



ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

СЕНТЯБРЬ | SEPTEMBER ТОМ 13 № 3 2024

SCIENTIFIC JOURNAL



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

ВСЕМИРНЫЙ ДЕНЬ БОРЬБЫ С БЕШЕНСТВОМ



World
RABIES
Day

SEPTEMBER 28



Эпизоотическая ситуация по бешенству на территории Московской области (2011–2023 гг.) и роль оральной вакцинации диких плотоядных

Разработка и валидация высокочувствительного метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ для обнаружения генома вируса классической чумы свиней

Динамика развития биопленок грибов *Nakaseomyces glabratus*

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, микотоксикологии, 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, micotoxicology, 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

ПЕРИОДИЧНОСТЬ: 4 раза в год

СЕНТЯБРЬ ТОМ 13 № 3 2024

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

FREQUENCY: 4 times a year

SEPTEMBER VOLUME 13 No. 3 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» по 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 <https://veterinary.arriah.ru/jour>

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 <https://veterinary.arriah.ru/jour>

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; Тел: 8 (4922) 26-15-12, доб. 22-27

Фото на обложке: [davemhuntingphotography / Ezumelimages / Lucky Kristianata / michj / Teka77 / Gettyimages](https://www.gettyimages.com/photos/davemhuntingphotography)

Редакционная коллегия:

Болдбаатар Базарцэрэн – PhD в области ветеринарии, Монгольский университет естественных наук, г. Улан-Батор, Монголия; <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>; 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 агроботаники РАН», г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; AuthorID: 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; ResearcherID: GZN-0688-2022

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; Scopus Author ID: 56411709300

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. Вышесесского», 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, ФГБУ «Центр ветеринарии», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат Нгурабе 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>; SciProfiles: 2500444; Loop profile: 1914298

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; SciProfiles: 2357633

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, ФГАУ 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: 17346898000

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

Равилос Рустам Хаметович – д-р вет. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>; AuthorID: 417736; Scopus Author ID: 6506697664; ResearcherID: Q-1810-2015

Русалев 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

Соколовы Марьяна – PhD в области ветеринарии, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID 21835149800; SciProfiles: 1947001

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; SciProfiles: 2392489

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; Scopus Author ID: 700563672; ResearcherID: AAA-8731-2020

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; Scopus Author ID: 57192078535

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, Рягузова Мария
Корректор: Диденко Полина
Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № Ф77-49033 от 21 марта 2012 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-pr.ru

Учредитель: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: ООО «Вейнрад», 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: 12 сентября 2024 года
Дата выхода в свет: 30 сентября 2024 года

16+

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 (Rosselkhoznadzor), Moscow, Russia, e-mail: j.melano@ya.ru

Executive Editor: Tatiana Nikeskina, Cand. Sci. (Biology), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia, e-mail: nikeskina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; AuthorID: 768521; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover photo: [davemhuntingphotography / Ezumelimages / Lucky Kristianata / michjh / Teka77 / Gettyimages](https://www.gettyimages.com/photos/davemhuntingphotography)

Editorial Board:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Mongolian University of Life Sciences, Ulan Bator, Mongolia; <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>; Scopus Author ID: 26634733300

Fedor I. Vasilevich – 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; ResearchID: 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

Alexei 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; ResearcherID: GZIN-0688-2022

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

Aleksandr V. Kononov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>; AuthorID: 768208; Scopus Author ID: 56411709300

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

Yurij V. Lamaka – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vyshelsky, 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, Center of Veterinary, 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. Mishchenko – 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. Mishchenko – 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>; SciProfiles: 2500444; Loop profile: 1914298

Vitalii 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; SciProfiles: 2357633

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. Plyushchikov – 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: 17346898000

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

Rustam K. Ravilov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, Kazan, Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>; AuthorID: 417736; Scopus Author ID: 6506697664; ResearcherID: Q-1810-2015

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. Sisayagin – 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; SciProfiles: 1947001

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

Alexander M. Subotsin – 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; SciProfiles: 2392489

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; Scopus Author ID: 7005636727; ResearcherID: AAA-8731-2020

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; Scopus Author ID: 57192078535

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: Polina Didenko

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 Ural-Press subscription agency: Subscription code – 83862; 127015, Moscow, Novodmitrovskaya str., 5a, str. 4; +7 (499) 700-05-07; fax: 789-86-36 add. 3777; e-mail: moscow@ural-press.ru

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: September 12, 2024

Issued: September 30, 2024

16+

Creative Commons
Attribution 4.0 License



Содержание

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ КРС

203 Альтернативные методы лечения мастита крупного рогатого скота: перспективы и ограничения (обзор)
В. Д. Зубарева, О. В. Соколова, М. В. Бытов, А. С. Кривоногова, С. В. Вольская

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

214 Эпизоотическая ситуация по бешенству на территории Московской области (2011–2023 гг.) и роль оральной вакцинации диких плотоядных
А. В. Парошин, С. Б. Воскресенский, К. Н. Груздев, Е. В. Чернышова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

223 Разработка и валидация высокочувствительного метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ для обнаружения генома вируса классической чумы свиней
А. С. Садчикова, А. С. Иголкин, Р. С. Чернышев, А. А. Козлов, И. С. Колбин, А. В. Спрыгин, Д. А. Бирюченков, И. А. Чвала, А. Мазлум

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

234 Клинические признаки и патолого-анатомические изменения при кластридиозной энтеротоксемии кроликов
А. С. Метлева, М. Н. Хакимзянова, Е. Е. Сионихин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

242 Эффективные меры борьбы с эймериозами птиц в условиях Республики Дагестан
А. Б. Дагаева, Б. М. Махиева

248 Применение вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для индеек, гусей и уток
Н. В. Мороз, С. В. Фролов, В. Н. Ирза, Л. О. Щербакова, В. Ю. Кулаков

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

255 Обзор эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных в Республике Дагестан в 2023 году
М. М. Микаилов, Н. Р. Будулов, Ш. А. Гунашев, Э. А. Яникова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

261 Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока
М. Н. Исакова, Я. Ю. Лысова

269 Динамика развития биопленок грибов *Nakaseomyces glabratus*
Е. М. Ленченко, Н. П. Сачивкина, А. В. Лисейцев

275 Характеристика микробиоты кишечного тракта у телят с различными формами острой катаральной бронхопневмонии
Н. Ю. Родионова, Е. В. Куликов, Е. Д. Сотникова, И. Е. Прозоровский, Ю. А. Ватников, В. Б. Руденко, П. А. Руденко

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

282 Ситуационный анализ по болезням свиней: общая оценка рисков и приоритизация эпизоотических угроз для систем биозащиты свиноводческих предприятий в Российской Федерации
А. С. Оганесян, М. А. Шибаев, О. Н. Петрова, Н. Е. Баскакова, А. К. Караулов

292 Биохимические показатели крови у самок и самцов лисиц платинового окраса в онтогенезе
И. И. Окулова, Ю. А. Березина, А. С. Сюткина, И. А. Плотников, О. Ю. Беспярых, И. А. Домский

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

298 Первое выявление рекомбинантного варианта вируса африканской чумы свиней в Российской Федерации (краткое сообщение)
А. С. Иголкин, Р. С. Чернышев, Н. Г. Зиняков, Е. О. Морозова, А. Р. Шотин, К. Н. Груздев, И. А. Чвала, А. Мазлум

Contents

REVIEWS | BOVINE DISEASES

203 Alternative treatment methods for bovine mastitis: prospects and limitations (review)
A. D. Zubareva, O. V. Sokolova, M. V. Bytov, A. S. Krivonogova, S. V. Volskaya

ORIGINAL ARTICLES | ANIMAL RABIES

214 Rabies situation in the Moscow Oblast in 2011–2023 and the role of oral vaccination of wild carnivores against rabies
A. V. Paroshin, S. B. Voskresensky, K. N. Gruzdev, E. V. Chernyshova

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

223 Development and validation of highly sensitive multiplex real-time RT-PCR assay for detection of classical swine fever virus genome
A. S. Sadchikova, A. S. Igolkin, R. S. Chernyshev, A. A. Kozlov, I. S. Kolbin, A. V. Sprygin, D. A. Biryuchenkov, I. A. Chvala, A. Mazloum

ORIGINAL ARTICLES | DISEASES OF SMALL PETS

234 Clinical signs and post-mortem lesions caused by clostridial enterotoxemia in rabbits
A. S. Metleva, M. N. Khakimzyanova, E. E. Sionikhin

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

242 Effective measures to control eimeriosis in poultry in the Republic of Dagestan
A. B. Dagaeva, B. M. Makhieva

248 Use of "ARRIAH-AviFluVac" vaccine in turkeys, geese and ducks
N. V. Moroz, S. V. Frolov, V. N. Irza, L. O. Scherbakova, V. Yu. Kulakov

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

255 Overview of animal infectious disease situation in the Republic of Dagestan in 2023
M. M. Mikhailov, N. R. Budulov, Sh. A. Gunashev, E. A. Yanikova

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

261 The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota
M. N. Isakova, Ya. Yu. Lysova

269 Dynamics of *Nakaseomyces glabratus* biofilm formation
E. M. Lenchenko, N. P. Sachivkina, A. V. Liseitsev

275 Characteristics of the intestinal tract microbiota in calves with various forms of acute catarrhal bronchopneumonia
N. Yu. Rodionova, E. V. Kulikov, E. D. Sotnikova, I. E. Prozorovskiy, Yu. A. Vatnikov, V. B. Rudenko, P. A. Rudenko

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

282 Situational analysis on porcine diseases: general risk assessment and prioritization of epizootic threats to biosecurity systems of pig establishments in the Russian Federation
A. S. Oganessian, M. A. Shibayev, O. N. Petrova, N. Ye. Baskakova, A. K. Karaulov

292 Biochemical blood parameters in platinum fox females and males in ontogenesis
I. I. Okulova, Yu. A. Berezina, A. S. Syutkina, I. A. Plotnikov, O. Yu. Bespyatykh, I. A. Domsky

BRIEF COMMUNICATIONS

298 First detection of recombinant variant of African swine fever virus in the Russian Federation (brief communication)
A. S. Igolkin, R. S. Chernyshev, N. G. Zinyakov, E. O. Morozova, A. R. Shotin, K. N. Gruzdev, I. A. Chvala, A. Mazloum

От главного редактора журнала «Ветеринария сегодня»

Уважаемые читатели и коллеги!

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня» представляет очередной номер журнала, посвященный Всемирному дню борьбы с бешенством, который ежегодно отмечается 28 сентября.

Бешенство – вирусное заболевание, поражающее центральную нервную систему млекопитающих (собак, кошек, лис и т. д.), в том числе людей. По данным Всемирной организации здравоохранения животных, вирус бешенства присутствует в слюне и мозге инфицированных животных и передается через укус. Основным резервуаром возбудителя являются дикие плотоядные животные, а также, в некоторых регионах, – летучие мыши. По оценке Всемирной организации здравоохранения, бешенство входит в пятерку зоонозов, имеющих большое социальное значение, представляет смертельную угрозу для человека и животных, уносит ежегодно жизни около 59 000 человек. Уровень смертности среди людей достигает 100%. Благодаря современным достижениям в области науки ветеринарные службы многих европейских стран достигли искоренения этого заболевания. Однако в большинстве стран мира, включая Россию, эпизоотическая ситуация по бешенству остается неблагоприятной.

Глобальная инициатива Всемирной организации здравоохранения, Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций, Всемирной организации здравоохранения животных об элиминации переносимого собаками бешенства среди людей к 2030 году получила всемирную поддержку. В нашей стране принят ряд мер на законодательном уровне по профилактике бешенства, эпизоотологическому мониторингу, расширению научно-исследова-



тельских работ, организации разъяснительных мероприятий в средствах массовой информации.

Призываем всех внести свой вклад в решение проблемы бешенства.

С уважением,
главный редактор журнала
доктор биологических наук, профессор
Константин Николаевич Груздев

Редакция журнала «Ветеринария сегодня» поздравляет доктора Эммануэль Субейран со вступлением в должность генерального директора ВОЗЖ.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213>
УДК 619:618.19-002:636.2:615.85

Альтернативные методы лечения мастита крупного рогатого скота: перспективы и ограничения (обзор)

В. Д. Зубарева, О. В. Соколова, М. В. Бытов, А. С. Кривоногова, С. В. Вольская

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия

РЕЗЮМЕ

Мастит продолжает оставаться наиболее распространенной проблемой молочного животноводства, несмотря на разрабатываемые профилактические меры и схемы лечения. Антибактериальные препараты являются основным средством терапии при воспалительных заболеваниях молочной железы у животных. Принимая во внимание связанные с антибиотикотерапией риски, такие как снижение эффективности действия препаратов из-за появления резистентных штаммов бактерий, проблема безопасности пищевых продуктов, воздействие на окружающую среду и введение ограничений на применение антибактериальных препаратов в ветеринарной медицине, все большее количество научных исследований обращается к новым терапевтическим средствам, которые могут стать заменой традиционной терапии. Цель настоящего обзора – дать представление о доступных в настоящее время литературных данных по исследованию альтернативных методов профилактики и лечения мастита крупного рогатого скота, не связанных с антибиотиками. В целом существует огромное количество исследований *in vitro*, направленных на исследование новых эффективных и безопасных средств, которые дают многообещающие результаты. В данном обзоре описаны такие средства, как пробиотики, бактериоцины, бактериофаги, фаговые ферменты (эндолизины), наночастицы, растительные экстракты, эфирные масла и иммунобиологические средства (вакцины). Рассмотрены механизмы их действия, понимание которых позволит рекомендовать наилучший вариант лечения мастита в каждом конкретном случае. Данные методы терапии потенциально могут сократить использование антибиотиков и повысить продуктивность животных, однако требуется больше исследований *in vivo*, чтобы доказать эффективность их применения непосредственно в условиях сельскохозяйственных организаций.

Ключевые слова: обзор, мастит, альтернативные методы лечения, пробиотики, бактериоцины, бактериофаги, эндолизины, наночастицы, экстракты трав, эфирные масла, иммунобиологическая профилактика

Благодарности: Исследование выполнено за счет бюджетных средств в рамках выполнения государственного задания № 0532-2021-0004 «Разработка методологических подходов к мониторингу, контролю и сдерживанию антибиотикорезистентности оппортунистических микроорганизмов в животноводстве».

Для цитирования: Зубарева В. Д., Соколова О. В., Бытов М. В., Кривоногова А. С., Вольская С. В. Альтернативные методы лечения мастита крупного рогатого скота: перспективы и ограничения (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 203–213. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Зубарева Владлена Дмитриевна, аспирант, старший специалист отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия, zzub97@mail.ru

Alternative treatment methods for bovine mastitis: prospects and limitations (review)

Vladlena D. Zubareva, Olga V. Sokolova, Maksim V. Bytov, Anna S. Krivonogova, Sofia V. Volskaya

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia

ABSTRACT

Mastitis remains the most common problem of dairy industry despite the preventive measures and treatment schemes being developed. Antibacterial drugs remain first line agents for therapy of the mammary gland inflammatory diseases in animals. Taking into account the risks associated with antibiotic therapy, such as decreased drug effectiveness due to occurrence of bacterial resistant strains, food safety issues, environmental impact and restrictions on the use of antibacterial drugs in veterinary medicine, an increasing number of scientific studies are addressing new therapeutic agents that can serve as an alternative to conventional therapy. The aim of this review is to give an idea of currently available literature data on alternative methods for the prevention and treatment of mastitis in cattle that are not associated with antibiotics. In general, a significant number of *in vitro* studies aimed at finding new effective and safe drugs are yielding promising results. This review describes the following alternative remedies: probiotics, bacteriocins, bacteriophages, phage enzymes (endolysins), nanoparticles, plant extracts, essential oils and immunobiological agents (vaccines). Understanding the mechanisms of their action will allow recommending the best treatment option for mastitis in each specific case. These treatment methods can potentially reduce use of antibiotics and increase animal productivity, however more *in vivo* studies are needed to prove the effectiveness of antibiotics used directly in the conditions of farm settings.

Keywords: review, mastitis, alternative treatments, probiotics, bacteriocins, bacteriophages, endolysins, nanoparticles, herbal extracts, essential oils, immunobiological prevention

Acknowledgements: The study was financed from the budget under the governmental programme No. 0532-2021-0004 "Development of methodological approaches to monitoring, control and containment of antibiotic resistance of opportunistic microorganisms in animal husbandry".

For citation: Zubareva V. D., Sokolova O. V., Bytov M. V., Krivonogova A. S., Volskaya S. V. Alternative treatment methods for bovine mastitis: prospects and limitations (review). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 203–213. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213>

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

For correspondence: Vladlena D. Zubareva, Postgraduate Student, Senior Specialist, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia, zzub97@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Мастит, или воспаление молочной железы у коров, – наиболее распространенное заболевание молочных коров, наносящее ущерб сельскому хозяйству. Установлено, что около 150 различных видов/подвидов бактерий способны вызывать данное заболевание у крупного рогатого скота. Однако более 95% случаев маститов связаны с представителями только 10 групп микроорганизмов, включающих как условно-патогенные, так и патогенные, в зависимости от их резервуара и способа передачи [1]. К таким бактериям относятся *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma* spp., *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, колиформные бактерии и другие грамотрицательные бактерии, такие как *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Другие патогены, например *Arcanobacterium pyogenes*, различные стрептококки (*Streptococcus parauberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus zooepidemicus*), *Corynebacterium bovis* и *Mycobacterium bovis*, могут быть вовлечены в воспалительный процесс в меньшей степени [2].

Антибиотики считаются препаратами первого выбора при лечении данного воспалительного процесса. Однако проблема остаточного их содержания в продуктах животного происхождения и непрекращающегося роста устойчивости к противомикробным препаратам в дополнение к возможной передаче антибиотикорезистентных бактерий от животного к человеку приводит к введению ограничений на применение данных препаратов в ветеринарной медицине [3]. Разработка и внедрение новых классов антибиотиков может показаться наиболее очевидной стратегией, но после 1987 г. не было открыто ни одного нового класса антибиотиков, с этого времени используются лишь производные от уже существующих антибактериальных препаратов [4, 5]. Разработка нескольких классов антибиотиков за короткий период времени привела к их чрезмерному использованию, а также к быстрому росту числа микроорганизмов, обладающих генами антибиотикорезистентности. В 1990-х гг. такие компании, как Pfizer, AstraZeneca и GlaxoSmithKline, проводили скрининг потенциально новых антибактериальных мишеней для разработки антибиотиков, однако в результате исследований не было найдено ни одного подходящего кандидата [6]. Исследования фармацевтических компаний направлены на модифицирование уже существующих классов антибиотиков, а не на раз-

работку потенциально новых [7]. В связи с этим в настоящее время существует необходимость в поиске альтернативных средств для профилактики и борьбы с маститами у коров.

Цель данного обзора – дать представление о последних открытиях в области альтернативных средств, включающих пробиотики, бактериоцины, бактериофаги (фаги) и фаговые ферменты, наночастицы, экстракты трав, эфирные масла и иммунобиологические препараты (вакцины), для профилактики и лечения мастита коров. Систематизированные и обобщенные сведения с указанием литературных источников по рассматриваемой в обзоре теме [8–42] представлены в виде таблицы 1 в разделе «Дополнительные файлы» по адресу: <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213>.

ПРОБИОТИКИ

Согласно современным представлениям, развитию мастита способствует дисбаланс микробиоты молочной железы, поэтому пробиотики рассматриваются в качестве альтернативных средств профилактики и терапии. Интрамаммарная инокуляция пробиотиков – бактерий, продуцирующих молочную кислоту, – приводит к их колонизации в вымени [43]. Механизмы действия пробиотиков против патогенных микроорганизмов сводятся к следующему: адгезия к эпителиальным клеткам, агрегация и коагрегация, образование биопленок, колонизация, продукция биосурфактантов и/или антагонистических метаболитов (органических кислот, перекиси водорода, бактериоцинов), конкуренция за питательные вещества и/или производство ферментов [11]. Пробиотические бактерии могут быть использованы для контроля воспалительных процессов, в особенности в сухостойный период, за счет антагонистической активности в отношении этиологических агентов мастита и посредством иммуномодуляции, а именно воздействуя на развитие, дифференцировку и эффекторные функции широкого спектра субпопуляций иммунных клеток, а также клеток эпителия [11, 44, 45, 46]. Помимо интрамаммарно и применения, пробиотики также могут применяться и в качестве дезинфектантов – средств для обработки сосков до и после доения [9, 47].

Современные исследования посвящены изучению пробиотиков для профилактики и лечения мастита, содержащих *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus perolens*,

Lactobacillus paracasei, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Schleiferilactobacillus perolens*, *Bifidobacterium breve*, *Bacillus subtilis*.

Многие ученые отмечают потенциал пробиотиков в отношении наиболее распространенных возбудителей мастита: *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus intermedius*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* и *E. coli* [8], однако в основном данные исследования были проведены *in vitro*. Механизм действия многих молочнокислых бактерий в качестве пробиотиков заключается в ингибировании агрегации бактериальных патогенов к эпителиальным клеткам молочной железы (МАС-Т) [19] и секреции противомикробных веществ (бактериоцинов) [9].

Исследователи из Аргентины изучали 12 видов молочнокислых бактерий, из них два вида, *L. lactis* subsp. *lactis* CRL 1655 и *L. perolens* CRL 1724, обладали способностью к адгезии к эпителиальным клеткам молочной железы, ингибированию и коагрегации 15 штаммов *S. aureus*. Pellegrino M. et al. рекомендуют в сухостойный период для профилактики мастита интрамаммарно вводить коровам данные пробиотики для активации иммунного ответа путем запуска продукции специфических антител [11].

Другой особенностью некоторых лактобацилл является продукция собственных биопленок. Штаммы *L. rhamnosus* ATCC 7469 и *L. plantarum* 2/37 обладают способностью разрушать патогенные стафилококковые биопленки и вытеснять их собственными [12].

При колиформном мастите ученые из Китая [15] отмечают эффективность пробиотика на основе *L. rhamnosus* GR-1. Данный штамм молочнокислых бактерий блокирует продукцию активных форм кислорода и опосредует активацию митофагии, тем самым ингибируя индуцированную *E. coli* сборку инфламмосомы NLRP3, семейства рецепторов NLR (NOD-подобных рецепторов), которая вызывает апоптоз эпителиальных клеток молочной железы. Таким образом, применение пробиотика способствует активации митофагии и сохранению митохондриальной функции клеток.

В исследовании M. Qiu et al. для изучения механизма действия *Enterococcus mundtii* H81 при воспалении молочной железы в качестве модели использовали мышей с маститом, индуцированным *S. aureus*. Показано, что *E. mundtii* H81 способен ингибировать рост *S. aureus*. Штамм H81 защищает целостность эпителиального барьера молочной железы. В результате продемонстрировано, что *E. mundtii* H81 уменьшает патологическое повреждение ткани молочной железы, снижая секрецию провоспалительных цитокинов и ингибируя активацию сигнального пути транскрипционного ядерного фактора NF-κB. Следовательно, *E. mundtii* H81 может иметь потенциал в качестве многообещающего кандидата для лечения мастита, вызванного *S. aureus* [17].

Ряд исследований направлен на изучение пробиотического потенциала молочнокислых бактерий для лучшего понимания того, как данные свойства могут быть использованы для борьбы с возбудителями мастита крупного рогатого скота *in vivo*.

При лечении различных форм мастита интрамаммарное введение пробиотического штамма *L. lactis* оказалось столь же эффективным, как и применение обычной формы антибиотика. При этом лактококки полностью элиминировались из обработанной железы через несколько дней. Многие исследователи предпо-

лагают, что реконвалесценция происходит вследствие индуцированного локального воспаления, интенсивного привлечения лейкоцитов и стимуляции защиты молочной железы [9, 10, 13].

Catozzi C. et al. [14] исследовали интрамаммарное введение *L. rhamnosus* у буйволов с субклинической формой мастита и наблюдали провоспалительную активность и модификацию микробиоты молока. Обработка *L. rhamnosus* вызывала сильную хемотаксическую реакцию, определяемую значительным увеличением лейкоцитов в молоке. При анализе микробиоты обнаружено изменение относительной численности представителей некоторых родов, таких как *Pseudomonas* spp. и 5-7N15. Вначале наблюдалось увеличение количества соматических клеток в молоке, однако через 6 дней этот показатель значительно уменьшился. Схожая реакция наблюдалась и при интрамаммарной инфузии *B. breve* [16]. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования для оценки потенциального использования GRAS бактерий (Generally Recognized as Safe, в целом признанные безопасными) в качестве поддерживающей терапии против мастита.

Одним из способов применения пробиотических штаммов для профилактики и лечения мастита является пероральная подкормка. Как показано M. Urakawa et al., введение в рацион кормовой добавки на основе *B. subtilis* C-3102 приводит к значительному снижению заболеваемости маститом, а также поддержанию среднего значения соматических клеток в молоке на уровне, существенно более низком, чем в контрольной группе. Кроме того, в опытной группе наблюдался более низкий уровень кортизола и реактивных соединений тиобарбитуровой кислоты, следовательно, организм коров не претерпевал окислительного стресса. Результаты проточной цитометрии показали увеличение доли CD4+ T-клеток и CD11c + CD172a^{high} дендритных клеток в крови. Дендритные клетки – антигенпрезентирующие клетки, специализирующиеся на поглощении и процессе антигена, играющие важную роль во врожденных и адаптивных иммунных реакциях. Данные результаты показывают, что *B. subtilis* C-3102 можно применять в качестве профилактики мастита у коров [18].

В целом исследования, изложенные выше, показывают, что пробиотические штаммы бактерий обладают большим потенциалом для создания эффективных средств для лечения и профилактики мастита, однако еще предстоит выяснить их успешность при лечении клинической формы заболевания.

БАКТЕРИОЦИНЫ

Бактериоцины представляют собой бактериальные пептиды, синтезируемые на рибосомах, обладающие антимикробной активностью против других бактерий, включая устойчивые к антибиотикам штаммы [44]. Некоторые бактериоцины (например, низин, продуцируемый *L. lactis*) уже используются для консервирования пищевых продуктов благодаря их антимикробной эффективности и в то же время высокой степени безопасности для потребителей [3]. На практике применяются либо очищенные бактериоцины, которые вводят непосредственно в чистом виде, либо жизнеспособные бактерии, продуцирующие бактериоцины (в основном молочнокислые) [13]. Чувствительность бактерий к бактериоцинам обусловлена их взаимодействием с бактериальной клеточной поверхностью

и клеточной мембраной. Пермеабиллизация клеток и образование пор являются основным механизмом, с помощью которого бактериоцины атакуют бактерии-мишени. Поскольку два бактериальных свойства (поверхностный заряд плазмолеммы и текучесть мембраны) используются в качестве мишени для бактериоцинов, изменение данных свойств делает бактериоцины неэффективными, что приводит к развитию резистентности к бактериоцинам [48]. Однако данную устойчивость можно преодолеть, используя их комбинации [49] друг с другом или с другими противомикробными соединениями [50]. Кроме того, эффективность бактериоцинов может быть увеличена с помощью биоинженерии. Поскольку, в отличие от антибиотиков, бактериоцины представляют собой пептиды, синтезированные на рибосомах, их аминокислотные остатки могут быть изменены, что индуцирует их противомикробный эффект. Бактериоцины в основном принято разделять на 3 класса (табл. 2) [48].

Для лечения мастита у крупного рогатого скота разработан препарат, содержащий бактериоцин, продуцируемый *Streptococcus equinus* HC5. Бовицин HC5 имеет некоторое сходство с низином по механизму действия, поскольку он способен связываться с липидом II в цитоплазматической мембране. Бразильские ученые исследовали активность бовицина HC5 в отношении чистых или смешанных культур штаммов стафилококков, стрептококков и эшерихий, выделенных от коров с диагнозом «мастит» в различных молочных стадах, и подтвердили его способность ингибировать рост более 80% протестированных изолятов стрептококков

и стафилококков, однако отметили, что антимикробного эффекта против штаммов *E. coli* не наблюдалось [20].

Ученые из Таиланда изучили антимикробный потенциал пептида Pm11, имеющего нерибосомальное происхождение. Этот пептид производится из плеуроцидина, относящегося к семейству катионных α -спиральных пептидов, обнаруженного у *Pleuronectes americanus*. В данном исследовании пептид Pm11 оказался активен в отношении штаммов *E. coli* SCM1249, *S. aureus* CM967, *S. agalactiae* SCM1084 и *S. uberis* SCM1310. Однако против штамма *Klebsiella* spp. SCM1282 антимикробной активности не наблюдалось из-за наличия у данных микроорганизмов внеклеточной полисахаридной капсулы. Когда пептид взаимодействует с бактериальной капсулой, происходят его структурные изменения, вызывающие секвестрацию, вследствие чего пептид не достигает мембраны-мишени патогена [21].

Гарвицин представляет собой бактериоцин класса II, продуцируемый штаммами *L. garvieae* [24]. Норвежские ученые выявили ингибирующую способность гарвицина KS против *Acinetobacter baumannii*. При совместном применении с низином гарвицин также ингибирует рост *S. aureus* [25].

В другом исследовании бразильские ученые изучали антагонистическую активность ауреоцина 4181, стафилококцина, продуцируемого *S. aureus*. Данный бактериоцин оказался эффективным против широкого спектра грамположительных бактерий, включая другие штаммы стафилококков и стрептококков [26]. Бактерицидный механизм действия ауреоцина связан с разрушением клеточных мембран патогенных возбудителей мастита [51].

Таблица 2
Классификация бактериоцинов

Table 2
Classification of bacteriocins

Класс	Характеристика	Продуценты	Пример бактериоцина	Механизм действия	
I	Ia	Лантибиотики (пептиды с молекулярной массой < 5 кДа, содержащие лантионин и β -метиллантионин)	<i>L. lactis</i>	Низин	Пермеабиллизация клеток и образование пор, рецептор липид II, действие против грам(+) бактерий
	Ib	Карбоциклические лантибиотики, содержащие лабиринтин и лабионин	<i>Actinomadura namibiensis</i>	Лабиринтопептин A1	Действие против вируса простого герпеса и вируса иммунодефицита
	Ic	Сактибиотики (серосодержащие антибиотики, содержащие α -углерод)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Турицин CD	Действие против грам(+) бактерий
II	IIa	Небольшие термостабильные пептиды, синтезированные в форме предшественника, процессированного после двух остатков глицина	<i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactobacillus sakei</i>	Педиоцин ПА-1, сакацины А и Р, лейкоцин А	Пермеабиллизация клеток и образование пор, рецептор пермеазы маннозы. Действие против грам(+) и грам(-) бактерий, активны против листерий
	IIb	Двухкомпонентные системы: два разных пептида, необходимые для образования активного комплекса для формирования пор	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>L. plantarum</i>	Лактококцины G, плантарицин EF и плантарицин JK	Пермеабиллизация клеток и образование пор, рецептор UppP (ундекапренил-пирофосфат-фосфатаза), действие против грам(+) бактерий
	IIc	Циркулярные бактериоцины	<i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Lactococcus garvieae</i>	Гассерицин А, энтероцин AS-48, гарвицин МЛ	Пермеабиллизация клеток и образование пор, рецептор ABC-транспортер, действие против грам(+) бактерий
	IIId	Немодифицированные, линейные, непедиоциноподобные бактериоцины	<i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Бактофенцин А, LsbB	Пермеабиллизация клеток и образование пор, рецептор металлопептидаза, действие против грам(+) бактерий
III	Большие молекулы, чувствительные к теплу	<i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>E. faecalis</i>	Гельветицин М, гельветицин J и энтеролизин А	Пермеабиллизация клеток и образование пор, действие против грам(+) и грам(-) бактерий	

Бактофенцин А был выделен из грамположительных *L. salivarius* [52] и продемонстрировал ингибирующую активность в отношении *S. aureus* и *Listeria monocytogenes* путем воздействия на клеточную стенку бактерий [22]. Низин А, антибиотик, продуцируемый *L. lactis*, проявляет активность широкого спектра против грамположительных бактерий. Механизм его действия основан на разрушении клеточной стенки бактерий путем образования пор и ингибирования биосинтеза важных предшественников клеточной стенки. В присутствии глицерина *Lactobacillus reuteri* генерирует активный альдегид, известный как реутерин. Было показано, что это соединение эффективно против широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, поскольку вызывает окислительный стресс в клетках. В нескольких исследованиях оценивался потенциал реутерина в качестве пищевого консерванта [53] и дезинфицирующего средства [54]. Канадские ученые изучали антибактериальное действие бактериоцинов бактофенцина А, низина и реутерина как по отдельности, так и в комбинации, применяя их в качестве средства для обработки сосков вымени до и после доения. В результате проведенных исследований установлено, что использование бактофенцина А не снижало содержания стафилококков и стрептококков на поверхности кожи сосков вымени; низин и реутерин, наоборот, уменьшили бактериальную обсемененность. При комбинированном применении данных бактериоцинов наблюдали наиболее выраженный антибактериальный эффект, аналогичный биоцидному действию низина и йода. Таким образом, совместное использование нескольких бактериоцинов обладает множеством преимуществ [23]. Ху Х. et al. было продемонстрировано, что для ингибирования роста бактерий необходимы более низкие концентрации противомикробных препаратов, обладающих синергическим действием [55]. Следовательно, снижается стоимость лечения, а также риск побочных эффектов, вызванных токсическим действием лекарственного средства [23]. Кроме того, бактериоцины можно применять совместно с антибактериальными препаратами. Например, низин А повышает активность цефазолина, тем самым позволяя снизить дозу антибиотика при лечении мастита. Такая комбинация эффективна в отношении *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Enterococcus faecalis* и *E. coli* [24].

Наряду с активным открытием новых бактериоцинов, их разработкой и сочетанием с другими бактерицидными агентами неизбежно возрастает и резистентность к данным препаратам. Также стоит учитывать возможную гепатотоксичность данных бактериальных пептидов [48]. В целом следует рассмотреть различные подходы для решения проблемы резистентности и снижения токсичности бактериоцинов, которые обладают огромным потенциалом в качестве биоконсервантов и терапевтических средств.

БАКТЕРИОФАГИ

Бактериофаги (фаги) специфически инфицируют бактерии, что приводит либо к лизису бактериального агента (литические или вирулентные фаги), либо к лизогении – интеграции генетического материала бактериофага в бактериальную хромосому хозяина (умеренные или симбиотические фаги) [56]. Бактериофаги, благодаря специфичности действия, вызывают

минимальное нарушение нормального микробиома животных, тем самым не вызывая дисбактериоз [57]. Подобная избирательность бактериальных мишеней фагами достигается за счет распознавания специфических рецепторных белков, располагающихся в клеточной стенке бактерии, на которых фаг адсорбируется с помощью специализированных фибрилл, после чего бактериофаги проникают и высвобождают свой генетический материал в бактериальной клетке [58]. Как правило, фаги большинства штаммов *S. aureus* взаимодействуют в клеточной стенке с тейхоевой кислотой, которая отличается от других кислот, присущих коагулазонегативным стафилококкам [59]. Для исследований по поиску бактериофагов, действующих против одного из основных возбудителей мастита – золотистого стафилококка, используют следующие основные домены, расположенные в последовательностях эндолизина: цистеин, гистидинзависимая амидогидролаза/пептидаза (CHAP), амидаза 2 (N-ацетилмурамоил-L-аланинамидаза) и SH3b для распознавания клеточной стенки патогенного агента [60].

Вслед за успешной адсорбцией и проникновением внутрь клетки литические фаги захватывают механизм репликации ДНК бактерии для синтеза собственного генетического материала и структурных белков в латентный период. Продолжительность периода, необходимого для начала синтеза, варьирует у бактериофагов, действующих против возбудителей мастита крупного рогатого скота, и может составлять 5 (*E. faecalis*), 10 (*S. aureus*), 20 (*Pseudomonas aeruginosa*) или 30 мин (*S. agalactiae*) [61, 62, 63, 64]. Впоследствии, после синтеза вируса, многочисленные фаговые частицы собираются и в конечном итоге высвобождаются в результате лизиса бактериальной клетки за счет совместной активности ферментов эндолизина и холина, которые разрушают клеточную стенку бактерий [57]. При мастите крупного рогатого скота количество фаговых частиц, синтезированных и высвобождаемых на одну бактериальную клетку, варьирует от 20 до 100 БОЕ/кл. (бляшкообразующих единиц на 1 клетку) в течение приблизительно 175 мин [61, 62, 63, 64]. Способность литических фагов в конечном итоге лизировать бактерии и размножиться после инфицирования обеспечивает уничтожение бактериальных патогенов, а также постоянное увеличение концентрации инфекционных фагов (автодозирование) в очаге инфекции [65]. Кроме того, короткое время репликации, демонстрируемое фагами, позволяет сократить сроки разработки препаратов, предоставляя возможность быстрого индивидуального лечения, направленного на конкретные штаммы бактерий [57].

Во многих исследованиях отмечается значительное снижение бактериальной нагрузки при воздействии бактериофага на патогенные агенты, вызывающие мастит [27, 28, 29, 30, 31]. Однако уже через 2 ч после обработки бактериофагом была обнаружена резистентность к ним, о чем свидетельствует возобновление роста культур после лизиса, что может отрицательно влиять на терапевтическую эффективность [28]. Чтобы ограничить развитие резистентности и лизогении, увеличить специфичность таргетной мишени, а также повысить эффективность лизиса, можно оптимизировать состав фагового коктейля [66, 67].

Например, I. Titze and V. Krömker исследовали эффективность воздействия смеси бактериофагов и *L. plantarum* на изоляты *S. aureus*, выделенные

из молока коров с воспалением молочной железы. Фаговый коктейль, а также его комбинация с молочнокислыми бактериями продемонстрировали высокую антимикробную активность в отношении *S. aureus* в течение 24-часового периода инкубации при 37 °C. Статистические расчеты показали, что только смесь бактериофагов оказывала значимое влияние на интенсивность роста *S. aureus* [32].

В исследовании китайских ученых антибактериальную активность смеси бактериофагов оценивали непосредственно опытным путем. Для этого были отобраны восемь лактирующих коров голштинской породы, которых случайным образом разделили на четыре группы по две головы в каждой. Три группы коров подверглись интерцистеральному заражению 60 КОЕ *E. coli* ECD2, суспендированными в 1 мл апиrogenного фосфатно-солевого буферного раствора (PBS). Фаговый коктейль готовили путем смешивания в соотношении 1:1:1 действующих против кишечной палочки фагов SYGD1, SYGE1 и SYGMH1 с начальной концентрацией около 10^{10} БОЕ/мл. Смесь разбавляли в 100 раз, используя PBS. Одной группе вводили интрамаммарно 5 мл цефтиофура натрия (600 мг/мл), второй – интрамаммарно 5 мл смеси фагов (1×10^8 БОЕ/мл), третьей – интрамаммарно 5 мл PBS. Все препараты инокулировали один раз в день в течение трех дней. Животные четвертой, контрольной, группы не подвергались ни заражению, ни лечению. Показано, что все три бактериофага перспективны в качестве антимикробных агентов. В особенности при использовании в смеси терапия позволяет снизить количество бактерий, соматических клеток и воспалительных факторов, облегчить симптомы мастита у крупного рогатого скота и достичь того же эффекта, что и при лечении антибиотиками [33].

Возбудители, вызывающие мастит, способны образовывать биопленки, что ограничивает доступ антибиотиков к бактериям [68, 69, 70]. Однако фаги могут предотвращать образование биопленок или проникать в бактериальные патогены *in vitro* и *in vivo*, что свидетельствует о возможности их использования в качестве самостоятельного лечения или в комбинации с антибиотиками для повышения терапевтической эффективности [28, 69]. В исследовании иранских ученых бактериофаг M8 проявил заметную литическую активность в отношении всех тестируемых типов *S. aureus* (мультирезистентных, метициллинрезистентных и биопленкообразующих штаммов). Данный бактериофаг имеет потенциал для терапевтического применения при трудноизлечимых воспалительных заболеваниях молочной железы, вызванных *S. aureus*, отдельно или в сочетании с другими фагами и антибиотиками [34].

Результаты многих исследований *in vitro* и *in vivo* показывают, что фаготерапия является многообещающей альтернативой антибиотикам для лечения мастита у коров, а в сочетании с противомикробными препаратами позволит снизить дозу последних или сократить курс лечения [71]. Однако эффективность фаговой терапии ограничена из-за их строгой специфичности к определенным наборам штаммов возбудителей мастита и необходимости использования нескольких фагов для контроля множества бактериальных патогенов. Фаготерапия оказывается наиболее эффективной, когда целевой патоген легко доступен и присутствует в больших количествах [72].

ФАГОВЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Одним из путей решения недостатков фаготерапии может быть применение очищенных продуктов фаговых генов, таких как лизины. Эндолизины (амидаза, эндопептидаза, глюкозидаза и трансглюкозилаза), широко известные как энзимобиотики, представляют собой муреолитические ферменты, образующиеся во время литического цикла бактериофага [73]. Они воздействуют на связи пептидогликана и лизируют бактерии изнутри, способствуя высвобождению новых фагов. Эндолизины обладают более широким антибактериальным спектром по сравнению с фагами. Кроме того, они также могут лизировать бактерии при экзогенном применении. Эндолизины специфичны, высокоактивны и несут меньший риск развития резистентности [74].

К хорошо изученным и наиболее активным лизинам относится стрептококково-специфичный лизин PlyC, полученный из бактериофага C1. Хотя почти все описанные на сегодняшний день грамположительные эндолизины кодируются одним геном, эндолизин PlyC фага C1 стрептококка группы A является единственным примером мультимерного лизина, состоящего из двух разных генных продуктов: PlyCA и PlyCB. Одна субъединица PlyCA, обладающая ферментативной активностью, и восемь субъединиц PlyCB, составляющих домен связывания клеточной стенки, образуют полный комплекс PlyC, который представляет собой эндолизин с самой высокой активностью, всего один наногрмм способен уничтожить 10^7 КОЕ различных видов стрептококков за несколько секунд [3, 35, 75].

Возможность применения эндолизинов стрептококковых фагов λ SA2 и B30 в качестве противомаститных средств изучали в 2015 г. M. Schmelcher et al. Лизин λ SA2 показал высокую активность в коровьем молоке против *S. dysgalactiae*, *S. agalactiae* и *S. uberis*, тогда как лизин B30 был менее эффективен. На модели мастита у мыши оба фермента значительно снижали концентрацию всех трех видов стрептококков (за исключением B30 по отношению *S. dysgalactiae*). Стоит отметить, что синергетический эффект, обнаруженный для двух ферментов *in vitro*, не наблюдался на мышинной модели. В целом полученные результаты демонстрируют потенциал эндолизинов для лечения мастита крупного рогатого скота, вызванного стрептококком [36].

В исследовании китайских ученых показано, что эндолизин LysK Δ amidase способен ингибировать 71 метициллин-чувствительный и 66 метициллин-резистентных штаммов стафилококка, выделенных из молока коров с маститом. Широкая антистафилококковая активность данного фермента *in vitro*, в том числе против стафилококков со множественной лекарственной устойчивостью, а также стафилококков, продуцирующих биопленки, свидетельствует о том, что LysK Δ amidase может стать средством борьбы с трудноизлечимыми воспалительными заболеваниями молочной железы [37].

Однако количество клинических исследований по применению эндолизинов для лечения мастита крупного рогатого скота ограничено. В одном из таких экспериментов J. Fan et al. вводили интрамаммарно 20 мг эндолизина Trx-SA1 коровам с начальной стадией клинического мастита один раз в день в течение 3 дней. В 60% случаев в пробах молока отмечалось снижение общего количества *S. aureus* и количества соматических клеток [38].

Несмотря на многообещающие перспективы применения эндолизиннов в качестве терапевтического средства при мастите, их использование требует дальнейшего изучения, так как существует ряд ограничений. Например, повторное введение лизирующих белков приводит к образованию иммуноглобулинов против введенных фаговых ферментов, которые ограничивают антимикробную активность последних [44]. Кроме того, большинство эндолизиннов не активны в отношении грамотрицательных бактерий, поскольку внешняя мембрана защищает лежащие в ее основе углеводы и пептидогликан от прямого контакта с лизинами. Тем не менее одним из основных преимуществ использования бактериофагов и фаговых эндолизиннов является их способность элиминировать устойчивые к антибиотикам патогены, против которых обычные терапевтические методы неэффективны [38].

НАНОЧАСТИЦЫ, РАСТИТЕЛЬНЫЕ ЭКСТРАКТЫ И ЭФИРНЫЕ МАСЛА

Помимо вышеперечисленных средств терапии и профилактики мастита, к сравнительно новым стратегиям борьбы относится использование наночастиц, экстрактов трав и эфирных масел.

Наночастицы обладают противомикробным потенциалом широкого спектра действия и не влияют на развитие резистентности у бактерий. Антимикробное действие наночастиц металлов объясняется: 1) высвобождением образующегося активного кислорода; 2) перекисным окислением бактериальных белков и липидов; 3) проникновением углеводов внутрь бактериальных клеток; 4) деградацией микробной ДНК; 5) повреждением клеточной мембраны и, как следствие, увеличением ее проницаемости [76, 77]. После воздействия на бактерии наночастиц отмечено снижение активности лактатдегидрогеназы и уровня аденозинтрифосфата, что указывает на неэффективную регуляцию энергии у возбудителей мастита. Также наблюдается нарушение экспрессии генов у патогенов, включая гены, кодирующие глутатион (glutathione, GSH), глутатион-S-трансферазу (glutathione S-transferase, GST), супероксиддисмутазу (superoxide dismutase, SOD) и каталазу (catalase, CAT), что приводит к гибели бактерий [77]. Результаты, полученные в ходе пилотных исследований, показали, что наночастицы меди ингибируют рост *S. aureus* и проявляют минимальную токсичность в отношении клеточных линий фибробластов при концентрации 6,25 мкг/мл. Внутримышечное введение наночастиц меди крысам при мастите, вызванном золотистым стафилококком, оказалось более эффективным, чем инъекции гентамицина, данные выводы были сделаны на основании клинических признаков, результатов определения общей бактериальной нагрузки и исследования гистологических препаратов [39].

Однако, поскольку использование наночастиц при лечении мастита еще не получило широкого распространения в качестве альтернативы классическому подходу с применением антибиотиков, многие исследователи предпочитают комбинированную терапию наночастицами с противомикробными средствами. Уже известно, что интрамаммарное введение препарата с наносеребром и цефтиофуrom имеет терапевтическую эффективность до 93,33% случаев. Данную

комбинацию также можно использовать в профилактических целях, например, перед отелом [78].

Применение растительных экстрактов и эфирных масел при лечении мастита достаточно перспективное направление исследований, так как, по сравнению с антибиотиками, данные препараты имеют натуральный состав, у них отсутствуют тяжелые побочные эффекты [79], также растительные компоненты не участвуют в формировании резистентности у бактерий при длительном применении [80]. Об этом методе лечения мастита у продуктивных животных известно уже давно, в традиционной китайской медицине использовались экстракты таких растений, как *Taraxacum mongolicum*, *Lonicera japonica*, *Viola patrinii*, *Folium isatidis*, *Angelica dahurica*, *Coptis chinensis*, *Phellodendron amurense*, *Rheum officinale*, *Scutellaria baicalensis*, которые обладают детоксикационным, противовоспалительным и антибактериальным действием [3]. Однако механизм действия большинства экстрактов и эфирных масел до конца не выяснен [81]. Например, противомикробную активность подобных препаратов обеспечивают различные вторичные метаболиты растений, среди них геранилацетат, эвгенилацетат, транс-коричный альдегид, ментол, карвакрол, тимол, гераниол, эвгенол, п-цимен, лимонен, терпинен и карвон [82].

Механизм действия растительных экстрактов и эфирных масел на бактериальную клетку, вероятно, связан с деградацией клеточной стенки, повреждением цитоплазматической мембраны и ее белков, высвобождением клеточного содержимого, коагуляцией цитоплазмы и дестабилизацией движущей силы протонов [82]. Грамположительные бактерии более восприимчивы к эфирным маслам, чем грамотрицательные, возможно потому, что последние имеют толстый слой липополисахаридов во внешней мембране, которая покрывает клеточную стенку, ограничивая диффузию гидрофобных соединений [83].

Многие исследования подтвердили эффективность этих растительных производных против бактерий, вызывающих воспаление молочной железы у крупного рогатого скота. Например, ученые из Пакистана методом диффузии в агар изучали антибактериальное действие *Allium sativum*, *Bunium persicum*, *Oryza sativa* и *Triticum aestivum* против штаммов таких наиболее распространенных возбудителей мастита, как *S. aureus*, *E. coli* и *K. pneumoniae*. Было обнаружено, что все экстракты значительно ингибируют ($p < 0,01$; $p < 0,05$) рост бактериальных штаммов [40]. В другом исследовании М. F. Cerioli et al. определяли ингибирующее действие эфирного масла *Minthostachys verticillata* и лимонена на образование биопленок у изолятов *E. coli*, *Bacillus pumilus* и *Enterococcus faecium*, выделенных от крупного рогатого скота с признаками воспаления молочной железы. Полученные результаты показали, что действие эфирных масел более эффективно, чем лимонена, который не проявил бактерицидной активности против *E. faecium* [41]. Сербские исследователи изучали антибактериальную активность эфирных масел *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., *Origanum vulgare* L. и *Satureja montana* L. при лечении мастита. Для этого опытной группе лактирующих коров в пораженные маститом доли вымени вводили по 15 мл препарата, в состав которого входили эфирные масла. При сравнении общей бактериальной нагрузки в пробах молока до и после лечения оказалось, что данный

препарат эффективно ингибировал рост *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *S. uberis*, *Serratia marcescens*. Доминирующими соединениями в полученном препарате были тимол и карвакрол. Количественное определение этих двух соединений в оцениваемых биологических образцах показало, что период их выведения составляет 24 ч [42].

Однако существуют некоторые аспекты, которые считаются ограничивающими использование растительных экстрактов и эфирных масел для лечения мастита крупного рогатого скота. Таким образом, исследования должны быть направлены на поиск методов экстракции в промышленных масштабах, методов преобразования растительных экстрактов или эфирных масел в концентрированные и однородные продукты и способов применения таких препаратов.

ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА

Во многих странах благополучие сельскохозяйственных организаций обеспечивается использованием аутогенных вакцин, в основном для профилактики заболеваний, вызванных *S. aureus* и *Mycoplasma bovis*, в меньшей степени – *S. uberis*. Данные препараты готовятся из изолятов, выделенных в хозяйстве от коров с маститом, а затем применяются всему стаду. Кроме того, также доступны коммерческие аутогенные вакцины против мастита, например Bestvac® из штаммов *S. aureus* (IDT, Германия) [84]. В промышленных масштабах выпускаются моно- и поливалентные препараты. Коммерчески доступные вакцины против колиформного мастита включают: 1) Enviracor® J-5 – содержит мутантный штамм J-5 *E. coli* (Zoetis, США), вводят подкожно трехкратно (при запуске, через 4 недели после запуска и в течение 2 недель после отела); 2) J-VAC® *E. coli* – бактериин-анатоксин *E. coli* мутантного штамма J-5 (Merial, Германия), вводится подкожно или внутримышечно двукратно (при запуске и через 2–4 недели); 3) ENDOVAC-Dairy® – бактериновый анатоксин, полученный из мутанта Re-17 *Salmonella typhimurium* (Endovac Animal Health LLC, США), обеспечивает защиту от таких патогенов, как *E. coli*, *Salmonella*, *Pasteurella* и *Mannheimia*, вводится внутримышечно двукратно (при запуске и через 2–3 недели). Также доступны вакцины, эффективные против *S. aureus*, например Lysigin® (Boehringer Ingelheim, Германия), которая вводится подкожно в интрамаммарный лимфатический узел молочной железы трехкратно (за 4 недели, затем за 2 недели до отела, ревакцинация – через 6 месяцев).

Помимо аутогенных вакцин для профилактики мастита применяются инактивированные препараты. Поливалентная вакцина STARTVAC® (Hipra, Испания) содержит *E. coli* (штамм J-5) и *S. aureus* CP8 (штамм SP 140) [85], вводится внутримышечно трехкратно (за 45 дней до отела, за 10 дней до отела, через 62 дня после второй вакцинации). Что касается отечественных разработок, вакцина «МаститВак-ЕВА» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир) состоит из инактивированных бактериальных клеток *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, двух штаммов *S. aureus*, *Staphylococcus hyicus* и двух штаммов *E. coli*. Для создания первичного иммунного фона к основному клинически значимым возбудителям маститов рекомендуется вакцинировать телок с 20–22-недельного возраста, повторно – через 2 недели, ревакцинация – через каждые 6 месяцев.

Несмотря на то что доступны различные коммерческие вакцины против мастита, ни одна из них не обеспечивает полную защиту, а кроме того, не является экономически эффективной [43]. Имеются данные об исследованиях, при проведении которых не выявлено существенных различий в частоте возникновения мастита и содержании соматических клеток в молоке контрольной группы коров и опытных групп вакцинированных животных [86]. Недостаточный защитный потенциал может быть объяснен многими факторами: возрастом, состоянием здоровья, различным иммунным ответом у отдельных животных в зависимости от генетических и экологических условий [3, 87, 88].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, основная часть приведенных литературных данных показала возможность использования новых терапевтических подходов для преодоления ограничений традиционной терапии на основе антибиотиков. Однако для большинства из альтернативных средств тестирования проведены только *in vitro*, дополнительные исследования, в основном осуществляемые *in vivo*, все еще отсутствуют, хотя они являются критически важными и необходимыми. Рассмотренные методы лечения, вероятно, не смогут полностью заменить антибиотикотерапию. Наиболее рациональным решением будет совместить традиционные схемы лечения антибактериальными препаратами с новыми подходами, это позволит сократить длительность применения антибиотиков и периода ожидания для молока, что, в свою очередь, увеличит продуктивность и снизит вероятность возникновения резистентных штаммов бактерий. Не стоит забывать и о профилактике мастита крупного рогатого скота посредством улучшения качества жизни и условий содержания животных, дезинфекции сосков вымени до и после доения, своевременного технического обслуживания доильных аппаратов, что является общепринятыми мерами по предотвращению возникновения новых случаев мастита.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. El-Sayed A., Awad W., Abdou N. E., Castañeda Vázquez H. Molecular biological tools applied for identification of mastitis causing pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2017; 5 (2): 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.08.002>
2. El-Sayed A., Kamel M. Advances in nanomedical applications: diagnostic, therapeutic, immunization, and vaccine production. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27 (16): 19200–19213. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06459-2>
3. 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>
4. Durand G. A., Raoult D., Dubourg G. Antibiotic discovery: history, methods and perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2019; 53 (4): 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.11.010>
5. Nicolaou K. C., Rigol S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. *The Journal of Antibiotics*. 2018; 71 (2): 153–184. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.62>
6. Baker S. J., Payne D. J., Rappuoli R., De Gregorio E. Technologies to address antimicrobial resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018; 115 (51): 12887–12895. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717160115>
7. Plackett B. Why big pharma has abandoned antibiotics. *Nature*. 2020; 586: S50–S52. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02884-3>
8. Armas F., Camperio C., Marianelli C. *In vitro* assessment of the probiotic potential of *Lactococcus lactis* LMG 7930 against ruminant mastitis-causing pathogens. *PLoS One*. 2017; 12 (1):e0169543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169543>
9. Diepers A., Krömker V., Zinke C., Wente N., Pan L., Paulsen K., Pa-duch J. *In vitro* ability of lactic acid bacteria to inhibit mastitis-causing

- pathogens. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2017; 5: 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2016.06.002>
10. Souza R. F. S., Rault L., Seyffert N., Azevedo V., Le Loir Y., Even S. *Lactobacillus casei* BL23 modulates the innate immune response in *Staphylococcus aureus*-stimulated bovine mammary epithelial cells. *Beneficial Microbes*. 2018; 9 (6): 985–995. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0010>
11. Pellegrino M., Berardo N., Giraudo J., Nader-Macias M. E. F., Bogno C. Bovine mastitis prevention: humoral and cellular response of dairy cows inoculated with lactic acid bacteria at the dry-off period. *Beneficial Microbes*. 2017; 8 (4): 589–596. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0194>
12. Wallis J. K., Krömker V., Paduch J. H. Biofilm challenge: lactic acid bacteria isolated from bovine udders versus *Staphylococci*. *Foods*. 2019; 8 (2):79. <https://doi.org/10.3390/foods8020079>
13. Kitching M., Mathur H., Flynn J., Byrne N., Dillon P., Sayers R., et al. A live bio-therapeutic for mastitis, containing *Lactococcus lactis* DPC3147 with comparable efficacy to antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10:2220. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02220>
14. Catozzi C., Cuscó A., Lecchi C., De Carlo E., Vecchio D., Martucciello A., et al. Impact of intramammary inoculation of inactivated *Lactobacillus rhamnosus* and antibiotics on the milk microbiota of water buffalo with sub-clinical mastitis. *PLoS One*. 2019; 14 (1):e0210204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210204>
15. Li Y., Zhu Y., Chu B., Liu N., Chen S., Wang J. *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 prevents *Escherichia coli*-induced apoptosis through PINK1/Parkin-Mediated mitophagy in bovine mastitis. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12:715098. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.715098>
16. Nagahata H., Kine M., Watanabe H., Tanaka A., Takahashi A., Gondaira S., Higuchi H. Somatic cell and innate immune responses in mammary glands of lactating cows to intramammary infusion of *Bifidobacterium breve* at pre-drying off period. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 2021; 83 (12): 1845–1851. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0306>
17. Qiu M., Feng L., Yu Z., Zhao C., Gao S., Bao L., et al. Probiotic *Enterococcus mundtii* H81 inhibits the NF- κ B signaling pathway to ameliorate *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *Microbial Pathogenesis*. 2022; 164:105414. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105414>
18. Urakawa M., Zhuang T., Sato H., Takahashi S., Yoshimura K., Endo Y., et al. Prevention of mastitis in multiparous dairy cows with a previous history of mastitis by oral feeding with probiotic *Bacillus subtilis*. *Animal Science Journal*. 2022; 93 (1):e13764. <https://doi.org/10.1111/asj.13764>
19. Berardo N., Giraudo J., Magnano G., Nader-Macias M. E. F., Bogno C., Pellegrino M. *Lactococcus lactis* subsp *lactis* CRL1655 and *Schleiferilactobacillus perolens* CRL1724 inhibit the adherence of common bovine mastitis pathogens to mammary gland cells, without causing histological changes in the mammary gland. *Journal of Applied Microbiology*. 2022; 133 (2): 733–742. <https://doi.org/10.1111/jam.15604>
20. Godoy-Santos F., Pinto M. S., Barbosa A. A. T., Brito M. A. V. P., Mantovani H. C. Efficacy of a ruminal bacteriocin against pure and mixed cultures of bovine mastitis pathogens. *Indian Journal of Microbiology*. 2019; 59 (3): 304–312. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00799-w>
21. Popitool K., Wataradee S., Wichai T., Noitang S., Ajariyakhajorn K., Charoenrat T., et al. Potential of Pm11 antimicrobial peptide against bovine mastitis pathogens. *American Journal of Veterinary Research*. 2022; 84 (1):ajvr.22.06.0096. <https://doi.org/10.2460/ajvr.22.06.0096>
22. Bédard F., Fliss I., Biron E. Structure – activity relationships of the bacteriocin Bactofencin A and its interaction with the bacterial membrane. *ACS Infectious Diseases*. 2019; 5 (2): 199–207. <https://doi.org/10.1021/acscinf.8b00204>
23. Bennett S., Fliss I., Ben Said L., Malouin F., Lacasse P. Efficacy of bacteriocin-based formula for reducing staphylococci, streptococci, and total bacterial counts on teat skin of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (5): 4498–4507. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21381>
24. Ng Z. J., Zarin M. A., Lee C. K., Tan J. S. Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock: a review. *RSC Advances*. 2020; 10: 38937–38964. <https://doi.org/10.1039/d0ra06161a>
25. Chi H., Holo H. Synergistic antimicrobial activity between the broad spectrum bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B against gram-positive and gram-negative bacteria. *Current Microbiology*. 2018; 75 (3): 272–277. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1375-y>
26. Marques-Bastos S. L. S., Coelho M. L. V., de Sousa Santos I. N., Farias F. M., Silva Francisco M., Albano R. M., et al. Draft genome sequence of the producer strain of aureocin 4181, an antimicrobial peptide with antagonistic activity against multidrug-resistant staphylococci. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2020; 23: 331–333. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.10.015>
27. Srujana A., Sonalika J., Akhila D. S., Juliet M., Sheela P. A. Isolation of phages and study of their *in vitro* efficacy on *Staphylococcus aureus* isolates originating from bovine subclinical mastitis. *Indian Journal of Animal Research*. 2022; 56 (6): 754–758. <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-4331>
28. Teng F., Xiong X., Zhang S., Li G., Wang R., Zhang L., et al. Efficacy assessment of phage therapy in treating *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *Viruses*. 2022; 14 (3):620. *Viruses*. 2024; 16 (3):319. <https://doi.org/10.3390/v14030620>
29. Zhang L., Sun L., Wei R., Gao Q., He T., Xu C., et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* control by virulent bacteriophages within MAC-T bovine mammary epithelial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017; 61 (2):e01990-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.01990-16>
30. Zhang Q., Xing S., Sun Q., Pei G., Cheng S., Liu Y., et al. Characterization and complete genome sequence analysis of a novel virulent *Siphoviridae* phage against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Xinjiang, China. *Virus Genes*. 2017; 53 (3): 464–476. <https://doi.org/10.1007/s11262-017-1445-z>
31. Da Silva Duarte V., Dias R. S., Kropinski A. M., Campanaro S., Treu L., Siqueira C., et al. Genomic analysis and immune response in a murine mastitis model of vB_EcoM-UVF13, a potential biocontrol agent for use in dairy cows. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1):6845. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24896-w>
32. Titze I., Krömker V. Antimicrobial activity of a phage mixture and a lactic acid bacterium against *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Veterinary Sciences*. 2020; 7 (1):31. <https://doi.org/10.3390/vetsci7010031>
33. Guo M., Gao Y., Xue Y., Liu Y., Zeng X., Cheng Y., et al. Bacteriophage cocktails protect dairy cows against mastitis caused by drug resistant *Escherichia coli* infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021; 11:690377. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.690377>
34. Mohammadian F., Rahmani H. K., Bidarian B., Khoramian B. Isolation and evaluation of the efficacy of bacteriophages against multidrug-resistant (MDR), methicillin-resistant (MRSA) and biofilm-producing strains of *Staphylococcus aureus* recovered from bovine mastitis. *BMC Veterinary Research*. 2022; 18 (1):406. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03501-3>
35. Scholte C. M., Nelson D. C., Garcia M., Linden S. B., Elsasser T. H., Kahl S., et al. Short communication: Recombinant bacteriophage endolysin PlyC is nontoxic and does not alter blood neutrophil oxidative response in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2018; 101 (7): 6419–6423. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13908>
36. Schmelcher M., Powell A. M., Camp M. J., Pohl C. S., Donovan D. M. Synergistic streptococcal phage λ SA2 and B30 endolysins kill streptococci in cow milk and in a mouse model of mastitis. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015; 99 (20): 8475–8486. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6579-0>
37. Zhou Y., Zhang H., Bao H., Wang X., Wang R. The lytic activity of recombinant phage lysin LysK Δ amidase against staphylococcal strains associated with bovine and human infections in the Jiangsu province of China. *Research in Veterinary Science*. 2017; 111: 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.02.011>
38. Fan J., Zeng Z., Mai K., Yang Y., Feng J., Bai Y., et al. Preliminary treatment of bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* with trx-SA1, recombinant endolysin of *S. aureus* bacteriophage IME-SA1. *Veterinary Microbiology*. 2016; 191: 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.06.001>
39. Taifa S., Muhee A., Bhat R. A., Nabi S. U., Roy A., Rather G. A., et al. Evaluation of therapeutic efficacy of copper nanoparticles in *Staphylococcus aureus*-induced rat mastitis model. *Journal of Nanomaterials*. 2022; 2022:7124114. <https://doi.org/10.1155/2022/7124114>
40. Amber R., Adnan M., Tariq A., Khan S. N., Mussarat S., Hashem A., et al. Antibacterial activity of selected medicinal plants of northwest Pakistan traditionally used against mastitis in livestock. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018; 25 (1): 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.008>
41. Cerioli M. F., Moliva M. V., Cariddi L. N., Reinoso E. B. Effect of the essential oil of *Minthostachys verticillata* (Griseb.) epling and limonene on biofilm production in pathogens causing bovine mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018; 5:146. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00146>
42. Kovačević Z., Tomanić D., Čabarkapa I., Šarić L., Stanojević J., Bijelić K., et al. Chemical composition, antimicrobial activity, and withdrawal period of essential oil-based pharmaceutical formulation in bovine mastitis treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19 (24):16643. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416643>
43. Sharun K., Dhama K., Tiwari R., Gugjoo M. B., Iqbal Yattoo M., 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>
44. Angelopoulou A., Warda A. K., Hill C., Ross R. P. Non-antibiotic microbial solutions for bovine mastitis – live biotherapeutics, bacteriophage and phage lysins. *Critical Reviews in Microbiology*. 2019; 45 (5–6): 564–580. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2019.1648381>
45. Rainard P., Foucras G. A critical appraisal of probiotics for mastitis control. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018; 5:251. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00251>
46. Cheng W. N., Han S. G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies and alternative treatments – A review. *Asian-Australasian Journal*

- of *Animal Sciences*. 2020; 33 (11): 1699–1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>
47. Yu J., Ren Y., Xi X., Huang W., Zhang H. A novel lactobacilli-based teat disinfectant for improving bacterial communities in the milks of cow teats with subclinical mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8:1782. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01782>
48. Kumariya R., Garsa A. K., Rajput Y. S., Sood S. K., Akhtar N., Patel S. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 128: 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>
49. Perales-Adán J., Rubiño S., Martínez-Bueno M., Valdivia E., Montalbán-López M., Cebrián R., Maqueda M. LAB bacteriocins controlling the food isolated (drug-resistant) staphylococci. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:1143. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01143>
50. Algburi A., Comito N., Kashtanov D., Dicks L. M. T., Chikindas M. L. Control of biofilm formation: antibiotics and beyond. *Applied and Environmental Microbiology*. 2017; 83 (3):e02508-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02508-16>
51. Touza-Otero L., Landin M., Díaz-Rodríguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 170:115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
52. Mesa-Pereira B., O'Connor P. M., Rea M. C., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. Controlled functional expression of the bacteriocins pediocin PA-1 and bacitracin A in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1):3069. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02868-w>
53. Vimont A., Fernandez B., Ahmed G., Fortin H. P., Fliss I. Quantitative antifungal activity of reuterin against food isolates of yeasts and moulds and its potential application in yogurt. *International Journal of Food Microbiology*. 2019; 289: 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.005>
54. Asare P. T., Greppi A., Stettler M., Schwab C., Stevens M. J. A., Lacroix C. Decontamination of minimally-processed fresh lettuce using reuterin produced by *Lactobacillus reuteri*. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:1421. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01421>
55. Xu X., Xu L., Yuan G., Wang Y., Qu Y., Zhou M. Synergistic combination of two antimicrobial agents closing each other's mutant selection windows to prevent antimicrobial resistance. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1):7237. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25714-z>
56. Wu S., Fang Z., Tan J., Li M., Wang C., Guo Q., et al. DeePhage: distinguishing virulent and temperate phage-derived sequences in metavirome data with a deep learning approach. *GigaScience*. 2021; 10 (9):giab056. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab056>
57. Nale J. Y., McEwan N. R. Bacteriophage therapy to control bovine mastitis: A review. *Antibiotics*. 2023; 12 (8):1307. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081307>
58. Taslem Mourouji J., Awe A., Guo W., Batra H., Ganesh H., Wu X., Zhu J. Understanding bacteriophage tail fiber interaction with host surface receptor: the key "Blueprint" for reprogramming phage host range. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (20):12146. <https://doi.org/10.3390/ijms232012146>
59. Kizziah J. L., Manning K. A., Dearborn A. D., Dokland T. Structure of the host cell recognition and penetration machinery of a *Staphylococcus aureus* bacteriophage. *PLoS Pathogens*. 2020; 16 (2):e1008314. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008314>
60. Leite J. A., Pereira H. P., Borges C. A. V., Alves B. R. C., Ramos A. I. A. P., Martins M. F., Arcuri E. F. Lytic bacteriophages as a potential alternative to control *Staphylococcus aureus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2019; 54:e00917. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00917>
61. Bai Q., Zhang W., Yang Y., Tang F., Nguyen X., Liu G., Lu C. Characterization and genome sequencing of a novel bacteriophage infecting *Streptococcus agalactiae* with high similarity to a phage from *Streptococcus pyogenes*. *Archives of Virology*. 2013; 158 (8): 1733–1741. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1667-x>
62. Wang Z., Zheng P., Ji W., Fu Q., Wang H., Yan Y., Sun J. SLPW: A virulent bacteriophage targeting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. *Frontiers in Microbiology*. 2016; 7:934. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00934>
63. Guéneau V., Plateau-Gonthier J., Arnaud L., Piard J. C., Castex M., Briandet R. Positive biofilms to guide surface microbial ecology in livestock buildings. *Biofilm*. 2022; 4:100075. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2022.100075>
64. Ji Y., Zhao Z., Jiang Q., Loo J. J., Song L., Ou H., et al. Potential of phage EF-N13 as an alternative treatment strategy for mastitis infections caused by multidrug-resistant *Enterococcus faecalis*. *Journal of Dairy Science*. 2023; 106 (12): 9174–9185. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22892>
65. Ferriol-González C., Domingo-Calap P. Phage therapy in livestock and companion animals. *Antibiotics* (Basel). 2021; 10 (5):559. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050559>
66. Principi N., Silvestri E., Esposito S. Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in Pharmacology*. 2019; 10:513. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00513>
67. Malik D. J., Sokolov I. J., Vinner G. K., Mancuso F., Cinquerrui S., Vladislavjevic G. T., et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2017; 249: 100–133. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.05.014>
68. Bissong M. E. A., Ateba C. N. Genotypic and phenotypic evaluation of biofilm production and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk, North West Province, South Africa. *Antibiotics* (Basel). 2020; 9 (4):156. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040156>
69. Song J., Ruan H., Chen L., Jin Y., Zheng J., Wu R., Sun D. Potential of bacteriophages as disinfectants to control of *Staphylococcus aureus* biofilms. *BMC Microbiology*. 2021; 21 (1):57. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02117-1>
70. Pedersen R. R., Krömker V., Bjarnsholt T., Dahl-Pedersen K., Buhl R., Jørgensen E. Biofilm research in bovine mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:656810. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.656810>
71. Breyne K., Honaker R. W., Hobbs Z., Richter M., Zaczek M., Spangler T., et al. Efficacy and safety of a bovine-associated *Staphylococcus aureus* phage cocktail in a murine model of mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8:2348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02348>
72. Allen H. K., Levine U. Y., Looft T., Bandrick M., Casey T. A. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends in Microbiology*. 2013; 21 (3): 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.11.001>
73. Sharma C., Rokana N., Chandra M., Singh B. P., Gulhane R. D., Gill J. P. S., et al. Antimicrobial resistance: its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018; 4:237. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>
74. Tiwari R., Dhama K., Chakraborty S., Kapoor S. Enzybiotics: new weapon in the army of antimicrobials: A review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2014; 9: 144–163. <https://doi.org/10.3923/ajava.2014.144.163>
75. Schmelcher M., Donovan D. M., Loessner M. J. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiology*. 2012; 7 (10): 1147–1171. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.97>
76. Kalińska A., Jaworski S., Wierzbicki M., Gołębiowski M. Silver and copper nanoparticles – an alternative in future mastitis treatment and prevention? *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (7):1672. <https://doi.org/10.3390/ijms20071672>
77. Yuan Y. G., Peng Q. L., Gurunathan S. Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from mastitis-infected goats: an alternative approach for antimicrobial therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18 (3):569. <https://doi.org/10.3390/ijms18030569>
78. Chau N. H., Hien D. T., Thuy N. T., Ha D. Q., Duong D. T., Loan T. T., et al. Formulation and application of Nanosilver-infused cream in prevention and treatment of mastitis in dairy cows. *Tap Chi Sinh Hoc*. 2019; 41 (2): 89–100. <http://doi.org/10.15625/0866-7160/v41n2.13707> (in Vietnam)
79. Kher M. N., Sheth N. R., Bhatt V. D. In vitro antibacterial evaluation of *Terminalia chebula* as an alternative of antibiotics against bovine subclinical mastitis. *Animal Biotechnology*. 2019; 30 (2): 151–158. <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1451752>
80. Montironi I. D., Cariddi L. N., Reinoso E. B. Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Mintostachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. *Revista Argentina de Microbiología*. 2016; 48 (3): 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.005>
81. Gouvea F. S., Rosenthal A., Ferreira E. H. Plant extract and essential oils added as antimicrobials to cheeses: a review. *Ciência Rural*. 2017; 47 (8):e20160908. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160908>
82. Lopes T. S., Fontoura P. S., Oliveira A., Rizzo F. A., Silveira S., Streck A. F. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*. 2020; 131: 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>
83. Zhang Y., Liu X., Wang Y., Jiang P., Quek S. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*. 2016; 59: 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.032>
84. Ismail Z. B. Mastitis vaccines in dairy cows: Recent developments and recommendations of application. *Veterinary World*. 2017; 10 (9): 1057–1062. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1057-1062>
85. Guccione J., Pesce A., Pascale M., Salzano C., Tedeschi G., D'Andrea L., et al. Efficacy of a polyvalent mastitis vaccine against *Staphylococcus aureus* on a dairy Mediterranean buffalo farm: results of two clinical field trials. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13 (1):29. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0944-4>

86. Tashakkori N., Khoramian B., Farhoodi Moghadam M., Heidarpour M., Mashayekhi K., Farzaneh N. Evaluating the effectiveness of two bovine mastitis vaccines and their influences on oxidant and antioxidant capacities of milk. *Tropical Animal Health and Production*. 2020; 52 (3): 1493–1501. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02156-x>

87. Côté-Gravel J., Malouin F. Symposium review: Features of *Staphylococcus aureus* mastitis pathogenesis that guide vaccine development strategies. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102 (5): 4727–4740. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15272>

88. Merrill C., Ensermu D. B., Abdi R. D., Gillespie B. E., Vaughn J., Headrick S. I., et. al. Immunological responses and evaluation of the protection in dairy cows vaccinated with staphylococcal surface proteins. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2019; 214:109890. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.109890>

Поступила в редакцию / Received 05.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 07.05.2024

Принята к публикации / Accepted 17.06.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зубарева Владлена Дмитриевна, аспирант, старший специалист отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Соколова Ольга Васильевна, д-р вет. наук, ведущий научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, руководитель Уральского научно-исследовательского ветеринарного института – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, nauka_sokolova@mail.ru

Бытов Максим Владимирович, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3622-3770>, bytovmaks@mail.ru

Кривоногова Анна Сергеевна, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>, tel-89826512934@yandex.ru

Вольская София Витальевна, лаборант-исследователь отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4287-1010>, ms.eriya@yandex.ru

Vladlena D. Zubareva, Postgraduate Student, Senior Specialist, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Olga V. Sokolova, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Head of Ural Scientific Research Veterinary Institute, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, nauka_sokolova@mail.ru

Maksim V. Bytov, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3622-3770>, bytovmaks@mail.ru

Anna S. Krivonogova, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Veterinary and Laboratory Diagnosis and Testing Laboratory, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>, tel-89826512934@yandex.ru

Sofia V. Volskaya, Laboratory Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4287-1010>, ms.eriya@yandex.ru

Вклад авторов: Зубарева В. Д. – работа с литературой, подготовка текста, анализ и обобщение; Соколова О. В. – администрирование, редактирование текста; Бытов М. В. – подбор литературных источников; Кривоногова А. С. – администрирование, редактирование текста; Вольская С. В. – подбор литературных источников.

