = 3, p < 0.05$)

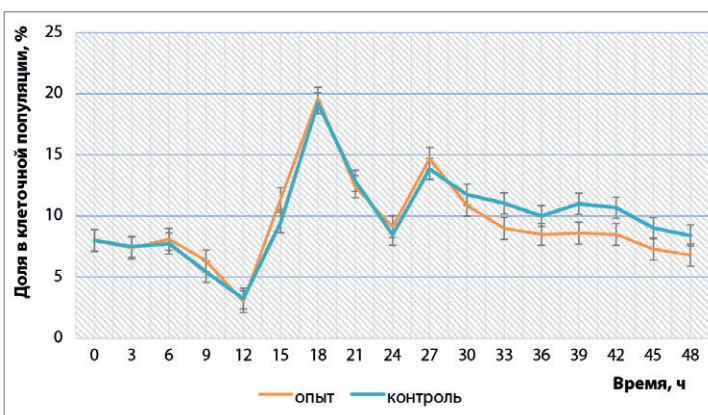


Рис. 6. Изменение процентного соотношения клеток, находящихся на стадии G2 + M, в культуре ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции вируса бешенства ($n = 3, p < 0,05$)

Fig. 6. Changes in percentages of G2 + M phase cells in BHK-21/SUSP/ARRIAH culture during rabies virus reproduction ($n = 3, p < 0.05$)

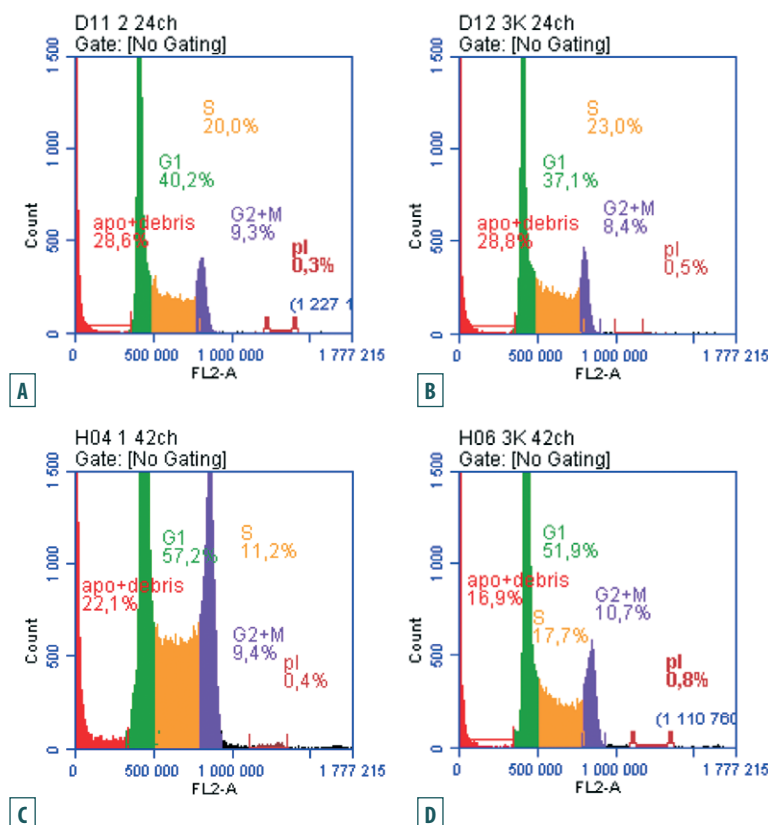


Рис. 7. Сравнение ДНК-гистограмм клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при репродукции в них вируса бешенства и контрольных образцов через 24 ч (А – опыт, В – контроль) и через 42 ч (С – опыт, D – контроль)

Fig. 7. Comparison of DNA histograms of BHK-21/SUSP/ARRIAH cells during rabies virus reproduction and those of control samples after 24 hours (A – test, B – control) and after 42 hours (C – test, D – control)

клеток опытных образцов относительно уменьшались (на 17–28%) по отношению к контрольным, то есть инфицированные клетки находились в стадии деления меньше, чем неинфицированные. Вероятно, это было связано с тем, что ингибировались общий биосинтез и функции клетки-хозяина в результате биосинтеза компонентов вируса бешенства.

Определено, что полиплоидные клетки, которые образовывались в процессе культивирования клеток и вируса, были частично резистентны к возбудителю бешенства и, вероятно, обладали наименьшей чувствительностью.

Установлено, что перестройка клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH на синтез полных частиц вируса бешенства наступала через 24 ч репродукции, о чем свидетельствуют изменения в фазах клеточного цикла клетки-хозяина, замедление прироста самой популяции клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьев Б. В., Фомина Н. В. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБП; 2001. 928 с.
- Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 394 с. EDN: FCSNOH
- Макаров В. В., Гулюкин А. М., Гулюкин М. И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооветКнига; 2015. 121 с. EDN: TXECSR
- Макаров В. В., Лозовой Д. А., Брико Н. И. Бешенство рукокрылых и человек. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2015; 6: 46–53. EDN: VEAETL
- Метлин А. Е. Современные аспекты классификации лиссавирусов. Ветеринария сегодня. 2017; (3): 52–57. EDN: ZIGAFP

6. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова. М.: Медицинское информационное агентство; 2013; 1200 с.

7. Bourhy J. A., Cowley J. A., Larrous F., Holmes E. C., Walker P. J. Phylogenetic relationships among rhabdoviruses inferred using the L polymerase gene. *Journal of General Virology*. 2005; 86 (10): 2849–2858. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81128-0>

8. Albertini A. A. V., Schoehn G., Weissenhorn W., Ruigrok R. W. H. Structural aspects of rabies virus replication. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008; 65 (2): 282–294. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7298-1>

9. Барабаш Е. Ю., Калинина Е. П., Гвозденко Т. А., Денисенко Ю. К., Новгородцева Т. П., Антонюк М. В., Ходосова К. К. Регуляция иммунного ответа у пациентов с частично контролируемой и контролируемой бронхиальной астмой. *Медицинская иммунология*. 2017; 19 (1): 65–72. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-1-65-72>

10. Войткова В. В. Изучение апоптоза методом проточной цитофлуориметрии (обзор литературы). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2010; 6-1 (76): 220–225. EDN: OHWEVV

11. Ищенко И. О., Опедизано М. Д. Л. Совершенствование оценки противоопухолевого иммунитета с использованием метода проточной цитометрии. *Forcipe*. 2019; 2 (4): 24–31. EDN: STCTRI

12. Козырева В. С., Шилова А. Н., Шкода О. С. Использование метода проточной цитометрии для контроля содержания остаточных лейкоцитов в плазме крови. *Гематология и трансфузиология*. 2019; 64 (1): 66–72. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-1-66-72>

13. Ягунов А. С., Карташев А. В., Токалов С. В., Киселева Л. Н. Основные этапы разработки и применения метода проточной цитометрии в ФГУ РНЦПХТ. *Вопросы онкологии*. 2008; 54 (4): 494–497. EDN: JVSUZB

14. Стахнёва Е. М., Рагино Ю. И. Современные методы исследования атеросклероза и ишемической болезни сердца: проточная цитометрия. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 184–190. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-184-190>

15. Barnum K. J., O'Connell M. J. Cell cycle regulation by checkpoints. *In: Cell Cycle Control. Methods in Molecular Biology*. Eds. E. Noguchi, M. Gadaleta. 2014; 1170: 29–40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_2

16. Манин Б. Л., Ночевный В. Т., Хайдуков С. В., Ласкавы В. Н. Эффективность метода проточной цитометрии в изучении механизмов репарации клеток БНК-21 в процессе культивирования и криоконсервирования. *Ветеринарная медицина*. 2011; 95: 66–70. EDN: SMUJVJ

17. Sherman J., Wang R. Rapid profiling of G2 phase to mitosis progression by flow cytometry in asynchronous cells. *Cell Cycle*. 2020; 19 (21): 2897–2905. <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1827510>

18. Rieger A. M. Flow cytometry and cell cycle analysis: An overview. In: *Cell-Cycle Synchronization. Methods in Molecular Biology*. Ed. Z. Wang. 2022; 2579: 47–57. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2736-5_4

19. Kim K. H., Sederstrom J. M. Assaying cell cycle status using flow cytometry. *Current Protocols in Molecular Biology*. 2015; 111: 28.6.1–28.6.11. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2806s111>

20. Nair A., Manohar S. M. A flow cytometric journey into cell cycle analysis. *Bioanalysis*. 2021; 13 (21): 1627–1644. <https://doi.org/10.4155/bio-2021-0071>

21. Клетки. Под ред. Б. Льюина, Л. Кассимериса, В. П. Лингаппы, Д. Плоттера. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2011. 951 с.