Contribution: Zubareva V. D. – literature handling, text preparation, analysis and summary; Sokolova O. V. – administration, text editing; Bytov M. V. – selection of literature sources; Krivonogova A. S. – administration, text editing; Volskaya S. V. – selection of literature sources.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-214-222>
УДК 619:616.98:578.824.11:616-036.22:615.371(470.311)

Эпизоотическая ситуация по бешенству на территории Московской области (2011–2023 гг.) и роль оральной вакцинации диких плотоядных

А. В. Парошин¹, С. Б. Воскресенский², К. Н. Груздев³, Е. В. Чернышова³

¹ ГБУВ МО «Территориальное ветеринарное управление № 5», ул. Промышленная, 15, мкр. Центральный, г. о. Домодедово, 142002, Московская область, Россия

² Министерство сельского хозяйства и продовольствия Московской области, бульвар Строителей, 7, г. Красногорск, 143407, Московская область, Россия

³ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Бешенство – зоонозное вирусное заболевание теплокровных животных, возбудителем которого является нейротропный вирус рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. Ежегодно в мире от гидрофобии погибает около 59 000 человек. В Европе, по данным Всемирной организации здравоохранения, основными видами диких плотоядных, которые поддерживают природные очаги бешенства, являются лиса (*Vulpes vulpes*) и енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*). В статье представлена эпизоотическая картина по бешенству животных (2011–2023 гг.), проанализирована роль оральной вакцинации диких плотоядных в Московской области. Регион входит в состав Центрального федерального округа, расположен в центре Русской равнины и граничит с семью областями: Тверской, Смоленской, Калужской, Тульской, Рязанской, Владимирской, Ярославской, – которые также являются неблагополучными по бешенству животных. Несмотря на урбанизацию мегаполиса, численность диких плотоядных животных в Московской области остается высокой. В регионе проводится системная профилактическая работа по контролю численности диких плотоядных животных, стабилизации эпизоотической ситуации и уменьшению случаев бешенства, внедряются передовые научные разработки в области лабораторной диагностики, повышения популяционного иммунитета среди диких плотоядных животных путем оральной вакцинации против бешенства, анализируется эпизоотическая ситуация в сопредельных областях. С 2017 г. в Московской области началась системная, планомерная, тщательно организованная кампания – с помощью средств малой авиации стала проводиться тотальная раскладка оральной вакцины. Исследования выявили корреляцию между снижением ежегодного числа регистрируемых случаев бешенства и увеличением объемов использования оральной вакцины. Применение средств внедренного объективного контроля (фотолушечки) подтвердило поедание оральной антирабической вакцины целевыми видами животных (лисицами). Дальнейший системный, методичный подход к профилактике бешенства снизит риски возникновения вспышек этого заболевания в Московской области.

Ключевые слова: вирус бешенства, красная лисица, енотовидная собака, оральная вакцинация, эпизоотическая ситуация, Московская область

Для цитирования: Парошин А. В., Воскресенский С. Б., Груздев К. Н., Чернышова Е. В. Эпизоотическая ситуация по бешенству на территории Московской области (2011–2023 гг.) и роль оральной вакцинации диких плотоядных. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 214–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-214-222>

Конфликт интересов: Груздев К. Н. является главным редактором журнала «Ветеринария сегодня», 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: Парошин Антон Валерьевич, канд. вет. наук, начальник центра (отдела) профилактики бешенства ГБУВ МО «Территориальное ветеринарное управление № 5», ул. Мичурина, 7, п. Серебряные Пруды, 142970, Московская область, Россия, vetlen1@mail.ru

Rabies situation in the Moscow Oblast in 2011–2023 and the role of oral vaccination of wild carnivores against rabies

Anton V. Paroshin¹, Sergey B. Voskresensky², Konstantin N. Gruzdev³, Elena V. Chernyshova³

¹ State Budgetary Institution of Veterinary Medicine of the Moscow Oblast “Territorial Veterinary Department No. 5”, 15 Promyshlennaya str., Tsentral’nyi, Domodedovo Urban Okrug 142002, Moscow Oblast, Russia

² Ministry of Agriculture and Food of the Moscow Oblast, 7 Stroiteley bld., Krasnogorsk 143407, Moscow Oblast, Russia

³ Federal Centre for Animal Health, Yur’evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Rabies is a zoonotic viral disease of all warm-blooded animals caused by a neurotropic virus, member of the *Lyssavirus* genus of the *Rhabdoviridae* family. About 59,000 people die from hydrophobia globally every year. According to the World Health Organization, the red fox (*Vulpes vulpes*) and the common raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) are the main reservoirs and vectors among carnivores of the rabies virus in Europe. The paper describes animal rabies situation in 2011–2023 and the role of oral vaccination of wild carnivores against rabies in the Moscow Oblast. The region is a part of the Central Federal District and located in the center of the Russian plain bordering seven Oblasts (Tver, Smolensk, Kaluga, Tula, Ryazan, Vladimir and Yaroslavl Oblasts), which are also rabies infected.

© Парошин А. В., Воскресенский С. Б., Груздев К. Н., Чернышова Е. В., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

Notwithstanding the metropolis growth, the number of wild carnivores in the Moscow Oblast remains high. Comprehensive preventive measures to control the population of the wild carnivores are taken to stabilize the rabies situation and decrease the incidence, innovative achievements in laboratory diagnosis are introduced, population immunity of wild carnivores by oral vaccination is improved and the epidemic situation in neighboring regions is analyzed. In 2017 the systemic, consistent and thoroughly organized campaign was started – the oral vaccines were distributed by light aircrafts. The research revealed the correlation between the decrease in annual number of reported rabies cases and increase in the amounts of oral vaccines distributed. The use of controlling devices (camera traps) confirmed that oral rabies vaccines are consumed by the target animals (red foxes). The onward systemic, methodical approach to rabies prevention will mitigate the risks of rabies occurrence in the Moscow Oblast.

Keywords: rabies virus, red fox, common raccoon dog, oral vaccination, epidemic situation, Moscow Oblast

For citation: Paroshin A. V., Voskresensky S. B., Gruzdev K. N., Chernyshova E. V. Rabies situation in the Moscow Oblast in 2011–2023 and the role of oral vaccination of wild carnivores against rabies. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 214–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-214-222>

Conflict of interests: Gruzdev K. N. is the editor-in-chief of the “Veterinary Science Today” journal, 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: Anton V. Paroshin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Centre (Department) for Rabies Prevention, State Budgetary Institution of Veterinary Medicine of the Moscow Oblast “Territorial Veterinary Department No. 5”, 7 Michurin str., Serebryanye Prudy 142970, Moscow Oblast, Russia, vetlen1@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство – инфекционное заболевание млекопитающих животных, возбудителем которого является нейротропный вирус (род *Lyssavirus*, семейство *Rhabdoviridae*). Вирус бешенства (RABV) как типовой вид лиссавирусов встречается в разных частях земного шара, имеет резервуарных хозяев, в которых он поддерживает свою циркуляцию [1]. От первичного резервуарного хозяина возбудитель передается другим восприимчивым животным и человеку (рис. 1). В Европе такими животными является лисица (*Vulpes vulpes*), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*) [2].

Представители рода *Lyssavirus* поражают исключительно млекопитающих. Эволюция лиссавирусов связана с теми видами животных, у которых возбудитель инфекционного заболевания поддерживает самостоятельный цикл развития. Это многочисленные виды различных млекопитающих отрядов *Carnivora* и *Chiroptera*. Они распространены на различных континентах земного шара, исключая Антарктиду. Принято считать, что летучие мыши являются истинными первичными резервуарными хозяевами почти всех лиссавирусов. Однако, в отличие от всех других лиссавирусов, вирусы бешенства (RABV) как типовой вид лиссавирусов имеют независимые циклы передачи в широком диапазоне резервуаров/хозяев/хищников. Типичными резервуарами-хозяевами RABV среди плотоядных животных могут быть собаки, шакалы, еноты, койоты, скунсы; в Евразийских и Американских арктических и субарктических регионах – песец (*Alopex lagopus*) [1, 3].

В Российской Федерации (РФ) случаи бешенства регистрируются во многих регионах страны, включая Московскую область [4, 5], входящую в состав Центрального федерального округа (ЦФО) и расположенную в центре Русской равнины. Область сопредельна с Тверской, Смоленской, Калужской, Тульской, Рязанской, Владимирской, Ярославской областями, которые также являются неблагополучными по бешенству. Фауна регионов ЦФО включает резервуарных хозяев вируса бешенства и может формировать природные очаги инфекции. Основную роль в этом играет лисица (*Vulpes*

vulpes), которая является одним из самых распространенных хищных млекопитающих семейства псовых, обитающих на территории Московской области. Это плотоядный хищник средних размеров рыжего окраса различных оттенков, который живет в норах и хорошо видит в темноте. Рацион питания состоит в основном из мелких грызунов [6, 7, 8, 9, 10, 11]. Плотность популяции лисицы из расчета на 1000 га в Московской области колеблется в зависимости от района. Добыча лисицы в 2010–2021 гг. была нестабильной из-за отсутствия спроса на шкурки животного [11].

Московская область окружает г. Москву и является регионом, в котором эпизоотическая обстановка по бешенству находится под особым контролем. Несмотря на высокую урбанизацию мегаполиса, численность диких плотоядных животных в Московской области остается высокой. Этому способствует ее расположение в центральной части Восточно-Европейской равнины, где существуют благоприятные климатические и ландшафтные условия для их обитания [12]. Повышение плотности популяции лисицы, на наш взгляд, служит основным фактором риска сохранения природно-очагового бешенства и его инцидентности в Московской области. Это подтверждают и данные, опубликованные Н. И. Осиповой [13].

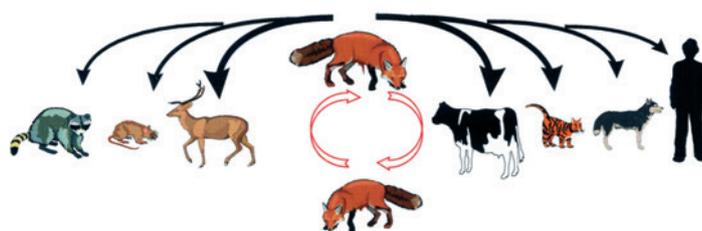


Рис. 1. Циркуляция и перенос вируса бешенства на примере рыжей лисицы, *Vulpes vulpes* (https://www.who-rabies-bulletin.org/sites/default/files/epi_1.jpg)

Fig. 1. Circulation and transmission of the rabies virus explained by the example of the red fox, *Vulpes vulpes* (https://www.who-rabies-bulletin.org/sites/default/files/epi_1.jpg)

Бешенство остается глобальной угрозой. Оно наносит большой экономический ущерб сельскому хозяйству. Вирус бешенства накапливается в слюне, головном мозге инфицированных животных и передается через укус, ослюнение. Контактный способ передачи возбудителя не предполагает взрывного характера эпизоотии и ее быстрого распространения, как это наблюдается при высококонтагиозных болезнях, например при ящуре. Многие виды сельскохозяйственных животных считаются тупиком инфекции (крупный рогатый скот, овцы, козы, свиньи, лошади) в эпизоотической цепи при бешенстве. Они, как правило, после заражения погибают, хотя все больные и находящиеся в инкубационном периоде болезни животные являются источником возбудителя, а трупы павших от бешенства особей и объекты внешней среды, контаминированные вирусом, становятся факторами передачи.

Сохранению вирулентных свойств возбудителя способствуют низкие температуры окружающей среды. В этом плане трупы павших от бешенства животных представляют реальную опасность, так как вирус в них сохраняет активность в течение 2–3 недель, а при минусовых температурах – несколько месяцев [14, 15].

Социальную значимость заболевания трудно переоценить, так как бешенство представляет реальную угрозу человеку. Гибель людей от гидрофобии регистрируется и в РФ. Это происходит, когда человек не обращается за медицинской помощью после укуса, оцарапывания или ослюнения больным животным. Сохранение природных очагов бешенства способствует поддержанию циркуляции вируса бешенства на территории РФ, поэтому риск заражения человека остается всегда. Случаи заболеваний регистрируются чаще в весенне-летний период года. Больное бешенством животное отличается спецификой нанесения травм человеку. Опасной локализацией поражения считаются голова, лицо, пальцы рук. Необходимо в ранние сроки иммунизировать пострадавшего, чтобы он получил курс антирабического лечения. Для специфической иммунопрофилактики применяется антирабическая вакцина «КОКАВ». Для тяжелых случаев, при множественных укусах, разработаны схемы комбинированного курса лечения с использованием вакцины «КОКАВ» и специфического гамма-глобулина. С целью профилактики гидрофобии у людей следует повышать уровень знаний через средства массовой информации [16]. Ежегодно в мире от бешенства погибает около 59 000 человек [17].

Все это определяет те вызовы, с которыми сталкивается ветеринарная служба Московской области при разработке планов по борьбе с бешенством животных. Кроме постоянно меняющейся хозяйственной окружающей обстановки в мегаполисе, важно учитывать биологию и этологию, во-первых, лисицы, а также енотовидной собаки, изменение их кормовой базы, плотность популяций. Пороговое значение плотности популяции лисицы, при которой наблюдается вспышка бешенства в природном очаге, более одной особи на 1 км² [18].

В Московской области внедряются передовые научные разработки по лабораторной диагностике, повышению популяционного иммунитета среди диких плотоядных животных путем оральной вакцинации против бешенства, анализируется эпизоотическая ситуация в сопредельных областях.

Оральная вакцинация диких плотоядных остается признанным методом профилактики бешенства в комплексе противозооотических мероприятий ветеринарных служб как в нашей стране, так и за рубежом [19, 20].

Целью исследований было углубленное изучение эпизоотической ситуации по бешенству животных в Московской области, а также оценка роли оральной иммунизации диких плотоядных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При выполнении работы использовали данные статистической отчетности государственной ветеринарной службы Московской области за период с 2011 по 2023 г., которые обрабатывали описательно-оценочными эпизоотологическими и статистическими методами. Для определения территориально-географического местоположения случаев бешенства применяли поисковые системы Google Earth Pro и «Яндекс».

Окончательный диагноз на бешенство ставили после подтверждения лабораторными методами в соответствии с утвержденным ГОСТ 26075-2013 «Животные. Методы лабораторной диагностики бешенства»² и «Методическими рекомендациями для диагностики бешенства животных методом иммунофлуоресценции»³.

Определение содержания тетрациклина в зубах и костях плотоядных животных проводили в соответствии с «Методическими указаниями по обнаружению флуоресцентным методом антибиотиков тетрациклинового ряда в тканях зубов и костей животных для контроля поедаемости оральных антирабических вакцин»⁴ и рекомендациями А. М. Гулюкина [21]. При проведении подготовительных работ для определения тетрациклинового маркера использовали низкоскоростную пилу марки Buehler (США), которая позволяет сделать необходимые по толщине спилы с зубов и челюстей диких плотоядных животных толщиной 1–2 мм.

При оценке результатов эпизоотологического надзора использовали метод ретроспективного эпизоотологического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность противозооотической работы складывается из целого комплекса проводимых мероприятий, разрабатываемых ветеринарной службой Московской области, адаптируемого к конкретным условиям:

– строгий учет восприимчивых животных с целью выполнения противозооотических планов вакцинации против бешенства домашних продуктивных и непродуктивных, зоопарковых животных, а также соблюдения выполнения требований нормативных документов по правильному и гуманному содержанию домашних плотоядных животных;

– взаимодействие с работниками охотничьих хозяйств по контролю плотности лисиц;

² <https://docs.cntd.ru/document/1200104625>

³ Сухарьков А. Ю., Еремина А. Г., Назаров Н. А., Егоров А. А., Метлин А. Е., Шульпин М. И. Методические рекомендации для диагностики бешенства животных методом иммунофлуоресценции: МР 33-16. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. 14 с.

⁴ МУ 36-16 Методические указания по обнаружению флуоресцентным методом антибиотиков тетрациклинового ряда в тканях зубов и костей животных для контроля поедаемости оральных антирабических вакцин. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. 11 с.

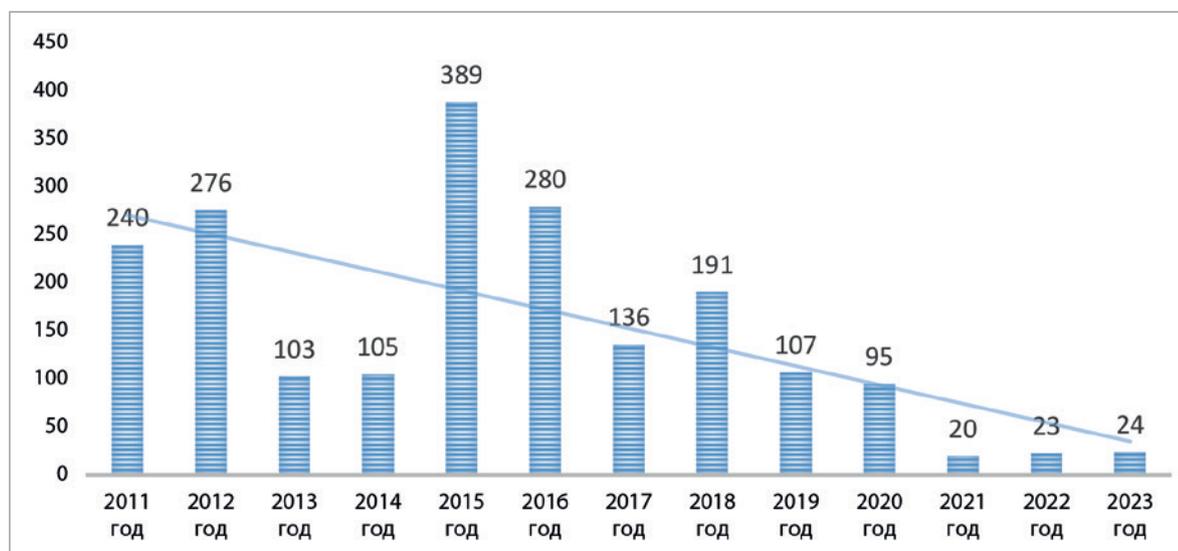


Рис. 2. Число случаев бешенства животных, выявленных на территории Московской области в 2011–2023 гг., и тренд
Fig. 2. Animal rabies incidence reported in the Moscow Oblast in 2011–2023 and its trend

- проведение оральной вакцинации диких плотоядных животных против бешенства;
- составление краткосрочных и долгосрочных прогнозов;

- проведение активной разъяснительной работы с населением по вопросам опасности бешенства и предупреждения возникновения этого заболевания.

Профилактика и борьба с бешенством с целью искоренения этого смертельного зооноза предполагает также разработку и внедрение системы постоянного слежения за проявлением данного инфекционного заболевания на определенной территории за определенный период времени, то есть эпизоотологического надзора и контроля.

Важно выявить возможное носительство, как можно раньше распознать проявление (наличие) болезни в благополучной популяции, доказать отсутствие бешенства в субпопуляциях восприимчивых животных, установить тенденцию развития заболевания. Для этого используют известные стратегии выборочных исследований: мониторинг, скрининг, обследование, наблюдение и др.

На территории Московской области ежегодно с 2011 г. исполняются планы государственного эпизоотологического мониторинга, включающие исследования на бешенство. Они реализуются в подведомственных Россельхознадзору учреждениях. Кроме того, на уровне субъекта РФ выполняются собственные планы диагностических исследований, также включающие тестирование проб на бешенство. Согласно нормативным документам РФ, сведения о проведении исследований по утвержденным формам предоставляются в соответствующие организации. Отчеты о проведенных исследованиях вносят в информационные системы Россельхознадзора «Ассоль» и «Веста».

Функционирование этой системы направлено на достижение целей по выявлению болезни, предупреждению и снижению заболеваемости, в конечном счете – на ликвидацию бешенства как нозологической единицы на намеченных участках.

Как видно на рисунке 2, бешенство в 2011–2023 гг. на территории Московской области регистрировалось

ежегодно. Отчетливо видны подъемы и спады проявления болезни по годам, что подтверждает существование цикличности эпизоотического процесса при бешенстве. Начало наблюдаемого периода совпадает с нарастанием общего числа регистрируемых случаев (2011–2012 гг.), затем следует спад и новый подъем. Наибольшее число случаев бешенства отмечено в 2015 г. В целом тренд понижающийся.

Видовая структура животных, участвующих в эпизоотическом процессе бешенства, представлена на рисунке 3. Наибольшее количество случаев за весь период наблюдения в процентном соотношении приходится на диких плотоядных животных (65%), далее следуют домашние плотоядные (33%) и сельскохозяйственные животные (2%). Следует отметить, что объективность информации по учету проявления бешенства животных возросла после внедрения в нашей стране системы «Сирано».

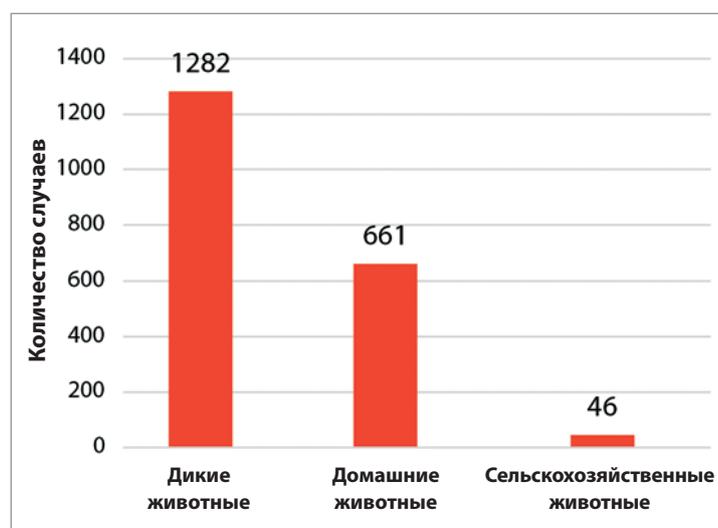


Рис. 3. Видовая структура бешенства животных на территории Московской области в 2011–2023 гг.

Fig. 3. Species structure of animal rabies in the Moscow Oblast in 2011–2023

Наличие относительно большого числа случаев бешенства среди плотоядных животных на протяжении наблюдаемого периода свидетельствует о функционировании природных очагов, откуда векторы, в частности больные лисицы, могут переносить вирус потенциальным жертвам или которые могут служить местом, где происходит передача возбудителя восприимчивым животным (безнадзорным кошкам, собакам и сельскохозяйственным животным). Мониторинговые исследования показали, что число безнадзорных домашних плотоядных животных, как правило, увеличивается осенью после окончания дачного сезона. На эту особенность указывал Б. Л. Черкасский [22]. Требуется проведение широкой информационно-разъяснительной работы с населением урбанизированных территорий, где создаются особые условия для циркуляции возбудителя бешенства.

Безнадзорные животные несут дополнительные риски сохранения очагов бешенства, повышают инцидентность проявления заболевания. Для решения такой социально-экономической проблемы, как безнадзорные животные, в Московской области создается система менеджмента по улучшению координации и взаимодействия служб при осуществлении мероприятий, прямо или косвенно отвечающих за реализацию отлова, содержания безнадзорных животных. Это позволит повысить эффективность контроля численности безнадзорных животных, а также мероприятий по ее регулированию.

Ввиду того, что основным резервуаром бешенства являются дикие плотоядные животные, на территории региона была начата их оральная вакцинация. Первые полевые испытания, проведенные в Швейцарии в 70-х гг. XX века, показали эффективность оральной иммунизации как метода борьбы с бешенством животных. Была продемонстрирована возможность использования живого аттенуированного штамма вируса бешенства, помещенного в специальную приманку, привлекательную для поедания дикими плотоядными животными. Аттенуированный вирус, проникая в лимфоидную ткань организма через ротовую полость животного, индуцирует иммунный процесс, формируя невосприимчивость к заражению вирулентным вирусом

бешенства. Оральная иммунизация в настоящее время представляет собой высокоэффективный метод борьбы с заболеванием. Современная стратегия борьбы с бешенством обязательно включает и специфическую профилактику заболевания домашних плотоядных животных [14]. Опыт стран Европейского союза, США, Канады показал, что планомерное многолетнее применение оральных вакцин против бешенства в природных эпизоотических очагах эффективно снижает проявление эпизоотий вплоть до ликвидации заболевания.

Основной целью оральной иммунизации является создание и повышение специфического иммунитета в популяции восприимчивых диких плотоядных животных. Наличие в сыворотке крови целевых вакцинированных животных специфических вируснейтрализующих антител в титре $\geq 0,5$ ME/см³ обеспечивает достаточный иммунитет у целевых видов животных [23, 24].

На территории Подмосквового региона применялись «Вакцина для оральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства «Рабивак-О/333» (АО «Покровский завод биопрепаратов», Россия) и «Вакцина против бешенства диких плотоядных животных живая «Рабистав» (ФКП «Ставропольская биофабрика», Россия), зарегистрированные и сертифицированные в РФ. При работе с ними тщательно соблюдались правила, прописанные в инструкциях по их применению.

Оральные антирабические вакцины сконструированы следующим образом: блистер или капсула с вирусной суспензией размещается внутри приманки, имеющей форму прямоугольного параллелепипеда, массой 25–55 г.

В начале внедрения оральной вакцинации раскладка вакцины осуществлялась двумя способами: традиционным ручным на территории большинства муниципальных районов Московской области из расчета 25–30 доз вакцины на 1 км², а также с использованием авиации в труднодоступных местах 2 раза в год. При раскладке обязательно соблюдались меры личной безопасности.

С 2017 г. в Московской области проводится тотальная раскладка оральной вакцины средствами малой авиации (рис. 4) с учетом единых принципов, соответствующих общепринятым мировым требованиям. Внедрен метод GPS-картирования раскладки приманок. Перед проведением оральной вакцинации предварительно проводили картографирование местности, составляли полетные карты с нанесением схем проектируемых маршрутов раскладки вакцины, определяли и согласовывали возможные зоны для полета малой авиации, а также выделяли контрольные участки с наличием лесного массива.

Весеннюю вакцинацию проводили в конце марта, апреле, начале мая (в зависимости от погодных условий). Вторая иммунизация осуществлялась осенью, в сентябре – октябре. В связи с тем, что после оральной вакцинации весной у родившихся лисят имеется колостральный иммунитет, проводилась третья вакцинация – в июне или начале июля.

После раскладки вакцин выполнялась оценка оральной иммунизации (рис. 5), которая включала визуальное определение количества съеденных приманок на контрольных участках, отбор и лабораторный контроль проб от диких плотоядных животных для



Рис. 4. Средство малой авиации для проведения раскладки оральной вакцины

Fig. 4. Light aircraft for oral vaccine distribution

определения наличия антибиотиков тетрациклинового ряда в зубах и костной ткани, а также уровня сероконверсии антирабических антител у диких плотоядных животных.

Активное использование орального метода вакцинации против бешенства диких плотоядных потребовало коррекции оценки результатов ее проведения, изыскания и внедрения новых методов. Поэтому нами была изучена возможность использования фотоловушек. Фотоловушка – это полностью автоматическая камера с GSM-функциями, которая маскируется с помощью специального корпуса. Для работы использовалась фотоловушка «Филин 120» (рис. 6). Она автоматически производит съемку фото или видео при появлении животного на исследуемом контрольном участке, которое контролируется датчиком движения, срабатывающим на расстоянии до 20 м.

Таким образом, впервые в России дистанционный метод оценки и контроля поедаемости оральной вакцины против бешенства с помощью фотоловушки был использован на территории Московской области. Фотоловушка автоматически отправляет фото на мобильный телефон, используя GSM/GPRS-сеть. Функция отправки MMS позволяет получать 1–99 фотографий, которые обрабатываются на компьютере (рис. 7).

По данным с фотоловушек выявлено, что все разложенные брикеты с вакциной активно поедаются в течение первых двух суток основным целевым видом животных – лисицей. По результатам подсчета на контрольных участках поедаемость брикетов с вакциной составила 70–90%.

Контроль поедаемости оральных вакцин также проводится по маркеру – антибиотику тетрациклинового ряда, который входит в состав препаратов и который после попадания в организм животного накапливается в местах роста костной ткани, в частности ткани зубов, и обнаруживается флуоресцентным методом в спилах зубов или костной ткани нижней челюсти [25].

Анализ эпизоотического процесса бешенства в 2013–2015 гг., проведенный М. И. Гулюкиным и А. А. Шабейкиным [26], показал, что на большей части Европейской территории России был подъем эпизоотии. Проводимая в стране оральная вакцинация не сопровождалась ожидаемым эффектом, кроме отдельных изолированных регионов. По мнению А. А. Шабейки-

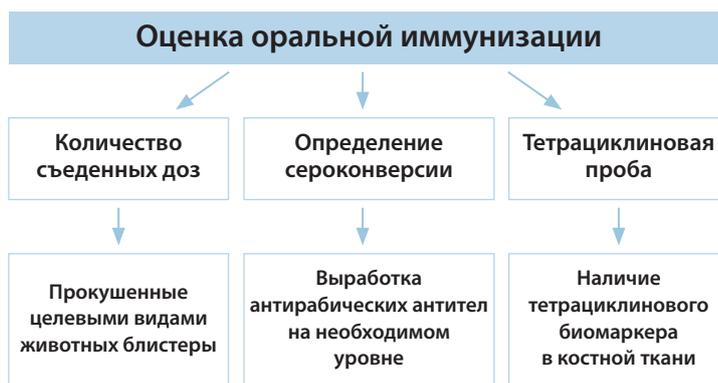


Рис. 5. Алгоритм проведения оценки результатов оральной иммунизации

Fig. 5. Evaluation of oral vaccination results

на [27], природный тип бешенства в РФ предопределяет географию его распространения, сезонность, цикличность вспышек болезни и видовой состав животных, вовлекаемых в эпизоотический процесс, а показатели видового и пространственно-временного проявления эпизоотического процесса подвержены постоянным изменениям. Крупные по площади регионы страны, размер нозоареала, разнообразие географических условий, обновление популяции животных резервуарных видов являются факторами, значительно усложняющими задачу иммунизации диких плотоядных животных на территории России. Это диктует необходимость дальнейшего совершенствования стратегии проведения оральной антирабической вакцинации.

Пространственный анализ данных и созданные им цифровые модели эпизоотических процессов позволили А. А. Шабейкину [28] определить закономерности развития эпизоотического процесса бешенства в привязке к природным зонам и провинциям Российской Федерации. В условиях биомов смешанных лесов отмечается сдвиг в сторону большей регистрации случаев бешенства среди диких плотоядных животных. Инцидентность бешенства в популяциях енотовидных собак находится на максимальном уровне в лесных биомах, где данный вид животных наиболее вероятно является дополнительным биологическим резервуаром вируса.



Рис. 6. Фотоловушка «Филин 120»

Fig. 6. Camera trap "Filin 120"



Рис. 7. Момент подхода и поедания брикетов с оральной вакциной лисицами на контрольном участке

Fig. 7. Approaching and consuming of vaccine baits by foxes in the controlled area

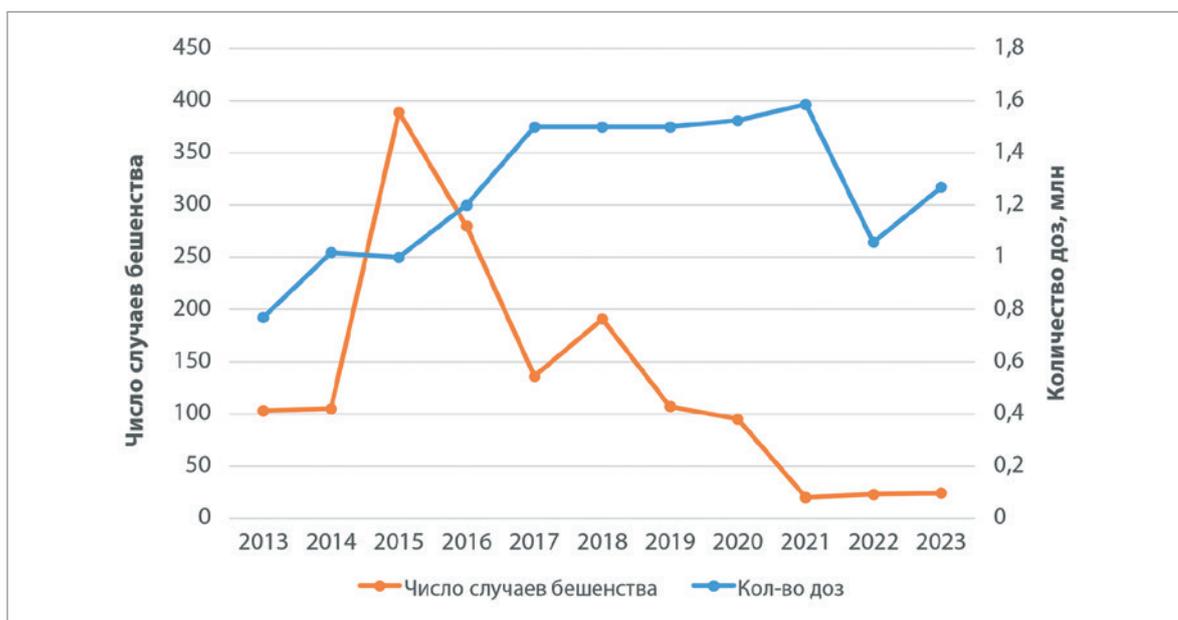


Рис. 8. Число случаев бешенства в Московской области и количество доз примененной оральной вакцины в 2013–2023 гг.

Fig. 8. Rabies incidence and number of the used oral vaccine doses in the Moscow Oblast in 2013–2023

В Московской области также, несмотря на проводимую оральную вакцинацию диких плотоядных в 2013, 2014, 2015 гг. (использовано соответственно 0,770; 1,018; 1 млн доз вакцины), число случаев бешенства нарастало, достигнув к 2015 г. своего максимума (389 случаев).

Поскольку метод оральной вакцинации показал свою эффективность во многих странах мира, в регионе началась системная, планомерная, тщательно организованная кампания, были разработаны и утверждены Главным управлением ветеринарии Московской области «Методические рекомендации по проведению оральной вакцинации против бешенства плотоядных на территории Московской области», увеличилось количество ежегодного использования вакцины: с 1,2 млн доз в 2016 г. до 1,587 млн доз в 2021 г. Число случаев проявления бешенства в дикой природе начало уменьшаться. Незначительный подъем количества случаев бешенства в 2018 г. (191 случай) сменился существенным снижением к 2021 г. (20 случаев), после чего произошло формирование своеобразного плато к 2023 г., когда было зарегистрировано 24 случая бешенства (рис. 8).

Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по бешенству на территории Московской области показал, что в 2011–2023 гг. произошло три подъема и спада интенсивности эпизоотического процесса бешенства, пики которого приходились на 2012, 2015 и 2018 гг. Несмотря на последующее резкое снижение числа случаев регистрации бешенства в регионе, заболевание сохраняется в дикой фауне, что свидетельствует о наличии природных очагов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпизоотическую обстановку по бешенству в Московской области в начале рассматриваемого периода (с 2011 по 2015 г.) можно считать напряженной. Она

характеризовалась типичной для бешенства природной очаговостью и цикличностью эпизоотического процесса [29]. Резервуаром служат в основном красные лисицы. Последующее внедрение разработанного комплекса противоэпизоотических мер, включая интенсивную ежегодную оральную вакцинацию диких плотоядных с соблюдением строгих рекомендаций по ее применению, позволило снизить число регистрируемых случаев бешенства и напряженность эпизоотического процесса на территории региона. Ветеринарной службой Московской области подтверждена высокая значимость постоянного мониторинга всех работ с восприимчивыми к бешенству животными.

Показано, что снижение числа ежегодно регистрируемых случаев заболевания бешенством коррелировало с увеличением объемов использования оральной вакцины. Применение средств объективного контроля (фотоловушек) подтвердило поедание оральной антирабической вакцины целевыми видами животных (лисицами).

Внедрение передовых научных разработок в области лабораторной диагностики, повышения популяционного иммунитета среди диких плотоядных животных путем оральной вакцинации против бешенства и учет эпизоотической ситуации в сопредельных областях позволили улучшить эпизоотическую обстановку по бешенству животных в Московской области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Метлин А. Е. Современные аспекты классификации лиссавирусов. *Ветеринария сегодня*. 2017; (3): 52–57. <https://www.elibrary.ru/zigafr>
2. WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance & Research. Rabies-Bulletin-Europe. <https://www.who-rabies-bulletin.org>
3. Epidemiology of Rabies. <https://www.who-rabies-bulletin.org/site-page/epidemiology-rabies>
4. Бельчихина А. В., Караулов А. К. Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по бешенству животных на территории Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2016; (1): 64–70. <https://www.elibrary.ru/wwrlst>
5. Паршикова А. В., Зайкова О. Н. Эпизоотологические особенности бешенства животных в Центральном, Центрально-Черноземном и Волго-Вятском экономических районах за 2013–2017 гг.

⁵ Сугрובה И. С., Воскресенский С. Б., Квочко П. С., Метлин А. Е., Груздев К. Н., Парошин А. В. Методические рекомендации по проведению оральной вакцинации против бешенства плотоядных на территории Московской области: утв. Главным управлением ветеринарии Московской области 31.08.2018.

Ветеринария и кормление. 2018; (4): 42–44. <https://doi.org/10.30917/АТТ-УК-1814-9588-2018-4-15>

6. Гулюкин А. М., Шабейкин А. А., Макаров В. В., Зайкова О. Н., Гребеникова Т. В., Забережный А. Д. и др. Особенности эпизоотологического процесса и молекулярно-генетическая характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Тверской области. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63 (3): 115–123. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-115-123>

7. Целуева Н. И., Гулюкин А. М. Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Смоленской области. *Ветеринария*. 2021; (1): 12–15. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.1.12-15>

8. Целуева Н. И. Особенности эпизоотологии бешенства в Смоленской области. *Международный вестник ветеринарии*. 2022; (2): 29–36. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.29>

9. Макаров В. В., Сухарев О. И., Гулюкин А. М., Соколов М. Н., Литвинов О. Б. Бешенство енотовидных собак: статистический анализ заболеваемости. *Ветеринария*. 2009; (6): 20–25. <https://www.elibrary.ru/kwzdoz>

10. Анашкина Е. Н., Бессонова Н. М., Боронетская О. И., Дежкин В. В., Дюльгер Г. П., Зозуля В. В. и др. Воспроизводство охотничьих животных. Под общ. ред. А. П. Каледина. М.: ЭРА; 2019. 360 с.

11. Каледин А. П., Остапчук А. М., Голубева О. Н., Поддубная О. В., Бекетов С. В., Макеева В. М. Ресурсы лисицы обыкновенной в Московской области. *Главный зоотехник*. 2023; (10): 34–56. <https://doi.org/10.33920/sel-03-2310-04>

12. Московская область. Общие географические и исторические сведения. https://www.mnr.gov.ru/activity/regions/moskovskaya_oblast (дата обращения: 11.03.2024)

13. Макаров В. В., Джупина С. И., Ведерников В. А., Заводских А. В., Афонин В. Н. Динамика численности лисицы как фактор эпизоотологического риска бешенства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2002; (6): 36–39. <https://www.elibrary.ru/mpkrmd>

14. Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бешенства: утв. приказом Минсельхоза России от 25.11.2020 № 705 (с изменениями от 24.08.2021). <https://docs.cntd.ru/document/573140264?ysclid=lywv46n8kg591333801>

15. Гулюкин А. М., Смолянинов Ю. И., Шабейкин А. А. Экономический ущерб, причиняемый бешенством сельскохозяйственных животных в России. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016; (8): 34–38. <http://dx.doi.org/10.18551/rjoas.2016-08-06>

16. Мовсезянц А. А., Миронов А. Н., Ведерников В. А., Хадарцев О. С., Борисевич С. В. Проблема смертности людей от бешенства в Российской Федерации в 2010–2011 годах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2012; (3): 48–51.

17. World Organisation for Animal Health. Rabies. <https://www.woah.org/en/disease/rabies>

18. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. 442 с.

19. Rupprecht C. E., Hanlon C. A., Slate D. Oral vaccination of wildlife against rabies: opportunities and challenges in prevention and control. *Developments in Biologicals (Basel)*. 2004; 119: 173–184. PMID: 15742629.

20. Макаров В. В. Оральная вакцинация лисиц против бешенства безальтернативна. *Ветеринарная патология*. 2009; (4): 104–107. <https://www.elibrary.ru/ocziaf>

21. Гулюкин А. М. Значимость современных методов лабораторной диагностики и идентификации возбудителя бешенства для иммунологического мониторинга данного зооноза. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59 (3): 5–10. <https://www.elibrary.ru/tseekt>

22. Черкасский Б. Л. Риск в эпидемиологии. М.: Практическая медицина; 2007. 480 с.

23. Баньковский Д. О. Иммунобиологические свойства штамма ERA G333 вируса бешенства для изготовления оральной антирабической вакцины: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Щелково; 2010. 20 с.

24. Парошин А. В. Эпизоотологический мониторинг и комплекс мер по борьбе с бешенством на территории Московской области: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2021. 19 с.

25. Бобкова О. Н., Прудников В. С. Оценка поедаемости блистер-приманок лисами при пероральной иммунизации их против бешенства. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2009; 45 (1-2): 140–143. <http://repo.vsvamv.by/handle/123456789/6402>

26. Гулюкин М. И., Шабейкин А. А. Развитие эпизоотической волны бешенства в 2013–2015 гг. на территории Европейской части Российской Федерации. *Противоэпизоотические и противоэпидемические мероприятия по профилактике заболевания бешенством людей и животных в Московской области: тезисы докладов научно-практической конференции Московской области (Москва, 2–3 октября 2016 г.)*. М.: Главное управление ветеринарии Московской области; 2016; 85–95. <https://elibrary.ru/wbnbywh>

27. Шабейкин А. А. Особенности развития и продвижения эпизоотической волны бешенства на территории европейской части РФ. *Материалы VI Международного ветеринарного конгресса (Сочи, 12–15 апреля 2016 г.)*. М.: Российская ветеринарная ассоциация; 2016; 270–275. <https://elibrary.ru/wmjnpx>

28. Шабейкин А. А. Цифровые модели эпизоотических процессов бешенства и сибирской язвы, оценка и управление рисками: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 2022. 50 с.

29. Нафеев А. А., Пелевина Н. И., Васильев Д. А. Бешенство – природно-очаговый зооноз. Современная характеристика эпизоотического процесса. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2015; (27): 43–48. <https://elibrary.ru/ukwhkp>

REFERENCES

1. Metlin A. Ye. Modern aspects of lyssavirus classification. *Veterinary Science Today*. 2017; (3): 52–57. <https://www.elibrary.ru/zigafp> (in Russ.)

2. WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance & Research. Rabies-Bulletin-Europe. <https://www.who-rabies-bulletin.org>

3. Epidemiology of Rabies. <https://www.who-rabies-bulletin.org/site-page/epidemiology-rabies>

4. Belchihina A. V., Karaulov A. K. Retrospective analysis of rabies epizootic situation in animals in the territory of the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2016; (1): 64–70. <https://www.elibrary.ru/wvrlst> (in Russ.)

5. Parshikova A. V., Zaykova O. N. Epizootological features of animal rabies in the Central, Central black earth and Volga-Vyatka economic regions in 2013–2017. *Veterinaria i kormlenie*. 2018; (4): 42–44. <https://doi.org/10.30917/АТТ-УК-1814-9588-2018-4-15> (in Russ.)

6. Gulukin A. M., Shabeykin A. A., Makarov V. V., Zaykova O. N., Grebenikova T. V., Zaberzhny A. D., et al. Features of epizootic process and molecular-genetic characteristics of virus isolates of rabies in Tver Region. *Problems of Virology*. 2018; 63 (3): 115–123. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-115-123> (in Russ.)

7. Tselueva N. I., Gulyukin A. M. Review of the epizootic situation of rabies in the Smolensk region. *Veterinariya*. 2021; (1): 12–15. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.1.12-15> (in Russ.)

8. Tselueva N. I. The spread of animal rabies on the territory of the Smolensk region. *International Journal of Veterinary Medicine*. 2022; (2): 29–36. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.29> (in Russ.)

9. Makarov V. V., Sukharev O. I., Gulyukin A. M., Sokolov M. N., Litvinov O. B. Statistical analyses morbidity racoon dogs rabies. *Veterinariya*. 2009; (6): 20–25. <https://www.elibrary.ru/kwzdoz> (in Russ.)

10. Anashkina E. N., Bessonova N. M., Boronetskaya O. I., Dezhkin V. V., Dylulger G. P., Zozulya V. V., et al. Reproduction of Game Animals. Ed. by A. P. Kaledin. Moscow: ERA; 2019. 360 p. (in Russ.)

11. Kaledin A. P., Ostapchuk A. M., Golubeva O. N., Poddubnaya O. V., Beketov S. V., Makeeva V. M. Resources of red fox in the Moscow Region. *Head of Animal Breeding*. 2023; (10): 34–56. <https://doi.org/10.33920/sel-03-2310-04> (in Russ.)

12. Moscow Oblast. General geographic and historical data. https://www.mnr.gov.ru/activity/regions/moskovskaya_oblast (date of access: 11.03.2024) (in Russ.)

13. Makarov V. V., Dzhupina S. I., Vedernikov V. A., Zavadskikh A. V., Afonin V. N. Frequency dynamics of foxes as a factor of epizootic risk of rabies. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2002; (6): 36–39. <https://www.elibrary.ru/mpkrmd> (in Russ.)

14. Veterinary rules of preventive, diagnostic, restrictive and other measures, imposition and removal of quarantine and other restrictions to prevent and eradicate rabies outbreak: approved by RF MoA No. 705 on 25.11.2020. <https://docs.cntd.ru/document/573140264?ysclid=lywv46n8kg591333801> (in Russ.)

15. Gulyukin A. M., Smolyaninov Y. I., Shabeykin A. A. The economic damage caused by rabies of agricultural animals in Russia. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016; (8): 34–38. <http://dx.doi.org/10.18551/rjoas.2016-08-06> (in Russ.)

16. Mosevants A. A., Mironov A. N., Vedernikov V. A., Khadartsev O. S., Borisovich S. V. The problem of human rabies mortality in the Russian Federation for the period of 2010–2011. *Scientific Center for Expertise of Medical Application Products Bulletin*. 2012; (3): 48–51. (in Russ.)

17. World Organisation for Animal Health. Rabies. <https://www.woah.org/en/disease/rabies>

18. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal Rabies. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2022. 442 p. (in Russ.)

19. Rupprecht C. E., Hanlon C. A., Slate D. Oral vaccination of wildlife against rabies: opportunities and challenges in prevention and control. *Developments in Biologicals (Basel)*. 2004; 119: 173–184. PMID: 15742629.

20. Makarov V. V. Oral vaccination of foxes against rabies – no alternatives. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2009; (4): 104–107. <https://www.elibrary.ru/ocziaf>

21. Gulyukin A. M. Significance of modern methods for laboratory detection of rabies agents and identification of the zoonose immunological survey. *Problems of Virology*. 2014; 59 (3): 5–10. <https://www.elibrary.ru/tseekt>

22. Cherkassky B. L. Risk in Epidemiology. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2007. 480 p. (in Russ.)

23. Bankovsky D. O. Immunobiological properties of rabies virus ERA G333 strain for the production of oral rabies vaccine: Author's abstract of thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Shchelkovo; 2010. 20 p. (in Russ.)

24. Paroshin A. V. Epizootological monitoring and set of measures to control rabies in the Moscow Oblast: Author's abstract of thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Vladimir; 2021. 19 p. (in Russ.)

25. Bobkova O. N., Prudnikov V. S. Otsenka poedaemosti blister-primanok lisami pri peroral'noi immunizatsii ikh protiv beshenstva = Evaluation of the vaccine blister pack consumption rate by foxes for the purposes of oral rabies vaccination. *Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine"*. 2009; 45 (1–2): 140–143. <http://repo.vsavm.by/handle/123456789/6402> (in Russ.)

26. Gulyukin M. I., Shabaykin A. A. Razvitie epizooticheskoi volny beshenstva v 2013–2015 gg. na territorii Evropeiskoi chasti Rossiiskoi Federatsii = Development of rabies epizootic wave in 2013–2015 in the European part of the Russian Federation. *Protivoepizooticheskie i protivoepidemicheskie meropriyatiya po profilaktike zabolevaniya beshenstvom lyudei*

i zhivotnykh v Moskovskoi oblasti: tezisy dokladov nauchno-prakticheskoi konferentsii Moskovskoi oblasti (Moskva, 2–3 oktyabrya 2016 g.) = Anti-epizootic and anti-epidemic measures to prevent rabies of humans and animals in the Moscow Oblast: abstracts of the scientific and practical conference in the Moscow Oblast (Moscow, 2–3 October, 2016). Moscow: Chief Veterinary Department of the Moscow Oblast; 2016; 85–95. <https://elibrary.ru/wnbwyh> (in Russ.)

27. Shabaykin A. A. Osobennosti razvitiya i prodvizheniya epizooticheskoi volny beshenstva na territorii evropeiskoi chasti RF = Peculiarities of the development and movement of the rabies epizootic wave in the European part of the Russian Federation. *Materialy VI Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa (Sochi, 12–15 aprelya 2016 g.) = Proceedings of (Sochi, 12–15 April, 2016)*. Moscow: Russian Veterinary Association; 2016; 270–275. <https://elibrary.ru/wmjnpx> (in Russ.)

28. Shabaykin A. A. Digital models of rabies and anthrax epizootic processes, risk assessment and management: Author's abstract of thesis for degree of Dr. Sci. (Veterinary Medicine). Moscow; 2022. 50 p. (in Russ.)

29. Nafeev A. A., Pelevina N. I., Vasil'ev D. A. Rabies a feral-herd zoonosis. Modern characteristic of epizootic process. *The Far Eastern journal of Infectious Pathology*. 2015; (27): 43–48. <https://elibrary.ru/ukwhkp> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 22.05.2024

Поступила после рецензирования / Revised 26.06.2024

Принята к публикации / Accepted 24.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Парошин Антон Валерьевич, канд. вет. наук, начальник центра (отдела) профилактики бешенства ГБУВ МО «Территориальное ветеринарное управление № 5», р. п. Серебряные Пруды, Московская область, Россия; vetlen1@mail.ru

Воскресенский Сергей Борисович, канд. техн. наук, первый заместитель министра – главный государственный ветеринарный инспектор Московской области, Министерство сельского хозяйства и продовольствия Московской области, г. Красногорск, Московская область, Россия; msh@mosreg.ru

Груздев Константин Николаевич, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, gruzdev@arriah.ru

Чернышова Елена Владимировна, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Anton V. Paroshin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Centre (Department) for Rabies Prevention, State Budgetary Institution of Veterinary Medicine of the Moscow Oblast "Territorial Veterinary Department No. 5", Serebryanye Prudy, Moscow Oblast, Russia; vetlen1@mail.ru

Sergey B. Voskresensky, Cand. Sci. (Technology), First Deputy Minister – Chief Veterinary Officer of the Moscow Oblast, Ministry of Agriculture and Food of the Moscow Oblast, Krasnogorsk, Moscow Oblast, Russia; msh@mosreg.ru

Konstantin N. Gruzdev, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, gruzdev@arriah.ru

Elena V. Chernyshova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Вклад авторов: Парошин А. В. – организация мероприятий по специфической профилактике бешенства, сбор и исследование образцов биологического материала, обработка полученных результатов, внедрение средств объективного контроля; Воскресенский С. Б. – анализ эпизоотической ситуации по бешенству, организация и анализ результатов мероприятий по специфической профилактике бешенства, внедрение средств объективного контроля и организация раскладки оральной вакцины с помощью средств малой авиации, учет и анализ результатов внедрения новых подходов; Груздев К. Н. – статистический анализ полученных результатов, изучение научных публикаций по теме, разработка концепции исследований и подготовка статьи; Чернышова Е. В. – исследование образцов биологического материала, изучение научных публикаций по теме.

Contribution: Paroshin A. V. – organization of rabies preventive measures, collection and testing of biological samples, data processing, camera trap introduction; Voskresensky S. B. – rabies situation analysis, arrangement of rabies preventive measures and analysis of their results, camera trap introduction and organization of the vaccine distribution by light aircrafts, results recording and analysis of new approach implementation; Gruzdev K. N. – statistic analysis of the results, review of relevant scientific papers, paper conceptualization and drafting; Chernyshova E. V. – biological sample testing, review of relevant scientific papers.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-223-233>
УДК 619:578.833.31:616-076:577.2

Разработка и валидация высокочувствительного метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ для обнаружения генома вируса классической чумы свиней

А. С. Садчикова¹, А. С. Иголкин¹, Р. С. Чернышев¹, А. А. Козлов¹, И. С. Колбин¹, А. В. Спрыгин¹, Д. А. Бирюченков¹, И. А. Чвала¹, А. Мазлум²

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия

² Университет штата Луизиана, г. Батон-Руж, LA 70803, США

РЕЗЮМЕ

Проблема классической чумы свиней в свиноводстве по-прежнему остается актуальной во всем мире, несмотря на принимаемые меры. Последний случай данного заболевания в Российской Федерации регистрировали в 2020 г., однако сохраняется угроза эмерджентного возникновения болезни. Для предотвращения заноса вируса классической чумы свиней и быстрой ликвидации потенциально возможных вспышек необходимо проведение комплекса противозoonотических мероприятий, преимущественно включающих вакцинопрофилактику и ежегодный диагностический мониторинг на основе молекулярно-генетических и серологических исследований. В связи с этим разработан метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени с использованием внутреннего контрольного образца. Праймеры в модификации Locked Nucleic Acid (конформационно блокированных нуклеозидов), обеспечивающие более высокий уровень аффинности к ДНК-матрице и физико-химической стабильности, и FAM-меченый TaqMan-зонд были подобраны к 5'-нетранслируемой области генома. Также определены валидационные показатели: правильность, сходимость, воспроизводимость, специфичность и чувствительность. С целью сравнительного анализа чувствительности параллельно тестировались зашифрованными тест-системами № x1, x2 образцы смывов, органов и тканей, полученных от свиней, экспериментально зараженных эпизоотическим штаммом вируса классической чумы свиней (селезенка, почка, печень, кровь, лимфатические узлы, ректальные и оральные мазки), корма, контаминированного животными, и вирусосодержащего материала с известными титрами. Показаны 100%-я диагностическая чувствительность и предел детекции в 0,23 Ig ККИД₅₀/см³ разработанного метода. При этом показатели тест-систем № x1 и x2 были ниже, что может приводить к ложноотрицательным результатам полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) и влиять на недоверную постановку диагноза. Таким образом, представленный метод может использоваться при проведении широкомасштабного мониторинга классической чумы свиней в Российской Федерации.

Ключевые слова: классическая чума свиней, ОТ-ПЦР-РВ, внутренний контрольный образец, диагностическая чувствительность, аналитическая чувствительность

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие». Авторы выражают глубокую благодарность заведующему лабораторией профилактики бактериальных болезней канд. вет. наук В. А. Евграфовой и ведущему биологу референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота А. О. Кротовой за консультативную помощь.

Для цитирования: Садчикова А. С., Иголкин А. С., Чернышев Р. С., Козлов А. А., Колбин И. С., Спрыгин А. В., Бирюченков Д. А., Чвала И. А., Мазлум А. Разработка и валидация высокочувствительного метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ для обнаружения генома вируса классической чумы свиней. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 223–233. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-223-233>

Конфликт интересов: Иголкин А. С. и Чвала И. А. являются членами редколлегии журнала «Ветеринария сегодня», но не имеют никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Рукопись прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Садчикова Анастасия Сергеевна, аспирант, ветеринарный врач референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, sadchikova@arriah.ru

Development and validation of highly sensitive multiplex real-time RT-PCR assay for detection of classical swine fever virus genome

Anastasiya S. Sadchikova¹, Alexey S. Igolkin¹, Roman S. Chernyshev¹, Anton A. Kozlov¹, Ivan S. Kolbin¹,
Alexander V. Sprygin¹, Dmitriy A. Biryuchenkov¹, Ilya A. Chvala¹, Ali Mazloum²

¹ Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

² Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803, USA

ABSTRACT

Classical swine fever (CSF) remains a challenge for pig farming industry all over the world despite the measures taken. The last CSF case in the Russian Federation was reported in 2020, however, the threat of the disease emerging still persists. A set of anti-epidemic measures including mainly preventive vaccination and

annual diagnostic monitoring using molecular-genetic and serological methods is required for CSF virus introduction prevention and rapid eradication of potential disease outbreaks. Therefore, a real-time reverse transcription-polymerase chain reaction using an internal control sample has been developed. Modified primers (locked nucleic acids containing conformationally blocked nucleosides) providing a higher affinity to the DNA matrix and physicochemical stability and a FAM-labeled TaqMan probe were selected for 5'-untranslated region of the genome. The following validation parameters were defined: accuracy, repeatability, reproducibility, specificity and sensitivity. For comparative analysis of the developed assay sensitivity, swabs, samples of organs and tissues collected from pigs experimentally infected with an epizootic strain of the classical swine fever virus (spleen, kidney, liver, blood, lymph nodes, rectal and oral smears), animal-contaminated feed and virus-containing material with known virus titres were also tested in parallel with coded test systems No. x1 and x2. The developed assay was shown to have 100% diagnostic sensitivity and detection limit of 0,23 lg CCID₅₀/cm³. Therewith, the results of analysis of test systems No. x1, x2 based on above parameters were lower that could give rise to false positive real-time RT-PCR results and incorrect diagnosis. Thus, described assay can be used for extensive monitoring of classical swine fever in the Russian Federation.

Keywords: classical swine fever, real-time RT-PCR, internal control sample, diagnostic sensitivity, analytical sensitivity

Acknowledgements: The study was funded by the FGBl "ARRIAH" as a part of research activities "Veterinary Welfare". The authors express their gratitude to V. A. Evgrafova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Bacterial Disease Prevention, and A. O. Krotova, Leading Biologist, Reference Laboratory for Cattle Diseases, for advisory assistance.

For citation: Sadchikova A. S., Igolkin A. S., Chernyshev R. S., Kozlov A. A., Kolbin I. S., Sprygina A. V., Biryuchenkov D. A., Chvala I. A., Mazloum A. Development and validation of highly sensitive multiplex real-time RT-PCR assay for detection of classical swine fever virus genome. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 223–233. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-223-233>

Conflict of interests: Igolkin A. S. and Chvala I. A. are members of the editorial board of the "Veterinary Science Today" journal, none of the authors were involved into decision making process related to the article publication. Before being published, the manuscript has been appropriately reviewed. The authors did not declare any other conflicts of interests.

For correspondence: Anastasiya S. Sadchikova, Postgraduate Student, Veterinarian, Reference Laboratory for African swine fever, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, sadchikova@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Классическая чума свиней (КЧС, *Pestis suum*) – одна из основных вирусных болезней, оказывающих значительное влияние на развитие свиноводства и охотничьего промысла дикого кабана [1].

Возбудителем КЧС является *Pestivirus C* рода *Pestivirus* семейства *Flaviviridae*, геном которого представлен одноцепочечной РНК положительной полярности длиной 12,3 т. н. [2]. Молекула РНК содержит две нетранслируемые области (5'-NTR и 3'-NTR), а также одну рамку считывания, кодирующую 13 белков (4 структурных и 9 неструктурных) [3].

Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), КЧС подлежит нотификации [4]. И несмотря на ликвидацию КЧС в европейских странах и России, где последняя вспышка регистрировалась в 2019 г. среди домашних свиней и в 2020 г. в популяции дикого кабана, угроза эмерджентного трансграничного заноса остается, что требует систематического надзора за заболеванием [5]. Ввиду отсутствия достоверных данных по количеству проведенного пассивного серологического мониторинга доказать циркуляцию вирулентного вируса КЧС в популяции дикого кабана на территории России затруднительно [6].

В настоящее время метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) широко используется как один из самых быстрых, специфичных и чувствительных методов в молекулярной биологии, нацеленных на обнаружение генетического материала возбудителей болезней [7]. Однако метод классической ПЦР с электрофоретической детекцией в агарозном геле – долгий и трудоемкий, несущий высокий риск перекрестной контаминации [8]. Для диагностики КЧС, в том числе скринингового мо-

нитинга, наиболее подходит мультиплексная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) с внутренним контрольным образцом (ВКО), снижающим вероятность недостоверных результатов [9].

Зонды TaqMan, позволяющие проводить гибридационно-флуоресцентную детекцию результатов ПЦР в режиме реального времени, как одни из самых практичных и надежных для диагностики пестивирусных инфекций, используются в ряде протоколов [10]. Большинство тест-систем на основе ОТ-ПЦР-РВ, описанных ранее для обнаружения генома вируса КЧС, амплифицируют фрагмент 5'-нетранслируемой области (5'-NTR) и демонстрируют приемлемую чувствительность и специфичность [11]. Более высокий уровень аффинности праймеров к ДНК-мишени и физико-химической стабильности достигается модификацией олигонуклеотидов в LNA (locked nucleic acid) [12].

Использование экзогенного ВКО дает возможность избежать ложноотрицательных результатов, возникающих вследствие ошибок как на стадии пробоподготовки (выделение нуклеиновой кислоты), так и амплификации целевого фрагмента [13].

Цель этого исследования заключалась в разработке и валидации высокочувствительного, специфичного и воспроизводимого протокола мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ с ВКО, релевантного для диагностики всех субгенотипов вируса КЧС, циркулировавших на территории Российской Федерации (1.1, 1.2, 2.1, 2.3) в период с 1982 по 2020 г. [5, 14]. Такой метод должен обладать характеристиками, удовлетворяющими всем требованиям для тест-системы на основе ПЦР-РВ, и возможностью широкого применения в диагностическом мониторинге инфекции [15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусы и бактерии. Для разработки методики использовали разные штаммы вируса КЧС: референтный «Ши-мынь», «684», «719» (субгенотип 1.1), вакцинный «СК» (субгенотип 1.2), «CSF Amur 19-10/WB-12555» и «CSF Tigrovoe 16/WB-634» (субгенотип 2.1), «275» (субгенотип 2.2), «368», «870», «843» (субгенотип 2.3) и штаммы с неопределенным генотипом «589», «924», «925», «929», «917», «918», «920», «926», «927», «930» вируса КЧС, выделенные в России в период с 1982 по 2020 г.

Для определения аналитической специфичности метода использовали гетерологичные возбудители болезней свиней: вакцинный штамм «ВК»-ДЕП вируса болезни Ауески; штамм «Иркутский 2007» американского вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PPCS); референс-штамм «Мозамбик-78» V генотипа вируса африканской чумы свиней (АЧС); изолят «Челябинск 2021» вируса диареи крупного рогатого скота II генотипа (ВД КРС), полевой изолят возбудителя рожи свиней *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Патогенный биологический агент получен в форме лиофилизированного материала из государственной коллекции штаммов микроорганизмов и рабочей коллекции ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Животные. Для получения первичной культуры клеток использовали подсосунков массой 10–15 кг в возрасте 2–2,5 мес. из благополучных по КЧС хозяйств Владимирской области. Эвтаназию и отбор эксплантата тестикул производили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Культивирование. Вирус КЧС накапливали в первично трипсинизированной культуре клеток тестикул свиней (ТС), культивируемой на среде Игла-МЕМ, приготовленной по прописи ФГБУ «ВНИИЗЖ», с добавлением 10% фетальной сыворотки крови КРС и 50 мкг/см³ гентамицина сульфата [16]. Идентификацию репродукции возбудителя проводили в ОТ-ПЦР-РВ согласно методическим рекомендациям².

Внутренний контрольный образец. В качестве ВКО выбран РНК-содержащий бактериофаг MS2 семейства *Leviviridae*, патогенный для *Escherichia coli* [17].

Дизайн праймеров и зондов. Выравнивание и сравнительный молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей кДНК различных субгенотипов вируса КЧС, импортированных из базы данных GenBank, осуществляли с использованием программы Bioedit v7.2.5 и NCBI: Nucleotide BLAST. Критерием выбора оптимальных праймеров служили консервативные участки генома вируса КЧС. Праймеры и зонд для амплификации и гибридизации фрагмента ВКО выбраны исходя из литературных данных [18]. Синтез олигонуклеотидов выполнялся в компании ООО «Синтол» (Россия).

Выделение нуклеиновых кислот. РНК вируса КЧС экстрагировали из культуральной вирусосодержащей

суспензии ТС, а геном гетерологичных вирусов и бактерий – из лиофилизата нуклеосорбционным методом с использованием набора реагентов для выделения ДНК/РНК из биологического материала «РИБО-сорб» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкциями производителя³.

Постановка ОТ-ПЦР-РВ. Реакционная ПЦР-смесь содержала компоненты от производителя НПО «Евроген» (Россия), а именно набор OneTube RT-PCR TaqMan, включающий смесь OneTube RT-PCRmix, ревертазу TM-MMLV и воду, свободную от нуклеаз. Все стадии ПЦР (обратную транскрипцию, собственно амплификацию и гибридизационно-флуоресцентную детекцию) проводили в автоматическом амплификаторе Rotor-Gene Q в комплекте с программным обеспечением (QIAGEN, Германия).

Положительный контрольный образец (ПКО). В качестве ПКО предложен вакцинный штамм «СК» вируса КЧС с титром не менее 3,5 lg ККИД₅₀/см³ в форме лиофилизированного материала, растворенного в 4,0 см³ физиологического раствора и инактивированного термическим методом путем нагревания в течение 60 мин при температуре +60 °С. Полноту инактивации проверяли методом трех последовательных слепых пассажей в культуру клеток ТС согласно методическим рекомендациям¹.

Отрицательный контрольный образец (ОКО). В качестве ОКО использовали воду, свободную от нуклеаз, производства НПО «Евроген» (Россия).

Валидация. Валидационные параметры определялись согласно рекомендуемому руководству по публикации результатов разработки количественных ПЦР-РВ-протоколов (MIQE: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments) [19]. Для определения правильности, сходимости и воспроизводимости анализировали положительный на наличие вируса КЧС штамма «719» образец: в 6 повторяемых реакциях, в 3 параллельных испытаниях в течение дня одним исследователем и в 3 параллельных испытаниях в течение 3 дней двумя исследователями. Аналитическую чувствительность (предел детекции) вычисляли в 10-кратных разведениях вируса КЧС штаммов «719», «684», «Ши-мынь» с известным титром. Показатель предела детекции выражали в минимальном титре вируса (lg ККИД₅₀/см³), обнаруженном валидируемым методом. Эффективность амплификации вычисляли согласно формуле:

$$E = (10^{1/\text{slope}} - 1) \times 100\%,$$

где slope – это значение наклона линейной области зависимости Ct от логарифма концентрации кДНК-матрицы.

Проверку аналитической специфичности выполняли в реакции ОТ-ПЦР-РВ с заведомо отрицательными на наличие РНК вируса КЧС образцами, содержащими экстрагированный геном гетерологичных вирусов и бактерий, а также с образцами штаммов вируса КЧС различных субгенотипов. Для определения диагностической чувствительности готовили панель с 27 истинно

² Колбин И. С., Власова Н. Н., Иголкин А. С., Елсукова А. А., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С. Методические рекомендации по выделению вируса классической чумы свиней на первичных культурах клеток (СС, КМС, СП, ТЯ, ТС) с идентификацией возбудителя методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 14.09.2021 № 42-21. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2021. 56 с.

³ Инструкция по применению комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб»: утв. приказом Росздравнадзора от 20.02.2009 № 1337-Пр/09. <https://www.amplisens.ru/upload/iblock/259/RIBO-sorb.pdf>

положительными образцами (селезенка, печень, почка, кровь, лимфатические узлы, мышечная ткань, ректальные и оральные мазки), полученными на разных стадиях протекания инфекционного процесса у экспериментально зараженных эпизоотическим штаммом вируса КЧС свиней, а также образцами корма, контаминированного инфицированными животными. Показатель диагностической специфичности определяли путем исследования 27 заведомо отрицательных образцов полнорационного комбикорма для свиней, 10%-х суспензий селезенки, почек, печени, лимфатических узлов, мясных изделий свиного происхождения, цельной крови, оральных и ректальных смывов свободных от КЧС свиней, полученных в референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках реализации государственного эпизоотологического мониторинга и проведения исследований на коммерческой основе со свиноводческими хозяйствами европейской части России. Сравнительная оценка как диагностической, так и аналитической чувствительности проводилась в параллельном исследовании образцов зашифрованными отечественными тест-системами № x1 и x2 согласно инструкции производителей. Выбранные тест-системы наиболее востребованы в России для диагностики КЧС и, так же как и исследуемая тест-система, содержат ВКО.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel. Построение графиков выполнялось в программе GraphPad Prism.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн олигонуклеотидов. По результатам выравнивания и сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей штаммов различных субгенотипов вируса КЧС наиболее консервативной областью генома, как и ожидалось, оказалась 5'-NTR, к которой и были подобраны прямой и обратный праймеры в модификации LNA, амплифицирующие фрагмент в 120 нуклеотидов (рис. 1).

TaqMan-зонды к целевому фрагменту генома вируса КЧС мечены флуорофором 6-FAM (6-карбоксихлорофлуоресцеин), а к участку ВКО – флуорофором Cy5.5 (цианин-5.5).

Оптимизация условий ОТ-ПЦР-РВ. В процессе оптимизации определены температурно-временной профиль и количественный состав ПЦР-смеси.

Смесь на одну реакцию содержала 1X OneTube RT-PCRmix, 0,4 пмоль прямого (forward) и 0,4 пмоль обратного (reverse) праймеров, 0,2 пмоль TaqMan-зонда, специфичных к фрагменту вируса КЧС; по 0,1 пмоль прямого, обратного праймеров и TaqMan-зонда, специфичных к участку ВКО, 1X TM-MMLV ревертазы, 10,0 мкл РНК-матрицы. До конечного объема реакционной смеси 25,0 мкл добавлялась вода, свободная от нуклеаз.

Программа ПЦР включала в себя обратную транскрипцию при 50 °C в течение 25 мин и амплификацию с двойным циклированием: общую денатурацию с целью инактивации ревертазы и активации ДНК-полимеразы с «горячим стартом» при 95 °C в течение 10 мин, первые 10 циклов без детектирования флуоресценции (денатурация при 95 °C в течение 10 с, отжиг праймеров при 60 °C в течение 40 с, элонгация при 72 °C в течение 10 с), затем 35 циклов с детектированием флуоресценции на каналах Green и Crimson (денатурация при 95 °C в течение 10 с, отжиг праймеров при 55 °C в течение 40 с, элонгация при 72 °C в течение 10 с).

Выбор и оптимизация концентрации ВКО. В диагностике болезней, вызываемых РНК-содержащими вирусами (гепатит С, синдром приобретенного иммунитета человека и т. д.), в качестве ВКО используется бактериофаг MS2. Фаг семейства *Leviviridae* представляет собой небольшой вирион с икосаэдрическим типом симметрии, патогенный для *Escherichia coli*. Геном представлен 3569 нуклеотидами одноцепочечной РНК [20]. Основаниями для выбора MS2 как ВКО являются РНК-геном и безвредность для людей, животных, растений [21].

С целью определения достаточной концентрации ВКО для добавления в систему экстракции РНК проведено тестирование образцов интактной культуры клеток ТС, 10%-й суспензии селезенки зараженных эпизоотическим штаммом возбудителя и свободных от КЧС свиней, культурального вируса КЧС штамма «719» и ОКО с различным содержанием бактериофага MS2 в пробе (табл. 1).

В результате оптимальное количество ВКО составило $3,2 \times 10^3$ БОЕ бактериофага MS2 на 100 мкл пробы. В ходе оценки хранения суспензии MS2 с рекомендуемым титром при температуре +4 °C выяснили, что через шесть месяцев данный материал в ОТ-ПЦР-РВ имел стабильный пороговый цикл амплификации (Ct) с изме-



Рис. 1. Выравнивание геномных последовательностей 5'-нетранслируемой области (5'-NTR) различных штаммов вируса КЧС, импортированных из GenBank (оранжевым цветом обозначены области отжига прямого и обратного праймеров, зеленым цветом – область гибридизации TaqMan-зонда)

Fig. 1. Alignment of CSF virus genome 5'-untranslated region (5'-NTR) sequences obtained from the GenBank (forward and reverse primer annealing sites are given in orange, TaqMan probe hybridization region is given in green)

нениями ± 2 Ct. При проведении пяти циклов заморозки материала при -20 °C и оттаивания при комнатной температуре Ct оставался стабильным.

Оценка правильности, сходимости и воспроизводимости. В результате исследования установлены 100%-е показатели правильности, сходимости и воспроизводимости валидируемого метода, так как заведомо положительный на наличие вируса КЧС штамма «719» образец в 6 повторяемых реакциях, в 3 параллельных испытаниях в течение дня одним исследователем и в 3 параллельных испытаниях в течение 3 дней двумя исследователями показал положительные результаты (табл. 2).

Однако, как обозначено на графике (рис. 2), на третий день испытания одного и того же образца значение Ct увеличивалось на $3,09 \pm 0,81$ в сравнении со вторым днем у обоих исследователей, что может быть связано с многократным замораживанием и оттаиванием вирусодержащего материала.

Определение аналитической чувствительности. Установлен средний показатель минимального титра вируса КЧС, детектируемого ОТ-ПЦР-РВ в $0,23 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$ для штаммов «719», «684» и «Ши-мынь».

Как представлено в таблице 3, сравнительный анализ параллельных исследований штаммов вируса разными тест-системами на основе ОТ-ПЦР-РВ показал, что предел детекции штамма «684» разработанным методом был на 1,2 Ig выше, чем у тест-систем № x1 и x2, а предел детекции референтного штамма «Ши-мынь» был на 2,0 Ig выше, чем у тест-системы № x2. При исследовании образца штамма «719» с титром $7,5 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$ валидируемым методом получены положительные результаты, в то время как параллельное испытание образца тест-системами № x1 и x2 привело к сомнительным результатам.

С учетом всех полученных результатов Ct ($n = 3$) и 10-кратного разведения образца штамма вируса КЧС «719» построен график корреляции (рис. 3).

С помощью корреляционного анализа вычислены высокие статистические параметры, а именно: эффективность реакции $E = 105\%$, коэффициент адекватности $R^2 = 0,9928$ и критерий значимости $p \text{ value} < 0,0001$, что обуславливает перспективность использования ОТ-ПЦР-РВ в дальнейшей разработке количественной ПЦР со стандартными образцами.

Оценка аналитической специфичности. Образцы, содержащие геном гетерологичных вирусов и бактерий (возбудителей АЧС, болезни Ауески, РРСС, рожи свиней и ВД КРС), показали в ОТ-ПЦР-РВ отрицательный результат, а образцы, содержащие штаммы вируса КЧС, – положительный результат на наличие РНК вируса КЧС, соответственно аналитическая специфичность равна 100% (табл. 4).

Установлено, что при высоком показателе Ct на канале Green (геном вируса КЧС) возможна ингибция амплификации фрагмента ВКО, что может быть связано с расходом компонентов реакционной смеси (дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, ДНК-полимеразы и др.) на синтез целевого ПЦР-продукта с большим числом копий матрицы [20]. Это обстоятельство необходимо учитывать при интерпретации результатов.

Определение диагностической чувствительности и специфичности. Все 27 истинно положительных образцов, содержащих вирус КЧС и полученных

Таблица 1
Результаты титрования ВКО в ОТ-ПЦР-РВ при использовании образцов различных материалов

Table 1
Results of internal control sample (ICS) titration with real-time RT-PCR using samples of different types

Образец	Титр ВКО (БОЕ/на реакцию)	Ct/ Green	Ct/ Crimson
ОКО	10 ⁵	–	20,22
Интактная культура клеток ТС		–	26,02
10%-я суспензия селезенки свободной от КЧС свиньи		–	–
10%-я суспензия селезенки инфицированной вирусом КЧС свиньи		14,28	–
Вирусодержащая суспензия штамма «719» возбудителя КЧС		6,15	–
ОКО	3,2 × 10 ⁵	–	19,85
Интактная культура клеток ТС		–	25,67
10%-я суспензия селезенки свободной от КЧС свиньи		–	22,80
10%-я суспензия селезенки инфицированной вирусом КЧС свиньи		13,62	23,22
Вирусодержащая суспензия штамма «719» возбудителя КЧС		5,66	–
ОКО	10 ⁶	–	14,11
Интактная культура клеток ТС		–	15,93
10%-я суспензия селезенки свободной от КЧС свиньи		–	17,90
10%-я суспензия селезенки инфицированной вирусом КЧС свиньи		15,12	14,73
Вирусодержащая суспензия штамма «719» возбудителя КЧС		5,95	26,07
ОКО	3,2 × 10 ⁶	–	11,70
Интактная культура клеток ТС		–	13,21
10%-я суспензия селезенки свободной от КЧС свиньи		–	15,21
10%-я суспензия селезенки инфицированной вирусом КЧС свиньи		12,10	10,48
Вирусодержащая суспензия штамма «719» возбудителя КЧС		5,56	24,25
ОКО	10 ⁷	–	12,34
Интактная культура клеток ТС		–	17,82
10%-я суспензия селезенки свободной от КЧС свиньи		–	11,93
10%-я суспензия селезенки инфицированной вирусом КЧС свиньи		14,43	–
Вирусодержащая суспензия штамма «719» возбудителя КЧС		8,37	–

«–» – отрицательный результат (negative result); БОЕ – бляшкообразующая единица (plaque forming unit); Ct/Green – пороговое значение для детекции генома вируса КЧС (cycle threshold value for CSF virus genome detection); Ct/Crimson – пороговое значение для детекции ВКО (cycle threshold value for ICS detection).

Таблица 2
Показатели правильности, сходимости и воспроизводимости метода ОТ-ПЦР-РВ

Table 2
Developed real-time RT-PCR assay accuracy, repeatability and reproducibility values

Правильность					
Образец	Ct/Green	(среднее значение ± SD)		Ct/Crimson	
Штамм «719»	5,31	5,32 ± 0,148		–	
Штамм «719»	5,22			27,29	
Штамм «719»	5,30			26,01	
Штамм «719»	5,52			27,27	
Штамм «719»	5,33			26,67	
Штамм «719»	5,28			29,37	
Сходимость					
Порядок постановки реакции	Ct/Green	(среднее значение ± SD)		Ct/Crimson	
Первая постановка	5,38	5,64 ± 0,237		28,63	
Первая постановка	5,74			26,85	
Первая постановка	5,71			22,68	
Первая постановка	5,61			23,78	
Первая постановка	5,59			23,87	
Первая постановка	5,86			24,41	
Вторая постановка	5,63	5,44 ± 0,493		23,14	
Вторая постановка	5,37			23,95	
Вторая постановка	5,02			23,62	
Вторая постановка	5,11			23,11	
Вторая постановка	5,96			23,01	
Вторая постановка	5,56			23,70	
Третья постановка	5,59	5,60 ± 0,095		28,84	
Третья постановка	5,60			30,30	
Третья постановка	5,58			28,72	
Третья постановка	5,74			30,26	
Третья постановка	5,57			28,06	
Третья постановка	5,57			28,87	
Воспроизводимость (Ct/Green)					
1-й день		2-й день		3-й день	
первый исследователь	второй исследователь	первый исследователь	второй исследователь	первый исследователь	второй исследователь
5,52	5,07	5,67	6,51	7,83	8,95
5,27	5,10	5,61	4,70	8,01	9,19
5,46	5,82	5,65	4,55	6,71	9,17
5,42	5,98	5,64	5,14	8,28	8,98
5,38	5,33	5,73	5,44	8,02	9,30
5,46	5,06	5,78	5,49	9,21	9,34
5,4183 ± 0,125	5,3933 ± 0,591	5,68 ± 0,0917	5,305 ± 1,019	8,01 ± 1,166	9,155 ± 0,233

«—» – отрицательный результат (negative result); Ct/Green – значение для фрагмента вируса КЧС (cycle threshold value for CSF virus fragment); Ct/Crimson – значение для фрагмента ВКО (cycle threshold value for ICS fragment).

от экспериментально инфицированных эпизоотическим штаммом свиней, а также пробы контаминированного инфицированными животными корма в ОТ-ПЦР-РВ продемонстрировали положительный результат на наличие генома вируса КЧС. Аналогично все 27 истинно отрицательных проб показали отсутствие РНК вируса КЧС (рис. 4).

Таким образом, при проведении испытаний показатели диагностической чувствительности и специфичности представленного метода были максимально возможными и составили 100%. При этом положи-

тельный образец крови, полученный от экспериментально инфицированных эпизоотическим штаммом свиней, а также положительный образец корма, отобранный в виварном комплексе, где содержались экспериментально зараженные тем же штаммом свиньи, тест-системой № x2 на основе ОТ-ПЦР-РВ выявлены не были, при этом данная проба крови не была выявлена и тест-системой № x1, что указывает на более низкую диагностическую чувствительность (92,6% для тест-системы № x2 и 96,3% для тест-системы № x1), чем у валидируемого метода.

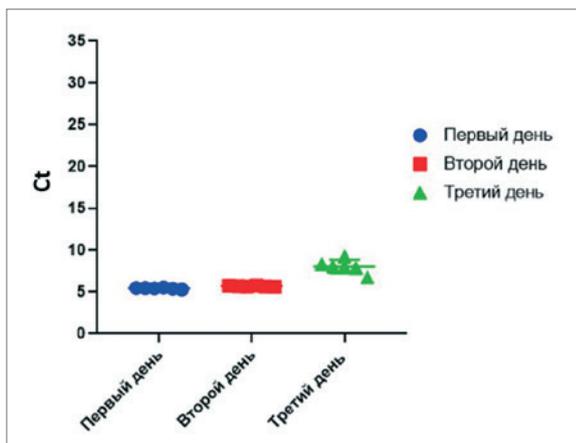


Рис. 2. Распределение показателей Ct для заведомо положительного образца в разные дни исследования при оценке воспроизводимости метода ОТ-ПЦР-РВ

Fig. 2. Distribution of Ct values for known positive sample in different days of testing when the real-time RT-PCR assay was assessed for its reproducibility

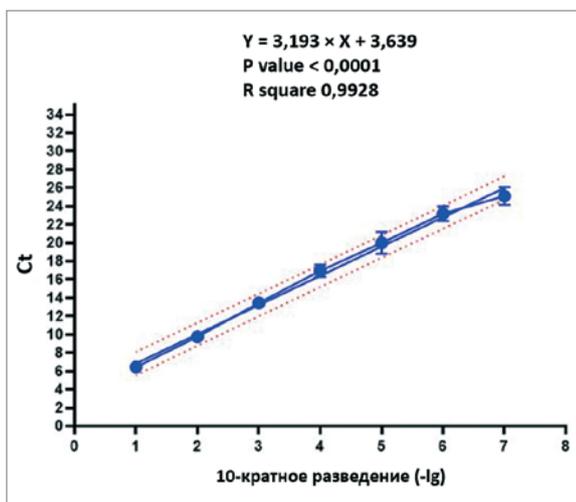


Рис. 3. График линейной корреляции разведений вируса КЧС штамма «719» с показателями Ct

Fig. 3. Graph of linear correlation of CSF virus "719" strain dilutions with Ct-values

Анализ и интерпретация результатов. Рекомендуемые параметры ПЦР-анализа для каналов Green и Grimson тождественны: установка динамического фона, коррективы уклона, устранения выбросов на 10%, линейная шкала и пороговое значение, которое составляет 0,05. Результаты интерпретируются на основании наличия или отсутствия пересечения стандартной кривой с установленной пороговой линией, что соответствует наличию или отсутствию значения Ct в соответствующей графе таблицы результатов (рис. 5).

Также с целью установления параметров ПЦР-анализа и определения максимального Ct, при котором образец может интерпретироваться как положительный, проведено исследование двукратного разведения РНК, экстрагированной из суспензии вируса КЧС штамма «719» с итоговым титром 7,5 Ig ККИД₅₀/см³ (табл. 5).

Полученные данные показали, что максимальное значение Ct составило 27,83, что эквивалентно титру вируса КЧС штамма «719» 0,23 Ig ККИД₅₀/см³.

Таблица 3
Результаты ОТ-ПЦР-РВ при 10-кратных разведениях культурального материала различных эпизоотических штаммов вируса КЧС

Table 3
Real-time RT-PCR results for 10-fold dilutions of various epizootic CSF virus strains

Разведение вируса	Штамм «Ши-мынь» (титр 4,0 Ig ККИД ₅₀ /см ³)	Штамм «719» (титр 7,5 Ig ККИД ₅₀ /см ³)	Штамм «684» (титр 6,2 Ig ККИД ₅₀ /см ³)
	Ct/Green	Ct/Green	Ct/Green
Исходный материал	11,88 (пол.)	5,41 (пол.)	6,79 (пол.)
1:10 ¹	16,18 (пол.)	9,75 (пол.)	9,89 (пол.)
1:10 ²	20,52 (пол.)	12,53 (пол.)	13,69 (пол.)
1:10 ³	22,64 (пол.)	16,68 (пол.)	16,97 (пол.)
1:10 ⁴	27,06 (пол.)	18,79 (пол.)	20,24 (пол.)
1:10 ⁵	–	20,60 (пол.)	23,45 (пол.)
1:10 ⁶	–	21,57 (пол.)	26,30 (пол.)
1:10 ⁷	–	24,71 (пол.)	–
1:10 ⁸	–	–	–
Тест-система № 1			
Ct/Yellow (результат)			
Исходный материал	12,89 (пол.)	6,44 (пол.)	8,27 (пол.)
1:10 ¹	16,77 (пол.)	8,33 (пол.)	12,89 (пол.)
1:10 ²	18,67 (пол.)	13,56 (пол.)	15,08 (пол.)
1:10 ³	21,96 (пол.)	17,67 (пол.)	17,36 (пол.)
1:10 ⁴	25,78 (пол.)	18,82 (пол.)	22,85 (пол.)
1:10 ⁵	–	24,01 (пол.)	26,57 (сомнит.)
1:10 ⁶	–	22,79 (пол.)	–
1:10 ⁷	–	28,19 (сомнит.)	–
1:10 ⁸	–	–	–
Тест-система № 2			
Ct/Yellow (результат)			
Исходный материал	19,07 (пол.)	10,60 (пол.)	9,37 (пол.)
1:10 ¹	22,42 (пол.)	13,34 (пол.)	12,69 (пол.)
1:10 ²	25,28 (пол.)	16,46 (пол.)	16,13 (пол.)
1:10 ³	–	17,67 (пол.)	19,19 (пол.)
1:10 ⁴	–	20,55 (пол.)	22,22 (пол.)
1:10 ⁵	–	22,55 (пол.)	24,68 (пол.)
1:10 ⁶	–	25,44 (пол.)	–
1:10 ⁷	–	28,02 (сомнит.)	–
1:10 ⁸	–	–	–

«–» – отрицательный результат (negative result); пол. – положительный результат (positive result); сомнит. – сомнительный результат (inconclusive result); Ct/Green – значение для фрагмента вируса КЧС (cycle threshold value for CSF virus fragment); Ct/Yellow – значение для фрагмента вируса КЧС, полученное с использованием тест-систем № 1 и № 2 на основе ПЦР-РВ согласно инструкции производителя (cycle threshold value for CSF virus fragment obtained when real-time PCR-based test systems No. 1 and 2 were used in accordance with their manufactures' instructions).

Таблица 4
Определение аналитической специфичности на наличие генома вируса КЧС в ОТ-ПЦР-РВ ($n = 2$)

Table 4
Assessment of analytical specificity of the real-time RT-PCR assay when the assay was used for CSF virus genome detection ($n = 2$)

Характеристика образца	Ct/Green	Ct/Crimson	Результат на наличие генома вируса КЧС
Полевой изолят <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	–	19,08	отрицательный
Штамм «Иркутский 2007» вируса РРСС	–	13,03	отрицательный
Штамм «ВК»-ДЕП вируса болезни Ауески	–	13,73	отрицательный
Штамм «Мозамбик-78» вируса АЧС	–	15,39	отрицательный
Изолят «Челябинск 2021» возбудителя ВД КРС	–	15,31	отрицательный
Референс-штамм вируса КЧС «Ши-мынь»	18,64	15,39	положительный
Штамм вируса КЧС «CSF Amur 19-10/WB-12555»	12,19	16,88	положительный
Штамм вируса КЧС «CSF Tirovov 16/WB-634»	17,26	18,02	положительный
Штамм вируса КЧС «275»	11,27	–	положительный
Штамм вируса КЧС «719»	6,56	–	положительный
Штамм вируса КЧС «843»	6,27	–	положительный
Штамм вируса КЧС «917»	6,24	–	положительный
Штамм вируса КЧС «918»	21,8	16,7	положительный
Штамм вируса КЧС «920»	21,16	14,88	положительный
Штамм вируса КЧС «926»	14,12	16,07	положительный
Штамм вируса КЧС «927»	13,61	17,91	положительный
Штамм вируса КЧС «930»	27,25	14,61	положительный
Штамм вируса КЧС «368»	10,01	19,04	положительный
Штамм вируса КЧС «589»	11,81	19,81	положительный
Штамм вируса КЧС «684»	6,79	17,15	положительный
Штамм вируса КЧС «870»	9,64	18,45	положительный
Штамм вируса КЧС «924»	13,26	18,89	положительный
Штамм вируса КЧС «925»	13,93	17,04	положительный
Штамм вируса КЧС «929»	15,28	19,12	положительный
ОКО	–	15,17	отрицательный
ПКО (вакцинный штамм вируса КЧС «СК»)	19,57	18,76	положительный

«–» – отрицательный результат (negative result); Ct/Green – значение для фрагмента вируса КЧС (cycle threshold value for CSF virus fragment); Ct/Crimson – значение для фрагмента ВКО (cycle threshold value for ICS fragment).

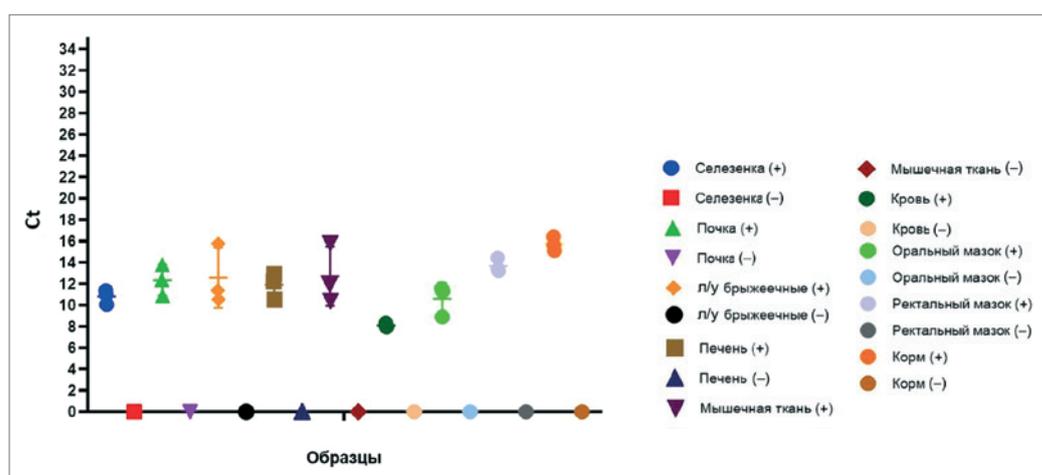


Рис. 4. Кинетика значений Ct для панели образцов, выбранной с целью определения диагностической чувствительности и специфичности (образцы – 10%-е суспензии указанных органов; «+» – истинно положительная проба; «–» – истинно отрицательная проба; л/у – лимфоузлы; в качестве отрицательных образцов мышечной ткани использованы мясное сырье и изделия свиного происхождения)

Fig. 4. Kinetics of Ct values for the panel of samples selected for determination of diagnostic sensitivity and specificity (samples – 10% suspensions of the indicated organs; «+» – true positive sample; «–» – true negative sample; l/n – lymph nodes; porcine raw meats and products were used as negative muscle samples)

Таблица 5
Результаты ОТ-ПЦР-РВ при двоичных разведениях РНК вируса КЧС

Table 5
Real-time RT-PCR results for two-fold dilutions of CSF virus RNA

Разведение РНК вируса КЧС	Ct/Green
Исходный материал	6,04
1:2 ¹	6,86
1:2 ²	7,55
1:2 ³	8,75
1:2 ⁴	12,02
1:2 ⁵	11,75
1:2 ⁶	12,06
1:2 ⁷	12,90
1:2 ⁸	13,42
1:2 ⁹	14,61
1:2 ¹⁰	15,61
1:2 ¹¹	16,32
1:2 ¹²	17,19
1:2 ¹³	18,21
1:2 ¹⁴	19,27
1:2 ¹⁵	20,14
1:2 ¹⁶	21,17
1:2 ¹⁷	22,08
1:2 ¹⁸	22,98
1:2 ¹⁹	24,06
1:2 ²⁰	24,74
1:2 ²¹	24,22
1:2 ²²	26,13
1:2 ²³	26,18
1:2 ²⁴	27,83
1:2 ²⁵	27,01
1:2 ²⁶	–
1:2 ²⁷	–
1:2 ²⁸	–
1:2 ²⁹	–
1:2 ³⁰	–

РНК вируса КЧС экстрагирована из вирусосодержащей суспензии вируса КЧС штамма «719» с титром 7,5 Ig ККИД₅₀/см³ (CSF virus RNA was extracted from CSF virus “719” strain-containing suspension; titre 7.5 Ig CCID₅₀/cm³); «–» – отрицательный результат (negative result).

Результат считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей реакции.

Образец считается положительным на наличие генома вируса КЧС, если значение Ct на канале Green не превышает 28. Результат в таком случае является валидным вне зависимости показателей на канале Crimson.

Отрицательный результат на наличие генома вируса КЧС интерпретируют, если значение Ct на канале Green отсутствует, но на канале Crimson Ct не превышает 31.

Сомнительным является результат ПЦР при условии превышения 28 значения Ct на канале Green при значении Ct на канале Crimson менее 31.

При отсутствии значений Ct на каналах Green и Crimson, а также при превышении Ct более 31 на Crimson результат ПЦР является невалидным.

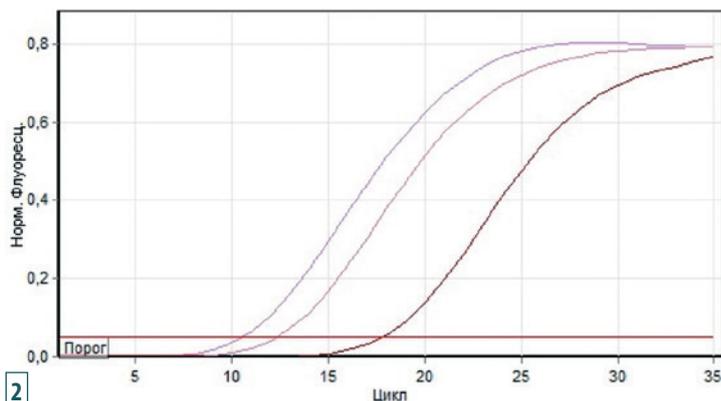
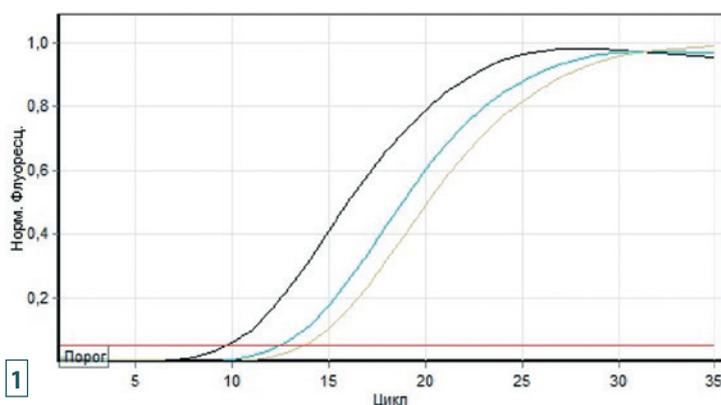


Рис. 5. Кривые флуоресценции: 1 – на канал Green (фрагмент вируса КЧС); 2 – на канал Crimson (фрагмент ВКО)

Fig. 5. Fluorescence curves: 1 – for Green channel (CSF virus fragment); 2 – for Crimson channel (ICS fragment)

В случае сомнительного или невалидного результата необходимо провести повторное исследование пробы начиная с этапа выделения РНК с целью подтвердить или опровергнуть наличие генома вируса КЧС в данном образце.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный метод обладает высокими валидационными характеристиками: 100%-ми показателями правильности, сходимости, воспроизводимости, аналитической специфичности, диагностической чувствительности и специфичности, пределом детекции 0,23 Ig ККИД₅₀/см³. Такие параметры делают предложенный метод ОТ-ПЦР-РВ конкурентоспособным на отечественном рынке диагностикумов и пригодным для использования в широкомасштабном мониторинге эпизоотической ситуации по КЧС в России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Malik Y. S., Bhat S., Kumar O. R. V., Yadav A. K., Sircar S., Ansari M. I., et al. Classical swine fever virus biology, clinicopathology, diagnosis, vaccines and a meta-analysis of prevalence: A review from the Indian perspective. *Pathogens*. 2020; 9 (6):500. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060500>
2. Stark R., Meyers G., Rümmerpf T., Thiel H. J. Processing of pestivirus polyprotein: cleavage site between autoprotease and nucleocapsid protein of classical swine fever virus. *Journal of Virology*. 1993; 67 (12): 7088–7095. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.12.7088-7095.1993>
3. Blome S., Staubach C., Henke J., Carlson J., Beer M. Classical swine fever – an updated review. *Viruses*. 2017; 9 (4):86. <https://doi.org/10.3390/v9040086>
4. Edwards S., Fukusho A., Lefèvre P.-C., Lipowski A., Pejsak Z., Roehle P., Westergaard J. Classical swine fever: the global situation. *Veterinary Microbiology*. 2000; 73 (2–3): 103–119. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00138-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00138-3)

5. Оганесян А. С., Шевцов А. А., Щербаков А. В., Коренной Ф. И., Карaulов А. К. Классическая чума свиней: ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2007–2021 гг.) и прогноз на 2022 г. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 229–238. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-229-238>
6. Шевцов А. Классическая чума свиней: перспективы искоренения. *Животноводство России*. 2021; (10): 27–30. <https://www.elibrary.ru/jfxalo>
7. Zhu H., Zhang H., Xu Y., Laššáková S., Korabečná M., Neužil P. PCR past, present and future. *BioTechniques*. 2020; 69 (4): 317–325. <https://doi.org/10.2144/btn-2020-0057>
8. Hirschhorn J. W., Avery A., Schandl C. A. Managing a PCR contamination event in a molecular pathology laboratory. In: *Clinical Applications of Nucleic Acid Amplification. Methods in Molecular Biology*. Eds. M. B. Myers, C. A. Schandl. 2023; 2621: 15–26. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2950-5_2
9. Canal C. W., Hotzel I., de Almeida L. L., Roehe P. M., Masuda A. Differentiation of classical swine fever virus from ruminant pestiviruses by reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). *Veterinary Microbiology*. 1996; 48 (3–4): 373–379. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(95\)00156-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(95)00156-5)
10. McGoldrick A., Lowings J. P., Ibatá G., Sands J. J., Belak S., Paton D. J. A novel approach to the detection of classical swine fever virus by RT-PCR with a fluorogenic probe (TaqMan). *Journal of Virological Methods*. 1998; 72 (2): 125–135. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(97\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(97)00208-5)
11. Hoffmann B., Beer M., Schelp C., Schirmeier H., Depner K. Validation of a real-time RT-PCR assay for sensitive and specific detection of classical swine fever. *Journal of Virological Methods*. 2005; 130 (1–2): 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.05.030>
12. Latorra D., Arar K., Hurley J. M. Design considerations and effects of LNA in PCR primers. *Molecular and Cellular Probes*. 2003; 17 (5): 253–259. [https://doi.org/10.1016/S0890-8508\(03\)00062-8](https://doi.org/10.1016/S0890-8508(03)00062-8)
13. Monpoeho S., Coste-Burel M., Costa-Mattioli M., Besse B., Chomel J., Billaudel S., Ferre V. Application of a real-time polymerase chain reaction with internal positive control for detection and quantification of enterovirus in cerebrospinal fluid. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2002; 21 (7): 532–536. <https://doi.org/10.1007/s10096-002-0766-5>
14. Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С., Латышев О. Е., Иголкин А. С., Манин Б. Л., Жбанова Т. В., Южаков А. Г. Изучение культуральных и молекулярных свойств изолятов вируса классической чумы свиней, выделенных в 2016 году. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2017; 15: 82–101. <https://www.elibrary.ru/xrdrb>
15. Гилеп А. А., Башко Н. П., Усанов С. А., Камышников В. С. Импорт-замещающие и экспорт-ориентированные отечественные диагностические средства. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2014; (4): 28–45. <https://elibrary.ru/taxtgh>
16. Колбин И. С., Иголкин А. С., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С., Аронова Е. В., Елсукова А. А., Власова Н. Н. Определение репродуктивных свойств вируса классической чумы свиней вирулентных и вакцинных штаммов в первичных и перевиваемых культурах клеток. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 149–155. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-2-149-155>
17. Dreier J., Störmer M., Kleesiek K. Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (9): 4551–4557. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.9.4551-4557.2005>
18. O'Connell K. P., Bucher J. R., Anderson P. E., Cao C. J., Khan A. S., Gostomski M. V., Valdes J. J. Real-time fluorogenic reverse transcription-PCR assays for detection of bacteriophage MS2. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72 (1): 478–483. <https://doi.org/10.1128/aem.72.1.478-483.2006>
19. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., et al. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. 2009; 55 (4): 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
20. Buckwalter S. P., Sloan L. M., Cunningham S. A., Espy M. J., Uhl J. R., Jones M. F., et al. Inhibition controls for qualitative real-time PCR assays: Are they necessary for all specimen matrices? *Journal of Clinical Microbiology*. 2014; 52 (6): 2139–2143. <https://doi.org/10.1128/jcm.03389-13>
21. Zambenedetti M. R., Pavoni D. P., Dallabona A. C., Dominguez A. C., Poersch C. de D., Fragosó S. P., Krieger M. A. Internal control for real-time polymerase chain reaction based on MS2 bacteriophage for RNA viruses diagnostics. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2017; 112 (5): 339–347. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160380>
22. Stark R., Meyers G., Rümepf T., Thiel H. J. Processing of pestivirus polyprotein: cleavage site between autoprotease and nucleocapsid protein of classical swine fever virus. *Journal of Virology*. 1993; 67 (12): 7088–7095. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.12.7088-7095.1993>
23. Blome S., Staubach C., Henke J., Carlson J., Beer M. Classical swine fever – an updated review. *Viruses*. 2017; 9 (4): 86. <https://doi.org/10.3390/v9040086>
24. Edwards S., Fukusho A., Lefèvre P.-C., Lipowski A., Pejsak Z., Roehe P., Westergaard J. Classical swine fever: the global situation. *Veterinary Microbiology*. 2000; 73 (2–3): 103–119. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00138-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00138-3)
25. Oganeyan A. S., Shevtsov A. A., Shcherbakov A. V., Korennoy F. I., Karaulov A. K. Classical swine fever: a retrospective analysis of the epizootic situation in the Russian Federation (2007–2021) and forecast for 2022. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 229–238. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-229-238>
26. Shevtsov A. Classical swine fever: prospects of eradication. *Animal Husbandry of Russia*. 2021; (10): 27–30. <https://www.elibrary.ru/jfxalo> (in Russ.)
27. Zhu H., Zhang H., Xu Y., Laššáková S., Korabečná M., Neužil P. PCR past, present and future. *BioTechniques*. 2020; 69 (4): 317–325. <https://doi.org/10.2144/btn-2020-0057>
28. Hirschhorn J. W., Avery A., Schandl C. A. Managing a PCR contamination event in a molecular pathology laboratory. In: *Clinical Applications of Nucleic Acid Amplification. Methods in Molecular Biology*. Eds. M. B. Myers, C. A. Schandl. 2023; 2621: 15–26. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2950-5_2
29. Canal C. W., Hotzel I., de Almeida L. L., Roehe P. M., Masuda A. Differentiation of classical swine fever virus from ruminant pestiviruses by reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). *Veterinary Microbiology*. 1996; 48 (3–4): 373–379. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(95\)00156-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(95)00156-5)
30. McGoldrick A., Lowings J. P., Ibatá G., Sands J. J., Belak S., Paton D. J. A novel approach to the detection of classical swine fever virus by RT-PCR with a fluorogenic probe (TaqMan). *Journal of Virological Methods*. 1998; 72 (2): 125–135. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(97\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(97)00208-5)
31. Hoffmann B., Beer M., Schelp C., Schirmeier H., Depner K. Validation of a real-time RT-PCR assay for sensitive and specific detection of classical swine fever. *Journal of Virological Methods*. 2005; 130 (1–2): 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.05.030>
32. Latorra D., Arar K., Hurley J. M. Design considerations and effects of LNA in PCR primers. *Molecular and Cellular Probes*. 2003; 17 (5): 253–259. [https://doi.org/10.1016/S0890-8508\(03\)00062-8](https://doi.org/10.1016/S0890-8508(03)00062-8)
33. Monpoeho S., Coste-Burel M., Costa-Mattioli M., Besse B., Chomel J., Billaudel S., Ferre V. Application of a real-time polymerase chain reaction with internal positive control for detection and quantification of enterovirus in cerebrospinal fluid. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2002; 21 (7): 532–536. <https://doi.org/10.1007/s10096-002-0766-5>
34. GavriloVA V. L., Puzankova O. S., Latyshev O. Ye., IgoLkin A. S., Manin B. L., Zhanova T. V., Yuzhakov A. G. Studying cultural and molecular characteristics of classical swine fever virus isolates recovered in 2016. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2017; 15: 82–101. <https://www.elibrary.ru/xrdrb> (in Russ.)
35. Gilép A., Bashko N., Usanov S., Kamyshnikov V. Import-substituting domestic diagnostic tools. *Laboratory Diagnostics. Eastern Europe*. 2014; (4): 28–45. <https://elibrary.ru/taxtgh> (in Russ.)
36. Kolbin I. S., IgoLkin A. S., GavriloVA V. L., Puzankova O. S., Aronova Ye. V., Yelsukova A. A., Vlasova N. N. Determination of reproductive properties of virulent and vaccine classical swine fever virus strains in primary and continuous cell cultures. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 149–155. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-2-149-155>
37. Dreier J., Störmer M., Kleesiek K. Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (9): 4551–4557. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.9.4551-4557.2005>
38. O'Connell K. P., Bucher J. R., Anderson P. E., Cao C. J., Khan A. S., Gostomski M. V., Valdes J. J. Real-time fluorogenic reverse transcription-PCR assays for detection of bacteriophage MS2. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72 (1): 478–483. <https://doi.org/10.1128/aem.72.1.478-483.2006>
39. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., et al. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. 2009; 55 (4): 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
40. Buckwalter S. P., Sloan L. M., Cunningham S. A., Espy M. J., Uhl J. R., Jones M. F., et al. Inhibition controls for qualitative real-time

REFERENCES

PCR assays: Are they necessary for all specimen matrices? *Journal of Clinical Microbiology*. 2014; 52 (6): 2139–2143. <https://doi.org/10.1128/jcm.03389-13>

21. Zambenedetti M. R., Pavoni D. P., Dallabona A. C., Dominguez A. C., Poersch C. de D., Fragoso S. P., Krieger M. A. Internal control for real-time polymerase chain reaction based on MS2 bacteriophage for RNA viruses

diagnostics. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2017; 112 (5): 339–347. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160380>

Поступила в редакцию / Received 12.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 28.05.2024

Принята к публикации / Accepted 12.08.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Садчикова Анастасия Сергеевна, аспирант, ветеринарный врач референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-0801-2394>, sadchikova@arriah.ru

Иголкин Алексей Сергеевич, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, igolkin_as@arriah.ru

Чернышев Роман Сергеевич, аспирант, ветеринарный врач референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3604-7161>, chernishev_rs@arriah.ru

Козлов Антон Александрович, канд. биол. наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1466-7602>, kozlov_aa@arriah.ru

Колбин Иван Сергеевич, ветеринарный врач референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4692-1297>, kolbin@arriah.ru

Спрыгин Александр Владимирович, д-р биол. наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота, заведующий лабораторией молекулярных и генетических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, sprygin@arriah.ru

Бирюченков Дмитрий Анатольевич, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики болезней свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4057-2367>, biruchenkov@arriah.ru

Чвала Илья Александрович, канд. вет. наук, заместитель директора по НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, chvala@arriah.ru

Мазлум Али, канд. биол. наук, Университет штата Луизиана, г. Батон-Руж, США; <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, ali.mazloun6@gmail.com

Anastasiya S. Sadchikova, Postgraduate Student, Veterinarian, Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-0801-2394>, sadchikova@arriah.ru

Alexey S. Igolkin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, igolkin_as@arriah.ru

Roman S. Chernyshev, Postgraduate Student, Veterinarian, Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3604-7161>, chernishev_rs@arriah.ru

Anton A. Kozlov, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1466-7602>, kozlov_aa@arriah.ru

Ivan S. Kolbin, Veterinarian, Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4692-1297>, kolbin@arriah.ru

Alexander V. Sprygin, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Head of Molecular and Genetic Research Laboratory, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, sprygin@arriah.ru

Dmitriy A. Biryuchenkov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Porcine Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4057-2367>, biruchenkov@arriah.ru

Ilya A. Chvala, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, chvala@arriah.ru

Ali Mazloun, Cand. Sci. (Biology), Louisiana State University, Baton Rouge, USA; <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, ali.mazloun6@gmail.com

Вклад авторов: Садчикова А. С. – разработка и валидация метода, подготовка текста статьи; Иголкин А. С. – научное руководство, редактирование статьи; Чернышев Р. С. – валидация метода, подготовка текста статьи; Козлов А. А. – разработка системы ВКО; Колбин И. С. – разработка метода; Спрыгин А. В. – дизайн праймеров, редактирование статьи; Бирюченков Д. А. – консультативная помощь; Чвала И. А. – консультативная помощь; Мазлум А. – концепт и дизайн исследования, научное руководство, редактирование статьи.

Contribution: Sadchikova A. S. – assay development and validation, paper text preparation; Igolkin A. S. – scientific supervision, paper editing; Chernyshev R. S. – assay validation, paper text preparation; Kozlov A. A. – designing of internal control sample (ICS); Kolbin I. S. – assay development; Sprygin A. V. – designing of primers, paper editing; Biryuchenkov D. A. – advisory assistance; Chvala I. A. – advisory assistance; Mazloun A. – study concept and design, scientific supervision, paper editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-234-241>
УДК 619:636.92:616.98:579.852.13



Клинические признаки и патолого-анатомические изменения при клостридиозной энтеротоксемии кроликов

А. С. Метлева, М. Н. Хахимзянова, Е. Е. Сионихин

ФГБОУ ВО «Кузбасский государственный аграрный университет имени В. Н. Полецовца» (Кузбасский ГАУ), ул. Марковцева, 5, г. Кемерово, 650056, Россия

РЕЗЮМЕ

Проблема энтеротоксемии, сопровождающейся поносами и вздутием живота, продолжает оставаться достаточно острой в кролиководческой практике. Зачастую из внутренних органов кроликов, павших от анаэробной инфекции, выделяют микроорганизмы рода *Clostridium*. Клостридиозная инфекция в разных формах своего проявления является актуальной проблемой для ветеринарных врачей. Причинами возникновения данной инфекционной болезни являются: нарушения в кормлении (пониженное содержание клетчатки); несоблюдение зооигиенических требований к содержанию животных; нерациональное использование антибактериальных препаратов; застой в желудочно-кишечном тракте. Все это может привести к нарушению баланса сложной микрофлоры слепой кишки вследствие изменения показателей среды желудочно-кишечного тракта. Диеты с низким содержанием клетчатки вызывают гипомоторику слепой кишки, продлевая задержку в ней содержимого и в конечном счете вызывая изменения ее микрофлоры. Применение антибиотиков и стрессы способствуют накоплению клостридий в желудочно-кишечном тракте с одновременным снижением других групп микроорганизмов. Первые признаки токсикоинфекции наблюдаются при отъеме крольчат от самок. Манифестация клинических признаков начинается со вздутия живота, вялости, отсутствия аппетита, что в итоге приводит к летальному исходу. Как показали исследования, в группу риска входили крольчата после отъема от самок в возрасте 35–77 сут. Реже падеж наблюдали среди маточного поголовья и в группе ремонтного молодняка. При вскрытии установлены признаки энтеротоксемии: серозно-катаральный гастрит, серозно-геморрагический лимфодулит, дистрофия почек, печени и сердечной мышцы, легкие в состоянии застойной гиперемии и отека. При микробиологической диагностике выявили наличие микроорганизмов видов *Clostridium histolyticum* и *Clostridium perfringens* с выраженными токсигенными свойствами, наиболее часто бактерии обнаруживали в желудке, кишечнике и сердце.

Ключевые слова: энтеротоксемия, клостридии, кролики, падеж, токсигенность

Благодарности: Научно-исследовательская работа выполнена в рамках хозяйственного договора.

Для цитирования: Метлева А. С., Хахимзянова М. Н., Сионихин Е. Е. Клинические признаки и патолого-анатомические изменения при клостридиозной энтеротоксемии кроликов. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 234–241. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-234-241>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Метлева Анастасия Сергеевна, канд. вет. наук, доцент кафедры ветеринарной медицины и биотехнологий, Кузбасский ГАУ, ул. Марковцева, 5, г. Кемерово, 650056, Россия, zveryski@mail.ru

Clinical signs and post-mortem lesions caused by clostridial enterotoxemia in rabbits

Anastasiya S. Metleva, Mariya N. Khakimzyanova, Egor E. Sionikhin

Kuzbass State Agrarian University named after V. N. Poletskov, 5 Markovtseva str., Kemerovo 650056, Russia

ABSTRACT

Enterotoxemia, accompanied by diarrhea and bloating, is still a matter of pressing concern to the rabbit farming. *Clostridia* bacteria are often isolated from the internal organs of rabbits that have died of an anaerobic infection. Clostridial infection, manifested in various forms, is a major problem for veterinarians. The following drivers contribute to the emergence of the infectious disease: malnutrition (insufficient fiber intake); non-compliance with hygiene requirements for animal handling; unsustainable use of antibacterial drugs; gastrointestinal congestion. All these drivers can disrupt healthy caecum microflora due to changes in the gastrointestinal environment. Low-fiber diets result in slow cecum motility, thus, delaying transit of the intestinal contents and eventually changing the microflora. Use of antibiotics together with stress make *Clostridia* accumulate in the gastrointestinal tract, at the same time, reducing the number of microorganisms of other groups. The first signs of toxicoinfection are observed when rabbit kits are weaned from does. Clinical manifestation begins with bloating, weakness, inappetence, which ultimately lead to death. Observations have shown that the risk group includes rabbit kits weaned from the 35–77-day old does. Mortality was less reported in breeding stock and among replacement young animals. Autopsy revealed signs of enterotoxemia: serous-catarrhal gastritis, serous-hemorrhagic lymphonodulitis, degenerated kidneys, liver and heart muscle; passive congestion of lungs and pulmonary edema. Microbiological diagnosis revealed *Clostridium histolyticum* and *Clostridium perfringens* species known for their pronounced toxigenic profile, most often bacteria were found in the stomach, intestines and heart.

Keywords: enterotoxemia, *Clostridium*, rabbits, mortality, toxigenicity

Acknowledgements: The research work was carried out under a commercial contract.

© Метлева А. С., Хахимзянова М. Н., Сионихин Е. Е., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

For citation: Metleva A. S., Khakimzyanova M. N., Sionikhin E. E. Clinical signs and post-mortem lesions caused by clostridial enterotoxemia in rabbits. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 234–241. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-234-241>

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

For correspondence: Anastasiya S. Metleva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Veterinary Medicine and Biotechnology, Kuzbass State Agrarian University named after V. N. Poletskov, 5 Markovtseva str., Kemerovo 650056, Russia, zveryiski@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Повышенный интерес к здоровому питанию способствует увеличению потребления крольчатины в России, поэтому изучение проблем инфекционной патологии в кролиководстве является актуальным научным направлением. Производить мясо кроликов выгодно за счет быстрой регенерации поголовья². Но при их выращивании и содержании возникают свои специфические проблемы, связанные с болезнями и последующим падежом.

В кролиководческой практике ветеринарные врачи часто сталкиваются с симптомокомплексом энтеритов, сопровождающихся диареей, в результате чего могут развиваться энтеротоксемия, септические процессы, приводящие к смерти животного. Причиной энтеротоксемии всегда являются микроорганизмы различных видов [1].

Развитие энтеротоксемии у кроликов очень часто вызывает энтеротоксигенный штамм *Clostridium spiroforme*, что происходит на фоне дисбактериоза. Чаще всего заболевают животные в возрасте 3–6 недель после отъема от крольчих. У молодых кроликов недостаточное количество либо отсутствие некоторых представителей нормальной желудочно-кишечной флоры и высокий pH в желудке позволяют *C. spiroforme* размножаться [2]. В этот период у крольчат регистрируют самый высокий уровень смертности. Клинические проявления острой формы энтеротоксемии, вызванной *C. spiroforme*: отсутствие аппетита, вялость, коричневый водянистый понос с примесью крови и слизи, загрязняющий промежность и задние конечности. По мере прогрессирования заболевания снижается температура тела, смерть наступает через 24–48 ч [3]. При вскрытии устанавливают петехиальные и экхимотические кровоизлияния на серозной поверхности слепой кишки. Может поражаться аппендикс и проксимальный отдел толстой кишки, в которых наблюдают кровоизлияния и/или слизь [4].

Наличие бактерий рода *Clostridium* является следствием снижения резистентности организма животных, заболеваний желудочно-кишечного тракта и нарушения обмена веществ [5]. Патогенез желудочно-кишечных заболеваний кроликов складывается из нарушения нормальной перистальтики кишечника, которая возможна только при наличии большого количества неперевариваемой клетчатки [6]. При ухудшении моторики кишечника жидкость всасывается из желудка, дополнительно уплотняя содержимое. Сжатая пища

вызывает дискомфорт, что еще больше способствует анорексии и усугубляет гипомоторику желудочно-кишечного тракта. Недостаточное потребление клетчатки в результате либо неправильного питания, либо состояний, вызывающих анорексию, является основной причиной желудочно-кишечного застоя. Клетчатка стимулирует моторику слепобочной кишки или за счет эффекта увеличения объема содержимого, или напрямую. Диеты с высоким содержанием клетчатки способствуют выработке в слепой кишке особых летучих жирных кислот, которые обеспечивают нормальную работу желудочно-кишечного тракта [7].

Замедление моторики приводит к изменениям pH содержимого слепой кишки, вызывающим увеличение количества *Clostridium* spp. и колиформных видов, таких как *Escherichia coli*, на фоне снижения численности популяций нормальных микроорганизмов. Популяции указанных потенциально патогенных бактерий обычно присутствуют в небольших количествах в слепой кишке [8]. Слепая кишка действует как камера ферментации и содержит сложный состав микробиома, включая анаэробные микроорганизмы, такие как *Bacteroides*, крупные метакрохроматически окрашивающиеся бактерии, грамотрицательные овальные и веретенообразные палочки, дрожжи, несколько непатогенных видов простейших и амёб, а также многие еще не изученные виды бактерий [9, 10]. Консорциум этих микроорганизмов отвечает за переработку поступающей в слепую кишку клетчатки в легкоусвояемые питательные вещества, которые затем повторно попадают в организм кроликов при поедании цекотрофов [11, 12].

Доминирующими микроорганизмами тощей кишки у кроликов являются представители типов *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Первые главным образом участвуют в обмене углеводов, стероидов и других питательных веществ, поддерживая морфологию и физиологическую функцию кишечника, а также баланс кишечной микрофлоры. *Firmicutes* играют важную роль в метаболизме углеводов [13]. Среди представителей типа *Firmicutes* в составе микробиоты кишечника преобладают клостридии, которые участвуют в процессе абсорбции питательных веществ и синтеза короткоцепочечных жирных кислот [14]. Чрезмерное количество этих бактерий может вызвать ряд патологических изменений: от вздутия кишечника до смерти от энтеротоксемии. Образование газов и токсинов сопровождается болью, в результате стрессового состояния снижается, а затем полностью пропадает аппетит, развивается гипомобильность.

Повышенное количество углеводов создает среду, в которой размножаются такие патогены, как кишечная палочка и различные виды клостридий [15]. Глюкоза –

² Маркетинговое исследование: рынок мяса кролика за 2018–2022 гг. <http://ikc.belaprk.ru/upload/iblock/976/976166bcbfb2b60b2440e64aa60f11aa.pdf>

побочный продукт расщепления сложных углеводов, необходимый для выработки йота-токсина бактериями рода *Clostridium*. Таким образом, диарея и энтеротоксемия у домашних кроликов часто вызваны нарушением микрофлоры, обычно называемым дисбактериозом [16].

Немаловажны и сопутствующие факторы, которые способствуют размножению патогенных бактерий: стресс, нарушения в кормлении, применение антибиотиков, генетическая предрасположенность к дисфункции кишечника [17, 18]. Развитие ацидозов и повышение кислотности в желудке приводит к увеличению и накоплению биомассы бактерий рода *Clostridium* и приобретению ими вирулентности. На активизацию бактерий могут также влиять стресс-факторы (резкие изменения в кормлении, связанные со снижением уровня углеводов, повышением уровня протеинов; перегруппировка, транспортировка животных и др.) [19]. Активное размножение бактерий сопровождается выработкой большого количества экзотоксинов, которые действуют локально на слизистую кишечника или всасываются в кровь, вызывая более широкие и тяжелые системные поражения организма, и служат основными факторами патогенности клостридий. У некоторых видов бактерий (*C. chauvoei*, *C. septicum*), токсигенность которых невысока, факторами патогенности являются жгутики, обеспечивающие гемагглютинацию [20].

В группу клостридий включено несколько патогенных видов, вызывающих кишечные проявления болезни, а также нейротоксические или гистотоксические инфекции. У животных наиболее распространены кишечные инфекции, вызванные *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. histolyticum* и *C. septicum*; *C. perfringens* вызывает такие синдромы поражения кишечника, как энтероколит, энтеротоксемию, гастрит. По данным А. В. Суповой и соавт., наиболее часто среди анаэробов выделялись *C. sporogenes*, *C. bifermentans*, *C. septicum*, *C. cadaveris*, *C. tertium*, *C. difficile*, *C. novyi*, *C. baratii* [1].

При клостридиозах возможно внутриутробное или раннее постнатальное заражение. Инфицирование происходит через молоко; молозиво; подстилку; предметы внешней среды, контаминированные фекалиями взрослых животных; корма; почву; воду [2, 7]. При внутриутробной инфекции возбудитель проникает в матку с током крови, что приводит к заражению плода, абортам, метритам и эндометритам. Представители рода *Clostridium* являются возбудителями маститов наряду с микроорганизмами других семейств [21].

Клостридиозы в животноводческих хозяйствах Сибири чаще протекают в виде смешанных инфекций [22].

Учитывая сегментированность рынка кролиководства и его статус развивающейся отрасли на территории Западной Сибири, проблемы, с которыми сталкиваются ветеринарные врачи, плохо изучены и нуждаются в детальном рассмотрении. В частности, научная новизна данной статьи заключается в изучении проблемы клостридиозной энтеротоксемии на примере отдельного кролиководческого хозяйства Западной Сибири.

В связи с этим целью настоящей работы является изучение этиологии, эпизоотических данных, клинической картины и патолого-анатомических изменений у кроликов при клостридиозной энтеротоксемии в кролиководческом хозяйстве Западной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили пробы патологического материала (печень, селезенка, содержимое желудка, содержимое кишечника, легкие, сердце, почки) от павших либо вынужденно убитых больных кроликов разных возрастных групп: от рождения до 35 сут – 21 гол.; 35–77 сут – 45 гол.; ремонтный молодняк 35–71 сут – 14 гол.; маточное поголовье от 72 сут – 9 гол.

Животных разводят в кролиководческом хозяйстве закрытого типа, расположенном на юге Западной Сибири, с использованием клеточной системы содержания, автоматических систем кормления и водопоя. Водоснабжение нецентрализованное из собственной скважины с системой водоочистки. Навозоудаление производится ежедневно скребковым транспортером и вывозится в навозохранилище, расположенное на расстоянии не менее 1 км от фермы. Рацион кормления составляет промышленный сбалансированный комбикорм. Все половозрелые группы кроликов (самки, самцы, откорм, ремонтный молодняк) содержатся в одном корпусе без соблюдения принципа «все пусто – все занято». Дезинфекцию проводят только в присутствии животных, так как отсутствует помещение для их перегруппировки в период противозепизоотических работ. Поголовье вакцинировано против вирусной геморрагической болезни и миксоматоза кроликов. В соответствии с планом противозепизоотических мероприятий проводятся профилактические обработки против кокцидиоза и гельминтозов. Хозяйство считается благополучным по инфекционным болезням.

Животных лечили антибиотиками, которые применяли перорально через систему поения: антибиотики группы фторхинолонов («Энрофлон 10%») 5–7 дней – 1 г/л воды, сульфаниламиды («Триметоприм», «Зинаприм») 5–7 дней – 1 г/л воды. Также внутримышечно однократно вводили препарат тетрациклиновой группы «Нитокс 200» в дозе 0,1 мл/кг массы тела. Перерывы между приемами лекарственных средств составляли 7–10 дней.

Культивирование и идентификацию штаммов бактерий производили в 2023 г. на базе научно-исследовательской лаборатории «Биохимических, молекулярно-генетических исследований и селекции сельскохозяйственных животных» ФГБОУ ВО «Кузбасский государственный аграрный университет имени В. Н. Полецкого» методом классического бактериологического анализа.

Трупы доставляли в лабораторию сразу после падежа в течение не более 30 мин в термоконтейнере с хладагентами. В лаборатории проводили вскрытие трупов, оценку патолого-анатомических изменений и постановку диагнозов.

Питательные среды и условия культивирования. Кусочки органов засеивали на 5%-й мясо-пептонный бульон (МПБ) с глюкозой, инкубировали 18–24 ч при 37 °С в анаэробных условиях. После инкубации производили первичный посев на среду Вильсона – Блера (инкубация 24–48 ч при 37 °С в анаэробных условиях). Положительным результатом культивирования микроорганизмов рода *Clostridium* считали почернение среды с образованием газа, выражающемся в разрыве плотной среды, и стойкий неприятный запах масляной кислоты.

Для определения рода выделенных культур микроорганизмов проводили следующие тесты: окраска

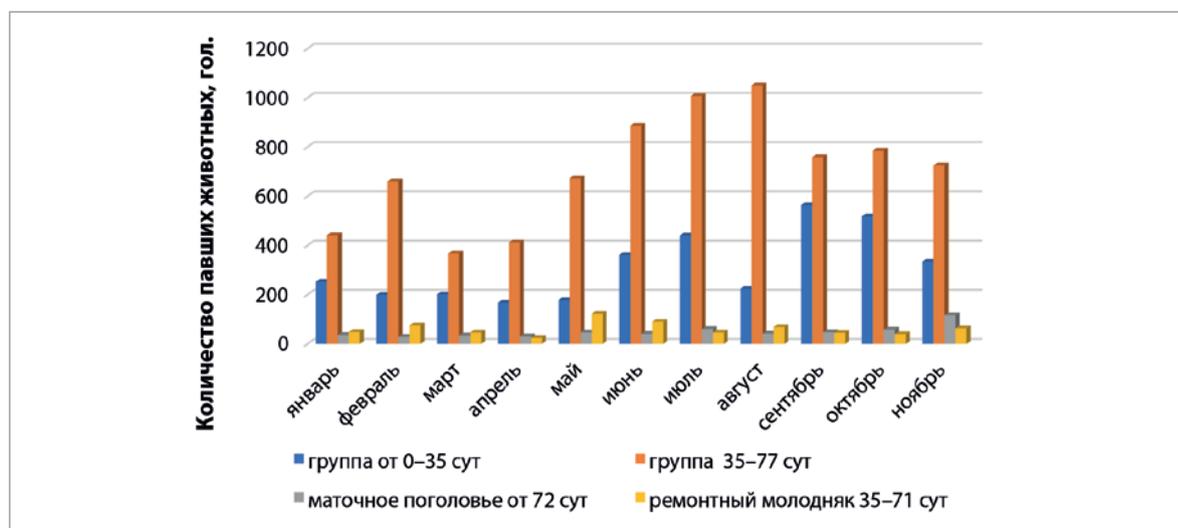


Рис. 1. Количество кроликов в разных возрастных группах, павших в 2023 г.