22. Гусева М. Н., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Михалишин В. В., Манин Б. Л. Изучение методом проточной цитометрии динамики трансформации ДНК в культуре клеток БНК-21/2-17 при репродукции вируса ящура. *Ветеринария сегодня*. 2018; (4): 39–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2018-4-27-39-43>

23. Шевченко М. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Манин Б. Л., Шишкова А. А. Исследование клеточного цикла линии БНК-21/2-17 методом проточной цитометрии. *Ветеринария сегодня*. 2017; (4): 58–62. EDN: YKWAND

24. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. БНК-21/SUSP/ARRIAH – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, паратифа-3, болезни Ауески при производстве противовирусных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент № 2722671 C1 Российская Федерация, МПК C12N 5/10 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Опубл. 02.06.2020. Бюл. № 16.

REFERENCES

- Syurin V. N., Samuilenko A. Ya., Solov'yev B. V., Fomina N. V. Viral Diseases of Animals. Moscow: VNITIBP; 2001. 928 p. (in Russ.)
- Gruzdev K. N., Metlin A. E. Animal Rabies. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019. 394 p. EDN: FCSNOH (in Russ.)
- Makarov V. V., Gulyukin A. M., Gulyukin M. I. Rabies: Natural History at Centuries Boundary. Moscow: ZooVetKniga; 2015. 121 p. EDN: TXECJR (in Russ.)
- Makarov V. V., Lozovoy D. A., Briko N. I. Cheiropter rabies and man. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2015; 6: 46–53. EDN: VEAETL (in Russ.)
- Metlin A. Ye. Modern aspects of lyssavirus classification. *Veterinary Science Today*. 2017; (3): 52–57. EDN: ZIGAF (in Russ.)
- Guidance on Virology. Human and Animal Viruses and Viral Infections. Ed. by D. K. Lvov. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2013. 1200 p. (in Russ.)
- Bourhy H., Cowley J. A., Larrous F., Holmes E. C., Walker P. J. Phylogenetic relationships among rhabdoviruses inferred using the L polymerase gene. *Journal of General Virology*. 2005; 86 (10): 2849–2858. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81128-0>
- Albertini A. A. V., Schoehn G., Weissenhorn W., Ruigrok R. W. H. Structural aspects of rabies virus replication. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008; 65 (2): 282–294. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7298-1>
- Barabash E. Yu., Kalinina E. P., Gvozdenko T. A., Denisenko Yu. K., Novgorodtseva T. P., Antonyuk M. V., Khodosova K. K. Regulation of im-

mune response of patients with partially controlled vs controlled bronchial asthma. *Medical Immunology (Russia)*. 2017; 19 (1): 65–72. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-1-65-72> (in Russ.)

10. Voitkova V. V. Study of apoptosis with use of flow cytometry (review of literature). *Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center*. 2010; 6-1 (76): 220–225. EDN: OHWEVV (in Russ.)

11. Ishchenko I. O., Oppedisano M. D. L. Improvement of antitumoral immunity assessment using the method of flow cytometry. *Forcipe*. 2019; 2 (4): 24–31. EDN: STCTRI (in Russ.)

12. Kozyreva V. S., Shilova A. N., Shkoda O. S. Flow cytometry for measuring residual leukocytes in blood plasma. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2019; 64 (1): 66–72. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-1-66-72> (in Russ.)

13. Yagunov A. S., Kartashov A. V., Tokalov S. V., Kiseleva L. N. Main milestones of development and application of ductal cytometry at the Russian center for research in radiological and surgical techniques, St. Petersburg. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2008; 54 (4): 494–497. EDN: JVSUZB (in Russ.)

14. Stakhneva E. M., Ragino Yu. I. Modern methods for studying atherosclerosis and coronary artery disease: flow cytometry. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 184–190. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-184-190>

15. Barnum K. J., O'Connell M. J. Cell cycle regulation by checkpoints. In: *Cell Cycle Control. Methods in Molecular Biology*. Eds. E. Noguchi, M. Gadaleta. 2014; 1170: 29–40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_2

16. Manin B. L., Nochevny V. T., Khaidukov S. V., Laskavy V. N. Efficiency of flow cytometric analysis used to study of mechanisms of reparation of BHK-21 cells in the process of cultivation and cryoconservation. *Veterinary Medicine*. 2011; 95: 66–70. EDN: SMUJVJ (in Russ.)

17. Sherman J., Wang R. Rapid profiling of G2 phase to mitosis progression by flow cytometry in asynchronous cells. *Cell Cycle*. 2020; 19 (21): 2897–2905. <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1827510>

18. Rieger A. M. Flow cytometry and cell cycle analysis: An overview. In: *Cell-Cycle Synchronization. Methods in Molecular Biology*. Ed. Z. Wang. 2022; 2579: 47–57. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2736-5_4

19. Kim K. H., Sederstrom J. M. Assaying cell cycle status using flow cytometry. *Current Protocols in Molecular Biology*. 2015; 111: 28.6.1–28.6.11. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2806s111>

20. Nair A., Manohar S. M. A flow cytometric journey into cell cycle analysis. *Bioanalysis*. 2021; 13 (21): 1627–1644. <https://doi.org/10.4155/bio-2021-0071>

21. Cells. Eds. B. Lewin, L. Cassimeris, V. R. Lingappa, G. Plopper. Sudbury (Massachusetts): Jones and Bartlett Publishers; 2007. 863 p.

22. Guseva M. N., Shevchenko M. A., Mikhailishin D. V., Mikhailishin V. V., Manin B. L. Study of DNA transformation dynamics in BHK-21/2-17 cell culture using flow cytometry during FMD virus reproduction. *Veterinary Science Today*. 2018; (4): 39–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2018-4-27-39-43>

23. Shevchenko M. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Manin B. L., Shishkova A. A. Studies of the BHK-21/2-17 lineage using flow cytometry. *Veterinary Science Today*. 2017; (4): 58–62. EDN: YKWAND (in Russ.)

24. Lozovoj D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn Syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 C1 Russian Federation. Int. Cl. C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAH". No. 2019131190. Date of filing: 01.10.2019. Date of publication: 02.06.2020. Bull. No. 16.

Поступила в редакцию / Received 22.08.2023

Поступила после рецензирования / Revised 09.10.2023

Принята к публикации / Accepted 08.11.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гусева Марина Николаевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

Доронин Максим Игоревич, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

Marina N. Guseva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

Maksim I. Doronin, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

Шевченко Максим Александрович, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0006-5874-8363>, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

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

Борисов Алексей Валерьевич, канд. вет. наук, начальник отдела лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, e-mail: borisov_av@arriah.ru

Елькина Юлия Сергеевна, канд. вет. 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

Оковитая Татьяна Владимировна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, e-mail: okovitaya@arriah.ru

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

Михалишин Валерий Васильевич, д-р вет. наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-9538-5657>, e-mail: mihalishin@arriah.ru

Maxim A. Shevchenko, Leading Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0006-5874-8363>, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

Dmitry V. Mihalishin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

Alexey V. Borisov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Department, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, e-mail: borisov_av@arriah.ru

Yulia S. El'kina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru

Tatyana V. Okovytaya, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, e-mail: okovitaya@arriah.ru

Valery M. Zakharov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; Author ID: 7402991265, e-mail: zaharov@arriah.ru

Valery V. Mihalishin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-9538-5657>, e-mail: mihalishin@arriah.ru

Вклад авторов: Гусева М. Н. – концепция исследования, интерпретация данных, подготовка текста, работа с литературой, анализ и обобщение результатов исследования; Доронин М. И. – концепция исследования, биоинформатический анализ, проведение статистического анализа; Шевченко М. А. – проведение экспериментов, сбор материала; Михалишин Д. В. – концепция исследования, администрирование, получение финансирования, ресурсное обеспечение исследования; Борисов А. В. – интерпретация данных, подготовка текста, работа с литературой; Елькина Ю. С. – проведение экспериментов, сбор материала; Оковитая Т. В. – проведение экспериментов, сбор материала; Захаров В. М. – администрирование, редактирование текста; Михалишин В. В. – концепция исследования, анализ и обобщение результатов исследования, утверждение окончательного варианта.