Fig. 1. The number of rabbits of different age groups that died in 2023

по Граму, рост на МПБ в присутствии 6,5%-го NaCl и 20% желчи (инкубация 24 ч при 37 °С в анаэробных условиях), наличие гемолиза на 5%-м кровяном агаре (инкубация 24 ч при 37 °С в анаэробных условиях), наличие каталазы с применением перекиси водорода, наличие оксидазы с применением коммерческого ОКСИтеста, образование индола с применением реактива Ковача.

Видовую идентификацию проводили на дифференциально-диагностических средах Гисса с арабинозой, дульцитом, фруктозой, галактозой, глюкозой, инозитолом, инулином, лактозой, мальтозой, маннитом, маннозой, мелезитозой, мелибиозой, раффинозой, рамнозой, рибозой, салицином, сорбитом, сорбозой, сахарозой, трегалозой и ксилозой (инкубация 24 ч при 37 °С в анаэробных условиях). После инкубации определяли способность к ферментации изолированных культур по изменению цвета среды и наличию газообразования.

Токсинообразующие свойства определяли внутрибрюшинной инъекцией микробной взвеси 70 белым мышам в количестве 0,5 мл в дозе 500 млн микробных клеток, выращенных на 5%-м кровяном агаре (инкубация 24 ч при 37 °С в анаэробных условиях). Положительным результатом считали гибель животного после инъекции.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Для подтверждения гибели от микроорганизмов рода *Clostridium* из пораженных паренхиматозных органов мышей делали мазки-отпечатки, окрашивая по Граму. При этом для более четкого окрашивания спор растворяли красителей на предметном стекле нагревали над пламенем горелки до образования паров, что позволяло идентифицировать клостридии. Свидетельством наличия клостридий служило присутствие в мазке крупных палочковидных грамположительных микроорганизмов без визуализируемой споры (*C. per-*

fringens) либо с терминальной спорой, превышающей диаметр вегетативной клетки (*C. histolyticum*).

Статистическую обработку результатов проводили с определением относительных величин изолированных микроорганизмов в процентах, вычисляемых методом деления количества выделенных микроорганизмов из каждого органа на общее количество изолятов, умноженное на 100%³.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период с января по ноябрь 2023 г. в хозяйстве был зафиксирован падеж кроликов всех половозрастных групп в количестве 12 402 гол. Падежом считали отход в количестве более 5 гол. (так как количество менее 5 гол. считается нормальным отходом в результате причин неинфекционного генеза: травмы, физиологические особенности и т. д.) в одной группе за один день, с характерными клиническими симптомами, такими как вялость, истощение, взъерошенный шерстный покров, вздутый живот, диарея со зловонным запахом. Падеж отмечали во всех группах откорма, реже – у взрослых самок и самцов от 1 до 3 лет (рис. 1). Наибольшее число животных в возрасте 35–77 сут пало в августе (1050 гол.), в группе кроликов 0–35 сут пик падежа наблюдали в сентябре (564 гол.), максимальное количество ремонтного молодняка погибло в мае (122 гол.), маточного поголовья – в ноябре (116 гол.).

У животных в группе от рождения до 35 сут фиксировали следующие клинические симптомы: вздутие живота, профузный понос со зловонным запахом, взъерошенный шерстный покров, истощение, обезвоживание, с момента появления которых смерть наступала через 1–2 сут. Наибольшее количество павших особей зарегистрировано в возрастной группе от 35 до 77 сут – 7763 гол., при этом клиническая картина была сходна с таковой в группе молодняка до 35 сут.

Клиническая картина у маточного поголовья характеризовалась мертворождаемостью (20% от

³ Шорохова И. С., Кисляк Н. В., Мариев О. С. Статистические методы анализа: учебное пособие. Екатеринбург: Издательство Уральского университета; 2015. 300 с. https://elar.urfu.ru/bitstream/10995/36122/1/978-5-7996-1633-5_2015.pdf

полученного потомства), вялостью, вздутием живота, крольчата у таких самок были слабые, плохо выкормленные и погибали на 3–5-е сут после рождения.

Патолого-анатомическая картина была характерна для общего токсикоза:

- труп истощен, костные структуры хорошо выражены;
- живот вздут;
- волосяной покров в области ануса и хвоста запачкан фекалиями;
- подкожная клетчатка суховатая;
- скелетные мышцы бледные, истонченные;
- слизистая оболочка желудка припухшая, покрасневшая, с большим количеством слизи (серозно-катаральный гастрит);
- слизистая оболочка тонкого кишечника диффузно утолщена с покраснениями и большим количеством слизи;
- брыжеечные лимфатические узлы увеличены в размере, на разрезе сочные, местами покрасневшие, с изменениями, типичными для острого серозно-геморрагического воспаления;
- селезенка обычно без видимых изменений;
- печень несколько увеличена в размере, дряблая, неравномерно окрашена, серо-желтоватого цвета с пятнистыми покраснениями;
- почки увеличены, незначительно размягчены, серовато-глинистого цвета, граница между корковым и мозговым слоями неясная;
- сердце увеличено в объеме за счет расширения сердечных полостей, преимущественно правых, дрябловатое, поверхность разреза с сероватым оттенком;
- в легких застойная гиперемия и отек.

При проведении бактериологического исследования чаще всего клостридии высевали из патологического материала от животных в возрасте 35–77 сут, реже всего – от кроликов старше 72 сут (рис. 2). Ос-

новными органами, обсемененными *Clostridium* spp., являлись: желудок (12–89%), кишечник (24–74%), сердце (10–64%). Также бактерии обнаруживали в печени (5–17%), почках (15–21%) и легких (3–46%).

При биохимическом типировании выделенных культур клостридий было идентифицировано два вида: *C. histolyticum* и *C. perfringens* (рис. 3). Из патологического материала, отобранного от молодняка до 35-суточного возраста, в 43% случаев (9 гол.) изолировали *C. histolyticum*, в 19% случаев (4 гол.) – *C. perfringens*. Доля выделенных *C. histolyticum* из проб, полученных от 35–77-суточных кроликов, составила 42% (19 гол.), *C. perfringens* – 47% (21 гол.). Из биологического материала от павших либо вынужденно убитых больных особой ремонтного молодняка 35–71-суточного возраста *C. histolyticum* изолировали в 43% случаев (6 гол.), *C. perfringens* – в 29% случаев (4 гол.). В 33% проб (3 гол.) от кроликов маточного поголовья возрастом свыше 72 сут обнаружили *C. histolyticum*.

При заражении белых мышей установлен падеж 66 лабораторных животных, в мазках-отпечатках из внутренних органов которых идентифицировали грамположительные крупные палочки с закругленными концами или же крупные грамположительные палочки с субтерминальной спорой.

При изучении эпизоотической ситуации, сложившейся в данном хозяйстве, можно предположить, что развитие эпизоотического процесса было обусловлено рядом причин.

1. Несоблюдение требований к содержанию животных, а именно: неизолированное содержание кроликов разных возрастных групп; отсутствие условий для проведения дезинфекции с переводом животных в другие помещения. Неудовлетворительные условия содержания животных – одна из причин размножения и накопления различных видов микроорганизмов, в том числе и клостридий, что подтверждается ре-

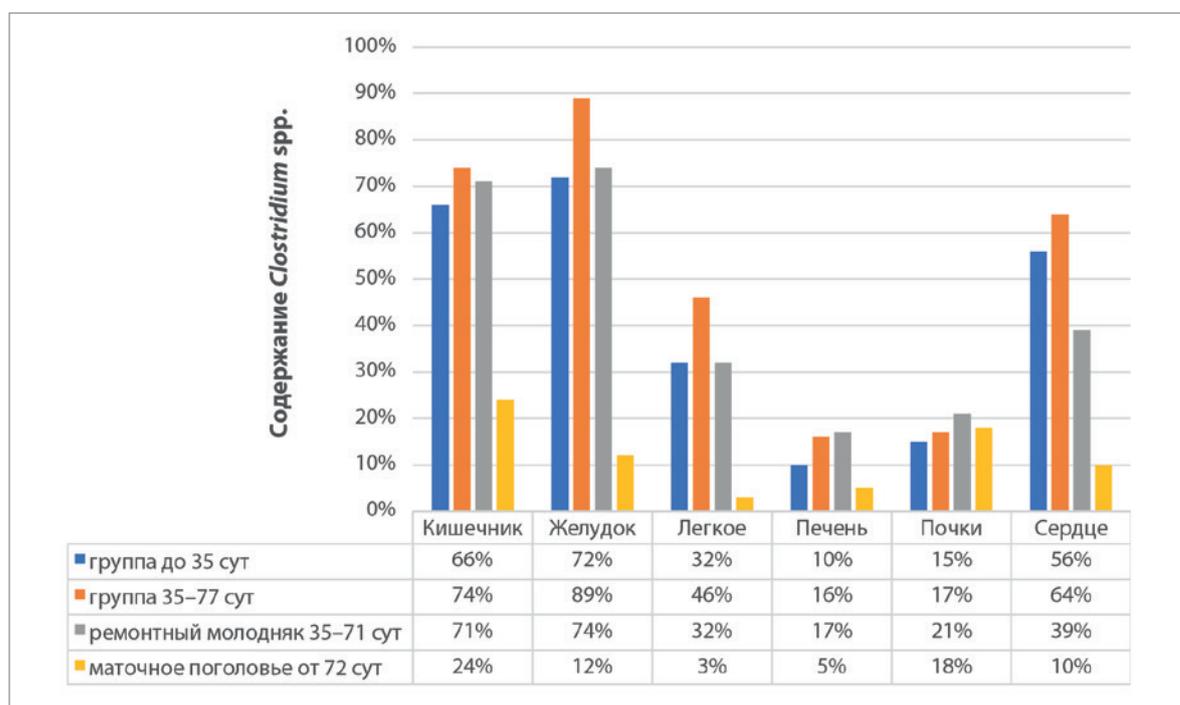


Рис. 2. Содержание микроорганизмов рода *Clostridium* в патологическом материале от кроликов

Fig. 2. *Clostridium* levels in pathological material from rabbits



Рис. 3. *C. histolyticum* (слева) и *C. perfringens* (справа) в мазках, окрашенных по Граму

Fig. 3. *C. histolyticum* (left) and *C. perfringens* (right) in Gram-stained smears

зультатами исследований других авторов [2, 7, 17, 18]. Нарушение ветеринарно-санитарных правил и технологии содержания кроликов негативно сказывается на эпизоотическом состоянии хозяйства. Профилактика бактериальных заболеваний заключается в применении целостной системы контроля, включающей в себя мониторинг; применение эффективных антибактериальных препаратов и средств, альтернативных антибиотикам; контроль качества дезинфекции; применение принципов ХАССП (НАССР) на производстве. При низком уровне ветеринарно-санитарной обработки животноводческих помещений перед размещением очередной партии животных остаются высокоустойчивые споры клостридий в окружающей среде [23, 24].

2. Применение антибиотиков для контроля размножения условно-патогенных микроорганизмов привело к селекции и накоплению штаммов токсигенных клостридий. Этот факт подтверждается многими исследованиями, проанализированными и описанными Л. Н. Мазанковой и С. Г. Перловской [25], доказывающими ключевую роль антибиотиков в развитии клостридиозной инфекции в связи с гибелью эндогенной микрофлоры, что позволяет клостридиям размножаться и продуцировать токсины.

3. Наиболее подверженной заболеванию клостридиозом группой являлись крольчата после отъема от матерей в возрасте от 35 сут., поскольку это является одним из стресс-факторов, который в совокупности с перегруппировкой животных и переходом на промышленные корма ослабляет неспецифическую защиту организма. Данный факт подтверждают и другие исследования [26, 27], в которых установлено, что кролики в возрасте от 3 до 7 недель высоковосприимчивы к кишечным заболеваниям клостридиозной этиологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Причиной клостридиозов у кроликов в данном хозяйстве являются микроорганизмы двух токсинообразующих видов: *C. histolyticum* и *C. perfringens*. Наиболее восприимчивым поголовьем оказались животные после отъема от матерей в возрасте от 35 до 71 сут. При этом у кроликов данной группы наблюдали ярко выраженные клинические признаки и патолого-анатомические изменения, характерные для энтеротоксемии: воспаление желудка и кишечника, дистрофические изменения печени, почек и миокарда. У взрослого поголовья кли-

ническая картина была не столь выраженной и в основном проявлялась вздутием живота, мертворождением и рождением нежизнеспособного молодняка. Наиболее часто клостридии выделяли из биопроб желудка, кишечника и сердца. Реже *Clostridium* spp. изолировали из легких, печени и почек. Патолого-анатомическая картина при клостридиозах характерна для общего токсикоза: истощение, вздутие живота, серозно-катаральный гастрит, энтерит, серозно-геморрагический лимфонулит брыжеечных лимфатических узлов, печень, миокард и почки в состоянии дистрофии, в легких – застойная гиперемия и отек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Супова А. В., Капустин А. В., Пименов Н. В., Бангура М. Видовой состав клостридий, выделенных от сельскохозяйственных животных на территории отдельных регионов РФ. *Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения: сборник трудов 2-й научно-практической конференции (Москва, 8 ноября 2022 г.)*. М.: Сельскохозяйственные технологии; 2022; 305–307. <https://elibrary.ru/aogpsh>
2. Капустин А. В., Алипер Т. И. Эпизоотология и профилактика клостридиозов крупного рогатого скота. *Единый мир – единое здоровье: материалы VII Международного ветеринарного конгресса (Уфа, 19–21 апреля 2017 г.)*. М.: Российская ветеринарная ассоциация; 2017; 106–108. <https://elibrary.ru/zarmnr>
3. Ахмеджанов М. А., Крутская Е. Д., Исакеев М. К. Результаты лабораторных исследований по определению причины падежа кроликов. *Биобезопасность и биотехнология*. 2022; (9): 59–67. <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2022-9-59-67>
4. Тихонов В. К., Тихонова Г. П., Ефимова И. О., Царевский И. В. Дифференциальная диагностика клостридиозов. *Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии: материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции (Чебоксары, 26 октября 2023 г.)*. Чебоксары: Чувашский ГАУ; 2023; 175–179. <https://elibrary.ru/uiuivc>
5. Девришов Д. А., Пулотов Ф. Х., Файзова М. Ч. Специфическая профилактика клостридиозов животных. *Наука и инновация*. 2023; (3): 151–156. <https://elibrary.ru/zsqaau>
6. Пименов Н. В., Колесникова Ю. Н. Этиология клостридиозов у крупного рогатого скота и сравнительная характеристика выделенных изолятов. *Наука молодых – инновационному развитию АПК: материалы Международной молодежной научно-практической конференции (Уфа, 15–17 марта 2016 г.)*. Ч. 1. Уфа: Башкирский ГАУ; 2016; 120–125. <https://elibrary.ru/wbrnkl>
7. Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Шакибаев Е., Эзбекбай Н. Клостридиозы сельскохозяйственных животных. *Национальная ассоциация ученых*. 2022; (81): 6–14. <https://elibrary.ru/mjgjjwh>
8. Моисеева К. А., Сухинин А. А. Роль токсинов *Clostridium perfringens* в развитии инфекций человека и животных. *Current Issues of Modern Science and Practice: Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference (Rome, Italy, May 17–19, 2021)*. Rome; 2021; 219–221.
9. Djukovic A., Garcia-Garcera M., Martinez-Paredes E., Isaac S., Artacho A., Martinez J., Ubeda C. Gut colonization by a novel *Clostridium* species

is associated with the onset of epizootic rabbit enteropathy. *Veterinary Research*. 2018; 49 (1):123. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0617-8>

10. Nagahama M., Ochi S., Oda M., Miyamoto K., Takehara M., Kobayashi K. Recent insights into *Clostridium perfringens* beta-toxin. *Toxins*. 2015; 7 (2): 396–406. <https://doi.org/10.3390/toxins7020396>

11. Borriello S. P. Clostridial disease of the gut. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 20 (Suppl. 2): S242–S250. https://doi.org/10.1093/clinids/20.supplement_2.s242

12. Garcia J. P., Li J., Shrestha A., Freedman J. C., Beingesser J., McClane B. A., Uzal F. A. *Clostridium perfringens* type A enterotoxin damages the rabbit colon. *Infection and Immunology*. 2014; 82 (6): 2211–2218. <https://doi.org/10.1128/iai.01659-14>

13. Duncan C. L., Sugiyama H., Strong D. H. Rabbit ileal loop response to strains of *Clostridium perfringens*. *Journal of Bacteriology*. 1968; 95 (5): 1560–1566. <https://doi.org/10.1128/jb.95.5.1560-1566.1968>

14. Liu H., Zhang B., Li F., Liu L., Li F. Shifts in the intestinal microflora of meat rabbits in response to glucocorticoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2022; 102 (12): 5422–5428. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11895>

15. Oglesbee B. L., Lord B. Gastrointestinal Diseases of Rabbits. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Eds. K. E. Quesenberry, C. J. Orcutt, Ch. Mans, J. W. Carpenter. 4th ed. 2020; 174–187. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48435-0.00014-9>

16. Whitney J. C. A review of non-specific enteritis in the rabbit. *Laboratory Analysis*. 1976; 10 (3): 209–221. <https://doi.org/10.1258/00236776781035305>

17. Деметьева М. С., Крысенко Ю. Г. Клостридиозы крупного рогатого скота. Этиология, лабораторная диагностика. *Технологические тренды устойчивого функционирования и развития АПК: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной году науки и технологии в России (Ижевск, 24–26 февраля 2021 г.)*. Том II. Ижевск: Ижевская ГСХА; 2021; 102–106. <https://elibrary.ru/gwglfh>

18. Глотова Т. И., Котенева С. В., Нефедченко А. В., Глов А. Г. Возбудители мастита у коров на крупных молочных комплексах и их резистентность к антибактериальным препаратам. *Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: материалы Международной научно-практической конференции (Витебск, 2–4 ноября 2022 г.)*. Витебск: ВГАВМ; 2022; 72–79. <https://elibrary.ru/nzdibt>

19. Agnoletti F., Ferro T., Guolo A., Marcon B., Cocchi M., Drigo I., et al. A survey of *Clostridium* spiroforme antimicrobial susceptibility in rabbit breeding. *Veterinary Microbiology*. 2009; 136 (1–2): 188–191. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.020>

20. Глотова Т. И., Судоргина Т. И., Котенева С. В., Глов А. Г., Велькер Д. А., Нефедченко А. В. Патогенные виды анаэробных бактерий и их роль в патологии крупного рогатого скота. *Успехи медицинской микологии*. 2023; 25: 14–19. <https://elibrary.ru/ntpitw>

21. Судоргина Т. Е., Глотова Т. И., Котенева С. В., Нефедченко А. В., Глов А. Г. Современные представления о возбудителях клостридиальной анаэробной инфекции крупного рогатого скота. *Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней (Витебск, 15–16 декабря 2022 г.)*. Витебск: ВГАВМ; 2023; 109–111. <https://elibrary.ru/elnbvcw>

22. Терентьева Т. Е., Глотова Т. И., Котенева С. В., Глов А. Г. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2016; (1): 5–8. <https://elibrary.ru/vmdwdn>

23. Новикова О. Б. Микрофлора, выделяемая от перепелов, и контроль бактериальных болезней в перепеловодческих птицеводствах. *Эффективное животноводство*. 2020; (9): 66–69. <https://doi.org/10.24412/cl-33489-2020-9-66-69>

24. Ветвицкая А. Методы борьбы с некротическим энтеритом у сельскохозяйственных птиц. *Эффективное животноводство*. 2020; (7): 100–105. <https://elibrary.ru/ycsngs>

25. Мазанкова Л. Н., Перловская С. Г. Антибиотико-ассоциированные диареи и *Cl. difficile*-инфекция у детей: факторы риска. *Детские инфекции*. 2015; 14 (2): 29–34. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2015-14-2-30-34>

26. Puón-Peláez X.-H. D., McEwan N. R., Gómez-Soto J. G., Álvarez-Martínez R. C., Olvera-Ramírez A. M. Metatransomic and histopathological study of rabbit epizootic enteropathy in Mexico. *Animals*. 2020; 10 (6):936. <https://doi.org/10.3390/ani10060936>

27. Peeters J. E., Geeroms R., Carman R. J., Wilkins T. D. Significance of *Clostridium spiroforme* in the enteritis-complex of commercial rabbits. *Veterinary Microbiology*. 1986; 12 (1): 25–31. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(86\)90038-6](https://doi.org/10.1016/0378-1135(86)90038-6)

REFERENCES

1. Supova A. V., Kapustin A. V., Pimenov N. V., Bangura M. Видовой состав клостридий, выделенных от сельскохозяйственных животных на территории отдаленных регионов РФ = *Clostridium* species isolated from farm animals in certain regions of the Russian Federation. *Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животноводства: сборник трудов 2-й научно-практической конференции (Москва, 8 ноябрь 2022 г.) = Hot trends and topics in veterinary medicine, zootechnics, biotechnology and control of raw materials and products of animal origin: proceedings of the 2nd scientific and practical conference (Moscow, November 8, 2022)*. Moscow: Agricultural technologies; 2022; 305–307. <https://elibrary.ru/aogpsh> (in Russ.)

2. Kapustin A. V., Aliper T. I. Epizootologia i profilaktika klostridiozov крупного рогатого скота = Epizootology and prevention of bovine clostridial diseases. *Edinyi mir – edinoe zdorov'e: materialy VII Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa (Ufa, 19–21 aprelya 2017 g.) = One world – one health: Materials of VII International Veterinary Congress (Ufa, April 19–21, 2017)*. Moscow: Russian Veterinary Association; 2017; 106–108. <https://elibrary.ru/zarmnr> (in Russ.)

3. Akhmedzhanov M. A., Krutskaya E. D., Isakeev M. K. The results of laboratory studies to determine the cause of the death of rabbits. *Biosafety and Biotechnology*. 2022; (9): 59–67. <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2022-9-59-67> (in Russ.)

4. Tihonov V. K., Tihonova G. P., Efimova I. O., Tsarevsky I. V. Differential diagnosis of clostridiosis. *Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии: материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции (Чебоксары, 26 октября 2023 г.) = Hot trends and topics in veterinary medicine, zootechnics: materials of the scientific and practical (national) conference (Cheboksary, October 26, 2023)*. Cheboksary: Chuvash State Agrarian University; 2023; 175–179. <https://elibrary.ru/uiivcv> (in Russ.)

5. Devrshov D. A., Pulotov F. H., Faizova M. J. Specific prevention of clostridiosis in animals. *Science and Innovation*. 2023; (3): 151–156. <https://elibrary.ru/zsqauu> (in Russ.)

6. Pimenov N. V., Kolesnikova Y. N. The etiology of clostridiosis in cattle and the comparative characteristics of isolates. *Nauka molodykh – innovatsionnuyu razvitiyu APK: materialy Mezhdunarodnoi molodezhnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Ufa, 15–17 marta 2016 g.)*. Ch. 1 = *Science of the young – innovative development of agriculture: materials of the International Youth Scientific and Practical Conference (Ufa, March 15–17, 2016)*. P. 1. Ufa: Bashkir State Agrarian University; 2016; 120–125. <https://elibrary.ru/wbrnkl> (in Russ.)

7. Mussayeva A. K., Yegorova N. N., Shakibaev Ye., Ozbekbai N. Klostridiozy sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh = Clostridial diseases of farm animals. *National Association of Scientists*. 2022; (81): 6–14. <https://elibrary.ru/mjgwh> (in Russ.)

8. Moiseeva K. A., Sukhinin A. A. Rol' toksinov *Clostridium perfringens* v razvitiu infektsii cheloveka i zhivotnykh = The role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal infections. *Current Issues of Modern Science and Practice: Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference (Rome, Italy, May 17–19, 2021)*. Rome; 2021; 219–221. (in Russ.)

9. Djukovic A., Garcia-Garcera M., Martínez-Paredes E., Isaac S., Artacho A., Martínez J., Ubeda C. Gut colonization by a novel *Clostridium* species is associated with the onset of epizootic rabbit enteropathy. *Veterinary Research*. 2018; 49 (1):123. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0617-8>

10. Nagahama M., Ochi S., Oda M., Miyamoto K., Takehara M., Kobayashi K. Recent insights into *Clostridium perfringens* beta-toxin. *Toxins*. 2015; 7 (2): 396–406. <https://doi.org/10.3390/toxins7020396>

11. Borriello S. P. Clostridial disease of the gut. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 20 (Suppl. 2): S242–S250. https://doi.org/10.1093/clinids/20.supplement_2.s242

12. Garcia J. P., Li J., Shrestha A., Freedman J. C., Beingesser J., McClane B. A., Uzal F. A. *Clostridium perfringens* type A enterotoxin damages the rabbit colon. *Infection and Immunology*. 2014; 82 (6): 2211–2218. <https://doi.org/10.1128/iai.01659-14>

13. Duncan C. L., Sugiyama H., Strong D. H. Rabbit ileal loop response to strains of *Clostridium perfringens*. *Journal of Bacteriology*. 1968; 95 (5): 1560–1566. <https://doi.org/10.1128/jb.95.5.1560-1566.1968>

14. Liu H., Zhang B., Li F., Liu L., Li F. Shifts in the intestinal microflora of meat rabbits in response to glucocorticoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2022; 102 (12): 5422–5428. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11895>

15. Oglesbee B. L., Lord B. Gastrointestinal Diseases of Rabbits. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Eds. K. E. Quesenberry, C. J. Orcutt, Ch. Mans, J. W. Carpenter. 4th ed. 2020; 174–187. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48435-0.00014-9>

16. Whitney J. C. A review of non-specific enteritis in the rabbit. *Laboratory Analysis*. 1976; 10 (3): 209–221. <https://doi.org/10.1258/00236776781035305>

17. Demetyeva M. S., Krysenko Yu. G. Klostridiozy крупного рогатого скота. Etiologiya, laboratornaya diagnostika = Clostridial diseases in

cattle. Etiology, laboratory diagnostics. *Tekhnologicheskie trendy ustoychivogo funkcionirovaniya i razvitiya APK: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi godu nauki i tekhnologii v Rossii (Izhevsk, 24–26 fevralya 2021 g.). Tom II = Technological trends in sustainable work and development of the agro-industrial complex: materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the Year of Science and Technology in Russia (Izhevsk, February 24–26, 2021). Vol. II. Izhevsk: Izhevsk State Agricultural Academy; 2021; 102–106. <https://elibrary.ru/gwglfih> (in Russ.)*

18. Glotova T. I., Koteneva S. V., Nefedchenko A. V., Glotov A. G. Mastitis agents in cows at big dairy farms and their resistance to antibacterial drugs. *Aktual'nye problemy lecheniya i profilaktiki boleznei molodnyaka: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 2–4 noyabrya 2022 g.) = Crucial issues of treating and preventing diseases in young animals: materials of the International scientific and practical conference (Vitebsk, November 2–4, 2022)*. Vitebsk: Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine; 2022; 72–79. <https://elibrary.ru/nzdibt> (in Russ.)

19. Agnoletti F., Ferro T., Guolo A., Marcon B., Cocchi M., Drigo I., et al. A survey of *Clostridium spiroforme* antimicrobial susceptibility in rabbit breeding. *Veterinary Microbiology*. 2009; 136 (1–2): 188–191. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.020>

20. Glotova T. I., Sudorgina T. I., Koteneva S. V., Glotov A. G., Velker D. A., Nefedchenko A. V. Patogennyye vidy anaerobnykh bakterii i ikh rol' v patologii krupnogo rogatogo skota = Pathogenic anaerobic bacteria and their role in bovine pathology. *Advances in Medical Mycology*. 2023; 25: 14–19. <https://elibrary.ru/ntpitw> (in Russ.)

21. Sudorgina T. E., Glotova T. I., Koteneva S. V., Nefedchenko A. V., Glotov A. G. Modern concepts on the causes of clostridial anaerobic infection in cattle. *Aktual'nye problemy infektsionnoi patologii zhivotnykh i puti ikh resheniya: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi Dnyu Belorusskoi nauki i 95-letiyu kafedry epizootologii i infektsionnykh boleznei (Vitebsk, 15–16 dekabrya 2022 g.) = Crucial prob-*

lems of infectious animal pathology and solutions to them: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the Day of Belarusian Science and the 95th anniversary of the Department of Epizootology and Infectious Diseases (Vitebsk, December 15–16, 2022). Vitebsk: Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine"; 2023; 109–111. <https://elibrary.ru/elncbw> (in Russ.)

22. Terentjeva T. E., Glotova T. I., Koteneva S. V., Glotov A. G. Species spectrum of bacteria of genus *Clostridium* isolated from cattle on big dairy farms. *Russian Veterinary Journal. Productive Animals*. 2016; (1): 5–8. <https://elibrary.ru/vmdwdn> (in Russ.)

23. Novikova O. B. Mikroflora, vydelyaemaya ot perepelov, i kontrol' bakterial'nykh boleznei v perepelovodcheskikh ptitsekhozyaistvakh = Microflora isolated from quails and control of bacterial diseases on quail farms. *Effectivnoe Zhivotnovodstvo*. 2020; (9): 66–69. <https://doi.org/10.24412/cl-33489-2020-9-66-69> (in Russ.)

24. Vtitskaya A. Metody bor'by s nekroticheskim enteritom u sel'skokhozyaistvennykh ptits = Control of necrotic enteritis in farm birds. *Effectivnoe Zhivotnovodstvo*. 2020; (7): 100–105. <https://elibrary.ru/ycsnsg> (in Russ.)

25. Mazankova L. N., Perlovskaya S. G. Antibiotic-associated diarrhea and *Cl. difficile*-infection in children: risk factors. *Children Infections*. 2015; 14 (2): 29–34. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2015-14-2-30-34> (in Russ.)

26. Puón-Peláez X.-H. D., McEwan N. R., Gómez-Soto J. G., Álvarez-Martínez R. C., Olvera-Ramírez A. M. Metataxonomic and histopathological study of rabbit epizootic enteropathy in Mexico. *Animals*. 2020; 10 (6):936. <https://doi.org/10.3390/ani10060936>

27. Peeters J. E., Geeroms R., Carman R. J., Wilkins T. D. Significance of *Clostridium spiroforme* in the enteritis-complex of commercial rabbits. *Veterinary Microbiology*. 1986; 12 (1): 25–31. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(86\)90038-6](https://doi.org/10.1016/0378-1135(86)90038-6)

Поступила в редакцию / Received 01.03.2024

Поступила после рецензирования / Revised 16.05.2024

Принята к публикации / Accepted 11.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Метлева Анастасия Сергеевна, канд. вет. наук, доцент кафедры ветеринарной медицины и биотехнологий, Кузбасский ГАУ, г. Кемерово, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-5454-8122>, zveryiski@mail.ru

Хакимзянова Мария Николаевна, преподаватель среднего профессионального образования, Кузбасский ГАУ, г. Кемерово, Россия; <https://orcid.org/0009-0008-4457-7975>, maryabarker@mail.ru

Сионихин Егор Евгеньевич, аспирант кафедры ветеринарной медицины и биотехнологий, Кузбасский ГАУ, г. Кемерово, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-4211-3949>, sionichin99@mail.ru

Anastasiya S. Metleva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Veterinary Medicine and Biotechnology, Kuzbass State Agrarian University named after V. N. Poletskov, Kemerovo, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-5454-8122>, zveryiski@mail.ru

Mariya N. Khakimzyanova, Teacher of secondary vocational education, Kuzbass State Agrarian University named after V. N. Poletskov, Kemerovo, Russia; <https://orcid.org/0009-0008-4457-7975>, maryabarker@mail.ru

Egor E. Sionikhin, Postgraduate Student, Department of Veterinary Medicine and Biotechnology, Kuzbass State Agrarian University named after V. N. Poletskov, Kemerovo, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-4211-3949>, sionichin99@mail.ru

Вклад авторов: Авторы внесли равный вклад в проведение исследования: сбор и анализ материала; определение целей и задач, методов исследования; формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи.

Contribution: The authors made an equal contribution to the research: collected and analyzed the materials; specified goals and objectives and research methods; formulated scientifically-based conclusions; were involved in writing the article on the key research results.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-242-247>
УДК 619:616.993.192.1:636.5(470.67)



Эффективные меры борьбы с эймериозами птиц в условиях Республики Дагестан

А. Б. Дагаева, Б. М. Махиева

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

Самым распространенным заболеванием молодняка на птицефабриках промышленного типа в Прикаспийском регионе России является эймериоз (кокцидиоз). В большинстве случаев птица, которая переболела кокцидиозом, вызванным одним видом эймерий, остается восприимчива и к другим видам возбудителя. У данного паразита очень короткий жизненный цикл и огромная репродуктивная способность, вследствие чего в птичниках промышленного типа случаются массовые вспышки заболевания. Для борьбы с эймериозами птиц применяют различные кокцидиостатные препараты в сочетании с пробиотиками и витаминами. Частое и долгосрочное использование одних и тех же средств лечения данной инвазии приводит к возникновению устойчивых популяций эймерий. Это говорит о том, что при борьбе с этим паразитозом важно чередовать эймерицидные препараты. Исследования по изучению распространения эймериоза проводили на базе лаборатории Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института и в птицеводческих хозяйствах Республики Дагестан различного типа. Материалом для исследований служили соскобы с пола, подстилки, инвентаря; помет; корма; мазки-отпечатки слепых отростков кишечника павшей птицы. Выявлена высокая зараженность эймериями птиц, выращиваемых в условиях напольного содержания в равнинной и предгорной зонах республики (Хасавюртовский и Карабудахкентский районы), где уровень инвазирования составил 81,6 и 82,4% соответственно. В птицеводческих хозяйствах горной зоны и зоны горных долин (Хунзахский и Гергебильский районы) при клеточном выращивании степень поражения птиц была значительно ниже – 61,2 и 58,0% соответственно. При сравнительном изучении эффективности двух эймерицидных препаратов установлено, что «Робендин» ежедневно с первого дня жизни в течение всего периода выращивания в дозе 33 г на 1 тонну корма saniрует организм птицы от паразитов. При этом выживаемость подопытного молодняка птицы за период наблюдения составила 98,0% по сравнению с группой, где применяли «Сарукок 12%» (96,7%).

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, эймериоз, ооцисты, эймерии, эймерицидные препараты, «Робендин», «Сарукок 12%», эффективность, интенсивность инвазии, слепые отростки кишечника, помет

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

Для цитирования: Дагаева А. Б., Махиева Б. М. Эффективные меры борьбы с эймериозами птиц в условиях Республики Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 242–247. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-242-247>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для корреспонденции: Дагаева Асият Багаутдиновна, научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, 367000, Республика Дагестан, Россия, nos4561@mail.ru

Effective measures to control eimeriosis in poultry in the Republic of Dagestan

Asiyat B. Dagaeva, Bakhu M. Makhieva

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia

ABSTRACT

The most common disease of young poultry in commercial farms of the Russian Caspian region is eimeriosis. In most cases, after convalescence from coccidiosis caused by one of *Eimeria* species poultry remains susceptible to other species. This parasite has a very short life cycle and immense reproductive capacity that is why it can cause large-scale outbreaks of the disease in commercial poultry houses. To control avian eimeriosis, various coccidiostats are used in combination with probiotics and vitamins. Frequent and long-term use of the same drugs against this infection can potentially result in the emergence of resistant *Eimeria* populations. This suggests that this coccidiosis control requires rotation of eimericidal drugs. Studies on eimeriosis prevalence were performed in the laboratory of the Caspian Regional Research Veterinary Institute and in different poultry farms of the Republic of Dagestan. Swabs of the floor, litter, equipment, droppings, feedstuffs, cecum

© Дагаева А. Б., Махиева Б. М., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

smears from dead poultry were used for testing. High infection rate with eimerias was established in floor-housed poultry in the plain and piedmont zones of the Republic (Khasavyurtovsky and Karabudakhkent'sky raions), where the infection rates were 81.6 and 82.4%, respectively. In battery-cage system poultry farms of the mountain and mountain valley zones (Khunzakh'sky and Gergebil'sky raions) the infection rates were significantly lower – 61.2 and 58.0%, respectively. The comparative efficacy study of two eimeriocidal drugs showed that "Robenidine", used daily from the first day of life during the entire rearing period at a dose of 33 g per 1 ton of feedstuffs controls coccidiosis in poultry. At the same time, the survival rate of the experimental young poultry during the observation period was 98.0% compared with "Sarucoxum 12%" group (96.7%).

Keywords: broilers, eimeriosis, oocysts, eimerias, eimeriocidal drugs, "Robenidine", "Sarucoxum 12%", efficacy, infection rate, ceca, droppings

Acknowledgements: The work was funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the Program of Fundamental Research of the State Academies of Sciences in the field of molecular biological and nanobiotechnological methods for the development of new generation biological products, technologies and methods of their application to control highly dangerous infectious, parasitic and non-contagious animal diseases.

For citation: Dagaeva A. B., Makhieva B. M. Effective measures to control eimeriosis in poultry in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 242–247. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-242-247>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests and have no financial interest in the presented materials or methods.

For correspondence: Asiyat B. Dagaeva, Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia, nos4561@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Самым распространенным заболеванием на птицефабриках промышленного типа в Прикаспийском регионе России является эймериоз (кокцидиоз) [1].

Исследователи отмечают, что эймериозом болевают в основном молодняк птицы с 10-суточного до 3-месячного возраста, и связывают это с недостаточным формированием иммунитета [2, 3, 4, 5, 6].

В большинстве случаев переболевшая кокцидиозом, вызванным одним видом эймерий, птица восприимчива и к другим видам возбудителя. У данного паразита очень короткий цикл развития и огромная продуктивность, вследствие чего в птичниках промышленного типа могут происходить массовые вспышки заболевания [6, 7, 8, 9].

Многие авторы отмечают огромный ущерб, наносимый птицеводству в результате гибели птицы, снижения привесов и мясной продуктивности [10, 11, 12, 13].

Для борьбы с эймериозами птиц применяют различные кокцидиостатические препараты в сочетании с пробиотиками и витаминами [14, 15, 16, 17].

Пик заболеваемости у птиц чаще всего приходится на теплые и влажные периоды года (весна и поздняя осень).

Исследователи отмечают, что у птиц паразитирует от 4 до 10 видов эймерий, что значительно усложняет борьбу с этим заболеванием [6, 9].

В последние годы часто регистрируются ассоциации эймерий с криптоспоридиями, сальмонеллами и колибактериями [18].

Частое и долгосрочное использование одних и тех же средств борьбы с этой инвазией приводит к возникновению устойчивых популяций эймерий. Это говорит о том, что при лечении данного паразитоза важно чередовать эймериостатические препараты [19, 20, 21].

Целью исследований явилось изучение распространения эймериоза в птицеводческих хозяйствах Республики Дагестан и лечебной эффективности «Робенидина» и «Сарукокка 12%» в сравнительном аспекте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований использовали коммерческие препараты «Робенидин» и «Сарукокк 12%».

«Робенидин» обладает кокцидиостатическим действием в отношении основных видов кокцидий, паразитирующих у птиц (*Eimeria necatrix*, *Eimeria tenella*, *Eimeria acervulina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mivati*) в стадии шизонта первого и второго поколения. Механизм действия «Робенидина» заключается в избирательном нарушении энергообмена клетки кокцидии и подавлении деления ядра, что приводит к гибели паразита.

«Сарукокк 12%» содержит салиномицин натрия – полиэфирный антибиотик из группы ионофоров. Препарат нарушает перенос ионов натрия и калия в ооците и приводит к гибели кокцидий на стадии шизогонии. Обладает антикокцидийным эффектом против всех видов возбудителей кокцидиоза у домашней птицы и других сельскохозяйственных животных.

Эксперименты проводили в лаборатории Прикаспийского зонального НИВИ и птицеводческом хозяйстве промышленного типа АО «Птицефабрика «Махачкалинская», а также в других птицеводческих хозяйствах региона.

Материалом для исследований служили соскобы с пола, подстилки, инвентаря; помет; корма; мазки-отпечатки слепых отростков кишечника павшей птицы.

Лабораторные исследования по установлению диагноза, интенсивности поражения птиц эймериями проводили в соответствии с ГОСТ 25383-82 (СТ СЭВ 2547-80) «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза»².

Для проведения эксперимента в птицеводческом хозяйстве промышленного типа АО «Птицефабрика «Махачкалинская» сформировали 3 группы цыплят: 2 опытные и 1 контрольную (по 150 гол. в каждой).

² <https://docs.cntd.ru/document/1200025474?ysclid=lwmb1ge0n7566471140>

Таблица 1
Распространение эймериозов птиц по районам и зонам вертикальной поясности Республики Дагестан

Table 1
Prevalence of eimerioses in poultry in the raions and different altitudinal zones of the Republic of Dagestan

Районы и зоны	Исследовано на эймериозы				
	количество проб	подвергнуто патолого-анатомическому вскрытию	микроскопировано	выявлено положительных проб	%
Хасавюртовский (равнинная зона)	364	104	364	297	81,6
Карабудахкентский (предгорная зона)	256	84	256	211	82,4
Хунзахский (горная зона)	178	34	178	109	61,2
Гергебильский (зона горных долин)	188	32	188	109	58,0
ИТОГО	986	254	986	726	73,6

Цыплятам-бройлерам первой опытной группы задавали препарат «Робендин» ежедневно с первого дня жизни в течение всего периода выращивания в дозе 33 г на 1 тонну корма, исключив препарат из рациона за 5 дней до убоя. Во второй опытной группе использовали препарат «Сарукок 12%» в дозе 7 мг/кг, что эквивалентно 1 мл на 1 л питьевой воды, которую выпаивают в течение 48 ч. Цыплята-бройлеры контрольной группы препараты не получали.

Наблюдения за птицами вели в течение всего периода проведения опыта. Цыплят, подвергнутых лечению, обследовали на наличие ооцист на 16, 26, 36, 48-е сут.

Экспериментальная часть на животных проведена в соответствии с ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Хельсинкской декларации (2000 г.) и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Интенсивность (ИЭ) препаратов определяли проведением копроскопических исследований по обнаружению ооцист эймерий в слепых отростках кишечника и помете.

Индекс продуктивности препаратов определяли по проявлению клинических симптомов заболевания, степени репродукции ооцист и летальности от эйме-

риоза, а также изменению живого веса в контрольной и опытных группах птиц.

Для подсчета ооцист в 1 г помета использовали счетную камеру МакМастера или ВИГИС.

Статистическая обработка полученных при исследовании данных проводилась с помощью компьютерной программы «Биометрия».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эпизоотическую ситуацию по эймериозам в условиях различных зон вертикальной поясности региона изучали на птицефабриках и мелкотоварных фермах с напольной и клеточной системами выращивания птицы, расположенных на территории Хасавюртовского (равнинная зона), Карабудахкентского (предгорная зона), Хунзахского (горная зона) и Гергебильского (зона горных долин) районов республики.

Исследовано 986 тушек павшей и убитой птицы, в том числе патолого-анатомическому вскрытию подвергнуто 254 гол., микроскопии – 986 гол. Положительные результаты получены в 726 случаях, что составило 73,6% (табл. 1).

В равнинной и предгорной зонах республики (Хасавюртовский и Карабудахкентский районы) выявлена высокая степень зараженности эймериями птиц, выращиваемых в условиях напольного содержания. Экстенсивность инвазии составила соответственно 81,6 и 82,4%.

Таблица 2
Результаты исследования кишечника и помета цыплят-бройлеров на содержание эймерий

Table 2
The results of testing of broiler intestines and droppings for eimerias

Районы и зоны	Количество проб	Выявлено ооцист эймерий (экземпляров в одном поле зрения микроскопа)		
		в слепых отростках	в помете	в двенадцатиперстной кишке
Хасавюртовский (равнинная зона)	104	54–56	8–10	7–9
Карабудахкентский (предгорная зона)	84	24–26	4–5	4–6
Хунзахский (горная зона)	34	11–12	2–3	1–2
Гергебильский (зона горных долин)	32	6–8	2–3	1–2
ИТОГО	254	–	–	–

Совсем другая картина наблюдается у птиц в птицеводческих хозяйствах горной зоны и зоне горных долин (Хунзахский и Гергебильский районы), выращиваемых в условиях клеточного содержания, где экстенсивность инвазии составила 61,2 и 58,0% соответственно.

При проведении лабораторных исследований эймерии были обнаружены в слепых отростках толстого отдела кишечника, двенадцатиперстной кишке и помете цыплят-бройлеров (табл. 2).

По морфологической структуре эймерии, выявленные в патологическом материале (помете, слепых отростках толстого отдела кишечника и двенадцатиперстной кишке), при сравнении с литературными данными были отнесены к *Eimeria tenella*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis*, *Eimeria acervulina*.

Для успешной борьбы с эймериозом птиц необходимо постоянно проводить изыскание современных высокоэффективных эймерицидных препаратов, поэтому одним из этапов исследования было сравнительное изучение эффективности «Робенидина» и «Сарукокка 12%» при спонтанном эймериозе цыплят-бройлеров в условиях птицефабрики промышленного типа (клеточное содержание) АО «Птицефабрика «Махачкалинская» (табл. 3 и 4).

Установлено, что в опытных группах после применения препаратов «Робенидин» и «Сарукокк 12%» в лечебных дозах за весь период наблюдения (48 дней) пало 3 и 5 цыплят. Таким образом, сохранность поголовья в опытных группах составила 98,0 и 96,7% соответственно. В контрольной группе выживаемость цыплят-бройлеров была значительно ниже – 60,7%.

При вскрытии павших особей первой и второй опытных групп во внутренних органах и кишечнике изменений, характерных для эймериоза, не обнаруживали.

Микроскопией мазков-отпечатков слепых отростков кишечника павшей птицы первой опытной группы установлено отсутствие ооцист эймерий, тогда как у цыплят-бройлеров второй опытной группы обнаруживали единичные ооцисты (4–5 экземпляров в одном поле зрения микроскопа).

Интенсивность лечения препаратом «Робенидин» составила 98,0%, а «Сарукоксом 12%» – 96,7%. Таким образом, лечебная эффективность «Робенидина» оказалась выше по сравнению с «Сарукоксом 12%».

Среднесуточный прирост цыплят-бройлеров за период выращивания (48 дней) в первой и второй опытных группах был соответственно 53 и 48 г, расход корма на 1 кг прироста живой массы составил 1,95 и 2,1 кг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мониторинговые исследования, проведенные в равнинной и предгорной зонах республики (Хасавюртовский и Карабудахкентский районы), выявили высокий уровень инвазирования эймериями птиц, выращиваемых в условиях напольного содержания. Экстенсивность инвазии составила 81,6 и 82,4% соответственно.

В птицеводческих хозяйствах горной зоны и зоне горных долин (Хунзахский и Гергебильский районы) у птиц, выращиваемых в условиях клеточного содержания, экстенсивность инвазии составила 61,2 и 58,0% соответственно.

Таблица 3

Схема проведения опытов на цыплятах-бройлерах «РОСС 308» в условиях клеточного содержания

Table 3

Design of testing in cage-housed ROSS 308 broilers

Группы	Препарат	Количество цыплят, гол.	Доза препарата и курс лечения
1-я опытная	«Робенидин»	150	Ежедневно с первого дня жизни в течение всего периода выращивания в дозе 33 г на 1 тонну корма, исключая из рациона за 5 дней до убоя
2-я опытная	«Сарукокк 12%»	150	Выпаивание в течение 48 ч в дозе 7 мг/кг, что эквивалентно 1 мл на 1 л питьевой воды
Контроль	–	150	–

Таблица 4

Эффективность эймерицидных препаратов при спонтанном эймериозе цыплят-бройлеров

Table 4

The efficacy of eimeriocidal drugs against spontaneous eimeriosis in broilers

Показатель	Контроль	Опытные группы	
		«Робенидин»	«Сарукокк 12%»
До лечения			
Количество цыплят в группе, гол.	150	150	150
Возраст цыплят, сут	15	15	15
Средний вес 1 цыпленка в начале опыта, г	426	432	443
Количество ооцист в исследованном материале (среднее значение), экз. в п. з. м.			
В слепых отростках	40,3 ± 5,3	36,7 ± 1,9	32,8 ± 2,3
В 20 пробах помета	33,7 ± 1,9	29,3 ± 2,1	24,6 ± 2,3
После лечения			
Пало цыплят за 48 дней, гол. (%)	59 (39,3%)	3 (2,0%)	5 (3,3%)
Количество ооцист в исследованном материале (среднее значение), экз. в п. з. м.			
В слепых отростках	43,6 ± 4,4	–	5,5 ± 1,4
В 20 пробах помета	40,3 ± 3,8	–	4,9 ± 1,1
Интенсивность препаратов, %	–	98,0	96,7
Сохранность цыплят за 48 дней, %	60,7	98,0	96,7
Среднесуточный прирост за 48 дней, г	44	53	48
Расход корма на 1 кг прироста за 48 дней, кг	2,24	1,95	2,10
Живая масса при убое, г	2536	2978	2729

экз. в п. з. м – экземпляров в поле зрения микроскопа (number of oocysts in a single field of view).

Морфологическое исследование эймерий, обнаруженных в патологическом материале (помете, слепых отростках толстого отдела кишечника и двенадцатиперстной кишке), позволило отнести их к *Eimeria tenella*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis*, *Eimeria acervulina*.

В результате сравнительной оценки эймерицидных препаратов при спонтанном эймериозе цыплят-бройлеров в условиях птицефабрики промышленного типа АО «Птицефабрика «Махачкалинская» установлена 98,0%-я эффективность «Робенидина».

Препарат «Робенидин» при ежедневном применении с первого дня жизни в течение всего периода выращивания в дозе 33 г на 1 тонну корма, исключая из рациона за 5 дней до убоя, saniрует организм птицы от паразитов. Выживаемость подопытного молодняка птицы за период наблюдения составила 98,0%.

Таким образом, лечебная эффективность «Робенидина» оказалась выше по сравнению с препаратом «Сарукокк 12%». Коммерческий препарат «Робенидин» может использоваться в птицеводческих хозяйствах республики Дагестан для лечения эймериозов цыплят-бройлеров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакриева Р. М., Гаджимурадова З. Т., Дагаева А. Б. Эпизоотическая ситуация по эймериозам в птицеводческих хозяйствах в условиях Республики Дагестан. *Актуальные задачи ветеринарии, медицины и биотехнологии в современных условиях и способы их решения: материалы региональной научно-практической межвузовской конференции (Самара, 16 мая 2013 г.)*. Самара: ГНУ Самарская научно-исследовательская ветеринарная станция РАХСН; 2013; 34–37. <https://elibrary.ru/wxhzyd>
2. Mesa-Pineda C., Navarro-Ruiz J. L., López-Osorio S., Chaparro-Gutiérrez J. J., Gómez-Osorio L. M. Chicken coccidiosis: From the parasite lifecycle to control of the disease. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:787653. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.787653>
3. Гиззатуллин Р. Р. Клинико-морфологическая оценка эффективности соединения «Дегельм-14» при эймериозе кур: дис. ... канд. вет. наук. Н. Новгород; 2013. 196 с.
4. Бондаренко Л. А. Распространение эймериоза среди ремонтного молодняка кур мясо-яичной породы. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2014; 15: 57–60. <https://elibrary.ru/tcfxgj>
5. Качанова Е. О., Сафуллин Р. Т. Распространение эймериозной инвазии у бройлеров и ремонтного молодняка кур яичной и мясо-яичной породы. *Труды ВИЭВ*. 2018; 80 (2): 177–182. <https://doi.org/10.30917/ATT-PRINT-2018-4>
6. You M.-J. The comparative analysis of infection pattern and oocyst output in *Eimeria tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina* in young broiler chicken. *Veterinary World*. 2014; 7 (7): 542–547. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014>
7. Györke A., Pop L., Cozma V. Prevalence and distribution of *Eimeria* species in broiler chicken farms of different capacities. *Parasite*. 2013; 20:50. <https://doi.org/10.1051/parasite/2013052>
8. Сивкова А. С., Гагарин Е. М., Глазунова Л. А. Некоторые эпизоотологические особенности эймериоза у кур яичного направления продуктивности. *АПК: инновационные технологии*. 2020; (1): 6–12. <https://elibrary.ru/pigpgz>
9. Xu L., Xiang Q., Li M., Sun X., Lu M., Yan R., et al. Pathogenic effects of single or mixed infections of *Eimeria mitis*, *Eimeria necatrix*, and *Eimeria tenella* in chickens. *Veterinary Sciences*. 2022; 9 (12):657. <https://doi.org/10.3390/vetsci9120657>
10. Haug A., Gjevne A. G., Skjerve E., Kaldhusdal M. A survey of the economic impact of subclinical *Eimeria* infections in broiler chickens in Norway. *Avian Pathology*. 2008; 37 (3): 333–341. <https://doi.org/10.1080/03079450802050705>
11. Blake D. P., Knox J., Dehaeck B., Huntington B., Rathinam T., Ravipati V., et al. Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Veterinary Research*. 2020; 51 (1):115. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00837-2>
12. Забашта А. П. Усовершенствование лечебно-профилактических мероприятий при смешанных паразитозах кур в условиях Кубани: дис. ... канд. вет. наук. Ставрополь; 2002. 197 с.
13. Blake D. P., Vrba V., Xia D., Jatai I. D., Spiro S., Nolan M. J., et al. Genetic and biological characterisation of three cryptic *Eimeria* operational taxonomic units that infect chickens (*Gallus gallus domesticus*). *International Journal for Parasitology*. 2021; 51 (8): 621–634. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.12.004>
14. Quiroz-Castañeda R. E., Dantán-González E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. *BioMed Research International*. 2015; 2015:430610. <https://doi.org/10.1155/2015/430610>

15. Беспалова Н. С. Современные противопаразитарные средства в ветеринарии: учебное пособие. М.: КолосС; 2006. 192 с.

16. Кашковская Л. М., Балышев А. В., Абрамов В. Е., Зубарев В. Н. Современный подход к борьбе с эймериозом цыплят-бройлеров. *Ветеринария*. 2019; (3): 31–33. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.3.31-34>

17. Дагаева А. Б., Бакриева Р. М., Махиева Б. М. Эймериозы птиц: биология, распространение и меры борьбы в условиях Прикаспийского региона РФ. *Российский паразитологический журнал*. 2020; 14 (1): 29–34. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-29-34>

18. Бахурец И. А., Фирсова Г. Д. Влияние ассоциаций энтеропатогенных микроорганизмов и простейших у птиц на тяжесть инфекционного процесса. *Ветеринарная патология*. 2013; (4): 31–35. <https://elibrary.ru/rzbxad>

19. Коротова Д. М., Ларионов С. В. Сравнительная эффективность отечественных препаратов при эймериозе цыплят-бройлеров. *Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии*. 2023; (2): 10–14. <https://elibrary.ru/yjkvvt>

20. Асбаганова А. Р., Муллаярова И. Р. Пути лечения и профилактики эймериоза кур. *Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Брянск, 25–26 марта 2021 г.)*. Брянск: Брянский ГАУ; 2021; 113–117. <https://elibrary.ru/urzsxk>

21. Peek H. W., Landman W. J. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary Quarterly*. 2011; 31 (3): 143–161. <https://doi.org/10.1080/01652176.2011.605247>

REFERENCES

1. Bakrieva R. M., Gadjimuradova Z. T., Dagaeva A. B. Epizooticheskaya situatsiya po eimeriozom v pitsevodcheskikh khozyaistvakh v usloviyakh Respubliki Dagestan = Eimeriosis situation in poultry farms of the Republic of Dagestan. *Aktual'nye zadachi veterinarii, meditsiny i biotekhnologii v sovremennykh usloviyakh i sposoby ikh resheniya: materialy regional'noi nauchno-prakticheskoi mezhvuzovskoi konferentsii (Samara, 16 maya 2013 g.) = Crucial tasks of veterinary medicine, human medicine and biotechnology and ways to solve them: proceedings of regional scientific and practical conference (Samara, May 16, 2013)*. Samara: GSI Samara Research Veterinarmy Stattion under RAAS; 2013; 34–37. <https://elibrary.ru/wxhzyd> (in Russ.)
2. Mesa-Pineda C., Navarro-Ruiz J. L., López-Osorio S., Chaparro-Gutiérrez J. J., Gómez-Osorio L. M. Chicken coccidiosis: From the parasite lifecycle to control of the disease. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 8:787653. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.787653>
3. Gizzatullin R. R. Clinical and morphological evaluation of “Degelm-14” efficacy against chicken eimeriosis: Author’s thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). N. Novgorod; 2013. 196 p. (in Russ.)
4. Bondarenko L. A. Prevalence of *Eimeria* spp. infection among youngsters of meat-egg breed. *Theory and Practice of Parasitic Disease Control*. 2014; 15: 57–60. <https://elibrary.ru/tcfxgj> (in Russ.)
5. Kachanova E. O., Safullin R. T. Distribution of eimeriosis invasion in broilers and maintenance youngsters of hens of egg and meat-egg breed. *Proceedings of the VIEV*. 2018; 80 (2): 177–182. <https://doi.org/10.30917/ATT-PRINT-2018-4> (in Russ.)
6. You M.-J. The comparative analysis of infection pattern and oocyst output in *Eimeria tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina* in young broiler chicken. *Veterinary World*. 2014; 7 (7): 542–547. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014>
7. Györke A., Pop L., Cozma V. Prevalence and distribution of *Eimeria* species in broiler chicken farms of different capacities. *Parasite*. 2013; 20:50. <https://doi.org/10.1051/parasite/2013052>
8. Sivkova A. S., Gagarin E. M., Glazunova L. A. Some epizootological features of eimeriosis in chickens in egg productivity. *AIC: Innovative Technologies*. 2020; (1): 6–12. <https://elibrary.ru/pigpgz> (in Russ.)
9. Xu L., Xiang Q., Li M., Sun X., Lu M., Yan R., et al. Pathogenic effects of single or mixed infections of *Eimeria mitis*, *Eimeria necatrix*, and *Eimeria tenella* in chickens. *Veterinary Sciences*. 2022; 9 (12):657. <https://doi.org/10.3390/vetsci9120657>
10. Haug A., Gjevne A. G., Skjerve E., Kaldhusdal M. A survey of the economic impact of subclinical *Eimeria* infections in broiler chickens in Norway. *Avian Pathology*. 2008; 37 (3): 333–341. <https://doi.org/10.1080/03079450802050705>
11. Blake D. P., Knox J., Dehaeck B., Huntington B., Rathinam T., Ravipati V., et al. Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Veterinary Research*. 2020; 51 (1):115. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00837-2>
12. Zabashata A. P. Improvement of therapeutic and prevention measures to control mixed parasitic infections of chickens in Kuban: Author’s

thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Stavropol; 2002. 197 p. (in Russ.)

13. Blake D. P., Vrba V., Xia D., Jatau I. D., Spiro S., Nolan M. J., et al. Genetic and biological characterisation of three cryptic *Eimeria* operational taxonomic units that infect chickens (*Gallus gallus domesticus*). *International Journal for Parasitology*. 2021; 51 (8): 621–634. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.12.004>

14. Quiroz-Castañeda R. E., Dantán-González E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. *BioMed Research International*. 2015; 2015:430610. <https://doi.org/10.1155/2015/430610>

15. Beshpalova N. S. Modern anti-parasitic veterinary drugs: study guide. Moscow: KolosS; 2006. 192 p. (in Russ.)

16. Kashkovskaya L. M., Balyshchev A. V., Abramov V. E., Zubarev V. N. A modern approach to fighting the eimeriosis of broilers. *Veterinariya*. 2019; (3): 31–33. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.3.31-34> (in Russ.)

17. Dagayeva A. B., Bakrieva R. M., Makhieva B. M. Eimeriosis in poultry: Biology, spread and control measures in the Caspian Sea Region of the Russian Federation. *Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (1): 29–34. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-29-34> (in Russ.)

18. Bakhurets I. A., Firsova G. D. The influence of associations enteropathogenic microorganisms and protozoa on the heaviness infectious

process at birds. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2013; (4): 31–35. <https://elibrary.ru/rzbxad> (in Russ.)

19. Korotova D. M., Larionov S. V. Comparative efficiency domestic preparations for eimeriosis of broiler chicken. *Actual Issues in Agricultural Biology*. 2023; (2): 10–14. <https://elibrary.ru/yjkvti> (in Russ.)

20. Asbabanova A. R., Mullayarova I. R. Ways of treatment and prevention of chicken eimeriosis. *Problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva i ikh reshenie: sbornik nauchnykh trudov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov, aspirantov i molodykh uchenykh (Bryansk, 25–26 marta 2021 g.) = Challenges of intensive livestock production and ways to address them: proceedings of International scientific and practical conference for students, post-graduate students and early-career scientists (Bryansk, March 25–26, 2021)*. Bryansk: Bryansk State Agrarian University; 2021; 113–117. <https://elibrary.ru/urzsxk> (in Russ.)

21. Peek H. W., Landman W. J. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary Quarterly*. 2011; 31 (3): 143–161. <https://doi.org/10.1080/01652176.2011.605247>

Поступила в редакцию / Received 27.02.2024

Поступила после рецензирования / Revised 02.04.2024

Принята к публикации / Accepted 05.06.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Дагаева Асият Багаутдиновна, научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4740-3654>, nos4561@mail.ru

Махиева Баху Магомедовна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3166-9271>, bahumahieva66@gmail.com

Asiyat B. Dagaeva, Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4740-3654>, nos4561@mail.ru

Bakhu M. Makhieva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3166-9271>, bahumahieva66@gmail.com

Вклад авторов: Дагаева А. Б. – сбор литературных данных по тематике исследования, отбор проб патологического материала, проведение исследований, анализ данных, концепция представления материалов, подготовка текста; Махиева Б. М. – концепция представления материалов, подготовка текста.

Contribution: Dagaeva A. B. – literature search, collection of pathological samples, performing tests, data analysis, material presentation, text preparation; Makhieva B. M. – material presentation, text preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-248-254>
УДК 619:616.98:578.832.1:636.5:615.371:616-097.3

Применение вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для индеек, гусей и уток

Н. В. Мороз, С. В. Фролов, В. Н. Ирза, Л. О. Щербакова, В. Ю. Кулаков

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

РЕЗЮМЕ

В лабораторных и производственных условиях показано, что вакцина против гриппа птиц H5 «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» является эффективным препаратом для профилактики болезни у гусей, уток и индеек. Вакцина при введении уткам в дозах 0,5; 1,0 и 1,5 см³ со 100%-й эффективностью защищала птиц от заболевания и гибели при заражении актуальным вирусом высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 генетической клады 2.3.4.4b. Однократная прививка в дозе от 0,5 до 1,5 см³ вызывала образование антител, выявляемых в реакции торможения гемагглютинации, в титрах от 4,3 до 6,1 log₂. Вакцина способствовала снижению выделения вирулентного вируса утками в 9–26 раз. Протективная защита индеек, привитых в дозе 1,0 см³, обеспечивалась на уровне 87,5% при заражении вирусом высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 клады 2.3.4.4b. Вакцина вызывала образование антител в титрах 4,9 и 5,5 log₂ у индеек при однократном и двукратном введении в дозе 1,0 см³ соответственно. Установлено, что при двукратном применении препарата «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» в дозе 1,0 см³ уровень поствакцинальных антител к вирусу гриппа птиц был выше 5,0 log₂ у 75,9–90,0% популяции гусей. Рациональным решением использования вакцины для индеек, уток и гусей является ее применение в двойной коммерческой дозе и как минимум двукратное введение. Также была установлена более высокая видовая устойчивость уток к заражению вирусом гриппа птиц подтипа H5 клады 2.3.4.4b по сравнению с индейками.

Ключевые слова: высокопатогенный грипп птиц, вирус гриппа птиц H5, инактивированная вакцина, иммуногенность, утки, гуси, индейки

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

Для цитирования: Мороз Н. В., Фролов С. В., Ирза В. Н., Щербакова Л. О., Кулаков В. Ю. Применение вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для индеек, гусей и уток. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 248–254. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-248-254>

Конфликт интересов: Ирза В. Н. является членом редколлегии журнала «Ветеринария сегодня», 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: Мороз Наталья Владимировна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц, ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, moroz@arriah.ru

Use of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine in turkeys, geese and ducks

Natalia V. Moroz, Sergey V. Frolov, Viktor N. Irza, Lidia O. Scherbakova, Vladimir Yu. Kulakov

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

ABSTRACT

“ARRIAH-AviFluVac” vaccine against H5 avian influenza was demonstrated to be effective for ducks, geese and turkeys both in the laboratory and production environment. When administered to ducks at 0.5; 1.0 and 1.5 cm³, the vaccine provided 100%-effective protection of birds against the disease and death after challenge with the relevant high pathogenicity avian influenza virus of subtype H5N1, clade 2.3.4.4b. Singular 0.5–1.5 cm³ inoculation induced formation of antibodies, which were detected in the hemagglutination inhibition test at the titres that ranged from 4.3 to 6.1 log₂. The vaccine facilitated 9–26-fold decrease in the virulent virus shedding by the ducks. Protection of turkeys vaccinated at the dose of 1.0 cm³ was maintained at the level of 87.5% after challenge with high pathogenicity avian influenza virus of subtype H5N1, clade 2.3.4.4b. The vaccine induced formation of antibodies at the titres of 4.9 and 5.5 log₂ in turkeys after singular and double vaccination at the dose of 1.0 cm³, respectively. It was demonstrated, that after double administration of 1.0 cm³ of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine, the post-vaccinal avian influenza antibody level exceeded 5.0 log₂ in 75.9–90.0% of the geese population. The most appropriate way of the vaccine use in turkeys, ducks and geese involves at least its double administration at the double commercial dose. Higher species resistance of ducks to the challenge with avian influenza virus of subtype H5, clade 2.3.4.4b as compared to turkeys was also demonstrated.

Keywords: high pathogenicity avian influenza, H5 avian influenza virus, inactivated vaccine, immunogenicity, ducks, geese, turkeys

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

For citation: Moroz N. V., Frolov S. V., Irza V. N., Scherbakova L. O., Kulakov V. Yu. Use of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine in turkeys, geese and ducks. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 248–254. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-248-254>

Conflict of interests: Irza V. N. is a member of the editorial board of the “Veterinary Science Today” journal, 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: Natalia V. Moroz, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, moroz@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц (ГП) – высококонтагиозная вирусная болезнь, которая может поражать несколько видов домашних птиц [1]. За последние 10 лет глобально распространились вирусы высокопатогенного гриппа птиц (ВГП) H5Nx клады 2.3.4.4 евроазиатской генетической линии Gs/Gd/96. В 2022–2023 гг. протекала беспрецедентная по масштабам панзоотия ВГП, вызванная вирусом подтипа H5N1 евроазиатской генетической линии 2.3.4.4b [2]. Отмечено огромное количество вспышек заболевания среди домашних птиц и случаев выявления вируса у диких и синантропных птиц разных видов, а также их массовой гибели в разных странах. Вирус обнаружен у наземных и морских млекопитающих, что вызывает серьезную тревогу у мирового сообщества в связи с угрозой пандемии (WOAH Situation Reports for Avian Influenza, 2021–2023; FAO Empres-i; WHO).

Начиная с 2021 г. эпизоотии ВГП в Российской Федерации также вызваны вирусом H5N1 евразийской генетической линии (клады) 2.3.4.4b [3].

В связи с тем что заболевание наносит колоссальный ущерб птицеводству и становится энзоотичным во многих странах, в 2022–2023 гг. активно обсуждались на международном уровне вопросы о применении вакцинации как дополнительном инструменте сдерживания распространения инфекции и снижения неоправданных потерь [4, 5, 6]. Кодекс здоровья наземных животных (WOAH, глава 10.4) содержит рекомендации по вакцинации птиц против ВГП и описывает условия, при которых она может применяться [7].

В большинстве стран, где проводится вакцинопрофилактика ГП, используются в основном цельновирионные вакцины на основе низкопатогенных и генномодифицированных низкопатогенных вирусов ГП, полуживых методом обратной генетики и содержащих фрагмент гена гемагглютинаина актуальных высоковирулентных вирусов подтипов H5 и H7.

Современные инактивированные вакцины против ГП ограниченно эффективны у гусеобразных, поэтому рекомендуется введение двойной дозы, принятой для кур, или добавление сильного стимулятора для эффективного иммунитета [8, 9, 10, 11]. Также было показано, что двойная доза бивалентной вакцины защищала уток от болезни и гибели, но при этом антигена формировались на низком уровне (от 4 до 8 \log_2) и после контрольного заражения вирус выделяли от 13% вакцинированных и 100% невакцинированных особей. Неспособность вируса, используемого для заражения, вызывать повторную выработку антител у вакцинированных близкородственным штаммом H5 птиц является убедительным доказательством отсут-

ствия репликации вирулентного вируса среди вакцинированных уток [12]. В большинстве научных статей показано, что цельновирионные вакцины в целом эффективны для уток [9, 10, 13, 14, 15] и гусей [10, 16], но данные виды птиц реагируют на вакцинацию по-разному [10, 17].

По данным A. Kandeil et al., применение инактивированной вакцины против ГП H5 вызывает развитие иммунного ответа у всех видов птиц, содержащихся совместно в условиях личных подсобных хозяйств (утки, гуси и куры), и титры антител достигают 10 \log_2 после двукратной вакцинации. Однако иммунный ответ отличался у разных видов птиц. Вакцинированные птицы после заражения оставались живы и выделяли меньше вируса по сравнению с невакцинированными. Следует отметить, что невакцинированные утки также не болели и выжили на протяжении эксперимента. Более того, вакцинированные утки выделяли больше вируса, чем вакцинированные птицы других видов [10].

Также имеется много сообщений о положительных результатах применения генно-инженерных вакцин для профилактики ВГП у домашней птицы. Так, по данным E. Niqueux et al., одновременная иммунизация двумя рекомбинантными вакцинами на основе вирусов ньюкаслской болезни и оспы птиц обеспечивала защиту мускусных уток в течение 12 недель [18]. Kim D.-H. et al. также показали, что введение генно-инженерной вакцины на основе вируса ньюкаслской болезни эффективно защищала мускусных уток от заражения вирулентным вирусом ВГП H5 и снижала вирусовыделение [19].

Большая часть испытаний вакцины против ГП как в лабораторных, так и в полевых условиях проводится на курах и индейках, потому что у них регистрируются высокий уровень смертности и экскреция большого количества вируса в окружающую среду при инфицировании. Однако с распространением ВГП в Азии эпизоотология заболевания изменилась, на что указывает расширение восприимчивости диких и экзотических птиц. Заражение домашних уток и гусей серьезно повлияло на поддержание и распространение ВГП подтипа H5N1 [20].

Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в 2022 г. зарегистрировал вакцину против ГП (H5) «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» на основе низкопатогенного вируса ГП H5 штамма «Ямал».

В рамках регистрационных действий были проведены исследования по определению прививного объема, кратности вакцинации для разных видов домашних птиц (индейки, утки и гуси) в лабораторных и производственных условиях, результаты которых представлены в данной статье.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцина. В лабораторных и производственных испытаниях использовали вакцину против гриппа птиц H5 инактивированную эмульсионную «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (серия № 010122, дата выпуска 01.2022 г.). Вакцина изготовлена из экстраэмбриональной жидкости эмбрионов кур, инфицированных вирусом гриппа птиц (источник производственного штамма «Ямал» подтипа H5N1 – вирусный изолят A/wildduck/YaNAO/956-21), инактивированной аминоэтилэтиленимином, с добавлением масляного адъюванта Montanide ISA 70 VG (SEPPIC, Франция) в ве-совом соотношении 30:70.

Птица. В лабораторных испытаниях использовали коммерческих птиц из благополучных по острым инфекционным болезням птиц хозяйств: 20 гол. суточных утят, 140 гол. 21-суточных утят и 40 гол. индюшат в возрасте 10 сут.

В производственных испытаниях вакцину применяли на промышленном поголовье индеек в возрасте 1 и 28 сут на одной из птицефабрик Ставропольского края и поголовье родительского стада гусей в возрасте 30 и 60 сут в Республике Башкортостан.

Схема опыта в условиях вивария. Суточных утят разделили на 2 группы по 10 гол. в каждой и вакцинировали внутримышечным методом в дозах 0,25 и 0,5 см³ соответственно. Через 28 сут после иммунизации получали сыворотку крови утят и исследовали на наличие антител к вирусу ГП H5.

Утят в возрасте 21 сут разделили на 4 группы по 35 гол. в каждой. Птиц первой группы привили вакциной «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» в дозе 0,5 см³; второй – в дозе 1,0 см³; третьей – в дозе 1,5 см³. Всех утят прививали внутримышечным методом в бедро. Птиц четвертой группы не прививали. Через 7, 14 и 21 сут от утят каждой группы отбирали пробы крови для контроля сероконверсии к вирусу ГП H5. Через 28 сут после вакцинации птиц опытных групп (по 10 гол. в каждой) заражали вирулентным вирусом гриппа А подтипа H5 A/chicken/Stavropol/2077-6/21 H5N1 в дозе 6,0 lg ЭИД₅₀ внутримышечно в бедро в объеме 0,5 см³. Срок клинического наблюдения за зараженными утятами составил 10 сут.

Через 6 сут после заражения от утят отбирали ротоглоточные смывы на предмет выявления генома вируса ГП методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Индеек в возрасте 10 сут разделили на четыре группы по 10 гол. в каждой. Птицу трех опытных групп вакцинировали внутримышечно в дозах 0,25; 0,5 и 1,0 см³ соответственно. Четвертую группу индеек не вакцинировали. Через 21 сут после вакцинации от птиц отбирали кровь для исследований на наличие антител к вирусу ГП подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Затем индеек заражали вирусом A/chicken/Stavropol/2077/6/21 H5N1 в дозе 6,0 lg ЭИД₅₀ внутримышечно в бедро в объеме 0,5 см³. Срок клинического наблюдения за зараженной птицей составил 10 сут.

Схема опыта в производственных условиях. Экспериментальную группу индеек в количестве 700 гол. в суточном возрасте вакцинировали в дозе 0,2 см³, затем в возрасте 28 сут ее разделили на две группы по 350 гол. в каждой и повторно иммунизировали в дозах 0,5 и 1,0 см³ соответственно.

Было сформировано две группы гусей по 30 гол. в каждой. Птицу первой группы вакцинировали внутримышечным способом однократно в возрасте 30 сут

в дозе 1,0 см³; второй – двукратно в возрасте 30 и 60 сут также внутримышечно в дозе 1,0 см³.

Все эксперименты на птицах проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за животными, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Серологические исследования по выявлению антител к вирусу ГП H5 проводили методом РТГА с использованием набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». Результаты РТГА выражали в log₂, а титр антител, равный или выше 5 log₂, считали минимальным защитным титром согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных [21].

Контрольное заражение. Устойчивость вакцинированной птицы к заражению вирусом A/chicken/Stavropol/2077/6/21 H5N1 в дозе 6,0 lg ЭИД₅₀ определяли по отсутствию гибели птицы и клинических признаков болезни (угнетение, респираторные и нервные расстройства).

Молекулярно-генетические исследования. Обнаружение генома вируса ГП в биопробах и определение порогового цикла амплификации проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по выявлению РНК вируса гриппа птиц типа А методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени»².

Для отбора ротоглоточных проб использовали стерильные тупферы. Образцы отбирали через 6 сут после заражения от всех утят соответствующих групп. Определяли пороговые циклы амплификации (Ct) в контроле (Ct_c) и в группах вакцинированных птиц (Ct_v). Реакцию считали положительной (геном вируса ГП H5 присутствует), если 0 < Ct < 37 [21]. Далее проводили сравнение с контролем и вычисляли разность сопоставляемых величин (d_i = Ct_c – Ct_v). Кроме этого, по групповым выборкам d рассчитывали средние оценки разности (D) и стандартные ошибки измерения средних (± m).

Иммуногенность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для уток определяли в лабораторных опытах по результатам устойчивости к контрольному заражению, по титрам сывороточных антител и по выделению вируса во внешнюю среду с индикацией в ПЦР.

Иммуногенность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для индеек определяли в лабораторных и производственных опытах по результатам устойчивости к контрольному заражению и по титрам сывороточных антител.

Иммуногенность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» для гусей в производственных опытах определяли по титрам сывороточных антител.

Статистическая обработка полученных данных включала определение средних значений, ошибки среднего, статистической значимости различий между опытными группами животных с указанием значения статистического критерия, числа степеней свободы и величины вероятности ошибки прогноза (p).

² Андриясов А. В., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Методические рекомендации по выявлению РНК вируса гриппа птиц типа А методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени: № 45-16. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2016. 13 с.

Таблица 1
Результаты исследований сывороток крови утят на наличие антител к вирусу ГП Н5 в РТГА

Table 1
Results of duckling serum tests for AIV H5 antibodies using HI test

Возраст птиц на момент вакцинации, сут	Прививная доза, см ³	Титры антител (log ₂) в разные сроки после вакцинации			
		7 сут	14 сут	21 сут	28 сут
1	0,25	н/и	н/и	н/и	1,3 ± 0,6
	0,5	н/и	н/и	н/и	4,4 ± 0,3
21	0,5	0,9 ± 0,6*	0,9 ± 0,6 (0)	4,3 ± 0,5 (4,5)	4,4 ± 0,6
	1,0	3,1 ± 0,6	3,1 ± 0,6 (4,0)	5,0 ± 0,4 (5,0)	5,1 ± 0,4
	1,5	2,1 ± 0,8 (1,5)	2,1 ± 0,8 (1,5)	6,1 ± 0,5 (6,0)	6,2 ± 0,6

* среднее значение титра антител и его ошибка в РТГА, в скобках – медиана (Me) выборки (mean HI antibody titre and error, median (Me) is in brackets); н/и – не исследовали (not tested).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены результаты исследований в РТГА сывороток крови утят разного возраста на наличие антител к вирусу гриппа птиц Н5 после вакцинации.

Установлено, что суточные утята, вакцинированные в дозе 0,25 см³, вырабатывали антитела к вирусу ГП Н5 в низких неоднородных титрах ($p > 0,05$). В то же время титры антител к вирусу ГП Н5 в группе утят, привитых в дозе 0,5 см³, через 28 сут достигли значения 4,4 log₂ при хорошей однородности ($p \leq 0,001$).

У вакцинированных в возрасте 21 сут утят, независимо от дозы вакцины (0,5; 1,0 или 1,5 см³), антитела к вирусу ГП Н5 формировались в сопоставимых титрах. Сероконверсию в группах иммунизированных утят отмечали через 7 сут с максимальными значениями титров антител через 28 сут после вакцинации.

Статистическая обработка результатов первичных значений титров антител через 28 сут после вакцинации в экспериментальных группах была проведена методом однофакторного дисперсионного анализа в Excel. Было установлено, что статистика F-теста меньше критического значения F ($F_{\text{тест}} 3,0 < F_{\text{крит.}} 3,4$), то есть средние значения титров антител для трех групп не различались.

Для определения протективных свойств вакцины в отношении возбудителя ВГП Н5 вакцинированных уток заражали вирусом A/chicken/Stavropol/2077-6/21 H5N1. В таблице 2 представлены результаты эксперимента.

Установлено, что вакцинированные утята во всех опытных группах в течение 10 сут после заражения высоковирулентным вирусом ГП Н5N1 не заболели. В группе невакцинированных птиц у 6 особей отмечали признаки болезни, одна из них пала.

Также для установления напряженности иммунитета у вакцинированных уток проводили исследования по выявлению экскреции вирулентного вируса. Задача данного этапа работы состояла в обнаружении в рото-глоточных выделениях птиц генома вируса ГП Н5 через 6 сут после заражения.

Выявили, что геном вируса ГП Н5 присутствовал во всех исследованных пробах. Однако относительно контроля исходная концентрация вирусного материала в ротоглоточных экскретах у вакцинированных птиц была существенно ниже. Так, пороговые циклы амплификации (Ct) в контрольной группе были в пределах 20,93–25,47 (в среднем – 23,83), в группе

вакцинированных в дозе 0,5 см³ утят – в пределах 24,49–29,46 (в среднем – 26,84), в группе вакцинированных в дозе 1,0 см³ утят – в пределах 23,08–30,29 (в среднем – 27,5), в группе вакцинированных в дозе 1,5 см³ утят – в пределах 26,12–31,41 (в среднем – 28,32). Если принять, что один цикл амплификации приблизительно соответствует удвоению количества целевого продукта, то в процентах от контроля исходная концентрация вирусного материала в тестируемой пробе может быть описана как $J = (1/2^D) \times 100$. Таким образом, соответственно вакцинированным группам искомые оценки составили (%): $J_I = 10,8$; $J_{II} = 6,9$ и $J_{III} = 3,9$, то есть вакцинированные в дозе 0,5 см³ утки выделяли вирус в 9 раз меньше, в дозе 1,0 см³ – в 14 раз меньше, а в дозе 1,5 см³ – в 26 раз меньше по сравнению с невакцинированными птицами.

Следовательно, вакцинация утят способствовала снижению вирусыведения вакцинированными птицами по сравнению с невакцинированными, причем чем больше доза вакцины, тем снижение было более значимым.

Таблица 2
Устойчивость вакцинированных утят к заражению вирусом гриппа А подтипа H5N1

Table 2
Resistance of vaccinated ducklings to challenge with subtype H5N1 influenza A virus

Срок наблюдения, сут	Группы в соответствии с прививной дозой, см ³			
	0,5	1,0	1,5	Контроль
1	0/10*	0/10	0/10	0/10
2	0/10	0/10	0/10	0/10
3	0/10	0/10	0/10	0/10
4	0/10	0/10	0/10	0/10
5	0/10	0/10	0/10	2/10
6	0/10	0/10	0/10	5/9 (1 пала)
7	0/10	0/10	0/10	5/9
8	0/10	0/10	0/10	5/9
9	0/10	0/10	0/10	5/9
10	0/10	0/10	0/10	5/9

* отношение числа больных утят к общему количеству утят в группе (ratio between the diseased ducklings to the total number of duckling in the group).

Таблица 3
Устойчивость вакцинированных индеек к заражению вирусом гриппа А подтипа H5N1

Table 3
Resistance of vaccinated turkeys to challenge with subtype H5N1 influenza A virus

Срок наблюдения, сут	Группы в соответствии с прививной дозой, см ³			
	0,25	0,5	1,0	Контроль
1	0/7*	0/9	0/8	0/8
2	0/7	0/9	0/8	2/8
3	0/7	0/9	0/8	6/6
4	1/7	0/9	0/8	–
5	2/6	1/9	0/8	–
6	1/4	2/8	0/8	–
7	1/3	1/6	1/8	–
8	0/2	0/5	0/7	–
9	0/2	1/4	0/7	–
10	0/2	0/4	0/7	–
Протективная защита, %	28,6 (2/7)**	44,4 (4/9)	87,5 (7/8)	0 (0/8)

* отношение числа павших птиц к общему количеству птиц в группе (ratio between the dead birds to the total number of birds in the group);

** отношение числа выживших птиц к общему количеству птиц в группе (ratio between the survived birds to the total number of birds in the group).

Таблица 4
Результаты исследований сывороток крови гусей на наличие поствакцинальных антител к вирусу гриппа птиц H5

Table 4
Results of goose serum tests for post-vaccinal AIV H5 antibodies

Кратность вакцинации	д/в	Титры антител (log ₂) в разные сроки после вакцинации			
		1 мес.	2 мес.	7 мес.	10 мес.
Однократно	н/д	3,7 ± 0,6 (16/33*; 48,5%)	1,9 ± 0,4 (7/30; 23,3%)	н/д	н/д
Двукратно	0,8 ± 0,3	6,3 ± 0,5 (25/30; 83,3%)	н/д	6,5 ± 0,5 (22/29; 75,9%)	6,8 ± 0,3 (27/30; 90,0%)

* сероконверсия выражена отношением числа птицы с титром антител в РТГА выше 5 log₂ к общему количеству исследованных птиц, % (seroconversion is expressed as the ratio between the number of birds demonstrating HI antibody titre above 5 log₂ and total number of tested birds, %); д/в – до вакцинации (before vaccination); н/д – нет данных (no data).

Для определения протективных свойств вакцины в отношении возбудителя ВГП H5 в лабораторных условиях вакцинированных индеек заражали вирусом A/chicken/Stavropol/2077-6/21 H5N1.

Из данных, представленных в таблице 3, видно, что устойчивость вакцинированных индеек к заражению в разных группах отличалась. Так, наибольшей устойчивостью обладали индейки, привитые вакциной в дозе 1,0 см³ (87,5%), а наименьшей – индейки, привитые в дозе 0,25 см³ (28,6%). Непривитые индейки пали через 3 сут после заражения.

Перед заражением определяли гуморальный поствакцинальный иммунный ответ у индеек. Было установлено, что в группе птиц, привитых в дозе 0,25 см³, средний титр антител составил 3,3 ± 0,6 log₂, в группе

привитых в дозе 0,5 см³ – 4,0 ± 0,6 log₂, а в группе привитых в дозе 1,0 см³ – 4,9 ± 0,4 log₂.

Таким образом, однократная вакцинация индеек в дозе 1,0 см³ вызывала формирование наиболее напряженного иммунного ответа к вирусу ГП H5, что выражалось высокой протективной активностью (87,5% поголовья не заболело) и образованием антител в высоких титрах.

Кроме лабораторных исследований проводили производственные испытания вакцины на промышленном поголовье индеек в Ставропольском крае.

Напряженность иммунитета индеек к вирусу ГП H5 оценивали по титрам антител в РТГА через 35 сут после второй вакцинации. Было установлено, что средние титры антител в группе индеек, привитых двукратно в дозе 1,0 см³, составили 5,5 ± 0,2 log₂, а в группе привитых в дозе 0,5 см³ – 3,5 ± 0,3 log₂. Статистически полученные результаты различались с высокой степенью достоверности (99,9%).

На основании результатов лабораторных и производственных испытаний вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» на индейках были установлены оптимальные параметры ее использования, а именно: доза – 1,0 см³, кратность – не менее 2 раз.

Также проводили исследования по изучению иммуногенности вакцины на гусях в производственных условиях в Республике Башкортостан.

Из представленных в таблице 4 данных видно, что после однократной иммунизации вакцина вызывала образование антител к вирусу ГП H5 у 48,5% поголовья гусей через один месяц после вакцинации в титре 3,7 log₂, а через 2 мес. после иммунизации количество птицы с защитными титрами антител насчитывало только 23,3% и средний титр по группе составил 1,9 log₂.

Как показали результаты исследований, минимальный защитный титр антител (≥ 5 log₂) к вирусу ГП H5 после двукратной вакцинации наблюдался у 22–27 из 30 птиц в течение 10 мес., то есть охват поголовья был на уровне 75,9–90,0%. Также в этот период и средние титры антител были на высоком уровне в пределах 6,3–6,8 log₂.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однократная прививка утят вакциной «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» в дозе от 0,5 до 1,5 см³ вызывала образование антител, выявляемых в РТГА, в титрах от 4,3 до 6,1 log₂, что согласуется с данными, полученными D. Middleton [12]. Показано, что утята были устойчивы к заражению вирусом ГП H5N1 через 28 сут после однократного применения вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» в дозах 0,5; 1,0 и 1,5 см³. Также стоит отметить, что исходная концентрация вирусного материала в ротоглоточных экскретах вакцинированных птиц была в 9–26 раз ниже относительно невакцинированных особей.

Таким образом, вакцина обладает высокой антигенной активностью, достаточной для формирования иммунитета утятами при введении в дозах от 0,5 до 1,5 см³. Также было установлено, что прививка суточных утят в дозе 0,25 см³ была недостаточной для защиты птицы.

Невакцинированные утята были менее чувствительны к заражению вирулентным вирусом H5 клады 2.3.4.4b по сравнению с индейками, и у 60% особей наблюдали болезнь, что согласуется с данными A. Kandeil et al., которые сообщали о низкой чувстви-

тельности невакцинированных уток при заражении вирусом H5 клды 2.2.1.2 H5N1 [10]. Этот факт свидетельствует о том, что утки-вирусоносители способны поддерживать резервуар возбудителя.

В лабораторных исследованиях было установлено, что для индеек оптимальной прививной дозой вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак», при которой вакцинированные птицы были защищены от заражения на 87,5% и антитела формировались в наиболее высоких титрах (4,9 \log_2), является 1,0 см^3 .

В производственных условиях также показана эффективность вакцины при двукратном применении в дозе 1,0 см^3 , когда удавалось достигать высоких титров антител (5,5 \log_2) у промышленных индеек. Основываясь на данных, полученных в лабораторных и производственных условиях, было установлено, что доза 1,0 см^3 является оптимальной для применения индейкам, а кратность прививки должна быть не менее 2 раз.

В производственных условиях на гусях испытывали две схемы применения вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак», и было установлено, что в дозе 1,0 см^3 при двукратном применении она обеспечивает иммунитет на протяжении 10 мес. у 75,9–90,0% поголовья птицы.

Полученные данные согласуются с выводами ряда ученых [8, 9, 10, 11] и свидетельствуют, что для крупных и водоплавающих видов домашних птиц рационально применять вакцину «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против ГП H5 в двойной коммерческой дозе и как минимум двукратно с последующим контролем напряженности иммунитета и проведением ревакцинаций по показаниям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alexander D. J. A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary Microbiology*. 2000; 74 (1–2): 3–13. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00160-7)
- Васильцова Н. Н., Панова А. С., Петров В. Н., Даниленко А. В., Святченко С. В., Иванова К. И. и др. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; (2): 6–14. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2024-2-6-14>
- Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В. О текущей панзоотии высокопатогенного гриппа птиц. *Эффективное животноводство*. 2022; (5): 85–86. <https://elibrary.ru/rcsiti>
- EFSA Panel on Animal Health and Animal Welfare (AHAW), European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Nielsen S. S., Alvarez J., Bicoût D. J., Calistri P., et al. Vaccination of poultry against highly pathogenic avian influenza – part 1. Available vaccines and vaccination strategies. *EFSA Journal*. 2023; 21 (10):e08271. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8271>
- Swayne D. E., Sims L., Brown I., Harder T., Stegeman A., Abolnik C., et al. Strategic challenges in the global control of high pathogenicity avian influenza: technical item. *90th General Session WOA: World Assembly (Paris, 21–25 May 2023)*. Paris: WOA; 2023. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/a-90sg-8.pdf>
- FAO. Global consultation on highly pathogenic avian influenza (HPAI): Rome, Italy, 2–4 May 2023. *FAO Animal Production and Health Reports*. No. 20. Rome; 2023. 62 p. <https://doi.org/10.4060/cc7302en>
- Infection with high pathogenicity avian influenza viruses. Chapter 10.4. In: *WOAH. Terrestrial Animal Health Code. Vol. 2*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2023/chapitre_avian_influenza_viruses.pdf
- Steensels M., Van Borm S., Lambrecht B., De Vriese J., Le Gros F.-X., Bublot M., van den Berg T. Efficacy of an inactivated and a fowlpox-vectored vaccine in Muscovy ducks against an Asian H5N1 highly pathogenic avian influenza viral challenge. *Avian Diseases*. 2007; 51 (Suppl. 1): 325–331. <https://doi.org/10.1637/7628-042806R.1>
- Steensels M., Bublot M., Van Borm S., De Vriese J., Lambrecht B., Richard-Mazet A., et al. Prime-boost vaccination with a fowlpox vector and an inactivated avian influenza vaccine is highly immunogenic in Pekin ducks challenged with Asian H5N1 HPAI. *Vaccine*. 2009; 27 (5): 646–654. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.044>

10. Kandeil A., Mostafa A., El-Shesheny R., El-Taweel A. N., Gomaa M., Galal H., et al. Avian influenza H5N1 vaccination efficacy in Egyptian backyard poultry. *Vaccine*. 2017; 35 (45): 6195–6201. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.09.040>

11. Варкентин А. В., Циванюк М. А., Ирза В. Н., Борисов А. В. Изучение поствакцинального иммунитета к гриппу у разных видов домашних птиц. *Ветеринария*. 2009; (6): 25–28. <https://elibrary.ru/kwzdpj>

12. Middleton D., Bingham J., Selleck P., Lowther S., Gleeson L., Lehrbach P., et al. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. *Virology*. 2007; 359 (1): 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.08.046>

13. Beato M. S., Toffan A., De Nardi R., Cristalli A., Terregino C., Cattoli G., Capua I. A conventional, inactivated oil emulsion vaccine suppresses shedding and prevents viral meat colonisation in commercial (Pekin) ducks challenged with HPAI H5N1. *Vaccine*. 2007; 25 (20): 4064–4072. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.02.042>

14. Kim J.-K., Seiler P., Forrest H. L., Khalenkov A. M., Franks J., Kumar M., et al. Pathogenicity and vaccine efficacy of different clades of Asian H5N1 avian influenza A viruses in domestic ducks. *Journal of Virology*. 2008; 82 (22): 11374–11382. <https://doi.org/10.1128/jvi.01176-08>

15. Swayne D. E. Principles for vaccine protection in chickens and domestic waterfowl against avian influenza: emphasis on Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1081: 174–181. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.021>

16. Tian G., Zhang S., Li Y., Bu Z., Liu P., Zhou J., et al. Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. *Virology*. 2005; 341 (1): 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.011>

17. Rudolf M., Pöppel M., Fröhlich A., Mettenleiter T., Beer M., Harder T. Efficacy of a commercial inactivated H5 influenza vaccine against highly pathogenic avian influenza H5N1 in waterfowl evaluated under field conditions. *Revue Scientifique et Technique*. 2009; 28 (1): 275–291. <https://doi.org/10.20506/rst.28.1.1881>

18. Niqueux E., Guionie O., Amelot M., Jestin V. Prime-boost vaccination with recombinant H5-fowlpox and Newcastle disease virus vectors affords lasting protection in SPF Muscovy ducks against highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Vaccine*. 2013; 31 (38): 4121–4128. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.06.074>

19. Kim D.-H., Lee S.-H., Kim J., Lee J., Jeong J.-H., Kim J.-Y., et al. Efficacy of live and inactivated recombinant Newcastle disease virus vaccines expressing clade 2.3.4.4b H5 hemagglutinin against H5N1 highly pathogenic avian influenza in SPF chickens, broilers, and domestic ducks. *Vaccine*. 2024; 42 (18): 3756–3767. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.04.088>

20. Hulse-Post D. J., Sturm-Ramirez K. M., Humberd J., Seiler P., Govorkova E. A., Krauss S., et al. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102 (30): 10682–10687. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504662102>

21. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). Chapter 3.3.4. In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf

REFERENCES

- Alexander D. J. A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary Microbiology*. 2000; 74 (1–2): 3–13. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00160-7)
- Vasil'tsova N. N., Panova A. S., Petrov V. N., Danilenko A. V., Svyatchenko S. V., Ivanova K. I., et al. Review on the epizootiological situation on highly pathogenic avian influenza globally and in Russia in 2023. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2024; (2): 6–14. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2024-2-6-14> (in Russ.)
- Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V. O tekushchei panzootii vysokopatogennogo grippa ptits = Current highly pathogenic avian influenza panzootic. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2022; (5): 85–86. <https://elibrary.ru/rcsiti> (in Russ.)
- EFSA Panel on Animal Health and Animal Welfare (AHAW), European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Nielsen S. S., Alvarez J., Bicoût D. J., Calistri P., et al. Vaccination of poultry against highly pathogenic avian influenza – part 1. Available vaccines and vaccination strategies. *EFSA Journal*. 2023; 21 (10):e08271. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8271>
- Swayne D. E., Sims L., Brown I., Harder T., Stegeman A., Abolnik C., et al. Strategic challenges in the global control of high pathogenicity avian influenza: technical item. *90th General Session WOA: World Assembly (Paris, 21–25 May 2023)*. Paris: WOA; 2023. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/a-90sg-8.pdf>
- FAO. Global consultation on highly pathogenic avian influenza (HPAI): Rome, Italy, 2–4 May 2023. *FAO Animal Production and Health Reports*. No. 20. Rome; 2023. 62 p. <https://doi.org/10.4060/cc7302en>

7. Infection with high pathogenicity avian influenza viruses. Chapter 10.4. In: WOA. *Terrestrial Animal Health Code. Vol. 2.* https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2023/chapitre_avian_influenza_viruses.pdf
8. Steensels M., Van Borm S., Lambrecht B., De Vriese J., Le Gros F.-X., Bublot M., van den Berg T. Efficacy of an inactivated and a fowlpox-vectored vaccine in Muscovy ducks against an Asian H5N1 highly pathogenic avian influenza viral challenge. *Avian Diseases.* 2007; 51 (Suppl. 1): 325–331. <https://doi.org/10.1637/7628-042806R.1>
9. Steensels M., Bublot M., Van Borm S., De Vriese J., Lambrecht B., Richard-Mazet A., et al. Prime-boost vaccination with a fowlpox vector and an inactivated avian influenza vaccine is highly immunogenic in Pekin ducks challenged with Asian H5N1 HPAI. *Vaccine.* 2009; 27 (5): 646–654. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.044>
10. Kandeil A., Mostafa A., El-Shesheny R., El-Taweel A. N., Gomaa M., Galal H., et al. Avian influenza H5N1 vaccination efficacy in Egyptian backyard poultry. *Vaccine.* 2017; 35 (45): 6195–6201. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.09.040>
11. Varkentin A. V., Tsivanyuk M. A., Irza V. N., Borisov A. V. Study of post-vaccinal immunity to influenza in poultry of different species. *Veterinariya.* 2009; (6): 25–28. <https://elibrary.ru/kwzdpj> (in Russ.)
12. Middleton D., Bingham J., Selleck P., Lowther S., Gleeson L., Lehbach P., et al. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. *Virology.* 2007; 359 (1): 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.08.046>
13. Beato M. S., Toffan A., De Nardi R., Cristalli A., Terregino C., Cattoli G., Capua I. A conventional, inactivated oil emulsion vaccine suppresses shedding and prevents viral meat colonisation in commercial (Pekin) ducks challenged with HPAI H5N1. *Vaccine.* 2007; 25 (20): 4064–4072. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.02.042>
14. Kim J.-K., Seiler P., Forrest H. L., Khalekov A. M., Franks J., Kumar M., et al. Pathogenicity and vaccine efficacy of different clades of Asian H5N1 avian influenza A viruses in domestic ducks. *Journal of Virology.* 2008; 82 (22): 11374–11382. <https://doi.org/10.1128/jvi.01176-08>
15. Swayne D. E. Principles for vaccine protection in chickens and domestic waterfowl against avian influenza: emphasis on Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2006; 1081: 174–181. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.021>
16. Tian G., Zhang S., Li Y., Bu Z., Liu P., Zhou J., et al. Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. *Virology.* 2005; 341 (1): 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.011>
17. Rudolf M., Pöppel M., Fröhlich A., Mettenleiter T., Beer M., Harder T. Efficacy of a commercial inactivated H5 influenza vaccine against highly pathogenic avian influenza H5N1 in waterfowl evaluated under field conditions. *Revue Scientifique et Technique.* 2009; 28 (1): 275–291. <https://doi.org/10.20506/rst.28.1.1881>
18. Niqueux E., Guionie O., Amelot M., Jestin V. Prime-boost vaccination with recombinant H5-fowlpox and Newcastle disease virus vectors affords lasting protection in SPF Muscovy ducks against highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Vaccine.* 2013; 31 (38): 4121–4128. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.06.074>
19. Kim D.-H., Lee S.-H., Kim J., Lee J., Jeong J.-H., Kim J.-Y., et al. Efficacy of live and inactivated recombinant Newcastle disease virus vaccines expressing clade 2.3.4.4b H5 hemagglutinin against H5N1 highly pathogenic avian influenza in SPF chickens, broilers, and domestic ducks. *Vaccine.* 2024; 42 (18): 3756–3767. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.04.088>
20. Hulse-Post D. J., Sturm-Ramirez K. M., Humberd J., Seiler P., Govorkova E. A., Krauss S., et al. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2005; 102 (30): 10682–10687. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504662102>
21. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). Chapter 3.3.4. In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_Al.pdf

Поступила в редакцию / Received 15.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 03.06.2024

Принята к публикации / Accepted 08.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Фролов Сергей Владимирович, канд. вет. наук, начальник отдела профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, frolov@arriah.ru

Ирза Виктор Николаевич, д-р вет. наук, доцент, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, irza@arriah.ru

Щербак Лидия Олеговна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5434-6179>, scherbakova@arriah.ru

Кулаков Владимир Юрьевич, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, kulakov@arriah.ru

Natalia 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>, moroz@arriah.ru

Sergey V. Frolov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Department for Avian Disease Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, frolov@arriah.ru

Viktor N. Irza, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, irza@arriah.ru

Lidia O. Scherbakova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5434-6179>, scherbakova@arriah.ru

Vladimir Yu. Kulakov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, kulakov@arriah.ru

Вклад авторов: Мороз Н. В. – инициатор и руководитель исследований; Фролов С. В. – технический исполнитель исследований, оформление статьи; Ирза В. Н. – инициатор исследований и редактор статьи; Щербак Л. О. – технический исполнитель молекулярно-биологических исследований; Кулаков В. Ю. – анализ результатов исследований.

Contribution: Moroz N. V. – initiated and guided the research; Frolov S. V. – conducted research, prepared the manuscript; Irza V. N. – initiated the research and edited the manuscript; Scherbakova L. O. – conducted molecular and biological research; Kulakov V. Yu. – analyzed the research results.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-255-260>
УДК 619:616.98:578:616-036.22(470.67)



Обзор эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных в Республике Дагестан в 2023 году

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

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

Проведено эпизоотологическое обследование животноводческих хозяйств Дагестана, рассмотрены основные инфекционные заболевания, характерные для региона, описаны мероприятия, проводимые для защиты от них. На данный момент ветеринарной службой ведется систематическая работа по предотвращению возникновения и распространения в республике таких инфекционных заболеваний, как бруцеллез, лейкоз, бешенство, пастереллез, эмкар, бродзот и энтеротоксемия. Среди вышеперечисленных заболеваний, зарегистрированных в 2023 г., подавляющее большинство эпизоотических очагов и выявленных в них заболевших животных приходится на бруцеллез и лейкоз. Так, в нозологическом профиле карантинных инфекционных заболеваний наибольший удельный вес по числу выявленных неблагополучных пунктов за исследуемый период занимают: бруцеллез (52,63%), лейкоз крупного рогатого скота (30,70%), бешенство (8,77%), энтеротоксемия (3,51%), пастереллез (1,75%), бродзот овец (1,75%) и эмфизематозный карбункул (0,88%). Всего в 114 неблагополучных пунктах карантинными инфекциями заболело 1812 и пало 35 животных. Чаще всего за истекший год карантинные инфекции регистрировали среди крупного (в 69,59% случаев) и мелкого (29,36%) рогатого скота, в 1,05% случаев болезни поражали лошадей, кошек, диких животных и птиц. Для сохранения эпизоотического благополучия и устойчивого роста производства животноводческой продукции Комитетом по ветеринарии Республики Дагестан ежегодно проводятся профилактические мероприятия по предупреждению возникновения и распространения 75 заболеваний животных и птиц, из которых 10 являются особо опасными. Общий объем противоэпизоотических мероприятий в истекшем году составил 93,8 млн головообработок и 6,2 млн исследований в диагностических учреждениях. Планы по профилактике особо опасных и других заразных заболеваний животных и птиц выполнены в полном объеме.

Ключевые слова: мониторинг, эпизоотическое состояние, Республика Дагестан, инфекционные заболевания, карантинные заболевания, неблагополучный пункт, очаг заболевания

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания «Внедрить эффективную комплексную систему борьбы с наиболее распространенными социально значимыми болезнями сельскохозяйственных животных, туберкулезом, лейкозом и бруцеллезом, в условиях Прикаспийского региона, на основе усовершенствованных способов диагностики» (FNMN-2024-0016).

Для цитирования: Микаилов М. М., Будулов Н. Р., Гунашев Ш. А., Яникова Э. А. Обзор эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных в Республике Дагестан в 2023 году. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 255–260. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-255-260>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Overview of animal infectious disease situation in the Republic of Dagestan in 2023

Mikhail M. Mikailov, Nurdin R. Budulov, Shakhruddin A. Gunashev, Elmira A. Yanikova

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia

ABSTRACT

An epizootiological survey of livestock farms of Dagestan was conducted, the main infectious diseases common in the region were considered, and measures taken to protect against them were described. At present, the Veterinary Service is undertaking systematic efforts to prevent the occurrence and spread of infectious diseases such as brucellosis, leukosis, rabies, pasteurellosis, blackleg, bradsot and enterotoxemia in the Republic. Among the above-mentioned diseases reported in 2023, brucellosis and leukosis are responsible for the vast majority of outbreaks and diseased animals detected in them. In particular, the following diseases have the largest share in the nosological profile of quarantinable infectious diseases based on the number of detected infected localities during the period under study: brucellosis (52.63%), bovine leukosis (30.70%), rabies (8.77%), enterotoxemia (3.51%), pasteurellosis (1.75%), bradsot (1.75%) and blackleg (0.88%). In total, 1,812 animals were affected with quarantinable infections and 35 animals died in 114 infected localities. Most often over the past year, quarantinable infections were reported in cattle (69.59% of cases) and small ruminants (29.36%); in 1.05% of cases, the diseases affected horses, cats, wild animals and birds. In order to maintain animal disease freedom and sustainable growth of livestock production, the Veterinary Committee of the Republic of Dagestan annually implements

measures to prevent the occurrence and spread of 75 diseases of animals and birds, including 10 highly dangerous ones. Anti-epizootic measures taken in the past year included a total of 93.8 million vaccinations and 6.2 million tests performed in the diagnostic institutions. Plans for the prevention of highly dangerous and other contagious diseases of animals and birds were fully implemented.

Keywords: monitoring, animal disease situation, Republic of Dagestan, infectious diseases, quarantinable diseases, infected locality, disease outbreak

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of the state assignment "To implement an effective comprehensive system for control of the most common socially significant livestock diseases, tuberculosis, leukosis and brucellosis, in the Caspian Sea region, based on improved diagnostic methods" (FNMN-2024-0016).

For citation: Mikailov M. M., Budulov N. R., Gunashev Sh. A., Yanikova E. A. Overview of animal infectious disease situation in the Republic of Dagestan in 2023. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 255–260. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-255-260>

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

For correspondence: Elmira A. Yanikova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher 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, vetmedservis@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Для разработки эффективных противоэпизоотических мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями большую роль играет изучение эпизоотического процесса. Комплекс мер, направленных на ликвидацию очагов инфекции и предупреждение заноса возбудителей в благополучные хозяйства, должен учитывать краевые и региональные особенности [1, 2].

Сохранение устойчивого благополучия животноводства страны в отношении карантинных инфекционных болезней является важнейшей задачей ветеринарной науки и практики, имеет решающее значение в защите здоровья и жизни людей и животных, в обеспечении населения экологически безопасными продуктами питания, а промышленности – качественным сырьем [3, 4, 5].

В связи с этим противоэпизоотические мероприятия следует разрабатывать с учетом знаний эпизоотической обстановки, полученных на основе анализа многолетних данных развития эпизоотического процесса по каждой инфекционной болезни в конкретной местности. Эффективное решение этой проблемы требует соответствующего информационного обеспечения, организации и реализации на практике системы эпизоотологического мониторинга [6, 7, 8, 9, 10, 11].

Эпизоотическое благополучие той или иной популяции животных достигается за счет осуществления комплекса специальных, общих и организационных мероприятий, направленных на эффективный контроль эпизоотического процесса, главное условие которого – стремление достигать во всех случаях на территориальном и популяционном уровнях биологического равновесия в любых паразитарных системах [12, 13].

Республика Дагестан – один из крупнейших регионов на Северном Кавказе, его общая площадь составляет 50,3 тыс. км², занимает северо-восточные склоны Главного Кавказского хребта и юго-западную часть Прикаспийской низменности. Территория республики делится на четыре основные физико-географические зоны: равнинную, предгорную, горную и высокогорную, – в соответствии с которыми постановлением правительства Республики Дагестан утверждена зо-

нальная классификация муниципальных районов и городских округов².

В сельском хозяйстве Республики Дагестан животноводство занимает ведущее место и представлено следующими отраслями, имеющими большое значение: скотоводством, овцеводством, свиноводством, коневодством, птицеводством, пчеловодством, прудовым рыбоводством и другими. Для их успешного развития важнейшими условиями являются профилактика и ликвидация карантинных инфекционных болезней, которые наносят значительный экономический ущерб, складывающийся из падежа, снижения продуктивности и качества продукции, а также затрат на проведение основных организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных и противоэпизоотических мероприятий. В связи с вышеизложенным изучение эпизоотической ситуации по инфекционным заболеваниям животных и птиц в условиях Республики Дагестан представляется актуальным и служит основой совершенствования региональных программ по ликвидации заразных болезней животных.

Цель настоящего исследования – проведение мониторинга и оценка эпизоотической ситуации по карантинным инфекционным заболеваниям животных и птиц на территории Республики Дагестан за 2023 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение и анализ статистической отчетности проводились на базе лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» и в административных районах.

Эпизоотическую ситуацию по карантинным инфекционным болезням животных изучали путем анализа данных ветеринарной отчетности Комитета по ветеринарии Республики Дагестан, республиканской, межрайонных и районных ветеринарных лабораторий, городских и районных ветеринарных управлений.

² Об утверждении зональной классификации муниципальных районов и городских округов Республики Дагестан: постановление правительства Республики Дагестан от 11 марта 2019 г. № 48. <https://docs.cntd.ru/document/553164815>

Таблица 1

Сведения о заразных болезнях животных и птиц, зарегистрированных на территории Республики Дагестан в 2023 г.

Table 1

Data on animal and bird contagious diseases reported in the Republic of Dagestan in 2023

Болезнь	Вид животных	За отчетный период				Осталось на конец отчетного периода	
		выявлено неблагополучных пунктов, ед.	очаги			всего неблагополучных пунктов, ед.	всего очагов, ед.
			выявлено, ед.	заболело, гол.	пало, гол.		
Бруцеллез	крупный рогатый скот	48	117	1236	–	71	252
	мелкий рогатый скот	12	13	500	–	9	10
	лошади	–	–	1	–	–	–
Лейкоз	крупный рогатый скот	35	110	18	–	96	214
Бешенство	крупный рогатый скот	4	4	4	4	–	–
	кошки	3	3	3	3	–	–
	дикие животные	3	3	3	3	–	–
Пастереллез	крупный рогатый скот	–	2	2	2	–	1
	мелкий рогатый скот	2	4	5	5	–	–
Эмкар	крупный рогатый скот	1	1	1	1	1	1
Брадзот	мелкий рогатый скот	2	2	4	4	–	–
Энтеротоксемия	мелкий рогатый скот	4	4	7	7	–	–
Дизентерия	мелкий рогатый скот	–	–	1	1	–	–
Инфекционный эпидидимит	мелкий рогатый скот	–	–	15	–	6	6
Случная болезнь	лошади	–	5	7	–	–	5
Грипп птиц	птицы	–	1	5	5	–	–
Всего	–	114	269	1812	35	183	489

Эпизоотологическое обследование животноводческих предприятий, расположенных в разных природно-климатических зонах, и отдельных населенных пунктов и хозяйств осуществляли согласно «Методическим указаниям по эпизоотологическому исследованию»³ и «Рекомендациям по методике эпизоотологического исследования»⁴.

Статистическую обработку полученных данных и их анализ проводили общепринятыми методами [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Приоритетными направлениями работы государственной ветеринарной службы являются обеспечение эпизоотического благополучия региона, выпуск безопасной в ветеринарном отношении продукции животноводства и защита населения от болезней, общих для человека и животных.

Эпизоотическая ситуация по инфекционным болезням животных и птиц в Республике Дагестан за исследуемый период представлена в таблице 1.

Установлено, что всего на территории региона в 2023 г. было зарегистрировано 114 неблагополучных пунктов карантинных инфекционных заболеваний животных, из них 60 – по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота, 35 – по лейкозу крупного рогатого скота, 10 – по бешенству домашних и диких животных, 4 – по энтеротоксемии овец, 2 – по пастереллезу, 2 – по брадзоту и 1 – по эмфизематозному карбункулу (эмкару).

В нозологическом профиле карантинных инфекционных заболеваний (рис.) наибольший удельный вес по числу выявленных неблагополучных пунктов за исследуемый период занимают: бруцеллез (52,63%), лейкоз крупного рогатого скота (30,70%), бешенство (8,77%), инфекционная энтеротоксемия (3,51%), пастереллез (1,75%), брадзот овец (1,75%) и эмфизематозный карбункул (0,88%). Всего в 114 неблагополучных по карантинным инфекциям пунктах заболело 1812 животных.

Чаще всего за истекший год карантинные инфекции регистрировали среди крупного (в 69,59% случаев) и мелкого (29,36%) рогатого скота, в 1,05% случаев болезни поражали лошадей, кошек, диких животных и птиц (табл. 2).

В Республике Дагестан за период наблюдения от инфекционных болезней пало 35 животных, из них от бешенства погибло 28,57% домашних и диких животных; пастереллеза – 20,0% крупного и мелкого рогатого скота; энтеротоксемии – 20,0% овец; брадзота – 11,43% овец; гриппа – 14,29% птиц; эмфизематозного карбункула – 2,86% крупного рогатого скота и дизентерии – 2,86% овец.

Дагестан многие годы является регионом, стационарно неблагополучным по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота [15]. В истекшем году зарегистрировано 48 неблагополучных по бруцеллезу крупного и 12 мелкого рогатого скота пунктов, выявлено 117 и 13 эпизоотических очагов, где заболело соответственно 68,21 и 27,59% особей от общего числа животных с карантинными болезнями. С целью улучшения эпизоотической обстановки ветеринарная служба республики проводит комплекс ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных противобруцеллезных оздоровительных мероприятий.

³ Бакулов И. А., Юрков Г. Г., Песковатсков А. П., Ведерников В. А. Методические указания по эпизоотологическому исследованию. М.: Колос; 1982. 20 с.

⁴ Бакулов И. А. Рекомендации по методике эпизоотологического исследования. Покров; 1975. 75 с.

В 2023 г. было исследовано 1210,492 тыс. гол. крупного рогатого скота, 494,238 тыс. гол. мелкого рогатого скота и 22,091 тыс. лошадей, из них реагировали положительно на бруцеллез 1236, 500 и 1 гол. соответственно. Вакцинации против бруцеллеза подверглись 830,735 тыс. гол. крупного и 3284,252 тыс. гол. мелкого рогатого скота. Оздоровление неблагополучных хозяйств, предприятий и ферм осуществляется в рамках общего комплекса оздоровительных мероприятий с выбраковкой реагирующих при проведении диагностических исследований животных и одновременным применением противобруцеллезных вакцин для обеспечения иммунной защиты.

Одной из наиболее распространенных инфекционных болезней, наносящих значительный экономический ущерб, остается вирусный лейкоз, регистрируемый в большинстве муниципальных образований Республики Дагестан на протяжении многих лет среди коров дойного стада и молодняка [16, 17, 18]. Для контроля заболевания используется такой серологический метод, как реакция иммунодиффузии в геле агара (РИД). В 2023 г. ветеринарной службой региона с помощью РИД исследовано 1104,244 тыс. гол. крупного рогатого скота, при этом вирусоносительство установлено у 2778 животных, что составляет 0,25% от исследованного поголовья. В 25 сельских районах, городских образованиях и зонах отгонного животноводства выявлена умеренная степень инфицированности животных вирусом лейкоза – от 0,01 до 9,2%. При гематологическом исследовании обнаружено 18 больных лейкозом животных. За исследуемый период выявлено 35 новых неблагополучных по лейкозу пунктов, отмечена территориальная приуроченность лейкоза крупного рогатого скота – это хозяйства Бабаюртовского, Кизлярского, Кизилюртовского, Кумторкалинского, Тарумовского районов и г. Махачкалы. Реализация мероприятий, предусмотренных подпрограммой «Профилактика и ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Дагестан» государственной программы Республики Дагестан «Развитие сельского хозяйства и регулирование рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия»⁵, позволила оздоровить многие хозяйства от этой инфекции.

Дагестан остается неблагополучным регионом по бешенству [19, 20]. Эпизоотическая ситуация характеризуется определенной напряженностью, за анализируемый период болезнь зарегистрирована в 10 неблагополучных пунктах: в 4 (Гунибский, Тарумовский, Хасавюртовский районы и г. Махачкала) – среди крупного рогатого скота, в 3 – среди кошек и в 3 – среди диких животных. С целью контроля заболевания в регионе проводятся мониторинговые исследования и вакцинация восприимчивого поголовья. В 2023 г. на бешенство исследовали диких зверей (4 гол.), крупный рогатый скот (5 гол.), кошек (9 гол.), собак (3 гол.); было провакцинировано 7080 кошек, 38 570 собак, 118,311 тыс. гол. крупного рогатого скота, 725 лошадей и 21,210 тыс. гол. мелкого рогатого скота.

За истекший год в республике выявлено 2 очага браздзота, где заболело и пало 4 овцы. Браздзот – остро, часто молниеносно протекающая токсикоинфекция овец и коз, характеризующаяся внезапной гибелью животных. В отдельных случаях наблюдаются сильные судороги, развиваются нервные явления, животные погибают в течение нескольких часов. Характерным признаком, позволяющим подозревать браздзот, является геморрагическое воспаление сычуга, обнаруживаемое при вскрытии трупа. С целью профилактики браздзота в хозяйствах Дагестана было иммунизировано 872,144 тыс. овец.

В феврале 2023 г. на территории естественного водоема, расположенного в 1 км северо-восточнее села Солнечное Хасавюртовского района, был выявлен 1 очаг высокопатогенного гриппа птиц, где заболело и погибло 5 лебедей. Диагноз был лабораторно подтвержден и установлены ограничительные мероприятия (карантин). В дальнейшем новых случаев падежа синантропной, дикой и домашней птицы не зафиксировано. С целью контроля эпизоотической ситуации было исследовано 5 диких и 8410 домашних птиц, вакцинировано против высокопатогенного гриппа 36 608 гол. домашней птицы.

⁵ Об утверждении государственной программы Республики Дагестан «Развитие сельского хозяйства и регулирование рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия»: постановление Правительства Республики Дагестан от 13 декабря 2013 г. № 673. <https://docs.cntd.ru/document/422452925>

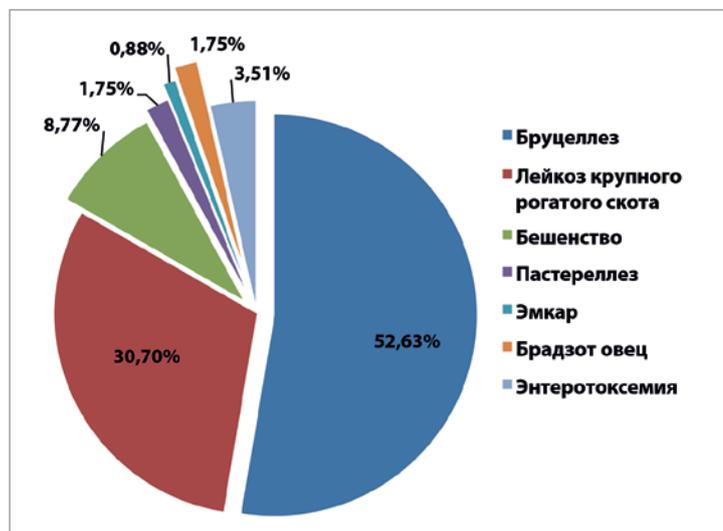


Рис. Нозологическая структура карантинных инфекционных болезней в Республике Дагестан в 2023 г.

Fig. Nosological profile of quarantinable infectious diseases in the Republic of Dagestan in 2023

Таблица 2

Заблеваемость животных и количество неблагополучных по карантинным инфекциям пунктов в Республике Дагестан в 2023 г.

Table 2

Quarantinable infection occurrence in animals and number of infected localities in the Republic of Dagestan in 2023

Вид животных	Количество неблагополучных пунктов		Количество заболевших	
	абс.	%	абс.	%
Крупный рогатый скот	88	77,19	1261	69,59
Мелкий рогатый скот	20	17,54	532	29,36
Лошади	–	–	8	0,44
Кошки	3	2,63	3	0,17
Дикие животные	3	2,63	3	0,17
Птицы	–	–	5	0,28
Всего	114		1812	

По остальным карантинным инфекционным заболеваниям, таким как пастереллез, эмкар, инфекционная энтеротоксемия овец, дизентерия, инфекционный эпидидимит баранов, случная болезнь лошадей, зафиксированы единичные случаи, и благодаря принятым мерам удалось не допустить их широкого распространения, предотвратить экономический ущерб.

Для сохранения эпизоотического благополучия и устойчивого роста производства животноводческой продукции Комитетом по ветеринарии Республики Дагестан ежегодно проводятся профилактические мероприятия по предупреждению возникновения и распространения 75 заболеваний животных и птиц, из которых 10 являются особо опасными.

Общий объем противозооотических мероприятий в истекшем году составил 93,8 млн головообработок и 6,2 млн исследований в диагностических учреждениях. Планы по профилактике особо опасных и других заразных заболеваний животных и птиц выполнены в полном объеме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведенных исследований свидетельствует, что перечисленные в статье инфекционные заболевания животных являются основными причинами, сдерживающими развитие животноводческой отрасли в Республике Дагестан. Добиться полной ликвидации этих инфекций пока не представляется возможным, но контролировать изменения эпизоотической обстановки, снижать ее напряженность возможно, используя в этих целях реальные данные эпизоотологического мониторинга. Опасность возникновения инфекционных заболеваний животных предопределяет необходимость введения систематического мониторинга и тщательного анализа эпизоотической ситуации по ним. На территории Республики Дагестан в 2023 г. зарегистрировано 114 неблагополучных пунктов карантинных заболеваний животных, в том числе по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота – 60, лейкозу крупного рогатого скота – 35, бешенству домашних и диких животных – 10, инфекционной энтеротоксемии овец – 4, пастереллезу – 2, бродзоту – 2, эмфизематозному карбункулу – 1. В то же время на конец исследуемого периода осталось 183 неблагополучных пункта, из них по лейкозу крупного рогатого скота – 96, бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота – 80, инфекционному эпидидимиту баранов – 6, эмфизематозному карбункулу – 1. Представленные данные о распространении карантинных заболеваний животных вносят определенное дополнение в научное и практическое изучение эпизоотологии основных инфекционных болезней, регистрируемых на территории Республики Дагестан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гулюкин М. И., Гулюкин А. М., Донченко А. С., Донченко Н. А., Барсуков Ю. И., Логинов С. И. и др. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Сибирском федеральном округе. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2021; 51 (4): 67–75. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-4-8>
2. Караулов А. К., Варкентин А. В., Петрова О. Н., Таценко Е. Е., Щербинин С. В., Семенова Е. А. и др. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации, 2022 год. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/2022/2021_31_12_godovoy_otchet.pdf
3. Гулюкин М. И., Степанова Т. В., Иванова Л. А., Козырева Н. Г., Шабейкин А. А., Коломыцев С. А. и др. Распространение и меры борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Центральном федеральном округе. *Ветеринария и кормление*. 2019; (6): 8–14. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-6-1>

4. Густокашин К. А. Использование информационных технологий для создания системы эпизоотологического мониторинга. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2003; (1): 197–199. <https://elibrary.ru/peofnx>
5. Иванов А. В., Чернов А. Н., Иванов А. А. Актуальные проблемы биологической безопасности. *Ветеринарна медицина*. 2010; 94: 28–30. <https://elibrary.ru/ykesuz>
6. Алёхин Р. М., Бакулов И. А., Ведерников В. А., Котов В. Т., Макаров В. В., Орлов Ф. М. и др. Руководство по общей эпизоотологии. М.: Колос; 1979; 261–277.
7. Гуславский И. И., Апалькин В. А. Общая эпизоотология с ветеринарной санитарией: лекционный курс. Барнаул: Алтайский ГАУ; 2003. 160 с. <https://www.elibrary.ru/ysfzke>
8. Будулов Н. Р., Шапиев М. Ш., Оздемиров Р. А. Нозологический профиль инфекционной патологии крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария*. 2018; (12): 17–23. <https://elibrary.ru/yoesqcx>
9. Пономаренко Д. Г., Русанова Д. В., Хачатурова А. А., Скударева О. Н., Логвиненко О. В., Ракитина Е. Л. и др. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (2): 48–56. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-2-48-56>
10. Караулов А. К., Петрова О. Н., Таценко Е. Е. Эпизоотическая ситуация по особо опасным болезням животных в Российской Федерации в 2014–2016 гг. *Молекулярная диагностика 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Москва, 18–20 апреля 2017 г.)*. Том 2. Тамбов: ООО «Юлис»; 2017; 410–411. <https://elibrary.ru/zohufj>
11. Мищенко А. В., Караулов А. К., Петрова О. Н. Эпизоотическая ситуация по отдельным особо опасным болезням крупного и мелкого рогатого скота в Российской Федерации и мире в 2015–2016 гг. *Актуальные ветеринарные аспекты молочного и мясного животноводства: материалы VII Международного ветеринарного конгресса (Уфа, 19–20 апреля 2017 г.)*. Уфа; 2017. <http://zhukov-vet.ru/doc/cow/Мищенко.pdf>
12. Джупина С. И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотического процесса. Новосибирск: Наука. Сибирское отделение; 1991. 138 с.
13. Аракелян П. К., Трегубов А. Н., Руденко А. В., Ильин Е. Н., Христенко Н. В., Вергун А. А. и др. Противозидемическая значимость контроля эпизоотического процесса бруцеллеза. *Проблемы особо опасных инфекций на Северном Кавказе: материалы региональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию со дня основания ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (Ставрополь, 17 мая 2022 г.)*. Ставрополь: ООО «Экспо-Медиа»; 2022; 69–70. <https://elibrary.ru/owvsvdn>
14. Конопаткин А. А., Бакулов И. А., Нуйкин Я. В., Артемов Б. Т., Бессарабов Б. Ф., Кадымов Р. А. и др. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. М.: Колос; 1984. 544 с.
15. Микаилов М. М., Будулов Н. Р., Гунашев Ш. А., Алиев А. Ю., Яникова Э. А., Халиков А. А., Черных О. Ю. Иммунобиологические показатели коров при сочетанном течении лейкоза и бруцеллеза. *Ветеринария*. 2023; (12): 17–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.12.17-21>
16. Будулов Н. Р., Алиев А. Ю. Распространение и меры борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария*. 2021; (6): 15–20. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.6.15-20>
17. Мустафаев А. Р. Различные факторы, влияющие на распространение лейкоза крупного рогатого скота в условиях Республики Дагестан. *Горное сельское хозяйство*. 2020; (2): 173–177. <https://doi.org/10.25691/GSH.2020.2.029>
18. Мустафаев А. Р. Сравнительный анализ распространения лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринарный врач*. 2019; (2): 25–30. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2019-2-25-30>
19. Гунашев Ш., Джамбулатов З., Мусиев Д., Абдурагимов Р., Азаев Г., Майорова Т., Микаилов М. Инфекционные болезни животных в Республике Дагестан. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2021; (12): 22–26. <https://elibrary.ru/optrht>
20. Будулов Н. Р. Современная эпизоотическая обстановка по инфекционным болезням крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2020; (2): 16–21. <https://doi.org/10.24411/2074-5036-2020-10014>

REFERENCES

1. Gulyukin M. I., Gulyukin A. M., Donchenko A. S., Donchenko N. A., Barsukov Yu. I., Loginov S. I., et al. Analysis of the epizootic situation of cattle leukemia in the Siberian Federal District. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2021; 51 (4): 67–75. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-4-8> (in Russ.)
2. Karaulov A. K., Varkentin A. V., Petrova O. N., Tatsenko E. E., Scherbinkin S. V., Semenova E. A., et al. Epizootic situation in the Russian Federation, 2022. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2022. https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/2022/2021_31_12_godovoy_otchet.pdf (in Russ.)
3. Gulyukin M. I., Stepanova T. V., Ivanova L. A., Kozyreva N. G., Shabeykin A. A., Kolomytsev S. A., et al. Distribution and control measures against bovine leukemia in the Central Federal District. *Veterinaria i kormlenie*. 2019; (6): 8–14. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-6-1> (in Russ.)

4. Gustokashin K. A. Ispol'zovanie informatsionnykh tekhnologii dlya sozdaniya sistemy epizootologicheskogo monitoringa = The use of information technology to establish an epizootological monitoring system. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2003; (1): 197–199. <https://elibrary.ru/peofnx> (in Russ.)
5. Ivanov A. V., Chernov A. N., Ivanov A. A. Aktual'nye problemy biologicheskoi bezopasnosti = Topical issues of biological safety. *Veterinary Medicine (Kharkiv)*. 2010; 94: 28–30. <https://elibrary.ru/ykeucz> (in Russ.)
6. Alekhin R. M., Bakulov I. A., Vedernikov V. A., Kotov V. T., Makarov V. V., Orlov F. M., et al. Guidance on general epizootiology. Moscow: Kolos; 1979; 261–277. (in Russ.)
7. Guslavskiy I. I., Apalkin V. A. General epizootiology and veterinary hygiene: a lecture course. Barnaul: Altai State Agricultural University; 2003; 160 p. <https://www.elibrary.ru/yfzke> (in Russ.)
8. Budulov N. R., Shapiev M. Sh., Ozdemirov R. A. Nosological profile of infectious pathology of cattle in Dagestan Republic. *Veterinariya*. 2018; (12): 17–23. <https://elibrary.ru/yoeqcx> (in Russ.)
9. Ponomarenko D. G., Rusanova D. V., Khachaturova A. A., Skudareva O. N., Logvinenko O. V., Rakitina E. L., et al. Analysis of the epidemic and epizootic situation on brucellosis around the world in 2019 and the forecast for the Russian Federation for 2020. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (2): 48–56. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-2-48-56> (in Russ.)
10. Karaulov A. K., Petrova O. N., Tatsenko E. E. Epizooticheskaya situatsiya po osobo opasnym bolezniam zhivotnykh v Rossiiskoi Federatsii v 2014–2016 gg. = Epizootic situation for highly dangerous animal diseases in the Russian Federation in 2014–2016. *Molekulyarnaya diagnostika 2017: sbornik trudov IX Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Moskva, 18–20 aprelya 2017 g.)*. Tom 2 = *Molecular diagnosis 2017: proceedings of the IX All-Russia Research-to-Practice Conference with International Participation (Moscow, 18–20 April 2017)*. Vol. 2. Tambov: LLC "Yulis"; 2017; 410–411. <https://elibrary.ru/zohyjf> (in Russ.)
11. Mischenko A. V., Karaulov A. K., Petrova O. N. Epizooticheskaya situatsiya po otdel'nym osobo opasnym bolezniam krupnogo i melkogo rogatogo skota v Rossiiskoi Federatsii i mire v 2015–2016 gg. = Epizootic situation for some highly dangerous diseases of cattle and small ruminants in the Russian Federation and in the world in 2015–2016. *Aktual'nye veterinarnye aspekty molochnogo i myasnogo zhivotnovodstva: materialy VII Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa (Ufa, 19–20 aprelya 2017 g.)* = *Major veterinary aspects of dairy and meat farming: proceedings of the VII International Veterinary Congress (Ufa, 19–20 April 2017)*. Ufa; 2017. <http://zhukov-vet.ru/doc/cow/Мищенко.pdf> (in Russ.)
12. Dzhupina S. I. Epizootological study methods and epizootic process theory. Novosibirsk: Nauka. Sibirskoe otdelenie; 1991. 138 p. (in Russ.)
13. Arakelyan P. K., Tregubov A. N., Rudenko A. V., Ilyin E. N., Khristenko N. V., Vergun A. A., et al. Protivoepidemicheskaya znachimost' kontrolya epizooticheskogo protsessa brutselleza = Anti-epidemic significance of brucellosis epizootic process control. *Problemy osobo opasnykh infektsii na Severnom Kavkaze: materialy regional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 70-letiyu so dnya osnovaniya FKUZ Stavropol'skii protivochumnyy institut Rospotrebnadzora (Stavropol', 17 maya 2022 g.)* = *Problems of highly dangerous infections in the North Caucasus: proceedings of the regional research-to-practice conference with international participation dedicated to the 70th anniversary of the Stavropol Plague Control Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor) (Stavropol', 17 May 2022)*. Stavropol: Expo-Media LLC; 2022; 69–70. <https://www.elibrary.ru/owvsdn> (in Russ.)
14. Konopatkin A. A., Bakulov I. A., Nuikin Ya. V., Artemov B. T., Bessarabov B. F., Kadymov R. A., et al. Epizootology and infectious livestock diseases: study guide. Moscow: Kolos; 1984. 544 p. (in Russ.)
15. Mikailov M. M., Budulov N. R., Gunashev Sh. A., Aliev A. Yu., Yanikova E. A., Halikov A. A., Chernykh O. Yu. Indicators of cows spontaneously infected with leukemia virus in the combined course of leukemia-brucellosis infection. *Veterinariya*. 2023; (12): 17–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.12.17-21> (in Russ.)
16. Budulov N. R., Aliev A. Yu. Distribution and control measures with cattle leukemia in Dagestan Republic. *Veterinariya*. 2021; (6): 15–20. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.6.15-20> (in Russ.)
17. Mustafayev A. R. Various factors affecting the spread of bovine leukemia in the Republic of Dagestan. *Mining agriculture*. 2020; (2): 173–177. <https://doi.org/10.25691/GSH.2020.2.029> (in Russ.)
18. Mustafayev A. R. Comparative analysis of the bovine leukemia spread in the Republic of Dagestan. *Veterinarian*. 2019; (2): 25–30. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2019-2-25-30> (in Russ.)
19. Gunashev Sh., Dzhambulatov Z., Musiev D., Abduragimova R., Azaev G., Mayorova T., Mikailov M. Infectious diseases of animals in the Republic of Dagestan. *Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. 2021; (12): 22–26. <https://elibrary.ru/optrht> (in Russ.)
20. Budulov N. R. Modern epizootic situation on infectious diseases of cattle in Dagestan Republic. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2020; (2): 16–21. <https://doi.org/10.24411/2074-5036-2020-10014> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 03.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 13.05.2024

Принята к публикации / Accepted 25.06.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Микайлов Микаил Муслимович, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9620-431X>, mikail.mikailov1981@mail.ru

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

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

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

Mikail M. Mikailov, 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/0000-0002-9620-431X>, mikail.mikailov1981@mail.ru

Nurdin R. Budulov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4974-7917>, budulov1951@mail.ru

Shakhrudin A. Gunashev, 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/0000-0003-4804-2755>, sgunashev@mail.ru

Elmira A. Yanikova, 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/0000-0002-5561-2499>, vetmedservis@mail.ru

Вклад авторов: Авторы внесли равный вклад в проведение исследования: сбор и анализ материала; определение целей и задач, методов исследования; формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи.