Contribution: Guseva M. N. – conceptualization, data interpretation, text preparation, literature searches, analysis and synthesis of study findings; Doronin M. I. – conceptualization, bioinformatic analysis, statistical analysis; Shevchenko M. A. – experimentation, data collection; Mihalishin D. V. – conceptualization, administration, funding acquisition, resource provision; Borisov A. V. – data interpretation, text preparation, literature searches; El'kina Yu. S. – experimentation, data collection; Okovytaya T. V. – experimentation, data collection; Zakharov V. M. – administration, text editing; Mihalishin V. V. – conceptualization, analysis and synthesis of study findings, final version approval.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-95-102>
УДК 619:616.98:579.843.96:621.785.9:577.152.54:661.746

Усовершенствование системы поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), применяемого для изготовления сапных диагностикумов

Е. А. Артемьева¹, Л. А. Мельникова¹, Л. И. Зайнуллин¹, Н. К. Букова²

¹ ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), Научный городок-2, г. Казань, 420075, Республика Татарстан, Россия

² ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), Звенигородское шоссе, 5, г. Москва, 123022, Россия

РЕЗЮМЕ

Одним из направлений коллекционной деятельности является оптимизация существующих методов и разработка новых технологий консервации штаммов микроорганизмов, поэтому проведение работ по усовершенствованию ранее разработанных методик сохранения аутентичности штаммов является актуальной задачей. В статье приведена информация по поддержанию производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) с использованием разработанной ранее системы, которая была дополнена новыми этапами согласно современным требованиям, предъявляемым к коллекционным фондам штаммов возбудителей особо опасных болезней. Предыдущая схема поддержания штамма предусматривала его хранение в нативном виде, что способствовало накоплению генетических мутаций и, как следствие, изменению свойств бактериальной клетки. Для увеличения сроков хранения данного штамма и обеспечения стабильности его биологических свойств применен метод лиофилизации. В качестве криопротектора использовали обезжиренное молоко. Сублимационную сушку проводили по выбранному режиму. Данный метод дает возможность пассировать штамм на чувствительных моделях один раз в 5 лет, что более выгодно и безопасно с экономической и биологической точек зрения. Для безопасной работы с производственным штаммом 5584 возбудителя сапа разработан метод его инактивации гамма-лучами при 30 кГр, который позволил добиться стерильности микробной взвеси и сохранить структуру бактериальных клеток. При сравнении ранее разработанной и дополненной схем установлено, что усовершенствованная система поддержания штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) позволяет исключить утрату его биологических свойств, необходимых для производства качественных сапных диагностикумов, используемых для своевременного выявления заболевания у восприимчивых животных при проведении диагностических исследований.

Ключевые слова: сап, *Burkholderia mallei*, пассаж, лиофилизация, биологические свойства, гамма-облучение

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательской работы по теме «Изучение биологических характеристик штаммов возбудителей заразных и особо опасных болезней животных и их стабильности в процессе длительного хранения».

Для цитирования: Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Зайнуллин Л. И., Букова Н. К. Усовершенствование системы поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), применяемого для изготовления сапных диагностикумов. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (1): 95–102. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-95-102>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Артемьева Елена Александровна, канд. вет. наук, начальник отдела – Государственная коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Научный городок-2, г. Казань, 420075, Республика Татарстан, Россия, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

Improved production strain maintenance technique for *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) used for glander diagnostic agent production

Elena A. Artemeva¹, Liliya A. Melnikova¹, Lenar I. Zaynullin¹, Nataliya K. Bukova²

¹ Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Nauchnyi gorodok-2, Kazan 420075, Republic of Tatarstan, Russia

² The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, 5 Zvenigorodskoye shosse, Moscow 123022, Russia

ABSTRACT

One of the aspects important for strain collection maintenance is the optimization of existing methods and development of new techniques for microbial strain preservation, that is why the improvement of previously developed methods for authentic strain preservation is an urgent task. The article provides

© Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Зайнуллин Л. И., Букова Н. К., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

information on the maintenance of *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) using previously developed technique, which was supplemented with new stages in accordance with modern requirements for strain collections of highly dangerous disease agents. The previous strain maintenance technique involved its storage in its native state, which facilitated accumulation of genetic mutations and, ultimately modification of bacterial cell properties. To extend the storage time of this strain and to ensure the stability of its biological properties, the freeze-drying method was used. Skimmed milk was used as a cryoprotectant. Freeze-drying was performed under selected conditions. This technique allows for the strain sub-culturing on sensitive models once every 5 years, which is more expedient and safe from an economic and biological point of view. For safe handling of *Burkholderia mallei* 5584 production strain, an inactivation technique using gamma rays at 30 kGy was developed, which allowed to achieve microbial suspension sterility and preserve the bacterial cell structure. When comparing the previously developed and supplemented techniques, it was found that the improved technique of *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) maintenance makes it possible to avoid the loss of its biological properties needed for the production of high-quality laboratory diagnostic agents used for timely disease detection in susceptible animals by diagnostic tests.

Keywords: glanders, *Burkholderia mallei*, passage, freeze-drying, biological properties, gamma irradiation

Acknowledgments: The work was funded by the Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety within the research topic "Study of the biological characteristics of strains of contagious and highly dangerous animal disease pathogens and their stability during long-term storage".

For citation: Artemeva E. A., Melnikova L. A., Zaynullin L. I., Bukova N. K. Improved production strain maintenance technique for *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) used for glander diagnostic agent production. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (1): 95–102. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-95-102>

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Elena A. Artemeva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Department – State Collection of Microorganisms, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Nauchnyi gorodok-2, Kazan 420075, Republic of Tatarstan, Russia, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Эпизоотическое благополучие по заразным и особо опасным инфекционным болезням, в частности по сапу, обеспечивается ветеринарной службой, которая проводит противоэпизоотические мероприятия, направленные на предупреждение заноса возбудителя на территорию Российской Федерации, посредством систематического контроля за благополучием поголовья лошадей (ослов, мулов), а также недопущения распространения заболевания и его ликвидации в случае появления [1].

Сап – это инфекционная болезнь непарнокопытных животных семейства лошадиных, вызываемая микробом, относящимся к роду *Burkholderia*, виду *mallei*, и протекающая в основном в хронической форме. В естественных условиях могут заражаться и хищники семейства кошачьих (при поедании мяса больных сапом животных), а также верблюды и человек [2, 3, 4, 5]. Данный возбудитель относится к II группе патогенности (опасности), против сапа не разработаны средства специфической профилактики и лечения, в связи с чем заболевание занимает особое место в вопросах биологической безопасности Российской Федерации [6, 7].

С конца 50-х годов прошлого столетия и до настоящего времени сап не регистрировался на территории России. Хотя в течение этого времени возникали случаи заболевания с подозрением на сап, но ни один из них не был подтвержден [8]. На сегодняшний день вспышка сапа зарегистрирована в Забайкальском крае с введением карантина по заболеванию (постановление губернатора Забайкальского края от 18.02.2023 № 8¹). Не исключена опасность возникновения новых случаев сапа в связи с неблагополучием по данному заболе-

ванию государств, граничащих с территорией России (Монголия и Китай), где часто не соблюдаются требования ветеринарного законодательства, в частности имеются факты несанкционированного обмена/перемещения скота и импортируемого животноводческого сырья [1, 9]. Кроме того, непредсказуемую эпизоотическую ситуацию по этому заболеванию могут создавать современные международные контакты, где задействованы животные, восприимчивые к сапу (торговля, гастроли цирков и театра зверей, конноспортивные соревнования, международные аукционы и др.).

В настоящее время сап часто регистрируется в Монголии, Турции, Иране, Ираке, странах Аравийского полуострова, Бразилии, Китае, Индии, на Филиппинах [9, 10, 11, 12, 13, 14]. По данным Всемирной организации здравоохранения животных, Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, Всемирной организации здравоохранения, в мире отмечается тенденция к увеличению случаев возникновения сапа у человека и животных, что относит его к возвращающимся инфекциям.

Для недопущения возникновения, завоза и проникновения этого заболевания в страну проводятся диагностические мероприятия с использованием сапных диагностикумов, выпускаемых ФГУП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» (сыворотка сапная положительная для реакции связывания комплекмента – РСК; антиген сапной для РСК; маллеин и антиген сапной цветной для пластинчатой реакции агглютинации – РА) из производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584. Его получают один раз в 5 лет из Государственной коллекции штаммов – возбудителей особо опасных болезней, используемых в ветеринарии и животноводстве, которая занимается хранением штамма в нативном и лиофилизированном виде и поддержанием его биологических свойств. Полученные рядом авторов результаты показали, что хранение

¹ Об установлении ограничительных мероприятий (карантина) на территории города Читы: постановление губернатора Забайкальского края от 18.02.2023 г. № 8. <https://media.75.ru/documents/152305/8-ot-18-02-2023.pdf>

микроорганизмов в нативном виде не соответствует современным требованиям, так как в процессе многократных пересевов накапливаются мутации, которые приводят к изменению их изначальных биологических свойств [15, 16, 17, 18]. Ввиду того что одним из направлений коллекционной деятельности является оптимизация существующих методов и разработка новых технологий консервации штаммов микроорганизмов, актуально проведение работ по усовершенствованию ранее разработанных методов сохранения аутентичности штаммов [19, 20, 21, 22].