Contribution: The authors have made equal contribution to the study: data collection and analysis; determination of goals and objectives, methods of the study; formulation and scientific justification of conclusions, documentation of key outputs from the study in the paper.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>
УДК 619:618.19-002:636.2:637.12.04/.07:615.015.8

Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока

М. Н. Исакова, Я. Ю. Лысова

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия

РЕЗЮМЕ

В связи с растущей угрозой развития антибиотикорезистентности поиск и разработка новых средств для лечения инфекционных заболеваний молочной железы высокопродуктивных коров является актуальной задачей. В статье представлены данные по изучению состава микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при скрытой форме мастита. Из 70 проб секрета молочной железы было выделено 144 изолята микроорганизмов, наибольшее количество приходилось на *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus dysgalactiae* (22,2 и 16,0% соответственно). Исследованиями установлено, что у максимального количества изолятов *Staphylococcus aureus* (53,1%) наблюдали устойчивость к цефалоспорином I поколения. Выделенные штаммы *Streptococcus dysgalactiae* в 52,6% случаев проявили устойчивость к препаратам группы тетрациклинов; 33,3% изолятов *Staphylococcus haemolyticus* были резистентны к препаратам группы макролидов. Устойчивостью к препаратам групп пенициллинов обладали 42,1; 35,3 и 62,5% изолятов *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* и бактерий группы кишечной палочки соответственно. В 38,5% случаев установлена резистентность к препаратам группы тетрациклинов у изолятов *Staphylococcus epidermidis*. Изоляты *Corynebacterium pseudotuberculosis* проявили устойчивость к антимикробным препаратам групп пенициллинов и тетрациклинов в равной степени (20,0%). Полученные данные показали наличие полирезистентных штаммов бактерий группы кишечной палочки, *Streptococcus dysgalactiae*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*. Экспериментальные исследования по изучению влияния разработанной фармацевтической композиции, содержащей бактериоцин низин, на состав микробиоты молока при лечении коров с субклиническим маститом выполнены на 35 высокопродуктивных коровах. Проведенное на 14-й день с начала курса лечения микробиологическое исследование секрета молочной железы коров показало, что число проб с отсутствием микрофлоры увеличилось до 88,6%, при этом количество колониеобразующих единиц, равное 10^3 КОЕ/мл, установлено у 1,4% изолятов *Staphylococcus aureus*. Выделенные в 1,4 (10^1 КОЕ/мл) и 2,7% (10^2 КОЕ/мл) случаев бактерии группы кишечной палочки и *Staphylococcus aureus* соответственно не являлись этиологически значимыми в диагностическом титре.

Ключевые слова: коровы, субклинический мастит, антибиотикорезистентность, антимикробные препараты, схема лечения, бактериоцин низин, микробиота молока, колониеобразующие единицы

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-76-00009, <https://rscf.ru/project/22-76-00009>).

Для цитирования: Исакова М. Н., Лысова Я. Ю. Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota

Mariya N. Isakova, Yana Yu. Lysova

Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia

ABSTRACT

Due to the growing threat of antimicrobial resistance, the search and development of new drugs to treat infectious mammary gland diseases of high yielding cows is an urgent task. The paper presents data on the microbiota composition of milk from high yielding cows suffering from subclinical mastitis; 144 microbial isolates were recovered from 70 milk samples; with the highest number of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus dysgalactiae* detected (22.2 and 16.0%, respectively). The study showed that a significant number of *Staphylococcus aureus* isolates (53.1%) were resistant to I generation cephalosporins; 52.6% of the isolated *Streptococcus dysgalactiae* strains showed resistance to tetracyclines; 33.3% of *Staphylococcus haemolyticus* isolates were resistant to macrolides. 42.1; 35.3 and 62.5% of *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* and coliform bacteria isolates, respectively, were resistant to penicillins. 38.5% of *Staphylococcus epidermidis* isolates

© Исакова М. Н., Лысова Я. Ю., 2024

© ФГБНУ «ВНИИЗЖ», 2024

were found to be resistant to tetracyclines. *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates showed equal resistance to penicillin and tetracycline antimicrobials (20.0%). The research revealed presence of multi-drug resistant coliform bacteria, *Streptococcus dysgalactiae*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* strains. Experiments to study the effect of the new nisin-based pharmaceutical formulation on microbiota of milk from cows with subclinical mastitis were carried out using 35 high yielding cows. A microbiological testing of cow milk on day 14 from the beginning of the treatment showed that the number of microbiota-free samples increased to 88.6%, while in 1.4% of cases *Staphylococcus aureus* isolates were recovered (10^3 CFU/mL). The titers of coliform and *Staphylococcus aureus* bacteria isolated in 1.4% (10^1 CFU/mL) and 2.7% (10^2 CFU/mL) of cases, respectively, were not etiologically significant.

Keywords: cows, subclinical mastitis, antimicrobial resistance, antimicrobials, treatment regimen, bacteriocin nisin, milk microbiota, colony-forming units

Acknowledgements: This work has been supported by the grants the Russian Science Foundation (project No. 22-76-00009, <https://rscf.ru/project/22-76-00009>).

For citation: Isakova M. N., Lysova Ya. Yu. The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>

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

For correspondence: Mariya N. Isakova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia, tmarya105@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление, протекающее в молочной железе коров, чаще всего вызвано бактериальной инфекцией [1, 2, 3]. Количество обнаруживаемых бактерий зависит от формы мастита и его стадии, а также от вида патогенов [4, 5, 6, 7]. В наибольшем количестве из секрета молочной железы коров при мастите выделяют микроорганизмы, относящиеся к следующим видам: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* [1, 2, 3, 4]. Главную опасность для молочного животноводства представляет субклиническая форма мастита, которую труднее диагностировать из-за отсутствия видимых изменений в молочной железе и молоке, однако при этом в молоке уже определяется более высокое содержание соматических клеток и повышенная бактериальная обсемененность. В полученном молоке от коров, больных субклинической формой мастита, происходит накопление метаболитов и токсинов микробных клеток, что приводит к ухудшению вкуса, снижению питательной ценности сырого молока и изготавливаемых из него продуктов, способствует значительному сокращению их срока хранения [8, 9, 10, 11]. Заболеваемость коров субклиническим маститом имеет широкое распространение в высокопродуктивных стадах в развивающихся странах [12, 13, 14, 15, 16], в результате чего для уменьшения выбраковки молока и предотвращения развития антибиотикорезистентности в схемах лечения стараются минимизировать применение антимикробных препаратов, используя подходы, включающие использование вакцин, бактериофагов, фаговых лизинов, бактериоцинов [17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24]. В соответствии со «Стратегией предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г.», утвержденной распоряжением Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р, нами были проведены исследования по разработке препаратов на основе противомикробных пептидов микробного происхождения для лечения инфекционных заболеваний молочной железы высокопродуктивных коров.

Актуальность работы заключается в использовании композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом в качестве альтернативы известным антимикробным препаратам.

Новизна работы: впервые получены данные о влиянии новой композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока.

Практическая значимость: с целью сдерживания развития антибиотикорезистентности применение композиции на основе бактериоцина низина дает возможность снизить использование антимикробных препаратов при лечении мастита.

Цель настоящего исследования заключалась в оценке влияния композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока. Для этого были поставлены следующие задачи: определить состав микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при субклиническом мастите; провести сравнительный анализ характеристики антибиотикорезистентности изолятов микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы больных субклиническим маститом коров; провести исследования по изучению влияния композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на состав микробиоты молока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: высокопродуктивные коровы с субклинической формой мастита, изоляты микроорганизмов, выделенные из секрета молочной железы коров, композиция на основе бактериоцина низина.

Экспериментальные исследования по изучению влияния композиции на основе бактериоцина низина, использованной в схеме лечения коров с субклиническим маститом, на состав микробиоты молока выполнены на 35 высокопродуктивных коровах с удоем более 8000 кг, содержащихся на базе племенного репродуктора, расположенного в Полевском районе Свердловской области. Животным в схеме лечения субклинической формы мастита ежедневно в течение пяти дней внутрицистернально в пораженную долю вводили разработанную фармацевтическую композицию в дозе 10 мл.

Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, принятым Европейской конвенцией ETS № 123.

В ходе исследования в течение 2023 г. были получены изоляты: *Staphylococcus aureus* ($n = 32$), *Streptococcus dysgalactiae* ($n = 23$), *Staphylococcus haemolyticus* ($n = 20$), *Enterococcus faecium* ($n = 19$), *Aerococcus viridans* ($n = 17$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 13$), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), представленных родами *Escherichia* и *Enterobacter* ($n = 8$), *Corynebacterium pseudotuberculosis* ($n = 5$), грибов рода *Mucor* ($n = 4$) и *Penicillium* spp. ($n = 3$).

В эксперименте использовали ранее разработанную композицию, содержащую бактериоцин низин и вспомогательные вещества на водной основе, при следующем соотношении компонентов (мас. %): низин А – 0,3; глицеролаты кремния в 6-мольном избытке глицирина $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \times 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ – 3,0; бисглицеролаты бора $\text{H}[\text{B}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3)_2]$ – 2,0; глицерин – 10,0; дистиллированная вода – до 100 [25, 26].

Методы исследования. Идентификацию выделенных изолятов проводили путем посева на среды Гисса с сахарами («пестрый ряд»), руководствуясь определителем бактерий Берджи [27], определителем патогенных и условно-патогенных грибов [28], и с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии (временноразлетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционная/ионизационная масс-спектрометрия) на приборе VITEK® MS (bioMérieux, Франция). При проведении бактериологического и микологического исследования из проб секрета молочной железы коров делали посева на жидкие и плотные агаризованные питательные среды: мясо-пептонный бульон, бульон для выделения стрептококков, Энтероккоккагар, среду Эндо, среду № 10 (для идентификации *S. aureus*), среду Чапека, среду Сабуро, висмут-сульфит агар, цетримидный агар, среду Левина, среду Плоскирева (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия), 5%-й агар с кровью барана (основа – Колумбийский агар; Bio-Rad, Франция), кровь барана дефибрированную (E&O Laboratories Ltd., Шотландия), желточно-солевой агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ-агар, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия), хромогенный агар UriSelect4 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США) и агар Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics GmbH, Германия).

Резистентность выделенных изолятов к 34 антимикробным препаратам из 15 групп (тетрациклины, пенициллины, карбапенемы, макролиды, линкозамиды, ансамицины, амфениколы, аминогликозиды I, II, III поколения, цефалоспорины I, II, III поколения, фторхинолоны II, III поколения) определяли диск-диффузионным методом [29]. В работе использовали стандартные коммерческие диски (ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия). Интерпретацию результатов проводили с учетом рекомендаций European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Статистическую обработку данных проводили с использованием платформы AMRcloud, пакетов анализа Microsoft Excel 2007, Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводили на протяжении 2023–2024 гг. в отделе репродуктивной биологии и неонатологии, лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования

Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, в лаборатории медицинского центра ООО «Кволити Мед» (г. Екатеринбург) при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-76-00009.

Согласно результатам проведенных исследований, из 70 проб секрета молочной железы от больных субклиническим маститом коров выделили 144 изолята микроорганизмов, среди них (рис. 1): *S. aureus* (22,2%), *S. dysgalactiae* (16,0%), *S. haemolyticus* (13,9%), *E. faecium* (13,2%), *A. viridans* (11,8%), *S. epidermidis* (9,0%), БГКП, представленные родами *Escherichia* и *Enterobacter* (5,6%), *C. pseudotuberculosis* (3,5%), а также грибы рода *Mucor* (2,8%) и *Penicillium* spp. (2,1%).

В настоящем исследовании 81,4% случаев субклинического мастита у коров протекало в виде коинфекции, из них 21,4% вызваны двумя возбудителями, в 28,6 и 17,1% случаев высевали три и четыре патогена. Сложный микробиом, состоящий из пяти микроорганизмов, выделяли в 14,3% проб.

Доля изолятов *S. aureus*, резистентных к цефалоспорином I, II и III поколений, составила 53,1; 46,8 и 37,5% соответственно; к антибиотикам группы макролидов (эритромицину, кларитромицину) – 34,4%. Устойчивость к тетрациклинам и пенициллинам выявили у 31,3 и 28,1% изолятов соответственно. Минимальный процент резистентных штаммов *S. aureus* зарегистрировали в отношении следующих групп антибиотиков: фторхинолоны II поколения (12,5%), фторхинолоны III поколения (9,4%), карбапенемы (6,3%). Промежточную резистентность у 25,0% изолятов установили в отношении амикацина – антимикробного препарата группы аминогликозидов III поколения.

Выделенные штаммы *S. dysgalactiae* в 52,6% случаев проявили устойчивость к препаратам группы тетрациклинов (тигекциклину, доксициклину). Нечувствительность к группе цефалоспоринов III поколения установили у 42,1% изолятов. Сравнительно меньшую резистентность зарегистрировали в отношении аминогликозидов II поколения (31,6%). Промежточную устойчивость 57,9% изолятов *S. dysgalactiae* проявляли в отношении антибиотиков групп цефалоспоринов II поколения (цефуросиму, цефокситину).

Мониторинг антибиотикорезистентности изолятов *S. haemolyticus*, выделенных из секрета молочной железы, показал в 33,3% случаев наличие резистентности к препаратам группы макролидов (эритромицину, кларитромицину). В минимальном количестве изоляты

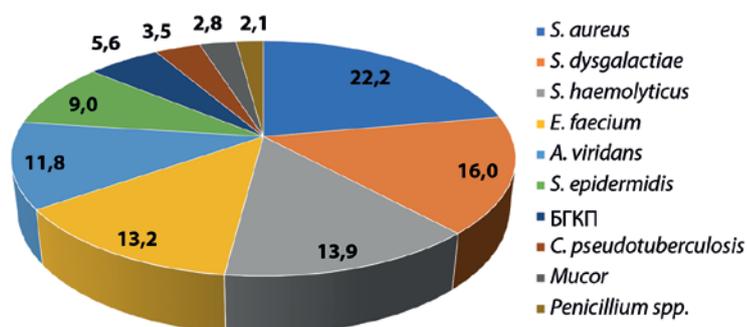


Рис. 1. Состав микробиоты секрета молочной железы коров при субклинической форме мастита ($n = 144$)

Fig. 1. Composition of the milk microbiota from cows with subclinical mastitis ($n = 144$)

проявляли устойчивость к группе цефалоспоринов III поколения (цефиксиму, цефоперазону, цефтриаксону) и ансамицинам (рифампицину) – 13,3 и 6,7% соответственно. Промежуточную чувствительность выявили к препаратам группы тетрациклинов (доксциклину) у 6,7% изолятов.

Резистентность изолятов *E. faecium* наблюдали к противомикробным препаратам групп пенициллинов, аминогликозидов I поколения и цефалоспоринов III поколения (42,1; 36,8 и 26,3% соответственно). Промежуточную чувствительность установили в отношении доксицилина (группа тетрациклинов) у 21,1% выделенных изолятов.

Профиль антибиотикорезистентности изолятов *A. viridans*, выделенных из секрета молочной железы, характеризовался наибольшей устойчивостью к препаратам групп пенициллинов (ампициллину, амоксициллину, пенициллину) – 35,3% и аминогликозидов I поколения (канамицину) – 23,5%. Промежуточную чувствительность выявили у 29,4% исследованных изолятов к группе тетрациклинов (тетрациклину, доксициклину).

Изоляты *S. epidermidis* в 38,5% случаев проявляли резистентность к препаратам группы тетрациклинов (тетрациклину, доксициклину). Минимальную устойчивость (15,4%) регистрировали к препаратам группы аминогликозидов II поколения (гентамицину). У 23,1% изолятов установили промежуточную чувствительность к фторхинолонам III поколения (левофлоксацину).

Изолированные БГКП наибольшей устойчивостью (62,5%) обладали к группе пенициллинов. Резистентность к группе ансамицинов (рифампицину) установили у 37,5% изолятов кишечной палочки. У 25,0 и 12,5% штаммов БГКП зарегистрировали промежуточную чувствительность к препаратам группы пенициллинов и цефалоспоринов II поколения (цефуроксиму, цефокситину) соответственно.

У изолятов *C. pseudotuberculosis* установили устойчивость к антимикробным препаратам групп пенициллинов и тетрациклинов в равной степени (20,0%). Промежуточную чувствительность наблюдали к цефалоспоринам II поколения (цефуроксиму) у 40,0% изолятов.

Полученные данные по антибиотикорезистентности микробиоты молочной железы коров, больных субклиническим маститом, показали наличие полирезистентных штаммов БГКП, *S. dysgalactiae*, *A. viridans*, *S. aureus*. Резистентностью к двум группам антимикробных препаратов обладали 62,5 и 47,1% изученных изолятов БГКП и *A. viridans* соответственно. Устойчивость *S. dysgalactiae* к трем группам антибиотиков установили в отношении 43,5% выделенных штаммов, к четырем группам – 26,1%. Изученные изоляты *S. aureus* в 62,5% случаев обладали резистентностью к четырем группам антимикробных препаратов, в 46,9% – к пяти группам, устойчивость более чем к шести группам антибиотиков зарегистрировали у 15,6% изолятов.

Проведенное исследование показало, что при субклинической форме мастита из секрета молочной железы высевается сложный микробиом. Установлено широкое распространение резистентности выделенной микробиоты к основным группам антибиотиков, применяемых при терапии мастита. В связи с чем в схеме лечения субклинической формы мастита применяли новую фармацевтическую композицию на основе бактерицина низина.

В образцах секрета молочной железы коров с субклинической формой мастита перед применением композиции, содержащей бактерицин низин, выделенная микрофлора встречалась как в монокультуре (48,6%), так и в виде ассоциаций культур бактерий и грибов (51,4%). В монокультуре микрофлора была представлена *S. aureus* (22,9%), *S. dysgalactiae* (11,4%), *A. viridans* (5,7%), *S. epidermidis* (2,9%), *C. pseudotuberculosis* (2,9%), *S. haemolyticus* (2,9%).

В структуре ассоциаций культур бактерий 11,4% проб приходилось на *S. aureus* + БГКП + *E. faecium*, также трехкомпонентные ассоциации включали *S. aureus* + БГКП + *Mucor* (5,7%), *S. aureus* + *Streptococcus* spp. + *Mucor* (2,9%). При этом наиболее часто из проб секрета молочной железы высевались четырехкомпонентные ассоциации: *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *Penicillium* spp. (8,6%), *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *E. faecium* (8,6%), *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *Mucor* (5,7%), *S. aureus* + БГКП + *E. faecium* + *Streptococcus* spp. (2,9%). Состав пятикомпонентных ассоциаций был представлен

Таблица 1
Структура популяции микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы коров с субклинической формой мастита на фоне применения новой композиции на основе бактерицина низина (n = 35)

Table 1
The structure of the microorganism population isolated from milk of cows with subclinical mastitis after using the new nisin-based formulation (n = 35)

Наименование микроорганизма	Начало эксперимента		После курса лечения (5-й день)		На 14-й день (с начала курса лечения)	
	n	%	n	%	n	%
Монокультуры микроорганизмов						
<i>S. aureus</i>	8	22,9	4	11,4	3	8,6
<i>S. dysgalactiae</i>	4	11,4	2	5,7	–	–
<i>A. viridans</i>	2	5,7	1	2,9	–	–
<i>S. epidermidis</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>C. pseudotuberculosis</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. haemolyticus</i>	1	2,9	–	–	–	–
БГКП	–	–	–	–	1	2,9
Ассоциации микроорганизмов						
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>E. faecium</i>	4	11,4	2	5,7	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Penicillium</i> spp.	3	8,6	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>E. faecium</i>	3	8,6	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>E. faecalis</i> + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>E. faecium</i> + <i>Streptococcus</i> spp.	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Mucor</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП	–	–	1	2,9	–	–
<i>E. faecalis</i> + БГКП	–	–	1	2,9	–	–
Всего	35	100	11	31,4	4	11,4

S. aureus + БГКП + *Streptococcus* spp. + *E. faecalis* + *Mucor* (5,7%). Результаты отражены в таблице 1.

Всего из 35 проб секрета молочной железы коров на начало эксперимента было изолировано 80 культур микроорганизмов, из них 74 культуры бактерий и 6 культур грибов (рис. 2).

При этом количество микробных клеток бактерий в каждом образце отличалось. На начало эксперимента этиологическую значимость в развитии воспалительного процесса в молочной железе имели 28,4% изолятов *S. aureus*, количество колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой пробы (КОЕ/мл) на уровне 10^3 , 10^6 и 10^7 установлено у 9,5; 8,1 и 10,8% изолятов соответственно. Все 16 изолированных культур *Streptococcus* spp. (21,6%) обнаруживались в количестве 10^3 КОЕ/мл. У 13,5% изолятов бактерий группы кишечной палочки, которые способны вызывать мастит у животных, количество КОЕ/мл составило 10^5 . Уровень 10^3 и 10^5 КОЕ/мл установлен у 2,7 и 8,1% выделенных изолятов *E. faecium* соответственно. *S. epidermidis*, *C. pseudotuberculosis*, *S. haemolyticus* обнаруживались в количестве 10^3 КОЕ/мл в 1,4% случаев. *A. viridans* выявлялся в титре 10^2 КОЕ/мл и с начала эксперимента не являлся этиологически значимым микроорганизмом в развитии мастита у коров (табл. 2).

После курса лечения животных с субклинической формой мастита новой композицией на основе бактериоцина низина наблюдали отсутствие роста микрофлоры в 68,6% проб (табл. 1). Выделенная из 11 образцов секрета молочной железы микробиота в 20,0% случаев представляла собой монокультуру, состоящую из *S. aureus* (11,4%), *S. dysgalactiae* (5,7%), *A. viridans* (2,9%). В остальных пробах выявляли ассоциации микроорганизмов: *S. aureus* + БГКП + *E. faecium* (5,7%); *S. aureus* + БГКП (2,9%); *E. faecalis* + БГКП (2,9%). Количество микробных клеток *S. aureus* 10^3 и 10^6 КОЕ/мл наблюдали у равного количества выделенных изолятов (1,4%). В 6,8% случаев выделенный в диагностическом титре *S. aureus* не являлся этиологически значимым (10^2 КОЕ/мл), так же как и БГКП, *E. faecium*, *A. viridans*, обнаруживаемые на уровне 10^1 – 10^2 КОЕ/мл. В одной пробе *E. faecium* выявлен в количестве 10^3 КОЕ/мл, что составило 1,4% в общей структуре изолированных микроорганизмов.

Проведенное на 14-й день с начала курса лечения микробиологическое исследование секрета молочной железы коров показало увеличение количества проб с отсутствием микрофлоры до 88,6%. В исследованных образцах микробиота секрета молочной железы коров была представлена в виде монокультуры микроорганизмов, при этом на *S. aureus* и БГКП приходилось 8,6 и 2,8% соответственно (табл. 1). Количество 10^3 КОЕ/мл установлено у 1,4% изолятов *S. aureus*. Выделенные в 1,4 (10^1 КОЕ/мл) и 2,7% (10^2 КОЕ/мл) случаев БГКП и *S. aureus* соответственно не являлись этиологически значимыми в диагностическом титре (табл. 2).

В последнее десятилетие активно изучается потенциал бактериоцинов в качестве терапевтических средств следующего поколения против устойчивых к лекарствам бактерий [30, 31, 32, 33]. Бактериоцины молочнокислых бактерий тестируются в качестве средств борьбы с бактериями и вирусными инфекциями; показана их способность ингибировать синтез биопленки [33, 34, 35]. В ряде экспериментов установлена высокая антимицробная активность бактериоцина низина в отноше-

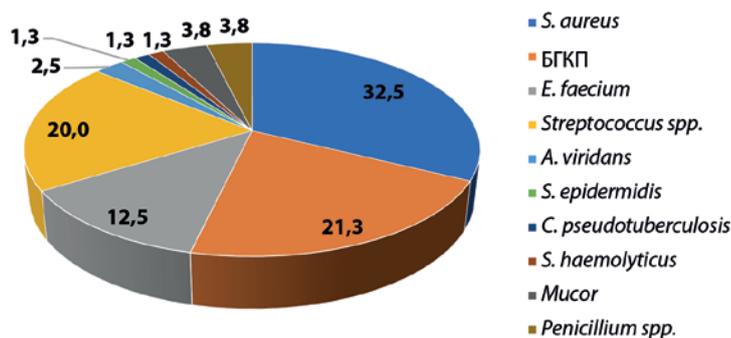


Рис. 2. Структура популяции микроорганизмов, изолированных из проб секрета молочной железы коров при субклинической форме мастита на начало эксперимента (n = 80)

Fig. 2. The structure of microbial population isolated from milk samples from cows with subclinical mastitis at the beginning of the experiment (n = 80)

Таблица 2
Численность бактерий, изолированных из проб секрета молочной железы коров (n = 74)

Table 2
Number of bacteria, isolated from cow milk (n = 74)

Наименование бактерии	КОЕ/мл	Начало эксперимента		После курса лечения (5-й день)		На 14-й день (с начала курса лечения)	
		n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i>	10^2	5	6,8	5	6,8	2	2,7
	10^3	7	9,5	1	1,4	1	1,4
	10^6	6	8,1	1	1,4	–	–
	10^7	8	10,8	–	–	–	–
БГКП	10^1	3	4,1	2	2,7	1	1,4
	10^2	4	5,4	1	1,4	–	–
	10^5	10	13,5	–	–	–	–
<i>E. faecium</i>	10^2	2	2,7	2	2,7	–	–
	10^3	2	2,7	1	1,4	–	–
	10^5	6	8,1	–	–	–	–
<i>Streptococcus</i> spp.	10^3	16	21,6	2	2,7	–	–
<i>A. viridans</i>	10^2	2	2,7	1	1,4	–	–
<i>S. epidermidis</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–
<i>C. pseudotuberculosis</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–
<i>S. haemolyticus</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–

нии нескольких видов стафилококков, включая *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* [36, 37, 38], в том числе метициллинрезистентного *S. aureus* со множественной устойчивостью к антибиотикам [39]. Имеются исследования в отношении клинических изолятов *S. agalactiae*, которые продемонстрировали их чувствительность к низину на разном уровне [40]. В работе М. Pérez-Ibarreche et al. [41] описаны результаты использования низина для эффективного снижения образования биопленок у штаммов *Streptococcus uberis*, вызывающих мастит у коров. Применение бактериоцина низина, обладающего противомикробной активностью в отношении основных возбудителей мастита, открывает возможности для его использования в качестве альтернативы антибиотикам [36, 42, 43]. Данные наших исследований подтверждают вышеописанные выводы

о целесообразности включения низина в схемы лечения мастита. В ходе эксперимента установлено, что выделенные из секрета молочной железы возбудители мастита, такие как *S. aureus*, БГКП, *E. faecium*, *Streptococcus* spp., *A. viridans*, *S. epidermidis*, *C. pseudotuberculosis*, *S. haemolyticus*, обладают чувствительностью к композиции на основе бактериоцина низина. С момента открытия бактериоцинов исследователи в основном сосредоточились на определении их антимикробной активности *in vitro*. Однако для применения бактериоцинов в качестве противомикробных препаратов необходимо изучить их клиническую эффективность [44]. Полученные нами результаты на высокопродуктивных коровах за счет влияния композиции на основе бактериоцина низина на микробиоту молока показали эффективность использования ее в схеме лечения субклинического мастита: так, в 88,6% проб наблюдали отсутствие роста микрофлоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования определен состав микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при субклиническом мастите. Установлено, что в 81,4% случаев заболевание протекает как коинфекция, из них в 21,4 и 28,6% случаев выделяли два и три патогена соответственно. Наиболее часто изолировали *S. aureus* (22,2%) и *S. dysgalactiae* (16,0%).

Проведенный сравнительный анализ антибиотикорезистентности изолятов микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы коров, больных скрытой формой мастита, показал наличие полирезистентных штаммов бактерий группы кишечной палочки, *S. dysgalactiae*, *A. viridans*, *S. aureus*. Резистентностью к двум группам антимикробных препаратов обладали 62,5 и 47,1% изученных изолятов БГКП и *A. viridans* соответственно. Устойчивость *S. dysgalactiae* к трем группам антибиотиков установили в отношении 43,5% выделенных штаммов, к четырем группам – 26,1%. Изученные изоляты *S. aureus* в 62,5% случаев обладали резистентностью к четырем группам антимикробных препаратов, в 46,9% – к пяти группам, устойчивость к шести и более группам антибиотиков зарегистрировали у 15,6% изолятов.

В ходе исследования влияния композиции на основе бактериоцина низина на микробиоту молока при лечении коров с субклиническим маститом наблюдали увеличение количества проб с отсутствием микрофлоры до 88,6%. Микробиота секрета молочной железы коров в 8,6% случаев была представлена *S. aureus*, 2,8% приходилось на бактерии группы кишечной палочки. При этом в 1,4 и 2,7% проб БГКП и *S. aureus* выявляли в диагностических титрах 10^1 и 10^2 КОЕ/мл соответственно, поэтому не являлись этиологически значимыми микроорганизмами в развитии мастита у коров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фурсова К. К., Соколов С. Л., Щанникова М. П., Никанова Д. А., Артемьева О. А., Колодина Е. Н. и др. Изменение микробиома молока коров при заболевании маститом. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2021; 497 (1): 169–174. <https://doi.org/10.31857/S2686738921020086>
2. Фирсов Г. М., Фоменко С. А., Резяпкина Е. А., Нистратова М. В., Фирсова Ю. Г. Микробиология молока и молочных продуктов. *News of Science and Education*. 2018; 10 (2): 103–105. <https://www.elibrary.ru/ucjsxz>
3. Акназаров Б. К., Матиев А. А., Абдыманап У. Н., Кызайбекова С. А., Борбиев Б. И., Айтпек У. И. Микробная обсемененность молочной же-

лезы у коров, больных маститом. *Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина*. 2023; (2): 84–91. <https://www.elibrary.ru/elymnn>

4. Писаренко Н., Белугин Н., Скрипкин В., Федота Н. Ветеринарно-санитарная оценка молока при субклиническом мастите. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2016; (5): 46–50. <https://www.elibrary.ru/yxfpoh>
5. Oikonomou G., Bicalho M. L., Meira E., Rossi R. E., Foditsch C., Machado V. S., et al. Microbiota of cow's milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS ONE*. 2014; 9 (1):e85904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085904>
6. Gonçalves J. L., Kamphuis C., Vernooij H., Araújo J. P. Jr., Grenfell R. C., Juliano L., et al. Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2020; 262:105473. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105473>
7. Malek dos Reis C. B., Barreiro J. R., Mestieri L., Porcionato M. A., dos Santos M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Veterinary Research*. 2013; 9:67. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-67>
8. Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., et al. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2379. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02379>
9. Catozzi C., Sanchez Bonastre A., Francino O., Lecchi C., De Carlo E., Vecchio D., et al. The microbiota of water buffalo milk during mastitis. *PLoS ONE*. 2017; 12 (9):e0184710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184710>
10. Kaczorowski Ł., Powierska-Czarny J., Wolko Ł., Piotrowska-Cyplik A., Cyplik P., Czarny J. The influence of bacteria causing subclinical mastitis on the structure of the cow's milk microbiome. *Molecules*. 2022; 27 (6):1829. <https://doi.org/10.3390/molecules27061829>
11. Burakova I., Gryaznova M., Smirnova Y., Morozova P., Mikhalev V., Zimnikov V., et al. Association of milk microbiome with bovine mastitis before and after antibiotic therapy. *Veterinary World*. 2023; 16 (12): 2389–2402. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.2389-2402>
12. Пигарева Г. П. Распространение маститов у коров в условиях ООО «Дон» Хохольского района Воронежской области. *Теория и практика инновационных технологий в АПК: материалы национальной научно-практической конференции (Воронеж, 1 марта – 28 апреля 2023 г.)*. Ч. 1. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ; 2023; 62–65. <https://www.elibrary.ru/vkugzz>
13. Цапенкова А. М., Высоцкая Н. В. Распространение и причины возникновения клинического и субклинического мастита у коров во Владимирской области. *Аграрная наука в условиях модернизации и инновационного развития АПК России: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции (Иваново, 29–30 ноября 2021 г.)*. Том 1. Иваново: ФГБОУ ВО Ивановская ГСХА; 2021; 203–206. <https://www.elibrary.ru/qynlxb>
14. Abed A. H., Meshawy A. M. S., Zein M. M. A., Hossain D., Khalifa E., Wareh G., Awad M. F. Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. *Microorganisms*. 2021; 9 (6):1175. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061175>
15. Ndahetuye J. B., Persson Y., Nyman A. K., Tukei M., Ongol M. P., Båge R. Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production*. 2019; 51 (7): 2037–2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>
16. Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hossain 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>
17. Rainard P., Gilbert F. B., Martins R. P., Germon P., Foucras G. Progress towards the elusive mastitis vaccines. *Vaccines*. 2022; 10 (2):296. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020296>
18. Erskine R. J. Vaccination strategies for mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012; 28 (2): 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.002>
19. Rainard P., Gilbert F. B., Germon P., Foucras G. Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2021; 104 (10): 10427–10448. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20434>
20. Schmelcher M., Powell A. M., Becker S. C., Camp M. J., Donovan D. M. Chimeric phage lysins act synergistically with lysostaphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78 (7): 2297–2305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
21. Zduńczyk S., Janowski T. Bacteriophages and associated endolysins in therapy and prevention of mastitis and metritis in cows: current knowledge. *Animal Reproduction Science*. 2020; 218:106504. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106504>

22. Touza-Otero L., Landin M., Diaz-Rodriguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 170:115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
23. Raheel I., Mohammed A. N., Mohamed A. A. The efficacy of bacteriocins against biofilm-producing bacteria causing bovine mastitis in dairy farms: a new strategy. *Current Microbiology*. 2023; 80 (7):229. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03324-x>
24. Иванов Е. В., Капустин А. В., Лаишевцев А. И., Супова А. В., Алипер Т. И., Верховский О. А. Эффективность вакцины Комбовак-Эндомаст в борьбе с инфекционными маститами и эндометритами коров. *Ветеринария*. 2023; (11): 10–13. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.11.10-13>
25. Исакова М. Н., Лысова Я. Ю., Хонина Т. Г. Разработка новых лекарственных композиций на основе бактериоцина-низина, с последующей оценкой их антимикробной активности. *Ветеринария*. 2023; (7): 43–49. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.7.43-49>
26. Исакова М. Н., Белоусов А. И., Дроздова Л. И. Морфофункциональные изменения в органах экспериментальных животных при применении фармацевтических композиций на основе низина. *Аграрный вестник Урала*. 2023; (8): 48–58. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58>
27. Определитель бактерий Берджи: в 2-х томах. Под ред. Дж. Хоупта. Том 1. 9-е изд. М.: Мир; 1997. 429 с.
28. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. Под ред. И. Р. Дорожкой. М.: Мир; 2001. 468 с.
29. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2.1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2004. 91 с.
30. Gradisteanu Pircalabioru G., Popa L. I., Marutescu L., Gheorghe I., Popa M., Czobor Barbu I., et al. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: rising to the challenge. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (2):196. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>
31. Flynn J., Ryan A., Hudson S. P. Synergistic antimicrobial interactions of nisin A with biopolymers and solubilising agents for oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022; 171: 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.12.010>
32. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G.-J., Bamuunarachi N. I., et al. Multiple potential strategies for the application of nisin and derivatives. *Critical Reviews in Microbiology*. 2023; 49 (5): 628–657. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2022.2112650>
33. Fernandes A., Jobby R. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022; 194 (10): 4377–4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>
34. Heinzinger L. R., Pugh A. R., Wagner J. A., Otto M. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans. *Antibiotics*. 2023; 12 (8):1256. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081256>
35. Daba G. M., Elkhateeb W. A. Ribosomally synthesized bacteriocins of lactic acid bacteria: Simplicity yet having wide potentials – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024; 256 (Pt. 1):128325. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128325>
36. Cao L. T., Wu J. Q., Xie F., Hu S. H., Mo Y. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90 (8): 3980–3985. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0153>
37. Bennett S., Ben Said L., Lacasse P., Malouin F., Fliss I. Susceptibility to nisin, bacitracin, pediocin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis. *Antibiotics*. 2021; 10 (11):1418. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111418>
38. Le M. N., Kawada-Matsuo M., Komatsuzawa H. Efficiency of antimicrobial peptides against multidrug-resistant staphylococcal pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13:930629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.930629>
39. Wang J., Ma X., Li J., Shi L., Liu L., Hou X., et al. The synergistic antimicrobial effect and mechanism of nisin and oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24 (7):6697. <https://doi.org/10.3390/ijms24076697>
40. Hayes K., Field D., Hill C., O'Halloran F., Cotter L. A novel bioengineered derivative of nisin displays enhanced antimicrobial activity against clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2019; 19: 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.010>
41. Pérez-Ibarreche M., Field D., Ross R. P., Hill C. A bioengineered nisin derivative to control *Streptococcus uberis* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 2021; 87 (16):e0039121. <https://doi.org/10.1128/aem.00391-21>
42. Kitazaki K., Koga S., Nagatoshii K., Kuwano K., Zendo T., Nakayama J., et al. *In vitro* synergistic activities of cefazolin and nisin A against mastitis pathogens. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2017; 79 (9): 1472–1479. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0180>
43. Bennett S., Fliss I., Ben Said L., Malouin F., Lacasse P. Efficacy of bacteriocin-based formula for reducing staphylococci, streptococci, and total bacterial counts on teat skin of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (5): 4498–4507. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21381>
44. Guryanova S. V. Immunomodulation, bioavailability and safety of bacteriocins. *Life*. 2023; 13 (7):1521. <https://doi.org/10.3390/life13071521>

REFERENCES

- Fursova K. K., Sokolov S. L., Shchannikova M. P., Nikanova D. A., Artem'eva O. A., Kolodina E. N., et al. Changes in the microbiome of milk in cows with mastitis. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2021; 497: 75–80. <https://doi.org/10.1134/S1607672921020046>
- Firsov G. M., Fomenko S. A., Rezyapkina E. A., Nistratova M. V., Firsova Yu. G. Mikrobiologiya moloka i molochnykh produktov = Microbiology of milk and dairy products. *News of Science and Education*. 2018; 10 (2): 103–105. <https://www.elibrary.ru/ycjsxz> (in Russ.)
- Aknazarov B. K., Matiev A. A., Abdymanap U. N., Kyzaibekova S. A., Borbiev B. I., Aitpek U. I. Microbial contamination of the mammary gland in cows with mastitis. *Vestnik Kyrgyzskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta im. K. I. Skryabina*. 2023; (2): 84–91. <https://www.elibrary.ru/elymnn> (in Russ.)
- Pisarenko N. A., Belugin N. V., Skripkin V. S., Fedota N. V. Animal health appraisal of milk at a subclinical mastitis. *Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. 2016; (5): 46–50. <https://www.elibrary.ru/yxfpoh> (in Russ.)
- Oikonomou G., Bicalho M. L., Meira E., Rossi R. E., Foditsch C., Machado V. S., et al. Microbiota of cow's milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS ONE*. 2014; 9 (1):e85904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085904>
- Gonçalves J. L., Kamphuis C., Vernooij H., Araújo J. P. Jr., Grenfell R. C., Juliano L., et al. Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2020; 262:105473. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105473>
- Malek dos Reis C. B., Barreiro J. R., Mestieri L., Porcionato M. A., dos Santos M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Veterinary Research*. 2013; 9:67. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-67>
- Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., et al. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2379. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02379>
- Catozzi C., Sanchez Bonastre A., Francino O., Lecchi C., De Carlo E., Vecchio D., et al. The microbiota of water buffalo milk during mastitis. *PLoS ONE*. 2017; 12 (9):e0184710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184710>
- Kaczorowski Ł., Powierska-Czarny J., Wolko Ł., Piotrowska-Cyplik A., Cyplik P., Czarny J. The influence of bacteria causing subclinical mastitis on the structure of the cow's milk microbiome. *Molecules*. 2022; 27 (6):1829. <https://doi.org/10.3390/molecules27061829>
- Burakova I., Gryaznova M., Smirnova Y., Morozova P., Mikhalev V., Zimnikov V., et al. Association of milk microbiome with bovine mastitis before and after antibiotic therapy. *Veterinary World*. 2023; 16 (12): 2389–2402. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.2389-2402>
- Pigareva G. P. Distribution of mastitis in cows in the conditions of LLC "Don", Khokholsky District, Voronezh Region. *Teoriya i praktika innovatsionnykh tekhnologii v APK: materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Voronezh, 1 marta – 28 aprelya 2023 g.)*. Ch. 1 = Theory and practice of innovative technologies in agribusiness: proceedings of the national scientific and practical conference (Voronezh, 1 March – 28 April, 2023). Part 1. Voronezh: Voronezh SAU; 2023; 62–65. <https://www.elibrary.ru/vkuzg2> (in Russ.)
- Tsapenkova A. M., Vysotskaya N. V. Rasprostranenie i prichiny vozniknoveniya klinicheskogo i subklinicheskogo mastita u korov vo Vladimirskoi oblasti = Spread and causes of clinical and subclinical mastitis in the Vladimir Oblast. *Agrarnaya nauka v usloviyakh modernizatsii i innovatsionnogo razvitiya APK Rossii: sbornik materialov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Ivanovo, 29–30 noyabrya 2021 g.)*. Tom 1 = Agricultural science in the conditions of the Russian agribusiness modernization and innovative development: proceedings of the All-Russian scientific and practical conference (Ivanovo, 29–30 November, 2021). Vol 1. Ivanovo: Ivanovo SAA; 2021; 203–206. <https://www.elibrary.ru/qynlxb> (in Russ.)
- Abed A. H., Menshawy A. M. S., Zeinhom M. M. A., Hossain D., Khalifa E., Wareth G., Awad M. F. Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. *Microorganisms*. 2021; 9 (6):1175. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061175>
- Ndahetuye J. B., Persson Y., Nyman A. K., Tukei M., Ongol M. P., Bâge R. Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production*. 2019; 51 (7): 2037–2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>
- Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hossain 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>

17. Rainard P, Gilbert F. B., Martins R. P., Germon P., Foucras G. Progress towards the elusive mastitis vaccines. *Vaccines*. 2022; 10 (2):296. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020296>
18. Erskine R. J. Vaccination strategies for mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012; 28 (2): 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.002>
19. Rainard P, Gilbert F. B., Germon P., Foucras G. Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2021; 104 (10): 10427–10448. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20434>
20. Schmelcher M., Powell A. M., Becker S. C., Camp M. J., Donovan D. M. Chimeric phage lysins act synergistically with lysostaphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78 (7): 2297–2305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
21. Zduńczyk S., Janowski T. Bacteriophages and associated endolysins in therapy and prevention of mastitis and metritis in cows: current knowledge. *Animal Reproduction Science*. 2020; 218:106504. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106504>
22. Touza-Otero L., Landin M., Diaz-Rodriguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 170:115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
23. Raheel I., Mohammed A. N., Mohamed A. A. The efficacy of bacteriocins against biofilm-producing bacteria causing bovine mastitis in dairy farms: a new strategy. *Current Microbiology*. 2023; 80 (7):229. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03324-x>
24. Ivanov E. V., Kapustin A. V., Laishevsev A. I., Supova A. V., Aliper T. I., Verkhovskiy O. A. The effectiveness of the Kombovak-Endomast vaccine in the fight against infectious mastitis and endometritis in cows. *Veterinariya*. 2023; (11): 10–13. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.11.10-13> (in Russ.)
25. Isakova M. N., Lysova Ya. Yu., Khonina T. G. Development of new medicinal compositions based on Bacteriocin-nisin, with subsequent evaluation of their antimicrobial activity. *Veterinariya*. 2023; (7): 43–49. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.7.43-49> (in Russ.)
26. Isakova M. N., Belousov A. I., Drozdova L. I. Morphofunctional changes in the organs of experimental animals when using pharmaceutical compositions based on nisin. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2023; (8): 48–58. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58> (in Russ.)
27. Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. 787 p.
28. Sutton D. A., Fothergill A. W., Rinaldi M. G. *Guide to Clinically Significant Fungi*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. 471 p.
29. Guidelines for Susceptibility Testing of Microorganisms to Antibacterial Agents: Methodical Guidelines MUK 4.2.1890-04. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2004. 91 p. (in Russ.)
30. Gradisteanu Pircalabioru G., Popa L. I., Marutescu L., Gheorghe I., Popa M., Czobor Barbu I., et al. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: rising to the challenge. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (2):196. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>
31. Flynn J., Ryan A., Hudson S. P. Synergistic antimicrobial interactions of nisin A with biopolymers and solubilising agents for oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022; 171: 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.12.010>
32. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G.-J., Bamunuarachchi N. I., et al. Multiple potential strategies for the application of nisin and derivatives. *Critical Reviews in Microbiology*. 2023; 49 (5): 628–657. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2022.2112650>
33. Fernandes A., Jobby R. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022; 194 (10): 4377–4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>
34. Heinzinger L. R., Pugh A. R., Wagner J. A., Otto M. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans. *Antibiotics*. 2023; 12 (8):1256. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081256>
35. Daba G. M., Elkhateeb W. A. Ribosomally synthesized bacteriocins of lactic acid bacteria: Simplicity yet having wide potentials – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024; 256 (Pt. 1):128325. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128325>
36. Cao L. T., Wu J. Q., Xie F., Hu S. H., Mo Y. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90 (8): 3980–3985. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0153>
37. Bennett S., Ben Said L., Lacasse P., Malouin F., Fliss I. Susceptibility to nisin, bactofencin, pediocin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis. *Antibiotics*. 2021; 10 (11):1418. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111418>
38. Le M. N., Kawada-Matsuo M., Komatsuzawa H. Efficiency of antimicrobial peptides against multidrug-resistant staphylococcal pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13:930629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.930629>
39. Wang J., Ma X., Li J., Shi L., Liu L., Hou X., et al. The synergistic antimicrobial effect and mechanism of nisin and oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24 (7):6697. <https://doi.org/10.3390/ijms24076697>
40. Hayes K., Field D., Hill C., O'Halloran F., Cotter L. A novel bioengineered derivative of nisin displays enhanced antimicrobial activity against clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2019; 19: 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.010>
41. Pérez-Ibarreche M., Field D., Ross R. P., Hill C. A bioengineered nisin derivative to control *Streptococcus uberis* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 2021; 87 (16):e0039121. <https://doi.org/10.1128/aem.00391-21>
42. Kitazaki K., Koga S., Nagatoshi K., Kuwano K., Zendo T., Nakayama J., et al. *In vitro* synergistic activities of cefazolin and nisin A against mastitis pathogens. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2017; 79 (9): 1472–1479. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0180>
43. Bennett S., Fliss I., Ben Said L., Malouin F., Lacasse P. Efficacy of bacteriocin-based formula for reducing staphylococci, streptococci, and total bacterial counts on teat skin of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (5): 4498–4507. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21381>
44. Guryanova S. V. Immunomodulation, bioavailability and safety of bacteriocins. *Life*. 2023; 13 (7):1521. <https://doi.org/10.3390/life13071521>

Поступила в редакцию / Received 01.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 07.05.2024

Принята к публикации / Accepted 02.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Исакова Мария Николаевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНЦ Уро РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Лысова Яна Юрьевна, заведующий лабораторией микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, старший научный сотрудник ФГБНУ УрФАНЦ Уро РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6797-0659>, mikroba.urnivi@mail.ru

Mariya N. Isakova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Yana Yu. Lysova, Head of Laboratory of Microbiological and Molecular Genetic Research, Department of Veterinary Laboratory Diagnosis with Testing Laboratory, Senior Researcher, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6797-0659>, mikroba.urnivi@mail.ru

Вклад авторов: Исакова М. Н. – сбор литературных данных по тематике исследования, отбор проб патологического материала, анализ данных, концепция представления материалов, формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи; Лысова Я. Ю. – определение методов исследования, проведение лабораторных исследований, оформление ключевых результатов исследования.

Contribution: Isakova M. N. – acquisition of relevant published data; collection of samples; data analysis; data presentation, interpretation and scientific justification of the conclusions; drafting of the paper; Lysova Ya. Yu. – determination of test methods, laboratory tests, presentation of major test results.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-269-274>
УДК 619:576.807.9

Динамика развития биопленок грибов *Nakaseomyces glabratus*

Е. М. Ленченко¹, Н. П. Сачивкина², А. В. Лисейцев¹

¹ ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, 125080, Россия

² ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, Россия

РЕЗЮМЕ

Формирование биопленок микроорганизмов, в том числе и *Nakaseomyces glabratus*, обуславливает развитие локальных и системных патологий человека и животных. Система координации экспрессии генов (quorum sensing) при репрезентации сигнальных молекул позволяет регулировать количество и состав популяций биопленок, что расширяет адаптивный потенциал микроорганизмов. При наличии клинических признаков гингивита и одонтолитиаза у собак избыточный рост грамположительных дрожжевой формы микроорганизмов является дифференциальным признаком снижения колонизационной резистентности слизистой оболочки пищеварительной системы. Исследование денситометрических и морфометрических показателей выявило общие закономерности развития биопленок, независимо от источника выделения изолятов *Nakaseomyces glabratus*. В зависимости от времени культивирования микроорганизмов установили постепенное увеличение значений абсолютных величин оптической плотности. Реализация межклеточных коммуникаций достигалась коагрегацией гетероморфных структур, формирующих кластеры, между которыми выявлялись округлые образования, содержащие жидкость. Популяционная иммобилизация архитектоники зрелой трехмерной биопленки, в соответствии с условиями культивирования, сопровождалась дифференциацией многочисленных клеток разных размеров и форм в зависимости от стадии клеточного цикла. Результаты исследований общих закономерностей развития гетерогенной популяции микромицетов представляют перспективность для расширения границ познания механизмов адаптации убиквитарных микроорганизмов к длительной персистенции *in vivo* и *in vitro*. Способы изучения морфометрических и денситометрических показателей биопленок без нарушения естественной архитектоники рекомендуются для оптимизации микологических исследований, являющихся длительными и ретроспективными, а также разработки эффективных схем лечения и профилактики микозов.

Ключевые слова: биопленки, микроскопические грибы, *Nakaseomyces glabratus*, оптическая плотность, микроскопия, дифференциальные признаки

Благодарности: Авторы благодарят РОСБИОТЕХ и РУДН за предоставленные возможности для проведения исследовательской работы.

Для цитирования: Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П., Лисейцев А. В. Динамика развития биопленок грибов *Nakaseomyces glabratus*. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 269–274. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-269-274>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ленченко Екатерина Михайловна, д-р вет. наук, профессор кафедры ветеринарной медицины, РОСБИОТЕХ, Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, 125080, Россия, lenchenko-ekaterina@yandex.ru

Dynamics of *Nakaseomyces glabratus* biofilm formation

Ekaterina M. Lenchenko¹, Nadezda P. Sachivkina², Andrey V. Liseitsev¹

¹ Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoe highway, Moscow 125080, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow 117198, Russia

ABSTRACT

Formation of biofilms of microorganisms, including those of *Nakaseomyces glabratus*, is responsible for the development of local and systemic pathologies in humans and animals. The system of gene expression coordination (quorum sensing) in the representation of signaling molecules allows regulation of the amount and composition of biofilm populations thus expanding the adaptive capacity of microorganisms. In the presence of gingivitis and odontolithiasis clinical signs in dogs, excessive growth of gram-positive yeast microorganisms is a differential sign of the decreased resistance of the digestive system mucous membranes to colonization. Examination of the densitometric and morphometric parameters revealed general patterns of biofilm formation, regardless of the source of *Nakaseomyces glabratus* isolates. Depending on the time of cultivation of the microorganisms, a gradual increase in the optic density absolute values was established. Intercellular communications were achieved by coaggregation of the heteromorphic structures, which formed clusters with rounded liquid-containing formations detected among them. The population immobilization of the architectonics of the mature three-dimensional biofilm, as consistent with cultivation conditions, was accompanied by the differentiation of numerous cells of different sizes and shapes depending on the stage of the cell cycle. Results of the examination of the general patterns of the heterogeneous micromycete population development are promising for expanding the boundaries of knowledge of the adaptation mechanisms of ubiquitous microorganisms to long-term *in vivo* and *in vitro* persistence. Methods for studying morphometric and densitometric indicators avoiding interfering into the natural biofilm architectonics are recommended to optimize the long-term and retrospective mycological studies, as well as to develop effective mycosis treatment and prevention regimens.

Keywords: biofilms, microfungi, *Nakaseomyces glabratus*, optic density, microscopy, differential signs

Acknowledgements: The authors express gratitude to ROSBIOTECH and RUDN University for provided opportunities to undertake the research.

© Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П., Лисейцев А. В., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

For citation: Lenchenko E. M., Sachivkina N. P., Liseitsev A. V. Dynamics of *Nakaseomyces glabratus* biofilm formation. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 269–274. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-269-274>

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

For correspondence: Ekaterina M. Lenchenko, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoe highway, Moscow 125080, Russia, lenchenko-ekaterina@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Из числа приоритетных для исследований патогенов, обуславливающих развитие нозокомиальных инфекций с высокими эпидемиологическими показателями уровня смертности, признаны микроскопические грибы *Nakaseomyces glabratus* (ранее *Candida glabrata*) [1]. При развитии септицемии, эндокардита, пиелонефрита, бронхопневмонии, катетер-, протез-ассоциированных патологий достоверно часто изоляты *N. glabratus* характеризуются множественной лекарственной резистентностью [2, 3, 4].

Тенденция статистически достоверного возрастания этиологической значимости *N. glabratus* установлена при развитии оппортунистической эндогенной инфекции животных на фоне антибиотикотерапии [5, 6, 7, 8, 9, 10].

При развитии синдрома избыточного роста микроорганизмов патогенный потенциал реализуется за счет увеличения биомассы биопленок, представляющих собой гетерогенную ассоциацию микроорганизмов, объединенных межклеточным матриксом [11, 12, 13].

Система координации экспрессии генов – quorum sensing (чувство кворума) – при репрезентации сигнальных молекул позволяет регулировать количество и состав популяций биопленок, что расширяет адаптивный потенциал микроорганизмов [12, 14, 15].

Транскрипционный контроль адгезии, инвазии, синтеза полимерных веществ позволяет многоклеточной популяции реализовать вирулентные свойства при взаимодействии с иммунокомпетентными клетками, обеспечивает защиту от фагоцитоза и воздействия химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов [16, 17, 18].

Инициация, развитие и исход поверхностных, глубоких и системных микозов при избыточном росте и увеличении патогенного потенциала убиквитарных микроорганизмов обеспечиваются гиперагрегацией, наличием диссоциативных вариантов, дисперсией гетерогенных биопленок. Изыскание способов индикации биопленок, в том числе и при воздействии химиотерапевтических и дезинфицирующих средств, в перспективе позволит разработать фунгицидные препараты для блокировки синтеза или разрушения межклеточного матрикса биопленок.

Для усовершенствования схемы микологических исследований и разработки превентивных противоэпизоотических мероприятий приоритетным направлением научных изысканий представляется расширение границ познания механизмов многоэтапного процесса формирования биопленок.

Цель работы – изучить морфометрические и денситометрические показатели изолятов *N. glabratus*, выделенных и идентифицированных при развитии гингивита и одонтолитиаза у собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. В опытах использовали изоляты *N. glabratus*, выделенные нами из смывов и соскобов слизистой оболочки ротовой полости собак при наличии клинических признаков гингивита и одонтолитиаза. Для контроля исследовали референтный штамм ATCC 66032 [19].

Питательные среды. Для культивирования микроорганизмов использовали мясо-пептонный бульон – МПБ (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия); сыворотку крови крупного рогатого скота (Микроген, Россия); рисовый агар (API-System R.A.T., Франция); среду Сабуро с глюкозой, пенициллином и стрептомицином (100 МЕ/Л); колумбийский агар; хромогенный агар (Bio-Media, Россия).

Тест-системы. Для идентификации микроорганизмов применяли набор HiCandida™ Identification Kit (Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Индия).

Индикация и идентификация микроорганизмов. Для микроскопических исследований из смывов и соскобов готовили препараты-отпечатки и окрашивали по Граму.

Контроль качества сред – тестирование стерильности при $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч.

Для индикации гифальных проростковых трубок суточные культуры микроорганизмов культивировали в МПБ с добавлением 1,0 мл сыворотки крови при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 5 ч и выполняли микроскопическое исследование препаратов, окрашенных метиленовым синим.

Оценку теста наличия хламидоспор проводили на нативных препаратах из культур микроорганизмов, выросших на рисовом агаре при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч.

При добавлении в агар Сабуро циклогексимида (0,5 г/л среды) учитывали рост микроорганизмов при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 72 ч.

Индикацию и идентификацию микроорганизмов проводили, учитывая характерные признаки роста микроорганизмов с применением общепринятых методов [20, 21].

Для учета биохимических свойств суточные культуры микроорганизмов (оптическая плотность $\text{OD} = 0,5$; длина волны 620 нм) вносили в лунки панели тест-системы HiCandida™ Identification Kit и культивировали при $(22,5 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. Идентификацию микроорганизмов проводили в соответствии с идентификационными таблицами и кодами указанной тест-системы.

Исследование динамики развития биопленки. Для учета динамики развития биопленок микроорганизмы культивировали в статических условиях при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 18, 24, 48 ч.

Для оценки денситометрических показателей по истечении указанного времени культивирования жидкость удаляли, осадок трижды промывали 200,0 мкл фосфатно-буферного раствора (рН 7,2). Фиксацию проводили 150,0 мкл 96°-го этилового спирта в течение

15 мин. Затем образцы подсушивали при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 20 мин, вносили 0,5%-й раствор кристаллического фиолетового и помещали в термостат при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ на 5 мин. Содержимое лунок удаляли, трижды промывали 200,0 мкл фосфатно-буферного раствора (pH 7,2) и подсушивали. Краситель элюировали 200,0 мкл 96°-го этилового спирта в течение 30 мин [13].

Оптическую плотность исследуемых образцов определяли по степени связывания кристаллического фиолетового (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия) с применением фотометрического анализатора ImmunoChem-2100 (High Technology Inc., США) при длине волны 580 нм (OD_{580}).

Для морфометрических исследований в чашки Петри помещали стекла и вносили 100,0 мл взвеси 18-часовых культур микроорганизмов в концентрации 10^5 КОЕ/мл. По истечении заданного времени культивирования микроорганизмов препараты фиксировали трехкратно, последовательно погружая в 96°-й спирт в течение 10 мин и высушивая на воздухе в течение 10 мин. Затем препараты окрашивали раствором генцианвиолета из набора окраски по Граму (БиоВитрум, Россия).

При репрезентативной выборке достоверной частоты встречаемости ($\geq 90,0\%$ поля зрения оптического микроскопа Carl ZEISS Axio Lab.A1, Германия) проводили микрофотосъемку цифровой камерой ADF PRO 08 (Китай) с разрешением матрицы 8 мегапикселей (4К).

Полученные данные обрабатывали методом статистического анализа с использованием критерия Стьюдента, результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$ [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индикация и идентификация микроорганизмов.

При наличии клинических признаков гингивита и одонтолитиаза у собак наблюдали интенсивные желто-серого цвета наложения, плотно прикрепленные к слизистой оболочке. Как правило, при удалении этих наложений выявляли ярко-красные язвочки.

При оптической микроскопии мазков-отпечатков из соскобов слизистой оболочки ротовой полости выявляли большое количество грамположительных дрожжевой формы микроорганизмов размером $1,1-2,1 \times 3,1-4,0$ мкм.

При $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ через 48 ч на агаре Сабуро микроорганизмы формировали блестящие колонии белого цвета.

Наличие хромогенных субстратов в индикаторной среде позволило дифференцировать колонии *N. glabratus* розового цвета, имеющие слегка фиолетовый оттенок (рис. 1).

Таблица

Дифференциальные признаки *N. glabratus*

Table

Differential features of *N. glabratus*

Культуры микроорганизмов	Дифференциальные признаки					
	Гифальные трубки	Хламидоспоры	Циклогексимид	Толерантность к температуре		
				$(35 \pm 2)^\circ\text{C}$	$(42 \pm 2)^\circ\text{C}$	$(45 \pm 2)^\circ\text{C}$
<i>N. glabratus</i> , ATCC 66032	–	–	–	+	+	+
<i>N. glabratus</i> , смыв с дорсальной поверхности языка	–	–	–	+	+	+
<i>N. glabratus</i> , смыв с десны	–	–	–	+	+	+

«+» – наличие роста микроорганизмов (growth of microorganisms); «–» – отсутствие роста микроорганизмов (no growth of microorganisms).

Микроскопические грибы *N. glabratus* сбраживали мальтозу, трегалозу; не сбраживали уреазу, мелибиозу, лактозу, сахарозу, галактозу и ксилозу. Микроорганизмы не обладали уреазной активностью.

При микроскопическом исследовании препаратов из культур микроорганизмов, выросших в МПБ с добавлением 1,0 мл сыворотки крови при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 5 ч, не выявляли образования гифальных проростковых трубок, соответственно, тест отрицательный.

В культурах микроорганизмов, выросших на рисовом агаре при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч, хламидоспор не обнаружено, следовательно, тест отрицательный.

При инкубировании посева при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 72 ч на агаре Сабуро, содержащем циклогексимид (0,5 г/л), рост микроорганизмов не наблюдали, соответственно, тест отрицательный.

В процессе учета толерантности микроорганизмов к температуре: (35 ± 2) , (42 ± 2) , $(45 \pm 2)^\circ\text{C}$, проведенного в течение 24 ч, выявили характерное помутнение жидкой среды Сабуро, наличие слабого осадка, на поверхности среды наличие серого цвета тонкой пленки, следовательно, тест положительный.

Референтный штамм и изоляты, независимо от источника выделения, имели характерные признаки дрожжеподобных грибов вида *N. glabratus* (табл.).

Динамика развития биопленок. При исследовании денситометрических и морфометрических показателей были выявлены общие закономерности развития биопленок изолятов *N. glabratus*, независимо от источника выделения.

В зависимости от времени культивирования микроорганизмов установили постепенное увеличение значений абсолютных величин оптической плотности



Рис. 1. Особенности роста *N. glabratus* на хромогенном агаре при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч

Fig. 1. Features of *N. glabratus* growth on chromogenic agar at $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ for 48 hours

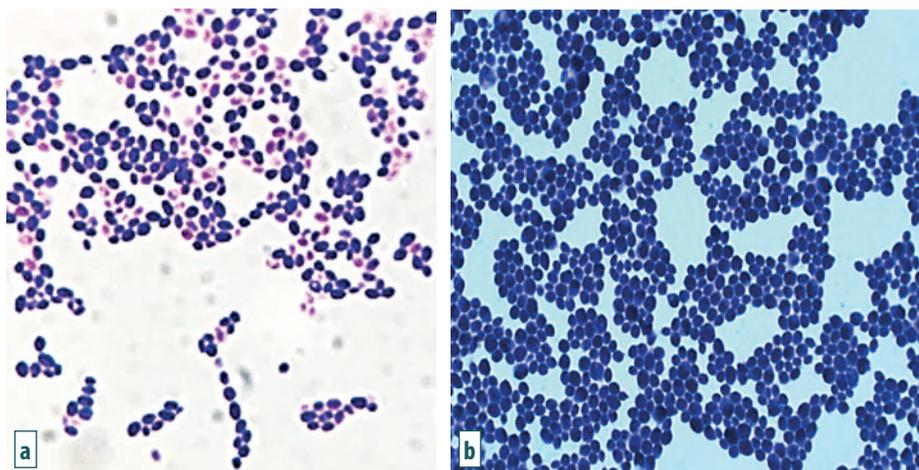


Рис. 2. Стадии формирования биопленки *N. glabratus* при (35 ± 2) °C на МПБ (дрожжевидные клетки типичной для вида формы и размеров, объединенные межклеточным матриксом): а – через 18 ч; б – через 24 ч. Окрасивание метиленовым синим, окуляр 10х, объектив 100х, иммерсия

Fig. 2. Stages of *N. glabratus* biofilm formation at (35 ± 2) °C in beef-extract broth (yeast-like cells of species-typical shape and size aggregated by the extracellular matrix): a – in 18 hours; b – in 24 hours. Methylene blue staining, ocular lens 10x, objective lens 100x, immersion

исследуемых образцов: через 18 ч – от $0,218 \pm 0,05$ до $0,221 \pm 0,08$; интенсивность формирования биопленок – $\geq 0,1$; через 24 ч – от $0,289 \pm 0,04$ до $0,297 \pm 0,09$; интенсивность формирования биопленок – $\geq 0,2$; через 48 ч – от $0,331 \pm 0,10$ до $0,350 \pm 0,08$; интенсивность формирования биопленок – $\geq 0,3$.

При репрезентативной выборке по морфометрическим параметрам достоверной частоты встречаемости ($\geq 90,0\%$ в поле зрения оптического микроскопа) обнаруживали объединенные межклеточным матриксом дрожжевидные клетки типичных для вида *N. glabratus* формы и размеров (рис. 2).

При развитии биопленок, в зависимости от времени культивирования, выявляли такие этапы, как адгезия, фиксация, коагрегация, микроколонии, дисперсия.

На ранних этапах развития за счет сорбции планктонных форм происходило первичное прикрепление – адгезия микроорганизмов к исследуемому субстрату (в наших исследованиях – к поверхности стекла). Эта

стадия считается обратимой, то есть прикрепившиеся клетки могут открепляться от субстрата и вновь переходить в планктонную форму.

По мере адгезии клеточные стенки микроорганизмов продуцировали экзоцеллюлярные молекулы, обеспечивающие фиксацию клеток к поверхности стекла. Прочно фиксированные к субстрату клетки способствовали адгезии последующих клеток.

Популяционная иммобилизация архитектоники зрелой трехмерной биопленки, в соответствии с условиями культивирования, опосредована феноменом quorum sensing. Это особая форма межклеточной коммуникации микроорганизмов за счет синтеза многочисленных экзоцеллюлярных молекул, концентрация которых пропорциональна плотности клеток.

При увеличении времени культивирования интенсивная пролиферация сопровождалась дифференциацией дрожжевых форм и формированием межклеточного матрикса (рис. 3).

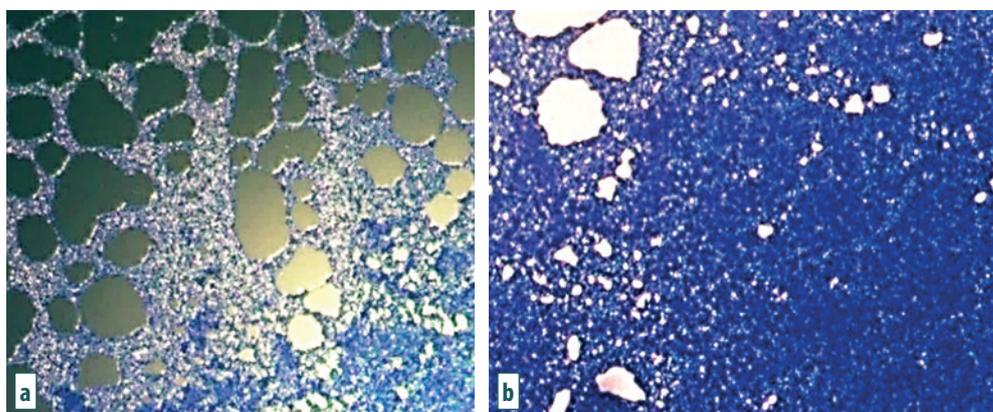


Рис. 3. Стадии формирования биопленки *N. glabratus* при (35 ± 2) °C на МПБ через 48 ч: интенсивная пролиферация клеток сопровождается формированием сетевидных структур и уплотнением межклеточного матрикса. Окрасивание генцианвиолетом: а – окуляр 10х, объектив 5х; б – окуляр 10х, объектив 10х

Fig. 3. Stages of *N. glabratus* biofilm formation at (35 ± 2) °C in beef-extract broth in 48 hours: intense cell proliferation is accompanied by the formation of net-like structures and extracellular matrix thickening. Gentian violet staining: a – ocular lens 10x, objective lens 5x; b – ocular lens 10x, objective lens 10x

Число прикрепившихся делящихся клеток достоверно увеличилось и, соответственно, наблюдался рост микроколоний, имеющих сходство с колониями, формирующимися на плотных питательных средах. При увеличении численности микроорганизмов за счет возрастания синтеза экзоцеллюлярных молекул формировались межклеточные связи, происходила иммобилизация популяции, именуемой зрелой биопленкой.

При достижении определенных размеров микроколоний периодически имела место дисперсия отдельных клеток, способных через некоторое время прикрепиться к поверхности и образовать новую микроколонию.

Общая закономерность упорядоченности и компактности многоклеточной гетероморфной популяции биопленок обусловлена стадиями клеточного цикла и степенью развития межклеточного матрикса. Клеточный состав зрелой биопленки был представлен овоидной или эллипсоидной формы клетками, имеющими типичные для вида размеры $(1,1-1,9) \times (3,1-3,4)$ мкм (рис. 4).

Популяционная иммобилизация архитектоники зрелой трехмерной биопленки *N. glabratus*, в соответствии с условиями культивирования, сопровождалась коагрегацией многочисленных гетероморфных клеток разных размеров и форм в зависимости от стадии клеточного цикла [12, 15, 18].

Результаты исследований общих закономерностей развития гетерогенной популяции микроорганизмов представляют перспективность для расширения границ познания механизмов адаптации убиквитарных микроорганизмов к длительной персистенции *in vivo* и *in vitro*.

Способы изучения морфометрических и денситометрических показателей биопленок без нарушения естественной архитектоники рекомендуется применять для оптимизации схемы микологических исследований, являющихся длительными и ретроспективными, а также при разработке эффективных способов лечения и профилактики микозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При микроскопии мазков-отпечатков из соскобов слизистой оболочки ротовой полости собак с клиническими признаками гингивита и одонтолитиаза выявили избыточный рост грамположительных дрожжевой формы микроорганизмов. В зависимости от времени культивирования микроорганизмов установили постепенное увеличение значений абсолютных величин оптической плотности. Реализация межклеточных коммуникаций достигалась коагрегацией гетероморфных структур, формирующих кластеры, между которыми выявлялись округлые образования, содержащие жидкость. Упорядоченность и компактность многоклеточной гетероморфной популяции зрелой биопленки обусловлена стадиями клеточного цикла и степенью развития межклеточного матрикса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CCBY-NC-SA3.0IGO. <https://www.who.int/publications/item/9789240060241>
2. Bednarek A., Satala D., Zawrotniak M., Nobbs A. H., Rapala-Kozik M., Kozik A. Glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase on the surface of *Candida albicans* and *Nakaseomyces glabratus* cells – a moonlighting protein that binds human vitronectin and plasminogen and can adsorb to pathogenic fungal cells via major adhesins Als3 and Epa6. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (2):1013. <https://doi.org/10.3390/ijms25021013>

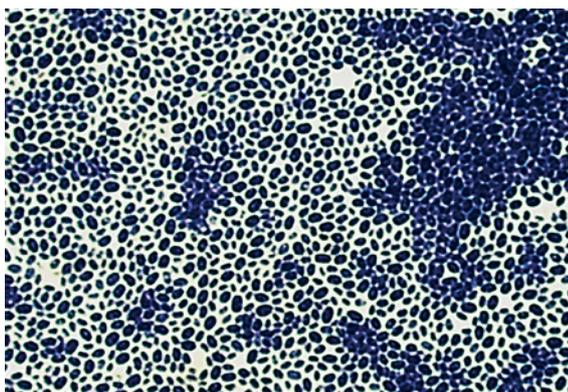


Рис. 4. Стадия формирования биопленки *N. glabratus* при (35 ± 2) °C на МПБ через 48 ч: упорядоченность и компактность многоклеточной гетероморфной популяции зрелой биопленки. Окрашивание генцианвиолетом, окуляр 10х, объектив 100х, иммерсия

Fig. 4. Stage of *N. glabratus* biofilm formation at (35 ± 2) °C on beef-extract broth in 48 hours: regularity and compactness of multicellular heteromorphic population of the mature biofilm. Gentian violet staining, ocular lens 10x, objective lens 100x, immersion

3. Jim K. K., Daems J. J. N., Boekholdt S. M., van Dijk K. *Nakaseomyces glabrata* endocarditis: A therapeutic dilemma. *Medical Mycology Case Reports*. 2023; 40: 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2023.04.002>
4. Rodrigues C. F., Rodrigues M. E., Silva S., Henriques M. *Candida glabrata* biofilms: How far have we come? *Journal of Fungi*. 2017; 3 (1):11. <https://doi.org/10.3390/jof3010011>
5. Bradford K., Meinkoth J., McKeirnen K., Love B. *Candida* peritonitis in dogs: Report of 5 cases. *Veterinary Clinical Pathology*. 2013; 42 (2): 227–233. <https://doi.org/10.1111/vcp.12047>
6. Berg K. J., Guzman D. S., Paul-Murphy J., Hawkins M. G., Byrne B. A. Diagnosis and treatment of *Candida glabrata* proventriculitis in an eclectus parrot (*Eclectus roratus*). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2022; 260 (4): 442–449. <https://doi.org/10.2460/javma.20.12.0670>
7. Garces A. Candidiasis in birds: An update: Candidiasis. *Journal of Veterinary Physiology and Pathology*. 2023; 2 (3): 42–46. <https://doi.org/10.58803/jvpp.v2i3.29>
8. Renner K., Hill S., Grinberg A., Weeden A. Pancreatic candidiasis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*. 2021; 7 (2):20551169211052889. <https://doi.org/10.1177/20551169211052889>
9. Talazadeh F., Ghorbanpoor M., Shahriyari A. Candidiasis in birds (*Galliformes*, *Anseriformes*, *Psittaciformes*, *Passeriformes*, and *Columbiformes*): A focus on antifungal susceptibility pattern of *Candida albicans* and *Non-albicans* isolates in avian clinical specimens. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2022; 46:100598. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2021.100598>
10. Woo S., Kim H.-H., Kang J.-H., Na K.-J., Yang M.-P. *Candida glabrata* infection of urinary bladder in a Chinchilla Persian cat. *Korean Journal of Veterinary Research*. 2017; 57 (2): 135–137. <https://doi.org/10.14405/kjvr.2017.57.2.135>
11. Александрова Н. А., Заславская М. И., Ипатова А. О., Махрова Т. В., Игнатова Н. И. Анализ биопленкообразования *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata* и *C. krusei*. *Проблемы медицинской микологии*. 2022; 24 (3): 48–50. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2022-3-48-50>
12. Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П. Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 132–138. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138>
13. Acuna E., Ndlovu E., Molaeitabari A., Shahina Z., Dahms T. E. S. Carvacrol-induced vacuole dysfunction and morphological consequences in *Nakaseomyces glabratus* and *Candida albicans*. *Microorganisms*. 2023; 11 (12):2915. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122915>
14. Kovács R., Majoros L. Fungal quorum-sensing molecules: A review of their antifungal effect against *Candida* biofilms. *Journal of Fungi*. 2020; 6 (3):99. <https://doi.org/10.3390/jof6030099>
15. Wang L.-L., Huang S.-J., Zhao J.-T., Liu J.-Y., Xiang M.-J. Regulatory role of Mss11 in *Candida glabrata* virulence: adhesion and biofilm formation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024; 13:1321094. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1321094>
16. Еноктаева О. В., Николенко М. В., Трушников Д. Ю., Барышникова Н. В., Соловьева С. В. Механизм формирования биопленок грибов рода *Candida* при кандидозной инфекции (обзор литературы).

Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (4): 3–8. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2021-4-3-8>

17. Maroc L., Shaker H., Shapiro R. S. Functional genetic characterization of stress tolerance and biofilm formation in *Nakaseomyces (Candida) glabrata* via a novel CRISPR activation system. *mSphere*. 2024; 9 (2):e00761-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00761-23>

18. Sachivkina N., Vasilieva E., Lenchenko E., Kuznetsova O., Karamyan A., Ibragimova A., et al. Reduction in pathogenicity in yeast-like fungi by farnesol in quail model. *Animals*. 2022; 12 (4):489. <https://doi.org/10.3390/ani12040489>

19. American Type Culture Collection (ATCC). <https://www.lgcstandards-atcc.org>

20. Мороз А. Ф., Снегирёва А. Е. Методические рекомендации. Грибы рода *Candida* (методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам): утв. директором НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН 20.04.2009. М.; 2009. 58 с. <http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf>

21. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. Под ред. И. Р. Дорожкойвой. М.: Мир; 2001. 468 с.

REFERENCES

1. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CCBY-NC-SA3.0IGO. <https://www.who.int/publications/item/9789240060241>

2. Bednarek A., Satala D., Zawrotniak M., Nobbs A. H., Rapala-Kozik M., Kozik A. Glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase on the surface of *Candida albicans* and *Nakaseomyces glabratus* cells – a moonlighting protein that binds human vitronectin and plasminogen and can adsorb to pathogenic fungal cells via major adhesins Als3 and Epa6. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (2):1013. <https://doi.org/10.3390/ijms25021013>

3. Jim K. K., Daems J. J. N., Boekholdt S. M., van Dijk K. *Nakaseomyces glabrata* endocarditis: A therapeutic dilemma. *Medical Mycology Case Reports*. 2023; 40: 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2023.04.002>

4. Rodrigues C. F., Rodrigues M. E., Silva S., Henriques M. *Candida glabrata* biofilms: How far have we come? *Journal of Fungi*. 2017; 3 (1):11. <https://doi.org/10.3390/jof3010011>

5. Bradford K., Meinkoth J., McKeirnen K., Love B. *Candida* peritonitis in dogs: Report of 5 cases. *Veterinary Clinical Pathology*. 2013; 42 (2): 227–233. <https://doi.org/10.1111/vcp.12047>

6. Berg K. J., Guzman D. S., Paul-Murphy J., Hawkins M. G., Byrne B. A. Diagnosis and treatment of *Candida glabrata* proventriculitis in an eclectus parrot (*Eclectus roratus*). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2022; 260 (4): 442–449. <https://doi.org/10.2460/javma.20.12.0670>

7. Garces A. Candidiasis in birds: An update: Candidiasis. *Journal of Veterinary Physiology and Pathology*. 2023; 2 (3): 42–46. <https://doi.org/10.58803/jvpp.v2i3.29>

8. Renner K., Hill S., Grinberg A., Weeden A. Pancreatic candidiasis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*. 2021; 7 (2):20551169211052889. <https://doi.org/10.1177/20551169211052889>

9. Talazadeh F., Ghorbanpoor M., Shahriyari A. Candidiasis in birds (*Galiliformes*, *Anseriformes*, *Psittaciformes*, *Passeriformes*, and *Columbiformes*): A focus on antifungal susceptibility pattern of *Candida albicans* and *Non-albicans* isolates in avian clinical specimens. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2022; 46:100598. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2021.100598>

10. Woo S., Kim H.-H., Kang J.-H., Na K.-J., Yang M.-P. *Candida glabrata* infection of urinary bladder in a Chinchilla Persian cat. *Korean Journal of Veterinary Research*. 2017; 57 (2): 135–137. <https://doi.org/10.14405/kjvr.2017.57.2.135>

11. Alexandrova N. A., Zaslavskaya M. I., Ipatova A. O., Makhrova T. V., Ignatova N. I. Biofilm formation analysis of *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata* and *C. krusei*. *Problems in Medical Mycology*. 2022; 24 (3): 48–50. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2022-3-48-50> (in Russ.)

12. Lenchenko E. M., Sachivkina N. P. Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi. *Veterinary Science Today*. 2020; (2): 132–138. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138>

13. Acuna E., Ndlovu E., Molaitbari A., Shahina Z., Dahms T. E. S. Carvacrol-induced vacuole dysfunction and morphological consequences in *Nakaseomyces glabratus* and *Candida albicans*. *Microorganisms*. 2023; 11 (12):2915. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122915>

14. Kovács R., Majoros L. Fungal quorum-sensing molecules: A review of their antifungal effect against *Candida* biofilms. *Journal of Fungi*. 2020; 6 (3):99. <https://doi.org/10.3390/jof6030099>

15. Wang L.-L., Huang S.-J., Zhao J.-T., Liu J.-Y., Xiang M.-J. Regulatory role of Mss11 in *Candida glabrata* virulence: adhesion and biofilm formation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024; 13:1321094. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1321094>

16. Enoktaeva O. V., Nikolenko M. V., Trushnikov D. Yu., Baryshnikova N. V., Solovieva S. V. Fungal biofilms formation mechanism of the genus *Candida* fungi in candida infection (literature review). *Problems in Medical Mycology*. 2021; 23 (4): 3–8. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2021-4-3-8>

17. Maroc L., Shaker H., Shapiro R. S. Functional genetic characterization of stress tolerance and biofilm formation in *Nakaseomyces (Candida) glabrata* via a novel CRISPR activation system. *mSphere*. 2024; 9 (2):e00761-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00761-23>

18. Sachivkina N., Vasilieva E., Lenchenko E., Kuznetsova O., Karamyan A., Ibragimova A., et al. Reduction in pathogenicity in yeast-like fungi by farnesol in quail model. *Animals*. 2022; 12 (4):489. <https://doi.org/10.3390/ani12040489>

19. American Type Culture Collection (ATCC). <https://www.lgcstandards-atcc.org>

20. Мороз А. Ф., Снегирёва А. Е. Методические рекомендации. Фунги рода *Candida* (методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам): утв. директором НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН 20.04.2009. Москва; 2009. 58 с. <http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf> (in Russ.)

21. Sutton D. A., Fothergill A. W., Rinaldi M. G. Guide to clinically significant fungi. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. 471 p.

Поступила в редакцию / Received 13.05.2024

Поступила после рецензирования / Revised 17.06.2024

Принята к публикации / Accepted 16.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ленченко Екатерина Михайловна, д-р вет. наук, профессор кафедры ветеринарной медицины, РОСБИОТЕХ, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2576-2020>, lenchenko-ekaterina@yandex.ru

Сачивкина Надежда Павловна, канд. биол. наук, доцент департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1100-929X>, sachivkina@yandex.ru

Лисейцев Андрей Владимирович, аспирант кафедры ветеринарной медицины, РОСБИОТЕХ, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5999-9977>, liswut@gmail.com

Ekaterina M. Lenchenko, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Russian Biotechnological University, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2576-2020>, lenchenko-ekaterina@yandex.ru

Nadezda P. Sachivkina, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1100-929X>, sachivkina@yandex.ru

Andrey V. Liseitsev, Postgraduate Student, Department of Veterinary Medicine, Russian Biotechnological University, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5999-9977>, liswut@gmail.com

Вклад авторов: Авторы внесли равный вклад в проведение исследования: сбор и анализ материала; определение целей и задач, методов исследования; формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи.

Contribution: The authors made equal contribution in the research: data collection and analysis; determination of the research goals, tasks and methods; laying down and scientific rationale of the conclusions, presentation of the key research results as the research paper.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-275-281>

УДК 619:616.98:578.831.3:616.34:636.22/.28.053.2

Характеристика микробиоты кишечного тракта у телят с различными формами острой катаральной бронхопневмонии

Н. Ю. Родионова¹, Е. В. Куликов¹, Е. Д. Сотникова¹, И. Е. Прозоровский¹, Ю. А. Ватников¹, В. Б. Руденко², П. А. Руденко¹

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, Россия

² Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (Филиал ГНЦ ИБХ РАН), проспект Науки, 6, г. Пушкино, 142290, Московская область, Россия

РЕЗЮМЕ

Кишечный барьер является одним из важнейших компонентов, поддерживающих гомеостаз в желудочно-кишечном тракте, поэтому изменения бактериального состава могут привести к повышенной проницаемости кишечника и кишечной транслокации условно-патогенных микроорганизмов с последующим развитием либо осложнением различных инфекционных заболеваний. Проведена сравнительная характеристика микробиоты кишечного тракта телят с компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонией в условиях животноводческих ферм Владимирской и Московской областей. Объектом исследования служили телята в возрасте 1–3 мес., больные острой катаральной бронхопневмонией ($n = 37$). Оценка степени тяжести заболевания осуществляли на основании проведенных клинико-лабораторных исследований. Контролем служил материал, отобранный от клинически здоровых животных ($n = 8$). Показано, что у телят при компенсированной острой катаральной бронхопневмонии качественный и количественный состав кишечного микробиома не отличается от клинически здоровых животных. При клинической манифестации субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонии у телят в кишечнике происходит существенный количественный и качественный сдвиг микробиома, что свидетельствует о возникновении дисбактериоза. Считаем, что данное направление достаточно актуально и требует дальнейших скрупулезных исследований.

Ключевые слова: бронхопневмония, дисбактериоз кишечника, микробиота, биотоп, кишечная транслокация, телята

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-26-00091, <https://rscf.ru/project/24-26-00091>).

Для цитирования: Родионова Н. Ю., Куликов Е. В., Сотникова Е. Д., Прозоровский И. Е., Ватников Ю. А., Руденко В. Б., Руденко П. А. Характеристика микробиоты кишечного тракта у телят с различными формами острой катаральной бронхопневмонии. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 275–281. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-275-281>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Руденко Павел Анатольевич, д-р вет. наук, профессор департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, Россия, pavelrudenko76@yandex.ru

Characteristics of the intestinal tract microbiota in calves with various forms of acute catarrhal bronchopneumonia

Natalia Yu. Rodionova¹, Evgeny V. Kulikov¹, Elena D. Sotnikova¹, Ivan E. Prozorovskiy¹, Yury A. Vatinikov¹, Victoria B. Rudenko², Pavel A. Rudenko¹

¹ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow 117198, Russia

² Branch of Shemyakin – Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 6 Prospekt Nauki, Pushchino 142290, Moscow Oblast, Russia

ABSTRACT

The intestinal barrier is one of the most important components that maintain gastrointestinal homeostasis, therefore changes in bacterial composition can lead to increased intestinal permeability and the development of intestinal translocation of opportunistic microorganisms, with the subsequent development or complication of various infectious diseases. A comparative description of the microbiota of the intestinal tract of calves with compensated, subcompensated and decompensated acute catarrhal bronchopneumonia of calves was carried out in the conditions of livestock farms of Vladimir and Moscow Oblasts. Calves aged 1–3 months with acute catarrhal bronchopneumonia ($n = 37$) were used for the study. The severity of the disease was assessed based on clinical and laboratory tests. The samples taken from clinically healthy animals ($n = 8$) were used as controls. It has been shown that in calves with compensated acute catarrhal bronchopneumonia, the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiome does not differ from clinically healthy animals. During the clinical manifestation of subcompensated and decompensated acute catarrhal bronchopneumonia in calves, a significant quantitative and qualitative shift in the microbiome occurs in the intestines, which indicates the occurrence of dysbiosis. We believe that this area is quite relevant and requires further scrupulous research.

© Родионова Н. Ю., Куликов Е. В., Сотникова Е. Д., Прозоровский И. Е., Ватников Ю. А., Руденко В. Б., Руденко П. А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

Keywords: bronchopneumonia, intestinal dysbiosis, microbiota, biotope, intestinal translocation, calves

Acknowledgment: This work has been supported by the grants the Russian Science Foundation (project No. 24-26-00091, <https://rscf.ru/project/24-26-00091>).

For citation: Rodionova N. Yu., Kulikov E. V., Sotnikova E. D., Prozorovskiy I. E., Vatnikov Yu. A., Rudenko V. B., Rudenko P. A. Characteristics of the intestinal tract microbiota in calves with various forms of acute catarrhal bronchopneumonia. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 275–281. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-275-281>

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

For correspondence: Pavel A. Rudenko, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow 117198, Russia, pavelrudenko76@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в связи с интенсификацией молочно-животноводства наблюдается увеличение концентрации крупного рогатого скота на животноводческих комплексах. Это, в свою очередь, создает неблагоприятные условия, способствующие снижению устойчивости животных к различным вредным воздействиям окружающей среды, в том числе к негативному влиянию ассоциаций условно-патогенной микрофлоры, циркулирующей в фермерских биогеоценозах [1, 2, 3]. Факторные инфекции у крупного рогатого скота встречаются достаточно часто и наносят значительный экономический ущерб животноводству. К числу наиболее частых факторных инфекций относятся акушерско-гинекологические заболевания коров, а также пневмоэнтериты телят. Для предотвращения данных инфекций крупного рогатого скота необходимо соблюдать профилактические меры, включающие регулярную вакцинацию, поддержание гигиены в стойлах животных, контроль за кормлением и поением, а также регулярный осмотр и лечение больных животных [4, 5, 6].

В настоящее время в животноводческих хозяйствах среди высокопродуктивных животных широко распространены респираторные заболевания, которые чаще всего диагностируются у молодняка. При этом экономические потери для отрасли складываются из падежа животных, потери продуктивности у больных или выздоровевших особей, замедления их роста и развития, затрат на лечение и профилактику [7]. Бронхопневмония телят регистрируется практически во всех зонах нашей страны и среди всех патологий в хозяйствах занимает второе место после желудочно-кишечных заболеваний, достигая 20–30% [8]. Этиологическими факторами неспецифической бронхопневмонии телят является комплекс причин: скученность содержания, снижение резистентности и иммунологической реактивности организма новорожденных животных, воздействие неблагоприятных факторов внешней среды, стресс, несбалансированное кормление, а также условно-патогенная микробиота дыхательных путей, которая в указанных условиях может приобрести патогенные свойства [9, 10, 11].

Триллионы микроорганизмов, обитающих в кишечном тракте, являются важными регуляторами здоровья, поэтому качественные и количественные нарушения в микробных биотопах кишечника могут вызывать либо осложнять различные заболевания инфекцион-

ного характера [12, 13, 14, 15]. Синдром «дырявой кишки» – это заболевание, характеризующееся повышенной проницаемостью кишечника. Поскольку кишечный барьер является одним из важнейших компонентов, поддерживающих гомеостаз в желудочно-кишечном тракте, потеря его целостности из-за изменений бактериального состава, снижения уровней экспрессии белков плотных соединений и повышенной концентрации провоспалительных цитокинов может привести к увеличению проницаемости кишечника с последующим развитием желудочно-кишечных и иных заболеваний. Транслокация микроорганизмов и их токсичных метаболитов за пределы биотопа – желудочно-кишечного тракта – является одним из последствий синдрома «дырявой кишки» [16, 17, 18].

Транслокация кишечной микробиоты является процессом, при котором микроорганизмы из кишечного тракта проникают через его стенку в кровоток и распространяются по организму. Это может играть значительную роль при развитии инфекционных заболеваний различной этиологии, в том числе и респираторного характера. Так, патогенные микроорганизмы, попадая в кровоток посредством кишечной транслокации, могут вызвать системный воспалительный ответ организма, что ухудшает течение инфекции. Также бактерии, проникая через стенку кишечника, могут стать причиной развития метастатических инфекций различных органов и тканей, что может привести к осложнению уже имеющегося заболевания и более тяжелому течению болезни. Кроме этого, кишечная транслокация микроорганизмов может способствовать формированию бактериемии, что может привести к развитию сепсиса и шокового состояния. Проникновение инфекционных агентов из кишечного тракта в кровоток может также стать причиной рецидивов инфекции после завершения антибиотикотерапии [19, 20, 21, 22].

В целом кишечная транслокация микроорганизмов играет важную роль в развитии и течении различных инфекционных заболеваний, поэтому контроль этого процесса может быть ключевым аспектом в лечении таких состояний. В этой связи изучение роли кишечной транслокации микроорганизмов при острой катаральной бронхопневмонии различной степени тяжести является актуальным вопросом, требующим своевременного и грамотного решения.

Новизна работы состоит в том, что впервые исследовано состояние биотопа прямой кишки у телят

с острой катаральной бронхопневмонией различной степени тяжести. Показано, что в зависимости от тяжести инфекционного процесса возникают существенные качественные и количественные сдвиги, характеризующиеся развитием дисбактериоза кишечника.

Цель работы – провести сравнительную характеристику микробиоты кишечного тракта телят с компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонией в условиях животноводческих ферм Владимирской и Московской областей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-26-00091, <https://rscf.ru/project/24-26-00091>) на базе животноводческих ферм Владимирской и Московской областей с общим поголовьем 3680 гол., в том числе 1690 коров. Бактериологические исследования проводили на базе ветеринарной лаборатории ООО «ВЕТТЕСТ» (г. Москва).

Объектом исследования служили телята в возрасте 1–3 мес., больные острой катаральной бронхопневмонией ($n = 37$). Диагноз ставили комплексно с учетом данных анамнеза, клинического осмотра, а также микробиологических исследований. Животные, которых лечили в течение 14 дней до отбора проб, были исключены из исследования. Оценку степени тяжести острой катаральной бронхопневмонии телят (1-я степень – компенсированная; 2-я степень – субкомпенсированная; 3-я степень – декомпенсированная) осуществляли на основании проведенных клинико-лабораторных исследований. В зависимости от степени тяжести бронхопневмонии животные были разделены на три группы: телята с легкой (компенсированной, $n = 12$), средней (субкомпенсированной, $n = 14$) и тяжелой (декомпенсированной, $n = 11$) степенью тяжести заболевания. Контролем служил материал, отобранный от клинически здоровых животных ($n = 8$).

От опытных телят в утренние часы отбирали пробы фекалий в стерильные пробирки. При проведении микробиологических исследований из полученного биологического материала с помощью пипетки Пастера производили посевы на питательные среды. Для дрожжеподобных грибов использовали глюкозный агар Сабуро; для стафилококков – пептонно-солевую среду, желточно-солевой агар и мясо-пептонный агар (МПА); для энтеробактерий – агар Эндо, среду Плоскирева, среду Кинга и висмут-сульфит агар; для бифидобактерий – среду Блаурокка; для лактобактерий – обезжиренное молоко и агар MRS. Посевы снова инкубировали в термостате при 37–38 °C в течение 24 ч, а при отсутствии роста чашки выдерживали до 3 дней. После изучения культурально-морфологических свойств из всех отдельных типовых колоний делали пересевы в пробирки и инкубировали при 37–38 °C в течение 24 ч. Полученные таким образом чистые культуры бактерий проверяли на подвижность в препаратах раздавленной капли с помощью фазово-контрастной микроскопии в затемненном поле зрения и подвергали идентификации.

Для количественного бактериологического исследования в стерильные пробирки со стерильным физиологическим раствором хлорида натрия в объеме 9,0 см³ отбирали 1,0 г фекалий. Из содержимого

первой пробирки, которое считалось за разведение 10⁻¹, готовили дальнейшие десятикратные разведения до 10⁻¹⁰. Затем из каждой пробирки проводили посевы 0,1 см³ полученной смеси в чашки Петри на поверхность твердых питательных сред (Эндо, МПА, Сабуро, Блаурокка, MRS, ПСЛ, Кинга, Ресселя, висмут-сульфит агар, желточно-солевой агар).

Количество микроорганизмов (С) в 1,0 см³ фекалий, отобранных от телят с острой катаральной бронхопневмонией, рассчитывали по приведенной ниже формуле и выражали в логарифмах с основанием 10:

$$C = (N/V) \times K,$$

где N – среднее количество колоний в одной бактериологической чашке; V – объем суспензии, который наносят во время посева на агар (см³); K – кратность разведения.

Морфологию бактерий изучали в мазках, окрашенных по Граму и Романовскому – Гимзе. Дальнейшую идентификацию по биохимическим свойствам осуществляли в соответствии с «Определителем бактерий Берджи»².

Полученные результаты исследований обрабатывали статистически и представляли в виде таблиц. Все расчеты проводили с помощью программы STATISTICA 7.0. (StatSoft, США), при этом предварительно оценивали нормальность распределения с помощью тестов Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения количественных переменных для сравнения двух групп применяли t -тест Стьюдента для независимых выборок. Рассчитывали среднее арифметическое (Mean), среднеквадратическую ошибку (SE) и стандартное отклонение (SD). Достоверность разницы анализов между показателями контрольной и опытными группами рассчитывали по методу Манна – Уитни³.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении эпизоотологического обследования выявлено 37 телят в возрасте от 1 до 3 мес. с острой катаральной бронхопневмонией. Клинические исследования позволили разделить животных на три группы по степени тяжести болезни: 12 телят отнести к легкой, компенсированной форме (незначительное угнетение, субфебрильная температура тела, поверхностное жесткое дыхание, серозные истечения из носа), 14 – к средней, субкомпенсированной (угнетение, повышение температуры, учащение пульса и дыхания, сухие хрипы и кашель, обильные серозно-катаральные истечения), а 11 – к тяжелой, декомпенсированной (выраженное угнетение и истощение, отсутствие аппетита, снижение реакции на внешние раздражители, повышение температуры, учащение пульса и дыхания, болезненный сухой кашель, хрипы, очаги притупления перкуторного звука, обильный серозно-катаральный экссудат зеленоватого цвета).

Проведение микробиологических исследований проб бронхоальвеолярного лаважа, отобранных от больных животных, показало, что возникновение бронхопневмонии у телят обусловлено достаточно

² Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уилльямс С. Определитель бактерий Берджи. В 2 т. М.: Мир; 1997. 800 с.

³ Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера; 2002. 312 с.

широким спектром условно-патогенной микрофлоры. Так, из образцов исследуемого содержимого бронхов было изолировано 115 бактерий тринадцати видов, отнесенных к девяти родам. При этом чаще из проб бронхоальвеолярного лаважа выделяли *Staphylococcus aureus* – 18 (15,6%) культур, *Mannheimia haemolytica* – 18 (15,6%) штаммов, *Escherichia coli* – 15 (13,1%) изолятов, *Pasteurella multocida* – 11 (9,6%) культур и *Klebsiella pneumoniae* – 11 (9,6%) штаммов. Значительно реже изолировали культуры *Staphylococcus intermedius* и *Proteus mirabilis* – по 3 (2,6%) случая соответственно.

Количество микроорганизмов (lg) в 1 г фекалий телят при компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонии представлены в таблице.

Анализ полученных результатов показал, что у телят при компенсированной острой катаральной бронхопневмонии качественный и количественный состав кишечного микробиома не отличается от клинически здоровых животных.

Представленные данные демонстрируют, что в кишечном биотопе животных с клинической манифестацией средней степени тяжести острой катаральной бронхопневмонии происходят существенные количественные и качественные сдвиги, которые свидетельствуют о развитии дисбактериоза. При субкомпенсированной бронхопневмонии в пробах фекалий телят регистрировали достоверное увеличение *Enterobacter* spp. – в 1,26 раза ($p < 0,05$), *Citrobacter* spp. – в 1,35 раза ($p < 0,05$), *Klebsiella* spp. – в 1,90 раза ($p < 0,01$), *Proteus* spp. – в 1,66 раза ($p < 0,01$), *Pseudomonas* spp. – в 2,58 раза ($p < 0,001$), *Clostridium* spp. – в 2,06 раза ($p < 0,001$) и *Candida* spp. – в 2,12 раза ($p < 0,01$) при сравнении с показателями животных группы контроля. Это наблюдали на фоне высокодостоверного

($p < 0,001$) снижения представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* с ($10,42 \pm 0,72$) до ($8,59 \pm 0,76$) lg и с ($10,94 \pm 0,73$) до ($9,06 \pm 0,62$) lg, на 17,56 и 17,18% соответственно при сравнении с показателями клинически здоровых телят.

Результаты, приведенные в таблице, также указывают на то, что у телят при наиболее тяжелой, декомпенсированной, степени острой катаральной бронхопневмонии наблюдали значительные количественные и качественные дисбиотические сдвиги микробиоты кишечного тракта. Так, у больных животных при исследовании проб фекалий регистрировали достоверное увеличение представителей родов *Escherichia* – в 1,21 раза ($p < 0,001$), *Enterobacter* – в 1,63 раза ($p < 0,001$), *Citrobacter* – в 1,83 раза ($p < 0,001$), *Klebsiella* – в 3,08 раза ($p < 0,001$), *Proteus* – в 1,90 раза ($p < 0,001$), *Pseudomonas* – в 3,57 раза ($p < 0,001$), *Staphylococcus* – в 1,24 раза ($p < 0,05$), *Streptococcus* – в 1,38 раза ($p < 0,01$), *Bacillus* – в 1,47 раза ($p < 0,01$), *Clostridium* – в 3,34 раза ($p < 0,001$) и дрожжевых грибов из рода *Candida* – в 2,82 раза ($p < 0,001$) при сравнении с показателями животных контрольной группы. Представленные количественные различия регистрировали на фоне высокодостоверного снижения в пробах фекалий опытных животных *Lactobacillus* spp. ($p < 0,001$) и *Bifidobacterium* spp. ($p < 0,001$) с ($10,42 \pm 0,72$) до ($6,51 \pm 1,08$) lg и с ($10,94 \pm 0,73$) до ($7,36 \pm 0,81$) lg, на 37,5 и 32,7% соответственно в сравнении с группой контроля. Приведенные данные получены нами впервые.

Качественная характеристика микрофлоры кишечника телят при острой катаральной бронхопневмонии компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной степени тяжести приведена на рисунке.

Как видим, при наиболее легком, компенсированном, течении болезни не выявляли представителей

Таблица

Состав и количество (lg) условно-патогенной микрофлоры в 1 г фекалий телят при различных формах острой катаральной бронхопневмонии ($M \pm m$)

Table

Composition and quantity (lg) of opportunistic microflora in 1 g of calf feces in various forms of acute catarrhal bronchopneumonia ($M \pm m$)

Род микроорганизмов	Контроль (n = 8)	Легкая степень (n = 12)	Средняя степень (n = 14)	Тяжелая степень (n = 11)
<i>Escherichia</i>	7,07 ± 0,96	7,40 ± 0,77	7,69 ± 0,79	8,55 ± 0,61***
<i>Enterobacter</i>	2,65 ± 0,70	2,72 ± 0,77	3,35 ± 0,50*	4,31 ± 0,82***
<i>Citrobacter</i>	2,26 ± 0,75	2,34 ± 0,78	3,05 ± 0,84*	4,14 ± 0,70***
<i>Klebsiella</i>	0	0	1,90 ± 1,43**	3,08 ± 1,02***
<i>Proteus</i>	1,79 ± 0,51	2,01 ± 0,69	2,97 ± 0,85**	3,40 ± 0,76***
<i>Pseudomonas</i>	0	0	2,58 ± 0,72***	3,57 ± 0,78***
<i>Staphylococcus</i>	3,61 ± 0,78	3,50 ± 0,71	3,93 ± 0,75	4,47 ± 0,76*
<i>Streptococcus</i>	3,59 ± 0,75	3,26 ± 0,91	4,17 ± 0,65	4,95 ± 0,78**
<i>Bacillus</i>	2,74 ± 0,89	2,65 ± 0,85	3,13 ± 0,49	4,02 ± 0,97**
<i>Clostridium</i>	0	0	2,06 ± 1,13***	3,34 ± 0,67***
<i>Lactobacillus</i>	10,42 ± 0,72	10,27 ± 0,67	8,59 ± 0,76***	6,51 ± 1,08***
<i>Bifidobacterium</i>	10,94 ± 0,73	10,72 ± 0,84	9,06 ± 0,62***	7,36 ± 0,81***
<i>Candida</i>	1,29 ± 1,48	1,28 ± 1,27	2,74 ± 0,77**	3,64 ± 0,88***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ в сравнении с группой контроля (as compared with the control group).

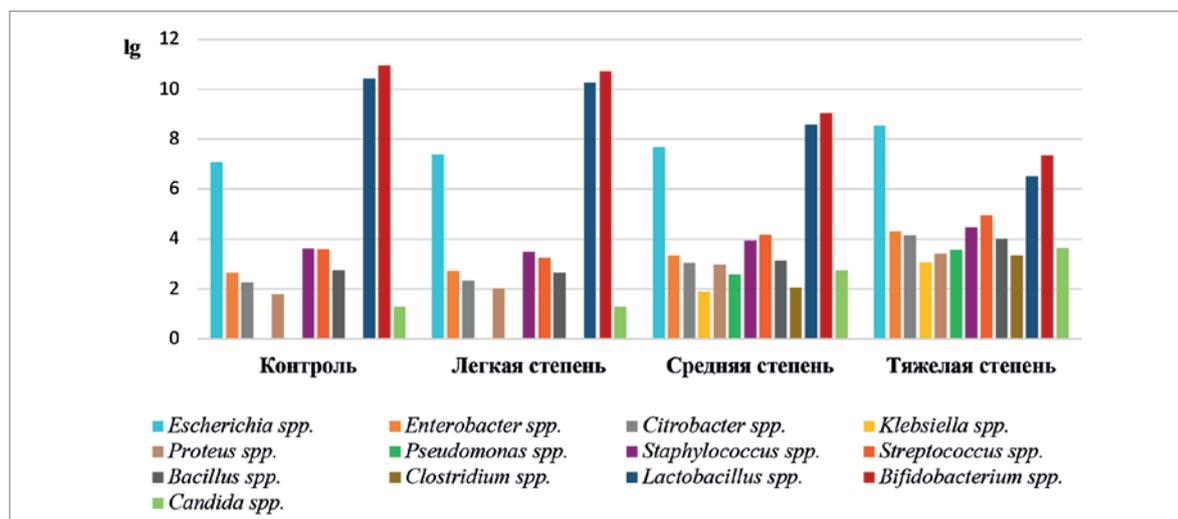


Рис. Качественные изменения кишечной микрофлоры у телят при острой катаральной бронхопневмонии различной степени тяжести

Fig. Qualitative changes in the intestinal microflora in calves with acute catarrhal bronchopneumonia of varying severity

родов *Klebsiella*, *Pseudomonas* и *Clostridium*, которые были изолированы при более тяжелом течении заболевания – субкомпенсированной и декомпенсированной степеней тяжести. Стоит предположить, что тяжесть бронхопневмонии может быть связана с развитием дисбактериоза кишечника и возникновением феномена кишечной транслокации микроорганизмов из природного, эволюционно сложившегося биотопа в очаг деструкции – легкие. Поэтому в дальнейших исследованиях необходимо определить идентичность микрофлоры кишечного тракта с изолированными из легочной ткани микроорганизмами при бронхопневмонии.

Таким образом, предложены новые критерии оценки тяжести острой катаральной бронхопневмонии у телят. Так, при клинической манифестации субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонии у телят в кишечнике происходят существенные количественные и качественные нарушения микробиома, что свидетельствует о возникновении дисбактериоза. Развитие дисбактериоза кишечника, предположительно, может служить своеобразным триггером формирования и прогрессирования патологий респираторного тракта. Полученные данные совпадают с рядом исследований состояния микробиома кишечника при воспалительных процессах различной локализации [20, 23]. Это подтверждает важную роль кишечной микробиоты и проницаемости кишечника (нормальной и повышенной) при манифестации многих инфекционных болезней. Однако доступные на настоящий момент данные выборочны и недостаточны, их оценка является предметом дискуссий, а клиническое значение требует дополнительного изучения. В этой связи считаем, что изучение состояния микрофлоры кишечника у животных при воспалительных и инфекционных процессах требует дальнейших скрупулезных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дана детальная характеристика микробиоты кишечного тракта у телят с острой катаральной бронхопневмонией при различной степени тяжести ин-

фекционного процесса. Показано, что у телят при компенсированной острой катаральной бронхопневмонии качественный и количественный состав кишечного микробиома не отличается от клинически здоровых животных. Установлено, что при субкомпенсированной острой катаральной бронхопневмонии в кишечном биотопе животных происходят существенные количественные и качественные сдвиги, которые свидетельствуют о развитии дисбактериоза. Так, в пробах фекалий регистрировали достоверное увеличение представителей родов *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* и *Candida* на фоне высокодостоверного снижения представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* на 17,56 и 17,18% соответственно при сравнении с показателями клинически здоровых телят. У телят с острой катаральной бронхопневмонией при наиболее тяжелой, декомпенсированной, степени течения наблюдали еще более значительные количественные и качественные дисбиотические сдвиги микробиоты кишечного тракта. Так, в пробах фекалий от больных животных при сравнении с показателями животных контрольной группы регистрировали достоверное увеличение представителей родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* и дрожжевых грибов из рода *Candida*. Это выявляли на фоне высокодостоверного снижения в пробах фекалий опытных животных представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* на 37,5 и 32,7% соответственно в сравнении с контролем. Следует отметить, что при субкомпенсированной и декомпенсированной острой катаральной бронхопневмонии в пробах фекалий телят, в отличие от здоровых животных и животных с легкой степенью патологии, обнаружены представители родов *Klebsiella*, *Pseudomonas* и *Clostridium*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang Y, Zhang P, Wu J., Chen S., Jin Y., Long J., et al. Transmission of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between animals, environment, and humans in the farm. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023; 30 (37): 86521–86539. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28532-7>

2. Van Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B. T., Levin S. A., Robinson T. P., et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015; 112 (18): 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
3. Alarcon P., Strang C. L., Chang Y. M., Tak M. Economic evaluation of antimicrobial usage surveillance in livestock. *Scientific & Technical Review*. 2023; 42: 42–51. <https://doi.org/10.20506/rst.42.3347>
4. Rudenko A., Glamazdin I., Lutsay V., Sysoeva N., Tresnitskiy S., Rudenko P. Parasitocenoses in cattle and their circulation in small farms. *E3S Web of Conferences*. 2022; 363:03029. <https://doi.org/10.1051/e3s-conf/202236303029>
5. Peng Z., Hu Z., Li Z., Zhang X., Jia C., Li T., et al. Antimicrobial resistance and population genomics of multidrug-resistant *Escherichia coli* in pig farms in mainland China. *Nature Communications*. 2022; 13:1116. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28750-6>
6. Patterson L., Navarro-Gonzalez N., Jay-Russell M. T., Aminabadi P., Pires A. F. A. Risk factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in livestock raised on diversified small-scale farms in California. *Epidemiology and Infection*. 2022; 150:e125. <https://doi.org/10.1017/S0950268822001005>
7. Buczinski S., Pardon B. Bovine respiratory disease diagnosis: What progress has been made in clinical diagnosis? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020; 36 (2): 399–423. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.004>
8. Сергеева Н. Н., Дедкова А. И. Эффективность различных схем лечения бронхопневмонии телят. *Вестник аграрной науки*. 2021; (5): 64–68. <https://doi.org/10.17238/issn2587-666X.2021.5.64>
9. Горпинченко Е. А., Лифенцова М. Н., Заико К. С., Ратников А. Р. Фармакопрофилактика неспецифической бронхопневмонии телят с использованием аэрозолей. *Ветеринарная патология*. 2021; (3): 24–33. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.80.88.001>
10. Kalaeva E., Kalaev V., Chernitskiy A., Alhamed M., Safonov V. Incidence risk of bronchopneumonia in newborn calves associated with intrauterine diselementosis. *Veterinary World*. 2020; 13 (5): 987–995. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.987-995>
11. Kuchmenko T., Shuba A., Umarchanov R., Chernitskiy A. Portable electronic nose for analyzing the smell of nasal secretions in calves: Toward noninvasive diagnosis of infectious bronchopneumonia. *Veterinary Sciences*. 2021; 8 (5):74. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050074>
12. Руденко П. А. Современные подходы к борьбе с гнойно-воспалительными процессами у мелких домашних животных. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2016; (3): 26–29. <https://elibrary.ru/waifrh>
13. Hsu C. L., Schnabl B. The gut-liver axis and gut microbiota in health and liver disease. *Nature Reviews Microbiology*. 2023; 21 (11): 719–733. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00904-3>
14. Zhang K., Wang N., Lu L., Ma X. Fermentation and metabolism of dietary protein by intestinal microorganisms. *Current Protein & Peptide Science*. 2020; 21 (8): 807–811. <https://doi.org/10.2174/1389203721666200212095902>
15. Andrade M. E. R., Araújo R. S., de Barros P. A. V., Soares A. D. N., Abrantes F. A., de Vasconcelos Generoso S. V., et al. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. *Clinical Nutrition*. 2015; 34 (6): 1080–1087. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.01.012>
16. Twardowska A., Makaro A., Binienda A., Fichna J., Salaga M. Preventing bacterial translocation in patients with leaky gut syndrome: nutrition and pharmacological treatment options. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (6):3204. <https://doi.org/10.3390/ijms23063204>
17. Bischoff S. C., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke J.-D., Serino M., et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*. 2014; 14:189. <https://doi.org/10.1186/s12876-014-0189-7>
18. Stanley D., Mason L. J., Mackin K. E., Srihanta Y. N., Lyras D., Prakash M. D., et al. Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. *Nature Medicine*. 2016; 22 (11): 1277–1284. <https://doi.org/10.1038/nm.4194>
19. Ардатовская М. Д., Шевцов В. В., Жакот А. Н., Феданков И. Н., Митрохин С. Д., Миронов А. Ю., Пономарева Е. В. Метаболиты микрофлоры различных биотопов при заболеваниях бронхолегочной системы. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2014; (3): 46–54. <https://elibrary.ru/szuuwt>
20. Руденко П. А. Роль дисбактериоза кишечника в механизмах формирования и прогрессирования хирургической инфекции у кошек. *Научная жизнь*. 2018; (1): 84–98. <https://elibrary.ru/ystjek>
21. Orlando G., Pisani F., Mastrantonio P., Bonanni L., Di Cocco P., D'Angelo M., et al. *Eubacterium plautii* infection in a kidney transplant recipient: a noteworthy case of pleural effusion and fever. *Clinical Transplantation*. 2008; 22 (4): 520–524. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0012.2008.00805.x>
22. Pernomian L., Duarte-Silva M., de Barros Cardoso C. R. The aryl hydrocarbon receptor (AHR) as a potential target for the control of intestinal inflammation: Insights from an immune and bacteria sensor receptor. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2020; 59 (3): 382–390. <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08789-3>
23. Zysset-Burri D. C., Morandi S., Herzog E. L., Berger L. E., Zinkernagel M. S. The role of the gut microbiome in eye diseases. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2023; 92:101117. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2022.101117>

REFERENCE

1. Wang Y., Zhang P., Wu J., Chen S., Jin Y., Long J., et al. Transmission of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between animals, environment, and humans in the farm. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023; 30 (37): 86521–86539. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28532-7>
2. Van Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B. T., Levin S. A., Robinson T. P., et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015; 112 (18): 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
3. Alarcon P., Strang C. L., Chang Y. M., Tak M. Economic evaluation of antimicrobial usage surveillance in livestock. *Scientific & Technical Review*. 2023; 42: 42–51. <https://doi.org/10.20506/rst.42.3347>
4. Rudenko A., Glamazdin I., Lutsay V., Sysoeva N., Tresnitskiy S., Rudenko P. Parasitocenoses in cattle and their circulation in small farms. *E3S Web of Conferences*. 2022; 363:03029. <https://doi.org/10.1051/e3s-conf/202236303029>
5. Peng Z., Hu Z., Li Z., Zhang X., Jia C., Li T., et al. Antimicrobial resistance and population genomics of multidrug-resistant *Escherichia coli* in pig farms in mainland China. *Nature Communications*. 2022; 13:1116. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28750-6>
6. Patterson L., Navarro-Gonzalez N., Jay-Russell M. T., Aminabadi P., Pires A. F. A. Risk factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in livestock raised on diversified small-scale farms in California. *Epidemiology and Infection*. 2022; 150:e125. <https://doi.org/10.1017/S0950268822001005>
7. Buczinski S., Pardon B. Bovine respiratory disease diagnosis: What progress has been made in clinical diagnosis? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020; 36 (2): 399–423. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.004>
8. Сергеева Н. Н., Дедкова А. И. The efficacy of different treatment schemes for bronchopneumonia of calves. *Bulletin of Agrarian Science*. 2021; (5): 64–68. <https://doi.org/10.17238/issn2587-666X.2021.5.64> (in Russ.)
9. Горпинченко Е. А., Лифенцова М. Н., Заико К. С., Ратников А. Р. Pharmacophylaxis of calves non-specific bronchopneumonia by using aerosols. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2021; (3): 24–33. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.80.88.001> (in Russ.)
10. Kalaeva E., Kalaev V., Chernitskiy A., Alhamed M., Safonov V. Incidence risk of bronchopneumonia in newborn calves associated with intrauterine diselementosis. *Veterinary World*. 2020; 13 (5): 987–995. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.987-995>
11. Kuchmenko T., Shuba A., Umarchanov R., Chernitskiy A. Portable electronic nose for analyzing the smell of nasal secretions in calves: Toward noninvasive diagnosis of infectious bronchopneumonia. *Veterinary Sciences*. 2021; 8 (5):74. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050074>
12. Руденко П. А. Modern approaches to the fight against inflammatory processes in small animals. *Russian Veterinary Journal. Small Domestic and Wild Animals*. 2016; (3): 26–29. <https://elibrary.ru/waifrh> (in Russ.)
13. Hsu C. L., Schnabl B. The gut-liver axis and gut microbiota in health and liver disease. *Nature Reviews Microbiology*. 2023; 21 (11): 719–733. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00904-3>
14. Zhang K., Wang N., Lu L., Ma X. Fermentation and metabolism of dietary protein by intestinal microorganisms. *Current Protein & Peptide Science*. 2020; 21 (8): 807–811. <https://doi.org/10.2174/1389203721666200212095902>
15. Andrade M. E. R., Araújo R. S., de Barros P. A. V., Soares A. D. N., Abrantes F. A., de Vasconcelos Generoso S. V., et al. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. *Clinical Nutrition*. 2015; 34 (6): 1080–1087. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.01.012>
16. Twardowska A., Makaro A., Binienda A., Fichna J., Salaga M. Preventing bacterial translocation in patients with leaky gut syndrome: nutrition and pharmacological treatment options. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (6):3204. <https://doi.org/10.3390/ijms23063204>
17. Bischoff S. C., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke J.-D., Serino M., et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*. 2014; 14:189. <https://doi.org/10.1186/s12876-014-0189-7>
18. Stanley D., Mason L. J., Mackin K. E., Srihanta Y. N., Lyras D., Prakash M. D., et al. Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. *Nature Medicine*. 2016; 22 (11): 1277–1284. <https://doi.org/10.1038/nm.4194>

19. Ardatskaya M. D., Shevtsov V. V., Zhakot A. N., Fedankov I. N., Mitrokhin S. D., Mironov A. Yu., Ponomareva E. V. Microflora metabolites of different habitats in bronchopulmonary diseases. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2014; (3): 46–54. <https://elibrary.ru/szuuwt> (in Russ.)

20. Rudenko P. A. The role of intestinal dysbacteriosis in the mechanisms of formation and progress of surgical infection in cats. *Scientific Life*. 2018; (1): 84–98. <https://elibrary.ru/ystjek> (in Russ.)

21. Orlando G., Pisani F., Mastrantonio P., Bonanni L., Di Cocco P., D'Angelo M., et al. *Eubacterium plautii* infection in a kidney transplant recipient: a noteworthy case of pleural effusion and fever. *Clinical Transplantation*. 2008; 22 (4): 520–524. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0012.2008.00805.x>

22. Pernomian L., Duarte-Silva M., de Barros Cardoso C. R. The aryl hydrocarbon receptor (AHR) as a potential target for the control of intestinal inflammation: Insights from an immune and bacteria sensor receptor. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2020; 59 (3): 382–390. <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08789-3>

23. Zysset-Burri D. C., Morandi S., Herzog E. L., Berger L. E., Zinkernagel M. S. The role of the gut microbiome in eye diseases. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2023; 92:101117. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2022.101117>

Поступила в редакцию / Received 11.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 14.05.2024

Принята к публикации / Accepted 17.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Родионова Наталья Юрьевна, ассистент департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8728-2594>, sapego-nyu@rudn.ru

Куликов Евгений Владимирович, канд. биол. наук, доцент департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6936-2163>, kulikov-ev@rudn.ru

Сотникова Елена Дмитриевна, канд. биол. наук, доцент департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1253-1573>, sotnikova-ed@rudn.ru

Прозоровский Иван Ежиевич, ассистент департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1849-3849>, prozorovskiy-ie@rudn.ru

Ватников Юрий Анатольевич, д-р вет. наук, профессор, директор департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0036-3402>, vatnikov-yua@rudn.ru

Руденко Виктория Борисовна, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний Филиала ГНЦ ИБХ РАН, г. Пущино, Московская область, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9652-7995>, vika.rudenko1983@yandex.ru

Руденко Павел Анатольевич, д-р вет. наук, профессор департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0418-9918>, pavelrudenko76@yandex.ru

Natalia Yu. Rodionova, Assistant, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8728-2594>, sapego-nyu@rudn.ru

Evgeny V. Kulikov, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6936-2163>, kulikov-ev@rudn.ru

Elena D. Sotnikova, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1253-1573>, sotnikova-ed@rudn.ru

Ivan E. Prozorovskiy, Assistant, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1849-3849>, prozorovskiy-ie@rudn.ru

Yury A. Vatnikov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Director of the Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0036-3402>, vatnikov-yua@rudn.ru

Victoria B. Rudenko, Junior Researcher, Laboratory of Biological Testing, Branch of Shemyakin – Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9652-7995>, vika.rudenko1983@yandex.ru

Pavel A. Rudenko, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0418-9918>, pavelrudenko76@yandex.ru

Вклад авторов: Родионова Н. Ю. – методология, проведение экспериментов; Куликов Е. В. – визуализация результатов; Сотникова Е. Д. – анализ и обобщение; Проzorovskiy И. Е. – статистические расчеты; Ватников Ю. А. – помощь в оформлении статьи; Руденко В. Б. – анализ и обобщение; Руденко П. А. – концептуализация, валидация, планирование исследования.

Contribution: Rodionova N. Yu. – methodology, conducting experiments; Kulikov E. V. – visualization of results; Sotnikova E. D. – analysis and synthesis; Prozorovskiy I. E. – statistical calculations; Vatnikov Yu. A. – assistance in paper preparation; Rudenko V. B. – analysis and synthesis; Rudenko P. A. – conceptualization, validation, study design.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-282-291>
УДК 619:616.9:631.145:636.4:616-036.22(470)

Ситуационный анализ по болезням свиней: общая оценка рисков и приоритизация эпизоотических угроз для систем биозащиты свиноводческих предприятий в Российской Федерации

А. С. Оганесян, М. А. Шибаяев, О. Н. Петрова, Н. Е. Баскакова, А. К. Караулов

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

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты ситуационного анализа по болезням свиней в Российской Федерации и экспертной оценки, в которой приоритизирован список значимых для промышленного свиноводства страны патогенов. Использованный способ оценки экспертного мнения в ситуационном анализе позволяет быстро реализовать и интерпретировать ситуацию, выделяя приоритеты по болезням для дальнейшего обсуждения. Произведенные расчеты показали достаточный уровень согласованности мнений экспертов (коэффициент конкордации $W = 0,61$), а расчетный критерий согласия Пирсона $\chi^2 = 51,33$ ($\geq 21,02607$) указывал на то, что конкордация не случайная и результаты могут использоваться в дальнейших исследованиях. Обсуждены особенности эпизоотологии возбудителей африканской чумы свиней, классической чумы свиней, репродуктивно-респираторного синдрома свиней, способные повлиять на эффективность систем биозащиты свиноводческих предприятий, а также дальнейшие пути по улучшению мер управления биозащитой. Совокупный риск для промышленного свиноводства в Российской Федерации со стороны внешних источников в настоящей ситуации охарактеризован как permanently высокий, требующий поддержания мер управления рисками на свиноводческих предприятиях как администрацией, так и государственной ветеринарной службой. Меры биозащиты для противодействия внешним угрозам рекомендовано акцентировать на таких заболеваниях, как африканская чума свиней (вес $\lambda = 0,52$), репродуктивно-респираторный синдром свиней ($\lambda = 0,071$), классическая чума свиней ($\lambda = 0,068$) и эмерджентных для Российской Федерации инфекциях ($\lambda = 0,05$) соответственно полученному весу по итогам экспертной оценки. Остальным значимым для свиноводства страны угрозам: энзоотическая пневмония свиней, актинобациллезная плевропневмония свиней, болезнь Ауески, стрептококкоз (*Streptococcus suis*), цирковирусная инфекция свиней, ящур, лептоспироз, трансмиссивный гастроэнтерит свиней, цистицеркоз ($\lambda = 0,02 \dots 0,05$) – представляется возможным уделить равное внимание в системах биозащиты предприятий. Наличие государственной политики эрадикации африканской чумы свиней, репродуктивно-респираторного синдрома свиней, классической чумы свиней (с основательным изменением существующего официального контроля оборота поголовья, зонирования, качества диагностики и профилактики, внедрения стандартов биозащиты) является наиболее значимым фактором, без которого перспектива искоренения болезней сомнительна.

Ключевые слова: болезни свиней, эпизоотическая ситуация, свиноводство, биозащита, ветеринарно-санитарные меры

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие». Авторы выражают благодарность сотрудникам ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) за экспертное участие в опросе: К. Н. Груздеву, д-ру биол. наук, профессору, главному научному сотруднику; Д. А. Бирюченкову, канд. вет. наук, заведующему лабораторией профилактики болезней свиней; А. С. Иголкину, канд. вет. наук, заведующему референтной лабораторией по африканской чуме свиней, заместителю руководителя лабораторно-диагностического центра.

Для цитирования: Оганесян А. С., Шибаяев М. А., Петрова О. Н., Баскакова Н. Е., Караулов А. К. Ситуационный анализ по болезням свиней: общая оценка рисков и приоритизация эпизоотических угроз для систем биозащиты свиноводческих предприятий в Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 282–291. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-282-291>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Оганесян Андрей Серожович, канд. вет. наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, oganesyan@arriah.ru

Situational analysis on porcine diseases: general risk assessment and prioritization of epizootic threats to biosecurity systems of pig establishments in the Russian Federation

Andrey S. Oganessian, Mikhail A. Shibayev, Olga N. Petrova, Natalia Ye. Baskakova, Anton K. Karaulov

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

ABSTRACT

The results of the situational analysis on porcine diseases in the Russian Federation and the expert assessment prioritizing the list of porcine pathogens significant for the pig industry of the country are presented. The method applied to analyse the expert estimates in the situational analysis allows for rapid assessment and interpretation of the situation with identification of priority diseases to be further addressed. The calculations demonstrated the sufficient degree of agreement among the experts (coefficient of concordance $W = 0.61$), and Pearson's chi-squared test statistic $\chi^2 = 51.33$ (≥ 21.02607) indicated that the concordance is not random and the results can be used in subsequent studies. The specific features of epizootiology of the agents of African swine fever, classical swine fever, porcine reproductive and respiratory syndrome that can impact the effectiveness of biosecurity systems of pig establishments, as well as further ways for improving biosecurity management measures are discussed. The overall risk for the pig industry in the Russian Federation that is associated with external sources is currently characterized as permanently high, requiring maintaining risk management measures at the pig establishments by both the managerial staff of the establishments and the State Veterinary Service. It is recommended that biosecurity measures against external threats should focus on diseases such as African swine fever (weight $\lambda = 0.52$), porcine reproductive and respiratory syndrome ($\lambda = 0.071$), classical swine fever ($\lambda = 0.068$) and infections considered emerging for the Russian Federation ($\lambda = 0.05$) according to the weights based on the expert estimation results. The biosecurity systems of the establishments should equally address other threats significant for the pig industry of the country: swine enzootic pneumonia, porcine pleuropneumonia (*Actinobacillus pleuropneumoniae*), Aujeszky's disease, streptococcosis (*Streptococcus suis*), porcine circovirus infection, foot-and-mouth disease, leptospirosis, transmissible gastroenteritis, cysticercosis ($\lambda = 0.02 \dots 0.05$). The improvement of the governmental policy for eradication of African swine fever, porcine reproductive and respiratory syndrome, classical swine fever (including the substantial modification of the existing official pig turnover control, zoning, diagnosis and prevention quality, as well as the implementation of biosecurity standards) is the most significant factor, without which the disease eradication perspective is questionable.

Keywords: porcine diseases, epizootic situation, pig industry, biosecurity, veterinary and sanitary measures

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic "Veterinary Welfare". The authors express their gratitude to the following staff members of the Federal Centre for Animal Health (Vladimir) for expert participation in the survey: K. N. Gruzdev, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher; D. A. Biryuchenkov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Porcine Disease Prevention; A. S. Igolkin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African Swine Fever, Deputy Head of Laboratory and Diagnosis Centre.

For citation: Oganessian A. S., Shibayev M. A., Petrova O. N., Baskakova N. Ye., Karaulov A. K. Situational analysis on porcine diseases: general risk assessment and prioritization of epizootic threats to biosecurity systems of pig establishments in the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 282–291. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-282-291>

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

For correspondence: Andrey S. Oganessian, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, oganesyan@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Биозащита, по определению Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), – это комплекс мер и управленческих решений, направленных на снижение риска заноса болезней, инфекций или инвазий в популяцию животных, укоренения внутри популяции и распространения за ее пределы. Комплекс мероприятий направлен также на снижение микробного/вирусного фона, прерывание путей распространения патогенов внутри предприятия и предотвращение заноса инфекции извне, который включает такие специфические и неспецифические меры, как: поддержание эпизоотического статуса предприятия (гигиена помещений, кормов, воды, персонала и животных, проведение ветеринарных обработок); соблюдение технологий содержания животных, санитарной обработки помещений, транспорта, fomитов, кормопроводов и водопроводов (чистка, мойка и дезинфекция); предотвращение заноса инфекции (соблюдение ветеринарно-санитарного режима сотрудниками, а также при поступлении на предприятие животных, кормов, оборудования и др., проведение мероприятий по дезинфекции, дезинсекции, дератизации). Биозащита предприятий в цепи противоэпизоотических мероприятий глобально служит для выигрыша времени, необходимого для раннего

выявления инфекционного агента в потоке производства и в начале действий по ликвидации болезни на территории зоны или страны с целью предотвращения развития эпизоотии.

Наиболее важным при этом становится обладание информацией о внешних угрозах (эпизоотическая ситуация на территории расположения, сезонное благополучие/неблагополучие домашних и диких популяций животных и птиц), а также факторах, предрасполагающих к изменению масштабов внешних угроз (направленность животноводческой отрасли региона, кормопроизводства и переработки животноводческой продукции; ориентированность карантинной политики ветеринарного органа региона; сезонная, социально и экономически обусловленная активность различных групп городского и сельского населения, структура защищенного поголовья и его связанность). Изучение особенности эпизоотологии болезней свиней в условиях промышленного свиноводства и приоритизация их значимости позволит разрабатывать адекватные меры биозащиты для свиноводческого сектора [1].

В этой связи описание и оценка внешних эпизоотических угроз для предприятий свиноводства и их приоритизация остается актуальной темой для

ситуационного анализа в рамках обсуждения вопросов организации и развития мер биозащиты свиноводческих предприятий в Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценку внешних эпизоотических угроз для свиноводства проводили в виде ситуационного анализа с обсуждением особенностей возбудителей, что позволяло выявить пробелы мер биозащиты. В работе использовали официальные данные о болезнях свиней, данные из открытых официальных источников и профильных средств массовой информации [2, 3].

Оценки получали в ходе опроса экспертов лабораторно-диагностического (3 человека) и информационно-аналитического (4 человека – авторы статьи, кроме Н. Е. Баскаковой) центров ФГБУ «ВНИИЗЖ». Сведение результатов, их обсуждение и описание особенностей для управления инфекцией по приоритизированному списку проводилось авторами статьи (5 человек).

Степень значимости угроз для отечественного свиноводства оценили эксперты ($m = 7$) путем присвоения им рангового номера. Всего оценивалось 13 угроз ($n = 13$): 12 болезней/возбудителей и 1 категория – эмерджентные болезни (экзотические для РФ и ранее не регистрировавшиеся). Угрозе, которой эксперт давал наивысшую оценку, присваивался ранг 13. Если эксперт признавал несколько факторов равнозначными, то им присваивался одинаковый ранговый номер. На основе данных анкетного опроса составлялась сводная матрица рангов; переформирование рангов, полученных от экспертов, производилось без изменения мнения экспертов. Получали переформатированную матрицу рангов, на основе которой рассчитывали ранжированный список сумм рангов и средних рангов для 13 угроз; на основе полученных сумм рангов вычисляли показатели весомости рассмотренных угроз, преобразуя матрицу опроса в матрицу преобразованных рангов. Оценку полученных результатов экспертного опроса проводили, рассчитывая коэффициент конкордации Кендалла (W) [4] для случаев, когда имеются связанные ранги (одинаковые значения рангов в оценках одного эксперта), по формуле:

$$W = \frac{S}{\frac{1}{12} m^2 (n^3 - n) - m \sum T_i},$$

где S – сумма квадратов отклонений всех оценок рангов каждого объекта экспертизы от среднего значения;

n – количество оцениваемых угроз;

m – количество экспертов;

T_i – количество связок (видов повторяющихся элементов) в оценках i -го эксперта:

$$T_i = \frac{1}{12} (\sum (t_i^3 - t_i)),$$

где t_i – количество элементов в l -й связке для i -го эксперта (количество повторяющихся элементов).

Оценку значимости коэффициента конкордации Кендалла проводили, используя критерий согласия Пирсона (χ^2). Показатели весомости рассмотренных угроз (λ) получили, преобразовав матрицу опроса в матрицу преобразованных рангов (по формуле $S_{ij} = X_{ij} - X_{j \max}$, где $X_{j \max} = 13$).

Результаты приоритизации представили графически в виде ранжированного списка угроз и диаграммы с весовым коэффициентом (λ), отражающим значимость угрозы и обсуждения наиболее значимых угроз.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для промышленного свиноводства эпизоотически значимыми угрозами, в том числе и трансграничными, являются: 1) сибирская язва; 2) ящур; 3) болезнь Ауески (БА); 4) классическая чума свиней (КЧС); 5) африканская чума свиней (АЧС); 6) репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС); 7) везикулярная болезнь свиней; 8) вирусная инфекция Нипах; 9) цистицеркоз; 10) бруцеллез свиней; 11) бешенство; 12) трихинеллез; 13) туберкулез; 14) вирусный трансмиссивный гастроэнтерит свиней (ТГС); 15) эпидемическая диарея свиней; 16) рожа свиней; 17) энзоотическая пневмония (*Mycoplasma hyorheumoniae*); 18) парвовирусная инфекция свиней; 19) цирковирусная инфекция свиней (ЦВИС); 20) актинобациллезная плевропневмония; 21) болезнь Тешена; 22) болезнь Глессера (*Haemophilus parasuis*); 23) стрептококкоз (*Streptococcus suis*); 24) лептоспироз; 25) сенекавирусная инфекция; 26) дизентерия свиней; 27) грипп свиней; 28) оппортунистические бактериальные инфекции [2, 3, 5, 6].

Согласно официальным данным о болезнях свиней за 2022 г., в популяции свиней и кабанов на территории РФ были зарегистрированы случаи рожи свиней (1), бешенства (2), хламидиоза (2), микоплазмоза (3), пастереллеза (4), псевдомоноза (6), трихинеллеза (6), эхинококкоза (6), БА (10), туберкулеза (16), парвовирусной инфекции свиней (20), лептоспироза (42), отечной болезни (383), колибактериоза (2394) и АЧС (6626) [2].

Сибирская язва, бешенство, трихинеллез, туберкулез и бруцеллез свиней подлежат контролю со стороны государственных ветеринарных органов РФ в соответствии с исторически доказавшим свою надежность надзором, затрагивающим все эпизоотологически значимые сферы контроля. Таким образом, меры по обеспечению благополучия животных и человека (населения) реализованы в стране комплексно. Эпизоотическая ситуация в целом по РФ по этим болезням свиней стабильная (контролируемый риск при стабильном уровне надзора и профилактики), превышения эпидемических пороговых значений (с 2020 по 1-й квартал 2023 г.) в последние 3 года не регистрировалось [2]. На конкретном же предприятии наибольшее влияние на уровень риска ожидаемо будут оказывать полнота ветеринарного надзора в популяции домашних и диких свиней на территориях ведения свиноводства, изолированность популяций и качество вакцинации, где это применимо. Выявление случая возникновения любого из данных заболеваний в цепочке промышленного производства свинины требует немедленного введения мер по установлению и ликвидации источника. Вне зависимости от локальной значимости данных болезней для предприятий, в связи с рисками для человека значимость данных болезней принимается как высокая и далее не обсуждается.

Результаты экспертной оценки по ранжированию 13 основных угроз по значимости для отечественного свиноводства (рис.) показали, что превалирующей приоритет по относительному весу оценки (λ) имеет АЧС (52%).