Исходя из вышесказанного, целью работы было усовершенствовать систему поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), используемую для сохранения его жизнеспособности и биологических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу по поддержанию производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) проводили в отделе «Государственная коллекция микроорганизмов» ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Штамм хранится в нативном виде на мясо-пептонном глицериновом агаре (МПГА) и пересеивается каждые 30 дней с проверкой биологических свойств один раз в год и в лиофилизированном виде (криопротектор – обезжиренное молоко) с определением его жизнеспособности и аутентичности заявленным паспортным данным каждые 5 лет и пассажем через организм чувствительных моделей (золотистых хомячков) один раз в год.

Ростовые свойства и морфологию клеток штамма, хранящегося в нативном и лиофилизированном виде, изучали на культурах второй генерации, выросших после посева на МПГА, мясо-пептонном глицериновом бульоне (МПГБ) и картофельной среде Павловского. Изучение тинкториальных свойств проводили микроскопией мазков, окрашенных по Граму; подвижность определяли методом висячей капли с помощью световой микроскопии. Ферментативные свойства изучали путем посева на среды Гисса и обезжиренное молоко, а также по образованию сероводорода на МПГА и индола на среде Строгова, засеянных культурой, с использованием индикаторных бумажек (в первом случае пропитанной уксусной кислотой, во втором – щавелевой кислотой), прикрепленных пробкой над поверхностью среды. Тест на наличие каталазы проводили нанесением 3%-го раствора перекиси водорода на поверхность выросшей культуры².

Патогенность штамма определяли заражением чувствительных лабораторных животных (золотистых хомячков) с последующей оценкой развития характерных клинических признаков сапа, патолого-анатомической картины поражения легких, печени, селезенки и выделением чистой культуры возбудителя.

С целью изучения агглютинабельных свойств из штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) извлекали антиген и сыворотку к нему, которые испытывали в пластинчатой РА. Сыворотку получали путем трехкратной гипериммунизации кроликов инаktivированными клетками штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) в концентрации 2×10^9 м. к./см³ инъек-

цией в краевую ушную вену с интервалом в три дня: первое введение – 0,5 см³, второе введение – 1,0 см³, третье введение – 2,0 см³. Тотальное обескровливание кроликов проводили на 7-й день после последнего введения антигена.

Сыворотку исследовали по антигенным свойствам (в пластинчатой и пробирочной РА и пробирочной РСК).

Для определения специфичности брали близкородственные в антигенном отношении штаммы возбудителей мелиоидоза и *Alcaligenes faecalis* [23]. Для этого осуществляли посев на МПГА и мясо-пептонный агар (МПА), инкубировали при 37 °С в течение 48 ч, смывали 0,85%-м раствором NaCl и использовали для постановки РА и РСК в соответствии с СанПиН 3.3686-21³.

Поддержание биологических свойств производственного штамма в соответствии с заявленными паспортными данными осуществляли посредством пассажей на золотистых хомячках, которых заражали подкожно в область затылка.

Вся экспериментальная часть работы с лабораторными животными проводилась в соответствии с основными этическими принципами проведения экспериментов на животных, изложенных в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Эксперименты были научно обоснованы и утверждены Комиссией по биоэтике ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (протокол № 10 от 11.09.2023).

Для получения антигена производственный штамм *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) инаktivировали гамма-лучами на установке «Исследователь» (Россия) по ранее определенной дозе облучения 30 кГр в отделе радиобиологии⁴.

При отработке режима инаktivации применяли дозы 15, 20, 25, 30, 35 кГр. Для этого готовили клеточные взвеси с концентрацией 10^9 м. к./см³ на стерильном 0,85%-м растворе NaCl. Полноту инаktivации определяли посевом клеток на питательную среду (МПГА и МПГБ) с последующим инкубированием в течение 10 дней при температуре 37 °С.

Режим лиофилизации штамма отработывали на лиофильной установке LZ-9 (Friger, Чехия). В качестве криопротекторных сред применяли обезжиренное молоко и сахарозо-желатиновую среду.

В данной работе использовалась система поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) [22], которая была дополнена новыми этапами, отвечающими современным требованиям хранения коллекционных штаммов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для повышения качества и стандартности производственных, референтных и вакцинных штаммов необходимо тщательное изучение стабильности их биологических свойств с характерными для

³ СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней: утв. постановлением главного государственного санитарного врача РФ 28.01.2021 № 4. <https://docs.cntd.ru/document/573660140> (дата обращения: 15.11.2022).

⁴ Шашкаров В. П., Гайнутдинов Т. Р., Идрисов А. М., Гурьянова В. А., Вагин К. Н., Василевский Н. М. и др. Методические рекомендации по использованию ионизирующего излучения для инаktivации возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Казань: МеДДоК; 2021. 17 с. <https://doi.org/10.31016/fctrb-viev-2020-2>

² Лабораторная диагностика сапа: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. 22 с.

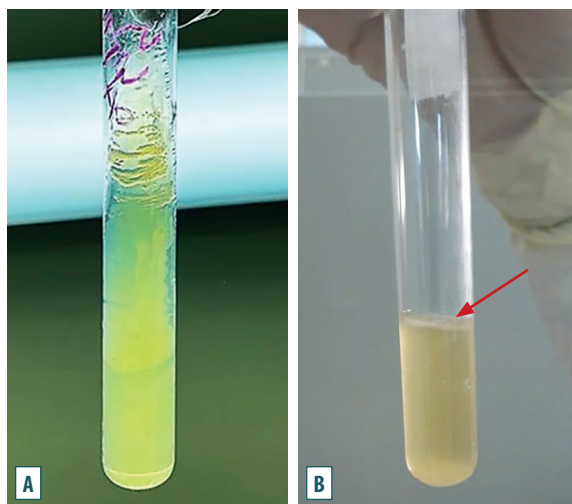


Рис. 1. Рост штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) на МПГА (А) и МПГБ (В). Красной стрелкой обозначено пристеночное кольцо и нежная пленка на поверхности среды

Fig. 1. Growth of *Burkholderia mallei* strain 5584 (Master seed) on beef-extract glycerol agar (A) and beef-extract glycerol broth (B). The ring and pellicle are indicated with a red arrow on the surface of the growth medium

возбудителя генетически закрепленными признаками: морфологическими, биохимическими, антигенными и другими [17, 24, 25]. Работа по определению жизнеспособности и изучению биологических свойств производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) была проведена с использованием разработанной ранее и дополненной нами системы поддержания данного штамма возбудителя сапа, применяемого для изготовления диагностикумов, в соответствии с современными требованиями к хранению микроорганизмов [8, 22, 26].

Полученные результаты исследований показали, что штамм на МПГА давал рост в виде полупрозрачных гладких колоний с перламутровым оттенком, сливающихся на 3–5-е сут после посева в сплошной налет

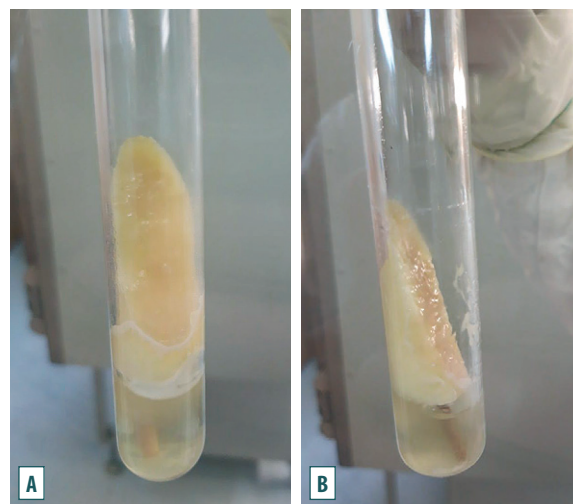


Рис. 2. Рост штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) на картофельной среде Павловского: 2-суточная культура (А); 5-суточная культура (В)

Fig. 2. Growth of *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) on Pavlovsky potato agar: 2-day culture (A); 5-day culture (B)

на поверхности среды (рис. 1А). Культура бактерий на МПГБ на 3–5-е сут вызывала помутнение среды, на ее поверхности образовывалась нежная пленка и пристеночное кольцо (рис. 1В), а также наблюдался вязкий осадок, поднимающийся со дна пробирки шпатель и разбивающийся при встряхивании.

На картофельной среде Павловского 2-суточная культура росла в виде медообразного налета ярко-желтого цвета (рис. 2А), 5-суточная культура – в виде слизистого налета с более темной окраской (рис. 2В).

В препарате «висячая капля» клетки были неподвижны, но наблюдали броуновское движение. Мазок штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), приготовленный из 2-суточной культуры и окрашенный по Граму, при микроскопии в иммерсионной системе представлял собой зернистые палочки с закругленными концами. Бактерии – грамотрицательные, окрашивались в розовый цвет, вызывали свертывание молока без дальнейшей пептонизации (рис. 3А). При росте в бульоне наблюдали изменение цвета индикаторной бумажной полоски, что указывало на образование бактериями сероводорода (рис. 3В). Не разжижали 12%-й желатин (рис. 3С), не образовывали индол (цвет индикатора не изменялся) и каталазу.

Культура штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) не вызывала изменения окраски сред Гисса на желтый цвет и образования пузырьков газа в поплавах, так как не ферментировала сахара.

Для безопасной работы с возбудителями I–II групп патогенности (опасности), в частности при получении антигенов и гипериммунных сывороток к ним, проводят их инактивацию различными методами (физическими, механическими, химическими и др.). Предыдущая схема поддержания штамма включала инактивацию клеток автоклавированием при температуре 120 °C в течение 15 мин, что приводило к полному их разрушению. Поэтому был проведен подбор дозы гамма-облучения для штамма *Burkholderia*

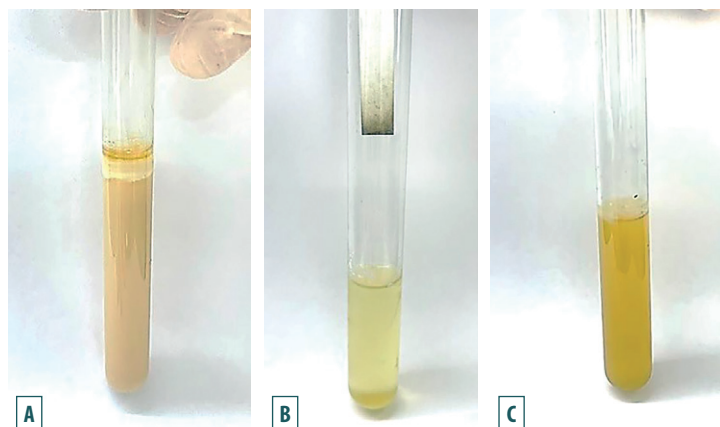


Рис. 3. Свертывание молока без дальнейшей пептонизации (А); образование сероводорода (В); отсутствие разжижения 12%-го желатина (С) культурой *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed)

Fig. 3. Milk coagulation without further peptonization (A); formation of hydrogen sulfide (B); no liquefaction of 12% gelatin (C) by *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed)

mallei 5584 (Master seed), результаты которого приведены в таблице 1.

Установлено, что облучение в дозе 30 и 35 кГр полностью инактивировало штамм, поэтому в дальнейшей работе использовалась доза 30 кГр.

Проверка агглютинабельных свойств сапной сыворотки, полученной на гамма-облученный антиген, в РА на стекле показала положительную реакцию в виде мелкозернистого агглютината, образовавшегося в течение 1–2 мин.

Патогенность штамма определяли заражением золотистых хомячков путем введения 2-суточной культуры, выращенной на МПГА при температуре 37 °С в течение 48 ч, смывой физиологическим раствором в дозе 1×10^9 м. к./см³ подкожно в область затылка, что вызывало гибель животных на 5–10-е сут. При вскрытии наблюдали следующую патолого-анатомическую картину, характерную для данного возбудителя: на месте введения имела гнойно-некротическая язва, множественные некротические узелки диаметром 2–3 мм во внутренних органах (печени, селезенке, легких). Из посевов, сделанных из внутренних органов, крови из сердца и места введения, выделена чистая культура возбудителя сапа.

Проверка антигенных свойств штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) с сывороткой, полученной на его введение лабораторным животным, показала, что в пробирочной РА титр составил 1:1600, в РСК – 1:320, в пластинчатой РА – 1:120.

Полученная сыворотка дает перекрестные реакции в РА и РСК со штаммами возбудителей мелиоидоза – 1:1600 и *Alcaligenes faecalis* – 1:40.

Таблица 2
Первоначальная и дополненная схемы поддержания штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed)

Table 2
Original and supplemented techniques of *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) maintenance

№ п/п	Первоначальная схема	Дополненная схема
1	Регулярные пересевы культуры штамма, хранящегося в нативном виде на МПГА (каждые 30 дней), с проверкой биологических свойств один раз в год	
2	Не проводили	Определение жизнеспособности и изучение биологических свойств (один раз в 5 лет) лиофилизированной культуры штамма
3	Проведение пассажа через организм чувствительных моделей (золотистых хомячков) один раз в год	Проведение пассажа через организм чувствительных моделей (золотистых хомячков) один раз в 5 лет
4	Не проводили	Проведение лиофилизации выделенной культуры после пассажа
5	Проверка культуральных свойств и морфологии колоний посевом на МПГА, МПГБ и картофельную среду Павловского	
6	Проверка тинкториальных свойств и морфологии клеток микрокопированием мазков, окрашенных по Граму	
7	Проверка подвижности и броуновского движения клеток микрокопированием культуры в препарате «висячая капля»	
8	Образование индола	
9	Проверка наличия каталазы	
10	Образование сероводорода	
11	Проверка ферментативных свойств посевом культуры на среды Гисса и обезжиренное молоко	
12	Инактивация штамма автоклавированием при температуре 120 °С в течение 15 мин	Инактивация штамма гамма-облучением при 30 кГр в течение 2 ч
13	Не проводили	Проверка агглютинабельных свойств в РА на стекле с сапной сывороткой
14	Проверка патогенности путем введения культуры золотистым хомячкам	
15	Проверка антигенных свойств и антигенной специфичности иммунизацией кроликов и проверкой сыворотки крови в пластинчатой РА и РСК	

Таблица 1
Определение инактивирующей дозы гамма-облучения штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed)

Table 1
Determination of *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) inactivation dose by gamma irradiation

№ п/п	Доза гамма-облучения, кГр	Инактивация антигена
1	15	–
2	20	–
3	25	–
4	30	+
5	35	+

В целях сохранения чистоты уникальных производственных и эталонных штаммов микроорганизмов проводят их пассирование через организм чувствительных лабораторных животных [15, 27, 28, 29]. В связи с этим для поддержания биологических свойств производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) согласно паспортным данным осуществлено его пассирование на золотистых хомячках. При этом была выделена чистая культура штамма, которую проверили на аутентичность и заложили на дальнейшее хранение в нативном виде, с последующими пересевами на МПГА каждые 30 дней.

Предыдущая система поддержания штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) предусматривала его хранение в нативном виде, что способствовало

накоплению генетических мутаций и, как следствие, изменению свойств бактериальной клетки [22]. Так как первостепенной задачей коллекций микроорганизмов является сохранение штаммов в неизменном состоянии в течение длительного времени, внесли в систему этап лиофилизации, которую проводили по следующему режиму:

- замораживание культуры в течение 12 ч;
- перенос культуры в морозильную установку, охлаждение плиты до -52°C ;
- включение вакуума;
- лиофилизация в автоматическом режиме в течение 12 ч;
- включение обогрева (р) через 17 ч с момента загрузки культуры при следующих параметрах: температура плиты $+10^{\circ}\text{C}$, температура среды 0°C ;
- включение обогрева (р + 1) через 18 ч при следующих параметрах: температура плиты $+20^{\circ}\text{C}$, температура среды $+5^{\circ}\text{C}$, вакуум 0,5 trr;
- окончание сушки через 24 ч: температура плиты $+32^{\circ}\text{C}$, температура среды $+25^{\circ}\text{C}$, вакуум 0,05 trr.

После сушки бактерии проверяли на жизнеспособность и сохранность аутентичности заявленным паспортным данным, затем закладывали на хранение в лиофилизированном виде при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и через 5 лет определяли жизнеспособность и сохранность биологических свойств [30].

Параллельно поддерживали культуру штамма в нативном виде с пересевами через 28–30 дней на МПГА и сравнительной проверкой биологических свойств один раз в год.

В результате проведенной работы по хранению штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) в течение 5 лет с использованием усовершенствованной системы его поддержания было установлено, что он сохраняет свою жизнеспособность, при этом исключается утрата или изменение его морфологических, биохимических, серологических и вирулентных свойств.

Таким образом, усовершенствованная система поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) включает этапы, представленные в таблице 2.

Применение метода лиофилизации позволило увеличить сроки хранения штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) и обеспечить стабильность его биологических свойств в течение всего срока хранения.

Кроме того, сублимационная сушка позволила проводить пассаж штамма на чувствительных лабораторных животных один раз в 5 лет, что более выгодно и безопасно с экономической и биологической точек зрения.

Вся работа, проводимая со штаммами возбудителей I–II групп патогенности (опасности), представляет собой угрозу потенциального выделения патогенного биологического агента в воздух производственной зоны, среду обитания человека и заражения персонала. Для этого должны быть разработаны надежные методы их инактивации. В нашем случае был применен метод гамма-облучения. При этом определили оптимальную дозу, составившую 30 кГр, которая позволила надежно инактивировать штамм и сохранить структурную целостность бактериальных клеток, являющихся антигеном для получения гипериммунных сывороток и постановки серологических реакций.

Таким образом, усовершенствованная система поддержания штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed) отвечает современным требованиям, предъявляемым к хранению коллекционного фонда возбудителей особо опасных болезней в течение длительного времени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы была усовершенствована система поддержания производственного штамма *Burkholderia mallei* 5584 (Master seed), обеспечивающая сохранение его биологических свойств, необходимых для производства качественных сапных диагностикумов, используемых при проведении ежегодных диагностических исследований для своевременного выявления больных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мельникова Л. А., Букова Н. К., Макаев Х. Н., Иванова С. В., Мустафина Э. Н., Савкова М. Г. Сап: особо опасное инфекционное заболевание, его характеристика, эпизоотология и диагностика. *Ветеринарный врач*. 2016; 4: 22–25. EDN: WHTGVJ
2. Букова Н. К., Скляров О. Д., Бабичева О. В. Сап: ретроспектива и перспективы создания вакцины. *Ветеринария*. 2020; 10: 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.03-08>
3. Sarkar-Tyson M., Titball R. W. *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* In: *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases*. Ed. by A. D. T. Barrett, L. R. Stanberry. Academic Press; 2009; Chapter 43: 831–843. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369408-9.00043-3>
4. Inglis T. J. J., Merritt A. J. *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. In: *Molecular Medical Microbiology*. Ed. by Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, J. Schwartzman. 2nd ed. Academic Press; 2015; Chapter 42: 769–791. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00042-1>
5. Ряпис Л. А., Илюхин В. И., Сенина Т. В., Шубникова Е. В., Будченко А. А., Куликова А. С. Сравнительная характеристика буркхолдерий группы *pseudomallei*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 90 (1): 3–8. EDN: QAYELT
6. 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. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-3-117-126>
7. Ветчинин С. С., Щит И. Ю., Шевяков А. Г., Бикетов С. Ф. Возможность выявления штаммов возбудителей сапа и мелиоидоза при сочетании методов иммуноблоттинга и амплификации ДНК. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9 (2): 404–408. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-2-404-408>
8. Букова Н. К., Скляров О. Д., Юров К. П., Мельникова Л. А. Неспецифические реакции при диагностике сапа лошадей. *Ветеринария*. 2009; 9: 21–24. EDN: KXURCR
9. Erdemsurakh O., Ochirbat K., Gombosuren U., Tserendorj B., Purevdorj B., Vanaabaatar B., et al. Seroprevalence of equine glanders in horses in the central and eastern parts of Mongolia. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2020; 82 (9): 1247–1252. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0219>
10. Захарова И. Б., Топорков А. В., Викторов Д. В. Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 95 (6): 103–109. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-6-103-109>
11. Khan I., Wieler L. H., Melzer F., Elschner M. C., Muhammad G., Ali S., et al. Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2013; 60 (3): 204–221. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01342.x>
12. Falcão M. V. D., Silveira P. P. M., Santana V. L. A., da Rocha L. O., Chaves K. P., Mota R. A. First record of *Burkholderia mallei* Turkey 10 strain originating from glanderous horses from Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2019; 50 (4): 1125–1127. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00113-2>
13. Shakibamehr N., Mosavari N., Harzandi N., Mojgani N. Designing of Western blot technique for glanders diagnosing in Iran. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2021; 99:103403. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103403>
14. Singha H., Elschner M. C., Malik P., Saini S., Tripathi B. N., Mertens-Scholz K., et al. Molecular typing of *Burkholderia mallei* isolates from equids with glanders, India. *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27 (6): 1745–1748. <https://doi.org/10.3201/eid2706.203232>

15. 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: 99–121. EDN: LAKPFX
 16. Утепешева А. А. Влияние условий хранения на выживаемость коллекционных бактериальных штаммов. *ЭкоБиоТех 2019: материалы VI Всероссийской конференции с международным участием (Уфа, 1–4 октября 2019 г.)*. Уфа: Уфимский институт биологии; 2019; 318–322. EDN: LIYOZC
 17. Охупкина В. Ю. Методы поддержания микробных культур. Часть 2. Лиофилизация. *Теоретическая и прикладная экология*. 2009; 4: 21–32. EDN: KZTIUJ
 18. Мельникова Л., Иванова С., Галиуллин А., Макаев Х. Определение жизнеспособности и сохранность биологических свойств штаммов возбудителя сапа при длительном хранении. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2019; 2: 60–63. EDN: EOHRGG
 19. Дятлов И. А. Коллекции патогенных микроорганизмов – значение и проблемы. *Бактериология*. 2018; 3 (1): 5–6. EDN: XZFBUL
 20. Грачева И. В., Осин А. В., Кутырев В. В. Принципы формирования коллекционных фондов штаммов микроорганизмов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; (2): 16–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-2-16-23>
 21. Smith D. Culture collections. In: *Advances in Applied Microbiology*. Ed. by S. Sariaslani, G. M. Gadd. 2012; 79 (Chapter 4): 73–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8>
 22. Букова Н. К. Соп: разработка, изготовление, контроль и стандартизация диагностикомов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.; 1999. 40 с.
 23. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. М. О. Биргера. М.: Медицина; 1982. 464 с.
 24. Старовойтова С. А., Скроцкая О. И. Пробиотики на основе трансгенных микроорганизмов. *Biotechnologia Acta*. 2013; 6 (1): 34–45. EDN: PZMRKZ
 25. Антонов В. А., Илюхин В. И. Молекулярно-биологические подходы к диагностике и внутривидовому типированию возбудителей сапа и мелиоидоза. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2005; (2): 3–9. EDN: GYFPMI
 26. Артемьева 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. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247>
 27. Охупкина В. Ю., Пяткова Н. В., Барамзина Г. В., Фоменков О. О., Федотов А. К. Опыт длительного хранения штаммов возбудителя туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (4): 69–74. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-4-69-74>
 28. Инструкция по лиофильному высушиванию возбудителей инфекционных заболеваний I–IV групп на коллекторном аппарате системы К. Е. Долинова от 21 марта 1979 г. МЗ СССР, 1979.
 29. Червякова Н. С., Валова Т. В., Осин А. В. Использование лиофильных аппаратов камерного типа в коллекциях патогенных микроорганизмов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 65–68. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-3-65-68>
 30. Мельникова Л. А., Иванова С. В., Макаев Х. Н., Букова Н. К. Влияние сред высушивания на устойчивость возбудителя сапа в процессе лиофилизации и дальнейшем хранении. *Ветеринарный врач*. 2017; 3: 17–20. EDN: YRWHL
- ## REFERENCES
1. Melnikova L. A., Bukova N. K., Makaev Kh. N., Ivanova S. V., Mustafina I. N., Savkova M. G. Glanders – particularly dangerous disease: characterization, epizootology and detection. *Veterinarian*. 2016; 4: 22–25. EDN: WHTGVJ (in Russ.)
 2. Bukova N. K., Sklyarov O. D., Babicheva O. V. Glanders: lookback study and vaccine's creation current prospects. *Veterinariya*. 2020; 10: 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.03-08> (in Russ.)
 3. Sarkar-Tyson M., Titball R. W. *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* In: *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases*. Ed. by A. D. T. Barrett, L. R. Stanberry. Academic Press; 2009; Chapter 43: 831–843. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369408-9.00043-3>
 4. Inglis T. J. J., Merritt A. J. *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. In: *Molecular Medical Microbiology*. Ed. by Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, J. Schwartzman. 2nd ed. Academic Press; 2015; Chapter 42: 769–791. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00042-1>
 5. Ryapis L. A., Ilyukhin V. I., Senina T. V., Shubnikova E. V., Budchenko A. A., Kulikova A. S. Comparative characteristic of *Burkholderia pseudomallei* group. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2013; 90 (1): 3–8. EDN: QAYELT (in Russ.)
 6. 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. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-3-117-126> (in Russ.)
 7. Vetchinin S. S., Shchit I. Y., Shevyakov A. G., Biketov S. F. The possibility of identifying individual strains of glanders and melioidosis pathogens with a combination of immunoblotting and DNA amplification methods. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2019; 9 (2): 404–408. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-2-404-408> (in Russ.)
 8. Bukova N. K., Scljarov O. D., Yurov K. P., Melnikova L. A. The problem of nonspecific reactions in diagnostic of glanders in horses. *Veterinariya*. 2009; 9: 21–24. EDN: KXURCR (in Russ.)
 9. Erdemsurakh O., Ochirbat K., Gombosuren U., Tserendorj B., Purevdorj B., Vanaabaatar B., et al. Seroprevalence of equine glanders in horses in the central and eastern parts of Mongolia. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2020; 82 (9): 1247–1252. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0219>
 10. Zakharova I. B., Toporkov A. V., Viktorov D. V. Melioidosis and glanders: current state and actual issues of epidemiological surveillance. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 95 (6): 103–109. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-6-103-109> (in Russ.)
 11. Khan I., Wieler L. H., Melzer F., Elschner M. C., Muhammad G., Ali S., et al. Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2013; 60 (3): 204–221. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01342.x>
 12. Falcão M. V. D., Silveira P. P. M., Santana V. L. A., da Rocha L. O., Chaves K. P., Mota R. A. First record of *Burkholderia mallei* Turkey 10 strain originating from glanderous horses from Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2019; 50 (4): 1125–1127. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00113-2>
 13. Shakibamehr N., Mosavari N., Harzandi N., Mojgani N. Designing of Western blot technique for glanders diagnosing in Iran. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2021; 99:103403. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103403>
 14. Singha H., Elschner M. C., Malik P., Saini S., Tripathi B. N., Mertens-Scholz K., et al. Molecular typing of *Burkholderia mallei* isolates from equids with glanders, India. *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27 (6): 1745–1748. <https://doi.org/10.3201/eid2706.203232>
 15. Pohilenko V. D., Baranov A. M., Detushev K. V. Methods for long-term storage of collection cultures of microorganisms and trends of the development. *University Proceedings. Volga Region. Medical Sciences*. 2009; 4: 99–121. EDN: LAKPFX (in Russ.)
 16. Utepesheva A. A. Influence of storage conditions on survivability of collectible bacterial strains. *EcoBioTech 2019: Proceedings of the VIth All-Russian Conference with international participation (Ufa, October 1–4, 2019)*. Ufa: Ufa Institute of Biology; 2019; 318–322. EDN: LIYOZC (in Russ.)
 17. Okhapkina V. Yu. Methods of microbe cultures maintenance. Part 2. Liophilisation. *Theoretical and Applied Ecology*. 2009; 4: 21–32. EDN: KZTIUJ (in Russ.)
 18. Melnikova L., Ivanova S., Galiullin A., Makaev Kh. The determination of the viability and safety of biological properties of strains of the glanders agent during long-term storage. *Veterinariya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh*. 2019; 2: 60–63. EDN: EOHRGG (in Russ.)
 19. Dyatlov I. A. Problems of pathogenic microorganisms collections. *Bacteriology*. 2018; 3 (1): 5–6. EDN: XZFBUL (in Russ.)
 20. Gracheva I. V., Osin A. V., Kutyrev V. V. Principles of formation of collection funds of microorganism strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; (2): 16–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-2-16-23> (in Russ.)
 21. Smith D. Culture collections. In: *Advances in Applied Microbiology*. Ed. by S. Sariaslani, G. M. Gadd. 2012; 79 (Chapter 4): 73–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8>
 22. Bukova N. K. Glanders: development, production, control and standardization of diagnostic agents: Author's abstract of Thesis for degree of Dr. Sci. (Biology). Moscow; 1999. 40 p. (in Russ.)
 23. Manual for microbiological and virological test methods. Ed. by M. O. Birger. Moscow: Meditsina; 1982. 464 p. (in Russ.)
 24. Starovoitova S. A., Skrotska O. I. Probiotics based on transgenic microorganisms. *Biotechnologia Acta*. 2013; 6 (1): 34–45. EDN: PZMRKZ (in Russ.)
 25. Antonov V. A., Ilyukhin V. I. Molecular-genetic approaches to diagnosis and intraspecific typing of causative agents of glanders and melioidosis. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2005; (2): 3–9. PMID: 15954468 (in Russ.)
 26. 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. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247>
 27. Okhapkina V. Yu., Pyatkova N. V., Baramzina G. V., Fomenkov O. O., Fedotov A. K. Long-term storage of tularemia agent strains. *Problems*

of *Particularly Dangerous Infections*. 2018; (4): 69–74. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-4-69-74> (in Russ.)

28. Instructions on freeze-drying of I–IV Class infectious agents using collector-type machine of K. E. Dolinov system, developed on March 21, 1979, USSR Ministry of Health, 1979. (in Russ.)

29. Chervyakova N. S., Valova T. V., Osin A. V. Application of freeze-dryers of chamber type in the collections of pathogenic microorganisms. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; (3): 65–68. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-3-65-68> (in Russ.)

30. Melnikova L. A., Ivanova S. V., Makaev Kh. N., Bukova N. K. The influence of media on drying stability of the causative agent of glanders in the process of lyophilization and subsequent storage. *Veterinarian*. 2017; 3: 17–20. EDN: YRWHIL (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 30.10.2023

Поступила после рецензирования / Revised 11.12.2023

Принята к публикации / Accepted 23.01.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Артемяева Елена Александровна, канд. вет. наук, начальник отдела – Государственная коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

Мельникова Лилия Арсентьевна, канд. вет. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела – Государственная коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

Зайнуллин Ленар Ильгизарович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, ученый секретарь ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3086-4921>, e-mail: lenarilgizayn@mail.ru

Букова Наталья Константиновна, д-р биол. наук, профессор, ученый секретарь ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5876-6020>, e-mail: bukova@vgnki.ru

Elena A. Artemeva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Department – State Collection of Microorganisms, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

Liliya A. Melnikova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Department – State Collection of Microorganisms, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

Lenar I. Zaynullin, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Scientific Secretary, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3086-4921>, e-mail: lenarilgizayn@mail.ru

Nataliya K. Bukova, Dr. Sci. (Biology), Professor, Scientific Secretary, The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5876-6020>, e-mail: bukova@vgnki.ru

Вклад авторов: Артемяева Е. А. – статистическая обработка результатов, оформление статьи; Мельникова Л. А. – планирование исследования, проведение экспериментов; Зайнуллин Л. И. – помощь в оформлении статьи; Букова Н. К. – помощь в оформлении статьи.

Contribution: Artemeva E. A. – statistic processing of results, paper preparation; Melnikova L. A. – study design, experimentation; Zaynullin L. I. – assistance in paper preparation; Bukova N. K. – assistance in paper preparation.

К 75-летию Владимира Александровича Мищенко

Владимир Александрович Мищенко родился 4 февраля 1949 г. в селе Староверовка Харьковской области. В 1971 г. после успешного окончания Харьковского зооветеринарного института работал ветврачом Староверовской птицефабрики. Но его жизнь изменил интерес к науке, служению которой он посвятил свою деятельность, поступив в 1973 г. на работу во Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт в должности старшего лаборанта. За эти 50 лет Владимир Александрович прошел славный путь российского ученого – в 1977 г. защитил кандидатскую диссертацию, а в 1991 г. стал самым молодым доктором наук в институте. В 1994 г. ему присвоено ученое звание профессора. В трудовой книжке В. А. Мищенко в разные периоды имеются записи: «заведующий лабораторией индикации вирусов», «ученый секретарь института», «заведующий лабораторией болезней крупного рогатого скота», «заместитель директора по производству», «руководитель отдела мониторинга болезней крупного рогатого скота и свиней».

Проводимые под руководством В. А. Мищенко научные исследования по разработке современных средств и методов диагностики ящура и других болезней животных известны широкому кругу ученых в России и за ее пределами. Им впервые диагностирована болезнь Ауески у однокорных верблюдов, выделен возбудитель репродуктивно-респираторного синдрома свиней в России и разработаны средства и методы диагностики и его специфической профилактики. Созданы и внедрены в ветеринарную практику вакцины против рота- и коронавирусной инфекции, парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота и другие иммунобиологические препараты.

Результаты исследований В. А. Мищенко опубликованы более чем в 260 научных работах – это монографии, научные статьи, доклады на конференциях, патенты и авторские свидетельства. Кроме того, разработано большое количество методических указаний. Владимир Александрович является разработчиком 20 видов вакцин, 15 диагностических наборов, соавтором более 30 нормативных документов в области ветеринарной вирусологии. Ему присвоено почетное звание «Заслуженный изобретатель Российской Федерации». За свой вклад в развитие отрасли В. А. Мищенко награжден 5 медалями ВДНХ.



Обладая профессиональной компетентностью и личностными качествами, профессор всегда охотно передает свои знания и огромный опыт молодому поколению, помогая соискателям при подготовке диссертаций. Его действия, всегда нацеленные на результат, незаурядный ум и стремление к постоянному саморазвитию помогают достойно выполнять ответственную роль наставника. Под его научным руководством защищены 22 кандидатские и 3 докторские диссертации. Владимир Александрович востребован как консультант на сельскохозяйственных предприятиях, и в качестве лектора для аспирантов, и на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов.

Мищенко В. А. является членом ученого совета, диссертационных советов ФГБУ «ВНИИЗЖ» и ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, научным руководителем двух аспирантов, и мы уверены, что Владимир Александрович находится в расцвете творческих сил для решения задач, поставленных на следующие годы в области развития ветеринарии.

Владимир Александрович, верим: впереди у Вас еще много достижений. Желаем доброго здоровья, терпения в решении всех вопросов, бодрости и оптимизма, благополучия Вам и Вашим близким!

Николай Алексеевич Улупов (к 95-летию со дня рождения)



Николай Алексеевич Улупов родился 23 февраля 1928 года в селе Глухово Ставропольского района Владимирской области. С детских лет он принимал участие в сельскохозяйственных работах в местном колхозе. После школы поступил во Владимирский авиамеханический техникум, успешно окончив который, устроился наладчиком на ткацкую фабрику в г. Лакинске.

С 1949 по 1953 год проходил службу в рядах Советской Армии, в том числе в 1951–1953 годах – в Китайской Народной Республике (КНР) в составе военного контингента СССР под командованием трижды Героя Советского Союза А. И. Покрышкина в должности авиатехника. За оказанную помощь различным подразделениям специального назначения Народно-освободительной армии Китая в феврале 1951 года награжден Председателем КНР Мао Цзэдуном памятной медалью.

После демобилизации из рядов Советской Армии поступил в Московскую ветеринарную академию, которую окончил в 1959 году, и затем был направлен во Всесоюзный научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии (ВНИИВВиМ, г. Покров), где работал лаборантом, а затем младшим научным сотрудником.

В 1963–1966 годах был аспирантом ВНИИВВиМ, а в 1967 году защитил кандидатскую диссертацию.

В 1967 году избрался по конкурсу на должность старшего научного сотрудника Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института (ВНИИЯ, г. Владимир), где возглавил исследования по разработке методов культивирования, очистки от балластных белков, инактивации возбудителя ящура при изготовлении вакцин из лапинизированного вируса и способов сушки биопрепаратов. Он внес неоценимый вклад в технологию изготовления инактивированных вакцин из лапинизированного вируса ящура. Разработал бактерицидный способ очистки вирусосодержащей суспензии для приготовления стерильных вакцин без

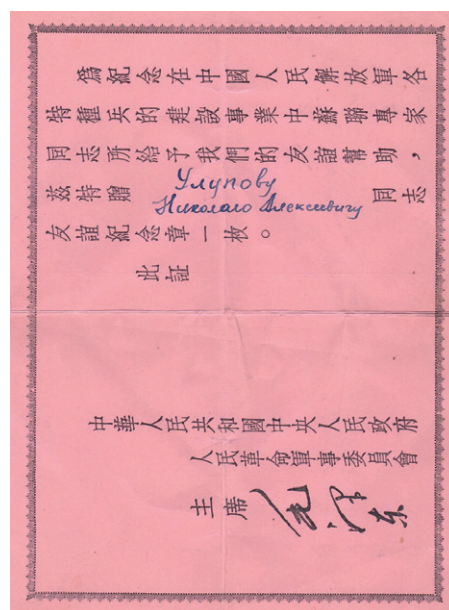
стерилизующей фильтрации. Такая технология изготовления препарата была внедрена на Сумской биофабрике, Табахмельском биокOMBинате, Покровском заводе биопрепаратов, заводе «Юрвецветбиопрепарат».

Улупов Н. А. разработал оригинальную методику инактивации лапинизированного вируса формальдегидом в присутствии ионов аммония, в результате уровень безопасности вакцин значительно увеличился. Он являлся автором изобретения по использованию димера этиленимина (аминоэтилэтиленимина) для инактивации вируса ящура при изготовлении противоящурных вакцин. Внедрение этого нового инактиванта позволило создать безопасные высокоэффективные и конкурентоспособные препараты из лапинизированного и культурального вирусов ящура.

Результаты научных изысканий Н. А. Улупова были обобщены в докторской диссертации, которую он успешно защитил в 1985 году. Ее основным направлением было совершенствование режимов репродукции, очистки и инактивации вируса ящура. Разработанная Николаем Алексеевичем методика очистки от балластных белков с помощью флокулянтов дала возможность получить стерильные высокоактивные препараты из лапинизированного вируса ящура всех серотипов.

Улуповым Н. А. опубликовано более 100 научных работ, подготовлено 5 кандидатов наук, которые продолжили его исследования. Он является автором 25 патентов Российской Федерации.

В 2003 году после тяжелой и продолжительной болезни Николай Алексеевич Улупов ушел из жизни. Светлая память о незаурядном человеке, новаторе в биологии, изобретателе и эффективном исследователе навсегда останется в наших сердцах.



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 "ARIAH")

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 ZONOTIC CORONAVIRUSES

Вакцина против чумы плотоядных, парвовирусного и коронавирусного энтеритов, аденовирусной инфекции собак «Карникан-4»

Лекарственная форма: лиофилизированный компонент (живая вакцина) – лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций; жидкий компонент (инактивированная вакцина) – суспензия для инъекций.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у вакцинированных собак к возбудителям чумы плотоядных, парвовирусного и коронавирусного энтеритов собак, аденовирусной инфекции собак серотипа 1 через 14 суток после двукратного введения продолжительностью не менее 12 месяцев.

Вакцину вводят внутримышечно или подкожно в дозе 1,0 см³ щенкам с 8–10-недельного возраста двукратно с интервалом в 21 сутки. За 10 дней до первой вакцинации необходимо провести дегельминтизацию животных.

Ревакцинацию животных проводят один раз в год однократно одной дозой вакцины. Взрослых, ранее не иммунизированных собак вакцинируют двукратно с интервалом в 21 сутки.



Вакцина против панлейкопении, калицивируса и вирусного ринотрахеита кошек «Карнифел РСН»

Лекарственная форма: суспензия для инъекций (инактивированная вакцина).

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у вакцинированных кошек к возбудителям панлейкопении, калицивирусной инфекции и вирусного ринотрахеита кошек через 14 суток после двукратного введения продолжительностью не менее 12 месяцев.

Вакцину вводят подкожно в дозе 1,0 см³ котят с 8–12-недельного возраста двукратно с интервалом в 21 сутки. За 10 дней до первой вакцинации необходимо провести дегельминтизацию животных.

Ревакцинацию животных проводят один раз в год однократно одной дозой вакцины. Взрослых, ранее не иммунизированных кошек вакцинируют двукратно с интервалом в 21 сутки.



Вакцина против чумы плотоядных, парвовирусного и коронавирусного энтеритов, аденовирусной инфекции и бешенства собак «Карникан-5R»

Лекарственная форма: лиофилизированный компонент (живая вакцина) – лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций; жидкий компонент (инактивированная вакцина) – суспензия для инъекций.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у вакцинированных собак к возбудителям чумы плотоядных, парвовирусного и коронавирусного энтерита собак, аденовирусной инфекции собак серотипа 2 и бешенства через 14 суток после двукратного введения продолжительностью не менее 12 месяцев.

Вакцину вводят внутримышечно или подкожно в дозе 1,0 см³ щенкам с 12-недельного возраста двукратно с интервалом в 21 сутки. За 10 дней до первой вакцинации необходимо провести дегельминтизацию животных.

Ревакцинацию животных проводят один раз в год однократно одной дозой вакцины. Взрослых, ранее не иммунизированных собак вакцинируют двукратно с интервалом в 21 сутки.