Кроме того, относительно значимое место занимают РРСС (7,1%) и КЧС (6,8%). Эмерджентные для РФ инфекции (5%) также имеют больший приоритет, чем остальные угрозы (энзоотическая пневмония свиней, актинобациллезная плевропневмония свиней, БА, стрептококкоз (*S. suis*), ЦВИС, ящур, лептоспироз, ТГС,

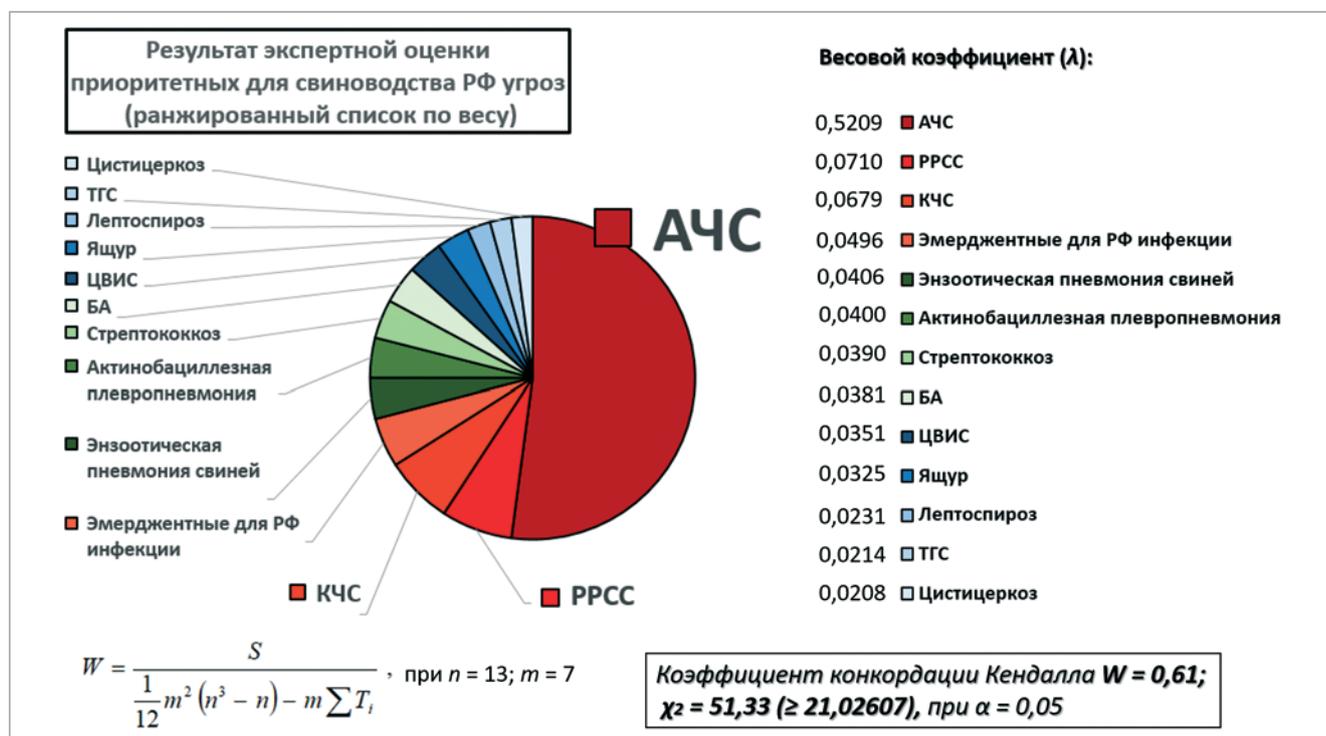


Рис. Результаты экспертной оценки ($m = 7$) ранжирования угроз ($n = 13$) по общей значимости для свиноводства РФ
 Fig. Results of assessment of threats ($n = 13$) ranked by experts ($m = 7$) according to their significance for the pig industry of the Russian Federation

цистицеркоз), которые оценены для отечественного свиноводства как имеющие умеренный и низкий приоритет (относительный вес < 5%). Полученное значение коэффициента конкордации Кендалла $W = 0,61$ свидетельствует о достаточной согласованности мнений экспертов в целом, а расчетный $\chi^2 = 51,33 (\geq 21,02607)$ говорит о том, что конкордация не случайная и результаты могут использоваться в дальнейших исследованиях. Как показано на рисунке, в приоритет значимости внешних угроз попали три патогена, в этой связи сконцентрируем внимание на обсуждении АЧС, PPCC и КЧС (табл.).

Африканская чума свиней. К 2023 г. панзоотия АЧС охватила 36 стран мира, в том числе значительные территории Евразии. Проблема распространения вируса АЧС среди домашних и диких свиней в России существует уже 16 лет [2, 3]. Коммерчески доступной вакцины против АЧС, отвечающей рекомендациям ВОЗЖ по требованиям безопасности и эффективности, нет. Основным фактором, способствующим трансграничному распространению инфекции, является человеческий фактор (в нашей стране он также официально признан главным Постановлением Совета Федерации Федерального Собрания РФ от 28.06.2017 № 207-СФ¹), к которому в ряде случаев можно отнести не только пренебрежение и осознанное игнорирование правил биозащиты, недостаток компетенций, но и затягивание проведения профилактических и эрадикационных мероприятий. Особое внимание отводится изучению вероятных, в том числе механических, переносчиков вируса АЧС, что с учетом мировых трендов изменения климатических и экологических факторов – задача, набирающая актуальность и для территории РФ [7]. Вы-

явление вируса АЧС на благополучных территориях у восприимчивых животных, а также обнаружение его генома в образцах готовой продукции могут свидетельствовать о сохраняющемся тренде неблагополучия.

К числу факторов, поддерживающих распространение АЧС в РФ к 2013 г., относили разнообразную структуру свиноводства во всех федеральных округах РФ и высокую долю личных подсобных хозяйств (ЛПХ) [15], которая к 2023 г. значительно снизилась. Национальные системы производства свинины в РФ в период эпизодии АЧС 2007–2023 гг. увеличили число компартов и размеры стад в закрытых системах производства свиней, внедряли планы биозащиты. Однако управление популяциями и управление биозащитой по всей цепочке не были системно налажены. Поэтому не удалось полностью снизить возросший риск распространения болезни, коррелирующий с ростом числа ферм/связей и расширением оборота свиней и мяса в условиях формирования «серого рынка» животных и мяса за пределами и вокруг производственных систем.

Существующая в странах Восточной Европы система производства свинины является сочетанием крупных и малых свиноферм, что свойственно энзоотическим по АЧС странам [16]. Искоренение АЧС в Испании, Португалии и Чехии сопровождалось полным перестраиванием государственной политики надзора за болезнью, учета поголовья свиней, внедрения и контроля зонирования, качественным изменением диагностики и биозащиты предприятий. Ключевой при рассмотрении риска по АЧС является оценка риска в системах биозащиты предприятий [17], а соответствие рекомендациям ВОЗЖ по принципам компарментализации по АЧС может послужить механизмом сдерживания предприятиями распространения болезни [18]. Главными составляющими мер борьбы с АЧС являются

¹ <https://base.garant.ru/71706886/?ysclid=iz81cejes4538929535>

своевременная и точная диагностика, уничтожение зараженных стад, установление зон ограничения и отслеживание возможных контактов. Будущая борьба с АЧС должна быть сосредоточена на усилении ограничительных мер, компенсации ущерба, трассировки, программах борьбы с дикими кабаном, строгих мерах гигиены и биозащиты [19, 20, 21]. Деятельность по обеспечению биозащиты систем/предприятий направлена на обособление поголовья от диких кабанов [22, 23] и домашних свиней ЛПХ.

Учитывая мнения зарубежных и отечественных специалистов и обобщая опыт производителей свинины

по внедрению эффективных мер превенции АЧС в промышленном свиноводстве [24, 25, 26], можно дать следующие рекомендации.

1. Происхождение и перемещение корма, животных, транспорта и иных попадающих на территорию свиноводческого предприятия и контактирующих со свиньями и фомитами объектов, грызунов, птиц и лиц должно контролироваться системой биозащиты предприятия.

2. Требуется проведение мониторинга зоны вокруг хозяйств с целью доказательства благополучия и поддержания статуса благополучия границ/зон. Вовлеченность ЛПХ в производство свинины и оборот свиней

Таблица

Ситуация по приоритетным эпизоотическим угрозам для свиноводства в РФ

Table

Situation for priority epizootic threats to pig industry in the Russian Federation

Угроза	Ситуация в РФ: год последней регистрации случаев / вакцинация / статус РФ	Особенности для управления инфекцией
АЧС	2023 г. (104 очага: 66 в домашней и 38 в дикой популяции) / отсутствует / федеральные меры по борьбе с АЧС (постановление Правительства РФ от 29.09.2018 № 1159 ²); компартиментализация (приказ Минсельхоза России от 11.05.2023 № 482 ³); регионализация (приказ Минсельхоза России от 14.12.2015 № 635 ⁴)	Приоритет очень высокий ($\lambda = 0,52$). 1. Человеческий фактор превалирует в эпизоотологии АЧС генотипа II в РФ. 2. Необходим контроль мер защиты поголовья на предприятии от контактов с объектами окружающей среды, включая вероятных механических переносчиков. 3. Надзор в популяциях вокруг предприятия и на предприятии должен учитывать вероятность скрытой инфекции. При расследовании глубина ретроспективного исследования – до 60 дней. R_0 внутри стад: от 7,46 (5,68–9,21) до 9,8 (3,9–15,6); R_0 между стад: от 1,65 (1,42–1,88) до 2,5 (2,0–3,0) [8, 9]. В условиях преобладания мелких ферм: R_0 внутри стад: 10 (1,1–30,0); R_0 между стад: от 1,41 до 10,8. 4. Отсутствие эффективной и безопасной вакцины; ведущая роль диагностических мероприятий в потоке и при зонировании
PPCC	2021 г. (4 очага в домашней популяции) / 12 836 888 гол. / федеральная программа отсутствует; действующая инструкция по борьбе с заболеванием нормирует использование вакцин против PPCC в профилактических целях (приказ Минсельхоза России от 26.10.2020 № 625 ⁵); регионализация; компартиментализация	Приоритет высокий ($\lambda = 0,071$). 1. Аэрогенный путь передачи и с фомитами между предприятиями может недооцениваться. 2. Вакцинация – эффективный инструмент, но только в комплексе профилактических и диагностических мер. 3. R_0 внутри серопозитивных стад: от 3,3 (2,9–4,3) до 7,1 (3,5–10,6) [10, 11]. R_0 для вакцинированных против PPCC 1-го типа ($R_0 < 1$): от 0,3 (0,05–0,96) [12] до 0,53 (0,19–0,76) [13]; для PPCC 2-го типа – неизвестно [11]. 4. Необходимость мониторинга (генотипирование) циркулирующих вирусов в вакцинированных стадах
КЧС	2018 г. (1 очаг в дикой популяции) / 91 679 227 гол. / официальный статус благополучия ВОЗЖ отсутствует; регионализация; компартиментализация	Приоритет высокий ($\lambda = 0,068$). 1. Эффективная реализация непрямого и прямого путей передачи и распространения инфекции. R_0 внутри стад: от 3,39 (1,54–7,45) до 7,77 (4,68–12,9) [14]. 2. Вакцинация домашних свиней в РФ усилена в последние 5 лет. Вакцина надежно защищает от возникновения вспышек и развития клинических признаков у свиней. Вспышки среди домашних свиней и кабанов в 2018–2023 гг. отсутствовали. 3. Необходимость мониторинга циркулирующих изолятов возбудителя КЧС и эффективности вакцинации в вакцинированных стадах свиней и популяции кабана регионов РФ. Циркуляция вируса среди вакцинированного поголовья – крайне нежелательное и опасное явление. 4. Для управления КЧС значимым является мониторинг качества вакцинации на предприятии и в окружающей популяции

R_0 (basic reproduction ratio) – коэффициент воспроизводства инфекции (показатель заразности). Для всех болезней значимыми для управления защитой являются контроль поступления животных на предприятие, кормов, фомитов, дезинфекция, дезинсекция и дератизация. Обобщенных требований/правил/стандартов по биозащите свиноводческих предприятий не существует.

R_0 (basic reproduction ratio) is a metric of infection reproduction (indicator of contagiousness). For all diseases, the control of animal introduction to the establishment, feeds, fomites, disinfection, dissection and deratization are significant for security management. There are no consolidated biosecurity requirements/rules/standards for pig establishments.

² <https://base.garant.ru/72065765/?ysclid=1z81dxcy83438154883>

³ <https://base.garant.ru/406957068/?ysclid=1z81g64bk5614070677>

⁴ <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71260810/?ysclid=1z81h1rvb3947478382>

⁵ <https://base.garant.ru/74832093/?ysclid=1z81jjcega297725170>

на фоне роста цен на мясо останется фактором, влияющим на нелегальный оборот свиней и свинины.

3. Использование неинвазивных проб от животных и лабораторный контроль эффективности процедур по чистке, мойке и дезинфекции могут быть рекомендованы для раннего выявления вируса АЧС в производственном потоке.

4. Вакцины против АЧС в перспективе должны быть не только безопасными для популяции свиней и обеспечивать защиту животных от падежа, но и высокоэффективными для рутинного применения в планах промышленного свиноводства (не снижать привесы, не вызывать аборт, предотвращать циркуляцию полевых и вакцинных штаммов в поголовье). Признание безопасности и эффективности вакцин против АЧС должно проводиться с учетом международных стандартов ВОЗЖ.

Репродуктивно-респираторный синдром свиней.

Профилактике и защите от РПСЦ уделяется значительное внимание [27, 28, 29] ввиду высокой заразности возбудителя, способности распространяться между свинок комплексами аэрогенно, а также со свиньями, кормами и контаминированными фомитами на значительные расстояния, поражая фактически все группы поголовья. В холодном климате (при $t < 0^\circ\text{C}$) вирус РПСЦ способен выживать вне хозяина длительное время, что способствует контаминации и механической передаче его с фомитами. Транспортные средства для перевозки скота, транспорт персонала, обувь и другие предметы могут контактировать с возбудителем РПСЦ в потенциально зараженных местах (инфицированные фермы, коммерческие мойки грузовиков или бойни, санпропускники, склады ветеринарных товаров, при доставке спермы, пункты перевалки инструментов, продуктов питания для персонала и т. п.). В холодную погоду контаминированные объекты могут разносить вирус РПСЦ на большие расстояния (как минимум до 50 км) [11, 30], что важно для большей части РФ с продолжительными холодными сезонами.

Согласно официальным данным, в РФ распространение РПСЦ ограничено отдельными случаями, которые выявляются каждый год в разных областях, что свидетельствует о недоучете более широкой скрытой циркуляции вируса в популяции домашних свиней и недостаточности применяемых мер для полной ликвидации заболевания. Большую опасность РПСЦ представляет для крупных комплексов с полным циклом воспроизводства поголовья [29]. Это подтверждают результаты исследования крупной вспышки РПСЦ, произошедшей в 2020 г. на 24 из 30 ферм крупной компании по производству свиней, расположенных в четырех областях: Воронежской, Липецкой, Тамбовской и Пензенской. Случаи заболевания были вызваны двумя вариантами вируса РПСЦ дикого типа 1 подтипа 1 (РПСЦ-1-1), доминирующего в Европе и РФ. Клинические признаки не различались между вариантами, но варьировали в зависимости от стадии производства свиней. Распространению болезни способствовали нарушения мер биозащиты, включая перемещение животных с зараженных ферм. Варианты вируса РПСЦ-1-1, прежде чем распространиться по производственной системе (свинофермы, питомники и фермы по откорму), были занесены в регион примерно в 2019 г. [31]. Тогда же появилось и первое сообщение о совместной циркуляции возбудителя РПСЦ типа 1 (РПСЦ-1, европейский тип)

и типа 2 (РПСЦ-2, североамериканский тип) в России. По наблюдениям S. Raev et al. и данным ветеринарных лабораторий, вирус РПСЦ-2 циркулирует как в европейской, так и в азиатской частях страны, а обнаружение нового подтипа 2 типа 1 (РПСЦ-1-2) при исследовании вспышки 2019 г. в Сибири подтвердило широкую территориальную экспансию вируса РПСЦ-1-2 в России [32].

Сравнительных данных о патогенности двух типов возбудителя РПСЦ и смешанной инфекции в полевых условиях РФ не много, однако известно, что изоляты вируса РПСЦ-1-1 (включая российскую группу вирусов), РПСЦ-1-2 и РПСЦ-1-3 значительно различаются по патогенности. На сегодняшний день вирус РПСЦ-1 представляет собой неоднородную группу генетически различающихся изолятов из Восточной Европы, Беларуси и России [33, 34].

Проведенная количественная оценка подтвердила, что заболевание, вызванное возбудителем генотипа 1, возможно контролировать с помощью вакцин, но они обеспечивают лишь частичную защиту [11]. Вакцинация сдерживает динамику передачи РПСЦ в популяции и, по одним данным [12, 13], коэффициент воспроизводства инфекции внутри вакцинированных стад составляет $R_0 < 1$ [от 0,3 (0,05–0,96) до 0,53 (0,19–0,76)], что приводит к угасанию эпизоотии. С другой стороны, отдельные результаты свидетельствуют о том, что при практически двукратном снижении средних значений R_0 в группах вакцинированных поросят доверительные интервалы R_0 как для вакцинированных (2,43–39,7), так и для невакцинированных (5,93–32,3) варьируют со значительным их перекрытием между собой [35], что требует дальнейших исследований. В невакцинированных эндемичных/серопозитивных популяциях внутри хозяйств R_0 составляет от 3,3 (2,9–4,3) до 7,1 (3,5–10,6) [10, 11]. Различия в значениях R_0 объясняются многими факторами, включая генетическую разницу между вакцинным штаммом и штаммом-пробойником, условия окружающей среды/хозяйства (качество сегрегации/вентиляции), в которой находятся свиньи, различие штаммов, к которым акклиматизированы свиньи на фермах.

Несмотря на отсутствие общегосударственной целевой/отраслевой программы по РПСЦ, существующие инструменты, такие как принятая в стране компартиментализация свиноводческих хозяйств, регионализация территории РФ по заразным болезням и действующие ветеринарные правила по РПСЦ (приказ Минсельхоза России от 26.10.2020 № 625⁵), соответствуют современному представлению о РПСЦ в промышленном свиноводстве и направлены на поддержание благополучия, в том числе с использованием вакцин, и надзор с применением диагностических методов, учитывающих вакцинный статус и позволяющих дифференцировать штаммы (см. п. 8, 18 и 38 ветеринарных правил по РПСЦ). Свобода страны или хозяйства от заболевания в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ (ст. 15.3.3 [36]) возможна только при условии отказа от вакцин вне зависимости от диагностических возможностей действующего в стране надзора за РПСЦ.

Эпизоотология РПСЦ все еще далека от полного понимания, но накопленных знаний достаточно, чтобы идентифицировать, по крайней мере качественно, основные источники заражения на ферме, а также выявить основные механизмы передачи внутри фермы.

⁵ <https://base.garant.ru/74832093/?ysclid=iz81jjcega297725170>

До сих пор неизвестным остается, какая доля заноса вируса приходится на каждый из путей в различных эпизоотологических сценариях. Оздоровление систем свиноводства от вируса РРСС является сложной практической задачей не только для отдельного хозяйства, в большинстве случаев процесс затрагивает значительные административные территории с вовлечением всех хозяйствующих субъектов/хозяйств [27].

Оздоровление от РРСС – это разработанный комплекс управленческих решений, включающий на первых этапах, как правило, вакцинацию. Сочетание строгого соблюдения биозащиты и рационально разработанных программ вакцинации может быть полезным для борьбы с РРСС на предприятиях и на региональном уровне [11], что и можно рекомендовать.

Классическая чума свиней остается одним из наиболее важных трансграничных вирусных заболеваний свиней во всем мире, которому уделяется внимание при организации систем надзора, вакцинации и биозащиты ферм. Коэффициент воспроизводства инфекции (R_0) для вируса КЧС хотя и варьирует в различных группах животных и условиях свинокомплексов, но всегда остается высоким: для групп отъемышей составляет от 7,77 (4,68–12,9) между помещениями до 100 (54,4–186,0) внутри помещений и для взрослых свиней (убойные) – от 3,39 (1,54–7,45) до 15,5 (6,20–38,7) [14].

Оздоровление отдельных хозяйств в условиях неблагоприятия/вакцинозависимости региона – крайне затратная политика, не способная решить задачу устранения риска по КЧС для региона. Оздоровление свиноводческих систем стран исторически затрагивало, как правило, депопуляцию свиней на территории целых регионов, использование зонирования с постепенным оздоровлением зон и лишь затем получение официального статуса благополучия по КЧС, одобренного ВОЗЖ. После внедрения строгих мер контроля несколькими странам удалось искоренить КЧС, тем не менее в большинстве регионов мира со значительным производством свиней КЧС присутствует по крайней мере спорадически. А иммунизация в силу доказанной эффективности применяющихся в мире в настоящее время вакцин в отношении циркулирующих штаммов вируса КЧС остается главной мерой профилактики падежа [37].

Значимость соблюдения базовых мер защиты от КЧС (контроль ввоза животных, кормов, контроль вакцинации и иммунного статуса животных, трассировка свиней и т. д.), вне зависимости от надежности и качества применяемых вакцин, подтверждается результатами анализа данных надзора, проводимого в последнее время в различных странах. По итогам надзора за период с 2014 по 2020 г. в Эквадоре факторами риска, наиболее сильно повлиявшими на вероятность возникновения КЧС, были кормление помоями (отношение шансов – OR 8,53), время обнаружения (OR 2,44), завоз свиней (OR 2,01) и отсутствие вакцинации (OR 1,82). Пространственно-временная модель показала, что вакцинация снижает риск распространения инфекции на 33%. Особо отмечалась сложность программ контроля КЧС и важность улучшения системы надзора [38]. В 2019 г. в Лаосе система надзора за болезнями свиней на скотобойнях (бруцеллез, РРСС и КЧС) с использованием серологических методов не позволила провести различие между серопозитивными вакцинированными

и инфицированными свиньями, что подтвердило необходимость трассировки животных как основы для проведения программы надзора в отсутствие DIVA-стратегии [39]. Также сообщается о проблемах, связанных с несовершенством диагностических тестов и пробоотбора в ключе надзора за КЧС в РФ, при этом обращается внимание на целесообразность внедрения как DIVA-стратегии, так и надлежащей оценки программ вакцинации [37, 40]. Построение системы биозащиты предприятий на основе эффективного надзора за вирусом КЧС и иммунным статусом в производственном потоке является наиболее желательным.

Случаев КЧС среди домашних свиней в РФ не было с 2015 г. В стране ведется плановая вакцинопрофилактика домашних свиней [2]. По данным ИС «Цербер» на 01.01.2024, благополучие с вакцинацией декларируется лишь для Владимирской области, а благополучие без вакцинации – для Чукотского автономного округа. Все остальные регионы РФ не имеют официального статуса благополучия (статус не определен). Вакцина на сегодня надежно защищает поголовье от клинических случаев КЧС, а применяемые значительные объемы вакцинации за последние 5 лет становятся залогом отсутствия вспышек в хозяйствах. Риск скрытой циркуляции вируса в популяции в условиях вакцинации должен оставаться высоким.

Основные рекомендации по управлению риском КЧС в условиях вакцинации на предприятиях следующие: 1) происхождение и перемещение кормов, животных, транспорта и иных попадающих на территорию свиноводческой системы и контактирующих со свиньями и фомитами объектов, грызунов, птиц и лиц должно контролироваться в рамках системы биозащиты предприятия; 2) контроль эффективности проведения вакцинации (контроль напряженности иммунитета) и целевой мониторинг для раннего обнаружения возможной циркуляции вируса в иммунизированной популяции на предприятиях должен являться обязательной частью системы надзора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использованный способ оценки экспертного мнения в ситуационном анализе позволяет быстро реализовать и интерпретировать ситуацию, выделяя приоритеты по болезням для дальнейшего обсуждения.

Совокупный эпизоотический риск для промышленного свиноводства в РФ со стороны внешних источников в последние годы можно охарактеризовать как перманентно высокий. Абсолютным приоритетом по значимости угроз для свиноводства на сегодня является АЧС. Полученное значение коэффициента конкордации Кендалла $W = 0,61$ свидетельствует о достаточной согласованности мнений экспертов в целом, а расчетный $\chi^2 = 51,33$ ($\geq 21,02607$) говорит о том, что конкордация не случайная и результаты могут использоваться в дальнейших исследованиях. Меры биозащиты для противодействия внешним угрозам рекомендуется акцентировать на АЧС ($\lambda = 0,52$), РРСС ($\lambda = 0,07$), КЧС ($\lambda = 0,068$) и эмерджентных для РФ инфекциях ($\lambda = 0,05$), которые требуют принятия и поддержания мер по управлению рисками не только на предприятиях свиноводства, но и официальной ветеринарной службой. Остальным участвовавшим в оценке значимым для свиноводства РФ внешним угрозам: энзоотическая пневмония свиней, актинобациллезная

плеввропневмония свиней, БА, стрептококкоз (*S. suis*), ЦВИС, ящур, лептоспироз, трансмиссивный гастроэнтерит свиней, цистицеркоз ($\lambda = 0,02...0,05$) – представляется возможным уделить равное внимание в системах биозащиты предприятий. Особенности эпизоотологии возбудителей могут быть причиной пробелов в стандартных мерах, поэтому меры должны подвергаться плановой переоценке и корректировке в системах биозащиты.

Наличие государственной политики эрадикации АЧС, РРСС, КЧС (с основательным изменением существующего официального контроля оборота поголовья, зонирования, качества диагностики и профилактики, внедрения стандартов биозащиты) является наиболее значимым, без чего перспектива искоренения сомнительна, в том числе из-за сохраняющегося внутреннего риска персистенции возбудителей в популяции РФ или отдельного хозяйства, сдерживаемой вакцинацией от проявления клинических случаев. При ослаблении/сбое режимов вакцинации очаги и распространение инфекции весьма вероятны.

В настоящее же время обобщенных требований/правил по биозащите свиноводческих предприятий нет. Обобщенный стандарт, устанавливающий требования биозащиты производственных процессов на свиноводческих предприятиях, также отсутствует. Во многом отдельные положения действующих правил по болезням отчасти касаются биозащиты предприятий, направленной на предупреждение возникновения болезней животных, а также дополняются существующими требованиями по компартиментализации и действующими правилами по содержанию свиней на предприятиях и ветеринарно-санитарными требованиями к животноводческим помещениям. Избыточность в существующих правилах требований и норм, касающихся биозащиты предприятий, учитывая их целевую направленность, подтвердить нельзя, равно как и засвидетельствовать их эффективность и достаточность для систем биозащиты предприятий, особенно в условиях отсутствия обязательных требований к системам биологической защиты свиноводческих предприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organisation for Animal Health, World Bank. Good practices for biosecurity in the pig sector – Issues and options in developing and transition countries. *FAO Animal Production and Health*. Rome; FAO; 2010; No. 169. 79 p. <https://www.fao.org/4/i1435e/i1435e00.pdf>
- Аналитический ежеквартальный, с нарастающим итогом отчет по эпидемиологической ситуации в стране (по данным Департамента ветеринарии МСХ). Эпизоотическая ситуация в РФ. <https://svps.gov.ru/jepizooticheskaja-situacija/rossija/analiticheskij-ezhekvartalnyj-s-narastajushhim-itogom-otchet-po-jepidsituacii-v-strane-po-dannym-departamenta-veterinarij-msh>
- World Organisation for Animal Health. World Animal Health Information System (WAHIS). <https://wahis.woah.org/#/home>
- Kendall M. G., Babington Smith B. The problem of *m* rankings. *The Annals of Mathematical Statistics*. 1939; 10 (3): 275–287. <https://doi.org/10.1214/aoms/117732186>
- Шахов А. Г., Ануфриев А., Ануфриев П. Факторные инфекции свиней. *Животноводство России*. 2005; (5): 24–27. <https://www.elibrary.ru/zjuuyr>
- Герунов Т. В., Герунова Л. К., Плешакова В. И., Конев А. В. Опportunистические инфекции у животных: причины распространения и меры профилактики. *Вестник КрасГАУ*. 2022; (10): 152–160. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-10-152-160>
- Сибгатуллова А. К., Власов М. Е., Пивова Е. Ю., Гузалова А. Г., Балышев В. М. Роль членистоногих гематофагов, грызунов, плотоядных и птиц в распространении АЧС. *Ветеринария*. 2022; (9): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.9.03-08>
- Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Gogin A. E., Vergne T., Karaulov A. K. Estimating the basic reproductive number for African swine fever using the Ukrainian historical epidemic of 1977. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (6): 1858–1866. <https://doi.org/10.1111/tbed.12583>
- Gulenkin V. M., Korennoy F. I., Karaulov A. K., Dudnikov S. A. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Preventive Veterinary Medicine*. 2011; 102 (3): 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.004>
- Pileri E., Martín-Valls G. E., Díaz I., Allepuz A., Simon-Grifó M., García-Saenz A., et al. Estimation of the transmission parameters for swine influenza and porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pigs from weaning to slaughter under natural conditions. *Preventive Veterinary Medicine*. 2017; 138: 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.01.008>
- Pileri E., Mateu E. Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. *Veterinary Research*. 2016; 47:108. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0391-4>
- Rose N., Renson P., Andraud M., Paboeuf F., Le Potier M. F., Bourry O. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) modified-live vaccine reduces virus transmission in experimental conditions. *Vaccine*. 2015; 33 (21): 2493–2499. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.040>
- Pileri E., Gibert E., Soldevila F., García-Saenz A., Pujols J., Díaz I., et al. Vaccination with a genotype 1 modified live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus significantly reduces viremia, viral shedding and transmission of the virus in a quasi-natural experimental model. *Veterinary Microbiology*. 2015; 175 (1): 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.11.007>
- Klinkenberg D., de Bree J., Laevens H., de Jong M. C. M. Within- and between-pen transmission of Classical Swine Fever Virus: a new method to estimate the basic reproduction ratio from transmission experiments. *Epidemiology and Infection*. 2002; 128 (2): 293–299. <https://doi.org/10.1017/S0950268801006537>
- Белянин С. А. Динамика распространения и мониторинг эпизоотического процесса африканской чумы свиней в Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Псков; 2013. 27 с.
- 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://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083741>
- Scollo A., Valentini F., Franceschini G., Rusinà A., Calò S., Capra V., et al. Semi-quantitative risk assessment of African swine fever virus introduction in pig farms. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023; 10:1017001. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1017001>
- Pfeiffer D. U., Ho H. P. J., Bremang A., Kim Y. Compartmentalisation guidelines – African swine fever. Paris: World Organisation for Animal Health; 2021. 148 p. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/10/asf-compartmentalisationguidelines-en.pdf>
- 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>
- Караулов А. К., Шевцов А. А., Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Гуленкин В. М. Эпизоотия АЧС на территории Российской Федерации: прогноз развития ситуации на 2021 год и рекомендации по мерам ее сдерживания. *БИО*. 2021; (2): 14–21. <https://www.elibrary.ru/jqnqdk>
- Чернышев Р. С., Спрыгин А. В., Иголкин А. С., Жбанова Т. В., Перевозчикова Н. А., Роменская Д. В. и др. Современные подходы к специфической профилактике африканской чумы свиней (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2022; 57 (4): 609–627. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.4.609rus>
- Alarcón L. V., Allepuz A., Mateu E. Biosecurity in pig farms: a review. *Porcine Health Management*. 2021; 7:5. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00181-z>
- Viltrop A., Reimus K., Niine T., Mõtus K. Biosecurity levels and farm characteristics of African swine fever outbreak and unaffected farms in Estonia – What can be learned from them? *Animals*. 2022; 12 (1):68. <https://doi.org/10.3390/ani12010068>
- World Organisation for Animal Health. GF-TADs – Standing Group of Experts on African Swine Fever in Europe. <https://rr-europe.woah.org/en/Projects/gf-tads-europe/standing-groups-of-experts-on-african-swine-fever-in-europe>
- Шикина М. А. Биобезопасность и экспортный потенциал: взаимосвязь, синергия, эффективность: презентация ГК «Агропромкомплектация». М.; 2020. <https://old.fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/files/37752/biosafety.pdf>
- World Organisation for Animal Health. African swine fever: WOH warns Veterinary Authorities and pig industry of risk from use of sub-standard vaccines. <https://www.woah.org/en/african-swine-fever-woah-warns-veterinary-authorities-and-pig-industry-of-risk-from-use-of-sub-standard-vaccines%E2%80%AF>

27. Шевцов А. А., Караулов А. К., Щербаков А. В., Оганесян А. С., Макаренко И. А. Совершенствование отечественных нормативных требований по надзору и контролю за репродуктивно-респираторным синдромом свиней. *Ветеринария*. 2022; (4): 3–9. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.4.03-09>

28. Южаков А. Г., Жукова Е. В., Алипер Т. И., Гулюкин А. М. Репродуктивно-респираторный синдром свиней: ситуация в России. *Свиноводство*. 2022; (5): 32–35. <https://doi.org/10.37925/0039-713X-2022-5-32-35>

29. Глазунова А. А., Корогодина Е. В., Севских Т. А., Краснова Е. А., Кукушкин С. А., Блохин А. А. Репродуктивно-респираторный синдром свиней в свиноводческих предприятиях (обзор). *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2022; 23 (5): 600–610. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.5.600-610>

30. Dee S., Deen J., Rossow K., Wiese C., Otake S., Joo H. S., Pijoan C. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2002; 66 (4): 232–239. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227010>

31. Havas K. A., Makau D. N., Shapovalov S., Tolkova E., VanderWaal K., Tkachyk T., et al. A molecular and epidemiological description of a severe porcine reproductive and respiratory syndrome outbreak in a commercial swine production system in Russia. *Viruses*. 2022; 14 (2):375. <https://doi.org/10.3390/v14020375>

32. Raev S., Yuzhakov A., Bulgakov A., Kostina L., Gerasianinov A., Verkhovsky O., et al. An outbreak of a respiratory disorder at a Russian swine farm associated with the co-circulation of PRRSV1 and PRRSV2. *Viruses*. 2020; 12 (10):1169. <https://doi.org/10.3390/v12101169>

33. Krasnikov N., Yuzhakov A., Aliper T., Gulyukin A. Metagenomic approach reveals the second subtype of PRRSV-1 in a pathogen spectrum during a clinical outbreak with high mortality in Western Siberia, Russia. *Viruses*. 2023; 15 (2):565. <https://doi.org/10.3390/v15020565>

34. Yuzhakov A. G., Raev S. A., Shchetin A. M., Gushchin V. A., Alekseev K. P., Stafford V. V., et al. Full-genome analysis and pathogenicity of a genetically distinct Russian PRRSV-1 Tyu16 strain. *Veterinary Microbiology*. 2020; 247:108784. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108784>

35. Chase-Topping M., Xie J., Pooley C., Trus I., Bonckaert C., Rediger K., et al. New insights about vaccine effectiveness: Impact of attenuated PRRS-strain vaccination on heterologous strain transmission. *Vaccine*. 2020; 38 (14): 3050–3061. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.02.015>

36. Infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In: *WOAH. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 15.3*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2023/chapitre_prrs.pdf

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

38. Acosta A., Dietze K., Baquero O., Osowski G. V., Imbacuan C., Burbano A., et al. Risk factors and spatiotemporal analysis of classical swine fever in Ecuador. *Viruses*. 2023; 15 (2):288. <https://doi.org/10.3390/v15020288>

39. Matsumoto N., Douangneun B., Theppangna W., Khounsy S., Phommachanh P., Toribio J. A., et al. Utilising abattoir sero-surveillance for high-impact and zoonotic pig diseases in Lao PDR. *Epidemiology and Infection*. 2023; 151:e40. <https://doi.org/10.1017/s095026882300016x>

40. Алипер Т. И., Алексеев К. П., Шемельков Е. В., Верховский О. А., Забережный А. Д. Перспектива использования маркированных вакцин против классической чумы свиней в Российской Федерации. *Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Международной практической конференции, посвященной 100-летию Армавирской биофабрики (Армавир, 20–21 августа 2021 г.)*. Армавир: ВНИТИБП; 2021; 54–60. <https://elibrary.ru/upxsqy>

REFERENCES

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organisation for Animal Health, World Bank. Good practices for biosecurity in the pig sector – Issues and options in developing and transition countries. *FAO Animal Production and Health*. Rome; FAO; 2010; No. 169. 79 p. <https://www.fao.org/4/i1435e/i1435e00.pdf>

2. Analytical quarterly accrual-basis report on the epidemic situation in the country (based on the data from the Veterinary Department of the Ministry of Agriculture). Animal disease situation in the Russian Federation. <https://fsvps.gov.ru/jepizooticheskaja-situacija/rossijskij-analiticheskij-ezhkvartalnyj-s-narastajushhim-itogom-otchet-po-jepizotsituacii-v-strane-po-dannym-departamenta-veterinarii-msh> (in Russ.)

3. World Organisation for Animal Health. World Animal Health Information System (WAHIS). <https://wahis.woah.org/#/home>

4. Kendall M. G., Babington Smith B. The problem of m rankings. *The Annals of Mathematical Statistics*. 1939; 10 (3): 275–287. <https://doi.org/10.1214/aoms/1177732186>

5. Shakhov A. G., Anufriev A., Anufriev P. Faktornye infektsii svinей = Factor infections of pigs. *Animal Husbandry of Russia*. 2005; (5): 24–27. <https://www.elibrary.ru/zjuuyr> (in Russ.)

6. Gerunov T. V., Gerunova L. K., Pleshakova V. I., Konev A. V. Opportunistic infections in animals: spread causes and preventive measures. *Bulliten KrasSAU*. 2022; (10): 152–160. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-10-152-160> (in Russ.)

7. Sibgatullova A. K., Vlasov M. E., Pivova E. Yu., Guzalova A. G., Balyshv V. M. The role of arthropods, hematophagous, rodents, carnivores and birds in the spread of ASF. *Veterinariya*. 2022; (9): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.9.03-08> (in Russ.)

8. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Gogin A. E., Vergne T., Karaulov A. K. Estimating the basic reproductive number for African swine fever using the Ukrainian historical epidemic of 1977. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (6): 1858–1866. <https://doi.org/10.1111/tbed.12583>

9. Gulenkin V. M., Korennoy F. I., Karaulov A. K., Dudnikov S. A. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Preventive Veterinary Medicine*. 2011; 102 (3): 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.004>

10. Pileri E., Martín-Valls G. E., Díaz I., Allepuz A., Simon-Grifé M., García-Saenz A., et al. Estimation of the transmission parameters for swine influenza and porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pigs from weaning to slaughter under natural conditions. *Preventive Veterinary Medicine*. 2017; 138: 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.01.008>

11. Pileri E., Mateu E. Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. *Veterinary Research*. 2016; 47:108. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0391-4>

12. Rose N., Renon P., Andraud M., Paboeuf F., Le Potier M. F., Bourry O. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) modified-live vaccine reduces virus transmission in experimental conditions. *Vaccine*. 2015; 33 (21): 2493–2499. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.040>

13. Pileri E., Gibert E., Soldevila F., García-Saenz A., Pujols J., Diaz I., et al. Vaccination with a genotype 1 modified live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus significantly reduces viremia, viral shedding and transmission of the virus in a quasi-natural experimental model. *Veterinary Microbiology*. 2015; 175 (1): 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.11.007>

14. Klinkenberg D., de Bree J., Laevens H., de Jong M. C. M. Within- and between-pen transmission of Classical Swine Fever Virus: a new method to estimate the basic reproduction ratio from transmission experiments. *Epidemiology and Infection*. 2002; 128 (2): 293–299. <https://doi.org/10.1017/s0950268801006537>

15. Belyanin S. A. African swine fever spread dynamics and epizootic process monitoring in the Russian Federation: Author's abstract of thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Pokrov; 2013. 27 p. (in Russ.)

16. 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://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083741>

17. Scollo A., Valentini F., Franceschini G., Rusinà A., Calò S., Capra V., et al. Semi-quantitative risk assessment of African swine fever virus introduction in pig farms. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023; 10:1017001. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1017001>

18. Pfeiffer D. U., Ho H. P. J., Bremang A., Kim Y. Compartmentalisation guidelines – African swine fever. Paris: World Organisation for Animal Health; 2021. 148 p. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/10/asf-compartmentalisationguidelines-en.pdf>

19. Blome S., Franke 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>

20. Karaulov A. K., Shevtsov A. A., Petrova O. N., Korennoy F. I., Gulenkin V. M. Epizootiya AChS na territorii Rossijskoi Federatsii: prognoz razvitiya situatsii na 2021 god i rekomendatsii po meram ee sderzhivaniya = ASF epizootic in the Russian Federation: situation evolution forecast for 2021 and recommendations on containment measures. *BIO*. 2021; (2): 14–21. <https://www.elibrary.ru/jqnqdk> (in Russ.)

21. Chernyshev R. S., Sprygin A. V., Igolkin A. S., Zhanova T. V., Perevozchikova N. A., Romenskaya D. V., et al. Current approaches to the vaccine development for African swine fever (review). *Agricultural Biology*. 2022; 57 (4): 609–627. <https://10.15389/agrobiol.2022.4.609eng>

22. Alarcón L. V., Allepuz A., Mateu E. Biosecurity in pig farms: a review. *Porcine Health Management*. 2021; 7:5. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00181-z>

23. Viltrop A., Reimus K., Niine T., Mõtus K. Biosecurity levels and farm characteristics of African swine fever outbreak and unaffected farms in Estonia – What can be learned from them? *Animals*. 2022; 12 (1):68. <https://doi.org/10.3390/ani12010068>

24. World Organisation for Animal Health. GF-TADs – Standing Group of Experts on African Swine Fever in Europe. <https://tr-europe.woah.org/en/Projects/gf-tads-europe/standing-groups-of-experts-on-african-swine-fever-in-europe>
25. Shikina M. A. Biosafety and export potential: interrelation, synergy, effectiveness: presentation of the Agropromkomplektatsiya group of companies. Moscow; 2020. <https://old.fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/files/37752/biosafety.pdf> (in Russ.)
26. World Organisation for Animal Health. African swine fever: WOAH warns Veterinary Authorities and pig industry of risk from use of sub-standard vaccines. <https://www.woah.org/en/african-swine-fever-woah-warns-veterinary-authorities-and-pig-industry-of-risk-from-use-of-sub-standard-vaccines%E2%80%AF>
27. Shevtsov A. A., Karaulov A. K., Shcherbakov A. V., Oganessian A. S., Makarenko I. A. Improving national regulatory requirements for surveillance and control of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Veterinariya*. 2022; (4): 3–9. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.4.03-09> (in Russ.)
28. Yuzhakov A. G., Zhukova E. V., Aliper T. I., Gulyukin A. M. Porcine reproductive respiratory syndrome: situation in Russia. *Pigbreeding*. 2022; (5): 32–35. <https://doi.org/10.37925/0039-713X-2022-5-32-35> (in Russ.)
29. Glazunova A. A., Korogodina E. V., Sevskikh T. A., Krasnova E. A., Kukushkin S. A., Blokhin A. A. Reproductive and respiratory syndrome of pigs in pig breeding enterprises (review). *Agricultural Science Euro-North-East*. 2022; 23 (5): 600–610. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.5.600-610> (in Russ.)
30. Dee S., Deen J., Rossow K., Wiese C., Otake S., Joo H. S., Pijoan C. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2002; 66 (4): 232–239. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227010>
31. Havas K. A., Makau D. N., Shapovalov S., Tolkova E., VanderWaal K., Tkachyk T., et al. A molecular and epidemiological description of a severe porcine reproductive and respiratory syndrome outbreak in a commercial swine production system in Russia. *Viruses*. 2022; 14 (2):375. <https://doi.org/10.3390/v14020375>
32. Raev S., Yuzhakov A., Bulgakov A., Kostina L., Gerasianinov A., Verkhovsky O., et al. An outbreak of a respiratory disorder at a Russian swine farm associated with the co-circulation of PRRSV1 and PRRSV2. *Viruses*. 2020; 12 (10):1169. <https://doi.org/10.3390/v12101169>
33. Krasnikov N., Yuzhakov A., Aliper T., Gulyukin A. Metagenomic approach reveals the second subtype of PRRSV-1 in a pathogen spectrum during a clinical outbreak with high mortality in Western Siberia, Russia. *Viruses*. 2023; 15 (2):565. <https://doi.org/10.3390/v15020565>
34. Yuzhakov A. G., Raev S. A., Shchetinin A. M., Gushchin V. A., Alekseev K. P., Stafford V. V., et al. Full-genome analysis and pathogenicity of a genetically distinct Russian PRRSV-1 Tyu16 strain. *Veterinary Microbiology*. 2020; 247:108784. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108784>
35. Chase-Topping M., Xie J., Pooley C., Trus I., Bonckaert C., Rediger K., et al. New insights about vaccine effectiveness: Impact of attenuated PRRS-strain vaccination on heterologous strain transmission. *Vaccine*. 2020; 38 (14): 3050–3061. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.02.015>
36. Infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In: WOAH. *Terrestrial Animal Health Code. Chapter 15.3*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2023/chapitre_prs.pdf
37. Oganessian A. S., Shevtsov A. A., Shcherbakov A. V., Korennoy F. I., Karaulov A. K. Classical swine fever: a retrospective analysis of the epizootic situation in the Russian Federation (2007–2021) and forecast for 2022. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 229–238. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-229-238>
38. Acosta A., Dietze K., Baquero O., Osowski G. V., Imbacuan C., Burbano A., et al. Risk factors and spatiotemporal analysis of classical swine fever in Ecuador. *Viruses*. 2023; 15 (2):288. <https://doi.org/10.3390/v15020288>
39. Matsumoto N., Douangneun B., Theppangna W., Khounsy S., Phommachanh P., Toribio J. A., et al. Utilising abattoir sero-surveillance for high-impact and zoonotic pig diseases in Lao PDR. *Epidemiology and Infection*. 2023; 151:e40. <https://doi.org/10.1017/S095026882300016x>
40. Aliper T. I., Alekseev K. P., Shemelkov E. V., Verkhovsky O. A., Zaberezhny A. D. The prospect of using marked vaccines against classical swine fever in the Russian Federation. *Nauchnye osnovy proizvodstva i obespecheniya kachestva biologicheskikh preparatov: materialy Mezhdunarodnoi prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu Armavirskoi biofabriki (Armavir, 20–21 avgusta 2021 g.) = Scientific bases for biological product manufacture and quality assurance: proceedings of International Research-to-Practice Conference dedicated to the 100th anniversary of Armavir Biofactory (Armavir, 20–21 August 2021)*. Armavir: All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry; 2021; 54–60. <https://elibrary.ru/upxsqy> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 15.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 20.05.2024

Принята к публикации / Accepted 31.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Оганесян Андрей Серожович, канд. вет. наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0061-5799>, oganesyan@arriah.ru

Шибяев Михаил Александрович, канд. вет. наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9382-0109>, shibaev@arriah.ru

Петрова Ольга Николаевна, канд. биол. наук, заместитель заведующего сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3939-1929>, petrova@arriah.ru

Баскакова Наталья Евгеньевна, ведущий специалист информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; baskakova@arriah.ru

Караулов Антон Константинович, канд. вет. наук, советник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, karaulov@arriah.ru

Andrey S. Oganessian, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0061-5799>, oganesyan@arriah.ru

Mikhail A. Shibayev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9382-0109>, shibaev@arriah.ru

Olga N. Petrova, Cand. Sci. (Biology), Deputy Head of the Sector, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3939-1929>, petrova@arriah.ru

Natalia Ye. Baskakova, Leading Specialist, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; baskakova@arriah.ru

Anton K. Karaulov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Advisor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, karaulov@arriah.ru

Вклад авторов: Авторы внесли равный вклад в проведение исследования: сбор и анализ материала; определение целей и задач, методов исследования; формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи.

Contribution: The authors have made equal contribution to the study: data collection and analysis; determination of goals and objectives, methods of the study; formulation and scientific justification of conclusions, documentation of key outputs from the study in the paper.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-292-297>
УДК 619:591.111:636.93



Биохимические показатели крови у самок и самцов лисиц платинового окраса в онтогенезе

И. И. Окулова¹, Ю. А. Березина¹, А. С. Сюткина¹, И. А. Плотников¹, О. Ю. Беспятых^{1, 2}, И. А. Домский¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. профессора Б. М. Житкова» (ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова), ул. Преображенская, 79, г. Киров, 610020, Россия

² ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет» (ВятГУ), ул. Московская, 36, г. Киров, 610000, Россия

РЕЗЮМЕ

В настоящее время ветеринарные специалисты уделяют много внимания диагностическому обследованию животных, в том числе в пушном звероводстве. Основным материалом для таких обследований является кровь. Изменение ее состава позволяет врачам-практикам выявить нарушения в работе различных систем и органов животных, а также оценить метаболизм. В представленных материалах отражены результаты биохимических исследований сыворотки крови самок и самцов лисиц платинового цветового типа разных возрастных групп, проведена их сравнительная характеристика. Определяли уровень аспартатаминотрансферазы (Е/л), аланинаминотрансферазы (Е/л), щелочной фосфатазы (Е/л), общего белка (г/л), альбумина (г/л), мочевины (ммоль/л), креатинина (мкмоль/л), α -амилазы (Е/л), холестерина (мкмоль/л). Показатели аспартатаминотрансферазы у самок в возрасте 6 мес. были ниже, чем у самцов, на 69%. Увеличение аспартатаминотрансферазы к 6-месячному возрасту способствует накоплению массы тела в период подготовки зверей к зиме. У 1,5-месячных щенков выявлены половые различия в уровне активности щелочной фосфатазы: у самцов данный показатель выше, чем у самок, на 21,05%. К 6-месячному возрасту уровень щелочной фосфатазы снижался как у самцов, так и у самок. Снижение активности щелочной фосфатазы с возрастом животных обусловлено участием фермента в формировании скелета в процессе онтогенетического развития. С 4-месячного возраста рост и развитие скелета замедляется, а к 6 мес. звери приобретают размеры и массу тела взрослых животных. Показатели мочевины и креатинина у лисиц обоих полов в процессе роста животных увеличивались, но оставались в пределах референтных границ. Изменение количества мочевины в крови может наблюдаться при потреблении корма со слишком малым или чрезмерно большим количеством белка. Содержание общего белка в сыворотке крови у самцов и самок в возрасте 4 мес. снизилось на 32,51 и 43,24% соответственно по сравнению со значениями в 1,5 мес., а в возрасте 6 мес. показатели снова поднялись до уровня 4 мес. По литературным данным, относительно быстрая стабилизация белкового обмена является биологической особенностью, характерной для многих млекопитающих, рожденных весной, у них ускорен темп роста и в целом сокращена фаза достижения зрелости.

Ключевые слова: лисицы платинового окраса, щелочная фосфатаза, холестерин, амилаза, мочевина, креатинин, альбумины, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова в рамках тематики научно-исследовательских работ «Изучение морфофизиологических показателей пушных зверей и диких животных с целью создания системы мониторинга за их состоянием в процессе онтогенеза и разработки адаптивных технологий их промышленного и вольерного разведения» (FNWS-2022-0002). Авторы признательны директору звероводческого племенного хозяйства ООО «ВЯТКА» Слободского района Кировской области Сивковой Валентине Николаевне и главному ветеринарному врачу предприятия Тюфякову Сергею Николаевичу за помощь в проведении исследований.

Для цитирования: Окулова И. И., Березина Ю. А., Сюткина А. С., Плотников И. А., Беспятых О. Ю., Домский И. А. Биохимические показатели крови у самок и самцов лисиц платинового окраса в онтогенезе. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 292–297. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-292-297>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Окулова Ираида Ивановна, канд. вет. наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии отдела звероводства, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, ул. Преображенская, 79, г. Киров, 610020, Россия, okulova_i@mail.ru

Biochemical blood parameters in platinum fox females and males in ontogenesis

Iraida I. Okulova¹, Yulia A. Berezina¹, Anna S. Syutkina¹, Igor A. Plotnikov¹, Oleg Yu. Bespyatykh^{1, 2}, Igor A. Domskey¹

¹ Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, 79 Preobrazhenskaya str., Kirov 610020, Russia

² Vyatka State University, 36 Moskovskaya str., Kirov 610000, Russia

ABSTRACT

Currently, veterinarians pay much attention to the diagnostic examination of animals, including animals kept on fur farms. Blood is the main material used for such examinations. Changes in its composition allows veterinary practitioners to identify disorders in various systems and organs of animals, as well as to assess metabolism in animals. Results of biochemical tests of serum samples from platinum fox males and females of different age groups and comparative assessment thereof are presented. The levels of aspartate aminotransferase (U/L), alanine aminotransferase (U/L), alkaline phosphatase (U/L), total protein (g/L), albumin (g/L),

© Окулова И. И., Березина Ю. А., Сюткина А. С., Плотников И. А., Беспятых О. Ю., Домский И. А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

urea (mmol/L), creatinine ($\mu\text{mol/L}$), α -amylase (U/L), cholesterol ($\mu\text{mol/L}$) were determined. Aspartate aminotransferase levels in females at the age of 6 months were lower by 69% than that ones in males. Increase in aspartate aminotransferase by the age of 6 months helps animals to accumulate body weight before winter. Sexual differences in the alkaline phosphatase levels were detected in 1.5-month-old kits: alkaline phosphatase levels were higher by 21.05% in males than in females. By the age of 6 months, the alkaline phosphatase levels decreased in both males and females. The decline in alkaline phosphatase level with the age is associated with participation of this enzyme in the development of animal skeleton during ontogenesis. From the age of 4 months, the growth and development of the skeleton slows down, and by the age of 6 months the animals gain the size and body weight of adult animals. Urea and creatinine levels in foxes of both sexes increased during their growth, but remained within the reference limits. Changes in urea levels in blood can be caused by feeding excessively high-protein or excessively low-protein diets. The total protein content in sera from 4 month-old males and females decreased by 32.51 and 43.24%, respectively, compared with that one in sera from animals at the age of 1.5 months, and increased at the age of 6 months up to the level observed at the age of 4 months. According to the literature, rather rapid stabilization of protein metabolism is a biological feature of many mammals born in spring, their growth rate is accelerated and, in general, the maturity phase is shortened.

Keywords: platinum foxes, alkaline phosphatase, cholesterol, amylase, urea, creatinine, albumins, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase

Acknowledgments: The study was funded by the Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming as a part of research activities "Study of morphophysiological parameters of farmed fur animals and wild animals for creation of the system for their ontogenesis monitoring and development of technologies for their commercial farming or fenced keeping" (FNWS-2022-0002). The authors express gratitude to Valentina Nikolaevna Sivkova, Director of the OOO "Vyatka" fur animal breeding farm, and Sergey Nikolaevich Tyufyakov, Chief Veterinarian, OOO "Vyatka" fur animal breeding farm for their assistance during the study.

For citation: Okulova I. I., Berezina Yu. A., Syutkina A. S., Plotnikov I. A., Bespyatykh O. Yu., Domskey I. A. Biochemical blood parameters in platinum fox females and males in ontogenesis. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 292–297. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-292-297>

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

For correspondence: Iraida I. Okulova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Senior Researcher, Veterinary Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, 79 Preobrazhenskaya str., Kirov 610020, Russia, okulova_i@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Анализ биохимических показателей крови позволяет установить изменения, происходящие в организме животных и человека, а также судить о специфичности изменений, характерных для определенной патологии.

Несмотря на многочисленные и многолетние исследования, состав крови остается недостаточно изучен, особенно его изменения в половозрастном аспекте у пушных зверей. Такое положение дел можно объяснить различными особенностями процедуры взятия проб крови и применением разных методик их исследования [1].

Как показывает анализ научно-методической литературы, в основном она была опубликована 40–60 лет назад, а за это, пусть и кажущееся непродолжительным, время произошли достаточно заметные изменения: продолжилась адаптация организма пушных зверей к клеточным условиям разведения, ухудшился рацион пушных зверей. Это способствовало изменению состава крови, поэтому даже эталонные величины следует пересматривать каждые 10–15 лет. В первую очередь изменяется уровень трансаминаз [2]. Необходимо также обратить внимание, что в разных методиках используются разные единицы измерения показателей крови, что затрудняет сравнительный анализ результатов исследований, выполненных в разные годы, тем более с разницей в 40–60 лет. Исследования крови пушных зверей описаны в основном в монографиях В. А. Берестова, который уже около полувека [3, 4]. Эти работы трудно найти в библиотеках из-за их редкости, поэтому 20 лет назад книга В. А. Берестова по клинической биохимии пушных зверей была переиздана, но со старыми данными – без их уточнения и изменения [5].

Биохимические реакции в организме тесно взаимосвязаны, реакции обмена веществ предельно согласованы между собой. В связи с многообразием выполняемых кровью биологических функций актуальным является изучение биохимических показателей сыворотки крови лисиц платинового окраса в онтогенезе, что и явилось целью данного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили лисицы платинового окраса, принадлежавшие звероводческому хозяйству ООО «Звероводческое племенное хозяйство «Вятка» Кировской области: 10 самок и 10 самцов, исследования крови которых производили в возрасте 1,5; 4 и 6 мес. Зверей кормили по общепринятым нормам, применяемым в данном зверохозяйстве.

Работа осуществлялась в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова. Для биохимических исследований до утреннего кормления зверей производили отбор крови из латеральной подкожной вены голени в специальную пробирку с активатором сгустка. Затем получали сыворотку крови путем центрифугирования при 2000 об/мин в течение 15 мин. На полуавтоматическом анализаторе BiochimSA (США) с использованием коммерческих наборов определяли уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ, Е/л), аланинаминотрансферазы (АЛТ, Е/л), щелочной фосфатазы (Е/л), общего белка (г/л), альбумина (г/л), мочевины (ммоль/л), креатинина (мкмоль/л), α -амилазы (Е/л), холестерина (мкмоль/л).

Результаты обрабатывали с использованием пакета лицензионных прикладных программ MS Excel (Office 2019), IBM SPSS Statistics 26. При оценке

однородности групп и достоверности различий средних между группами использовали непараметрический U-тест Манна – Уитни. Уровень статистической значимости полученных различий между сравниваемыми выборками принимали при $p < 0,05$. Данные были обобщены в среднее (M), среднюю ошибку среднего значения (m) [6].

Работа выполнена с соблюдением международных принципов, изложенных в Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (Declaration of Helsinki, 2013), Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС «О защите животных, используемых для научных целей» (Directive 2010/63/EU, 2010), а также согласно правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755) и методическим указаниям проведения научно-хозяйственных опытов по кормлению пушных зверей [7, 8, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При биохимическом исследовании сыворотки крови на АСТ и α -амилазу отмечено, что между самками и самцами в возрасте 1,5; 4 и 6 мес. различия в значениях не наблюдается. При определении АСТ у самок показатели увеличились в возрасте 6 мес. на 5,25% по сравнению с 1,5 мес. ($p \leq 0,05$). У самцов показатели при определении АСТ к 6 мес. уменьшились на 13,68% ($p \leq 0,05$).

При определении АЛТ у самок в возрасте 1,5 мес. показатели были выше на 37,28%, чем у самок в возрасте 4 мес. ($p \leq 0,05$), а у самцов в возрасте 1,5 мес. АЛТ на 37,57% больше, чем у самцов в возрасте 4 мес.

($p \leq 0,05$). Отношение АСТ к АЛТ, известное как коэффициент де Ритиса, у здоровых зверей колеблется от 0,9 до 1,73 Е/л [10]. Соотношения АСТ/АЛТ у лис разного пола в возрасте 1,5 мес. находились на одном уровне, а у самок в возрасте 4 мес. на 31,58% больше, чем у самок в возрасте 1,5 мес., но в возрасте 6 мес. соотношение АСТ/АЛТ стало таким же, как в возрасте 1,5 мес. (табл. 1).

У самцов в возрасте 6 мес. соотношение АСТ/АЛТ по сравнению с животными в возрасте 4 мес. увеличилось на 53,13% ($p \leq 0,05$). Березина Ю. А. и соавт. изучали активность АЛТ и АСТ у серебристо-черной лисицы в постнатальном онтогенезе. На протяжении всего изучаемого периода жизни у лисиц уровень АЛТ возрастал больше, чем АСТ. Необходимо отметить, что активность ферментов у самок была ниже, чем у самцов. В процессе онтогенетического развития лисиц количество в крови АЛТ и АСТ возрастало, у взрослых зверей зафиксированы наибольшие значения этих показателей. Так, у взрослых самок по сравнению с 2-месячными щенками уровень АЛТ увеличивался на 27% ($p < 0,01$), у взрослых самцов – на 34% ($p < 0,05$); активность АСТ повышалась соответственно на 16 и 26% ($p < 0,01$), что описано и в других исследованиях [11]. У 6-месячных самок лисиц платинового окраса содержание АСТ стало на 12,04% ниже, чем у животных в 1,5 мес., что не является достоверным. Максимальное содержание трансаминаз, наблюдаемое у пушных зверей осенью (6-месячный возраст) – в период подготовки к холодному периоду года, способствует активному увеличению массы тела у зверей, что также совпадает с результатами исследований других авторов [12, 13]. Увеличение активности АЛТ (цитоплазматического фермента) про-

Таблица 1
Биохимические показатели крови у самок и самцов лисиц платинового окраса в постнатальном онтогенезе

Table 1
Biochemical blood parameters in platinum fox females and males during postnatal ontogenesis

Показатели	Возраст самок и самцов					
	1,5 мес.		4 мес.		6 мес.	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
АСТ, Е/л	^a 39,18 ± 2,00	38,80 ± 3,05**	37,73 ± 1,06	34,50 ± 0,74	^a 41,24 ± 1,97*	34,13 ± 1,35
АЛТ, Е/л	68,16 ± 2,53*	^b 73,64 ± 11,17**	49,65 ± 2,23	^b 53,53 ± 2,90	69,98 ± 8,47	70,78 ± 7,91
Коэффициент де Ритиса (АСТ/АЛТ), Е/л	0,57	0,52	0,75	0,64	0,58	0,98
Щелочная фосфатаза, Е/л	^a 112,78 ± 7,55*	^c 136,52 ± 8,42***	^a 74,83 ± 7,45	^c 100,70 ± 6,53***	^a 55,94 ± 2,93	^c 64,65 ± 2,89
Мочевина, ммоль/л	4,52 ± 0,16	4,04 ± 0,64	3,93 ± 0,40	3,85 ± 0,53	5,38 ± 0,59	5,80 ± 0,42**
Креатинин, мкмоль/л	38,94 ± 4,17	47,74 ± 5,44	68,40 ± 1,47**	77,65 ± 3,57*	77,14 ± 1,26*	62,85 ± 7,68
Общий белок, г/л	88,71 ± 3,36*	83,72 ± 2,88**	50,35 ± 2,26	56,50 ± 2,82	83,24 ± 3,14	84,55 ± 13,13
Альбумин, г/л	43,00 ± 1,59	42,34 ± 0,64**	39,05 ± 1,33	39,05 ± 0,81	38,32 ± 1,43	42,98 ± 2,10
Холестерин, мкмоль/л	7,21 ± 0,47	5,84 ± 0,18	6,67 ± 0,77	6,06 ± 0,09	6,00 ± 0,41	5,98 ± 0,63
α -амилаза, Е/л	534,38 ± 43,59	569,42 ± 48,59	563,25 ± 24,12	651,83 ± 36,52	619,38 ± 18,79	600,80 ± 35,47

* $p \leq 0,05$ – между ♀ 1,5 и 4 мес. (between ♀ at the age of 1.5 and 4 months);

** $p \leq 0,05$ – между ♂ 1,5 и 4 мес. (between ♂ at the age of 1.5 and 4 months);

^a* $p \leq 0,05$ – между ♀ 1,5 и 6 мес. (between ♀ at the age of 1.5 and 6 months);

^b** $p \leq 0,05$ – между ♂ 1,5 и 6 мес. (between ♂ at the age of 1.5 and 6 months);

^c*** $p \leq 0,05$ – между ♀ и ♂ в 4 мес. (between ♀ and ♂ at the age of 4 months).

исходит при легких формах повреждения гепатоцитов, а АСТ (митохондриального фермента) – при значительном повреждении печеночных клеток [14, 15].

При определении уровня щелочной фосфатазы было выявлено, что у самок в возрасте 1,5 мес. этот показатель был на 33,65% выше по сравнению с показателями у животных в возрасте 4 мес. и в 2 раза выше, чем у лисиц в возрасте 6 мес. ($p \leq 0,05$). Активность щелочной фосфатазы снижается с возрастом животных, так как фермент участвует в обызвествлении костной ткани, развитие которой, как известно, с возрастом замедляется. Пушные звери растут быстрыми темпами, поэтому размеры и массу взрослых зверей они приобретают уже к 6 мес. [10, 16]. Возраст зверей прямо пропорционально связан с уровнем описываемого показателя. У 1,5-месячных щенков выявлены половые различия в уровне активности щелочной фосфатазы. У самцов данный показатель выше, чем у самок, на 21,05% ($p \leq 0,05$). К 6-месячному возрасту уровень щелочной фосфатазы у самок и самцов выравнивается.

Установлено, что содержание мочевины в процессе роста у самок возрастало на 19,03%, у самцов – на 43,56% ($p \leq 0,05$), что не превышало референтных показателей (табл. 2). Мочевина синтезируется в печени, с кровью переносится в почки и затем, фильтруясь через сосудистый клубочек, выделяется с мочой. Мочевина играет в организме осмотически активную роль. Накопление данного вещества способствует появлению отеков тканей паренхиматозных органов (легких, печени, почек, поджелудочной железы, селезенки, щитовидной железы), центральной нервной системы, миокарда, подкожной клетчатки. Важность исследований на мочевины определяется тем, что из остаточного азота примерно половина количества приходится на мочевины. Это обусловлено тем, что в печени мочевины, являющаяся конечным продуктом обмена белков, образуется из аммиака. Также следует отметить, что при дефиците азота значительно усиливается реабсорбция мочевины в почках. Изменение (снижение или увеличение) содержания мочевины в крови животных может наблюдаться при потреблении корма со слишком малым либо чрезмерно большим количеством белка. Как известно, уровень мочевины у собак, которых кормят сухими кормами, примерно в 1,7 раза ниже, чем у тех, которых кормят мясными консервами [17, 18].

При определении креатинина установили, что у самок в возрасте 4 мес. показатель увеличился на 75,65% ($p \leq 0,05$), у самцов – на 62,65% ($p \leq 0,05$), в возрасте 6 мес. у самок – на 98,1% ($p \leq 0,05$), а у самцов – на 31,65% ($p \leq 0,05$) по сравнению со значениями 1,5-месячных животных. Сывороточный креатинин является наиболее широко используемым функциональным биомаркером состояния почек. Концентрация его достаточно стабильна и зависит преимущественно от общего объема мышечной массы. Креатин образуется в печени из гуанидинуксусной кислоты, откуда кровью заносится в мышцы, где идет его фосфорилирование и образование креатинфосфата, при расходовании которого образуется энергия, необходимая для мышечных сокращений. Дегидрированный креатинин, будучи беспороговым веществом, выделяется с мочой. Уровень его содержания в крови определяется в основном мышечной массой и выделительной способностью почек. При хронической почечной недоста-

точности увеличение количества креатинина в крови сопровождается повышением концентрации и других компонентов остаточного азота, и прежде всего мочевины. Подобная картина наблюдается и при закупорке мочевыводящих путей [19, 20].

Одним из основных компонентов крови является белок, который состоит из фракций (альбумина и нескольких видов глобулинов), образующих определенную формулу количественного и структурного соотношения. Белкам принадлежит важная роль в поддержании коллоидно-осмотического давления плазмы крови. Благодаря их свойству притягивать и удерживать воду сохраняется постоянным объем циркулирующей крови, а форменные элементы находятся во взвешенном состоянии. У пушных зверей платинового окраса количество общего белка как у самок, так и у самцов в возрасте 4 мес. было ниже, чем в 1,5 мес. на 43,24 и 32,51% ($p \leq 0,05$) соответственно, а к 6-месячному возрасту показатель поднялся до уровня 4 мес. По данным некоторых исследователей [21], у млекопитающих, рожденных в весенний период, наблюдается относительно быстрая стабилизация обмена белков, что является биологической особенностью таких животных, для них характерны быстрая скорость роста и уменьшение периода достижения животным зрелости.

При определении альбумина и у самок, и у самцов разных возрастных групп достоверной разницы отмечено не было. Альбумин, являющийся самой главной фракцией и составляющий более 40–60% объема общего белка сыворотки крови, – это гомогенный белок плазмы, содержащий небольшое количество углеводов. У домашних животных альбумин составляет от 35 до 50% от общей концентрации белка в сыворотке крови. Важной биологической функцией альбумина в плазме является поддержание внутрисосудистого коллоидно-осмотического давления, благодаря чему предотвращается выход плазмы из капилляров [14, 18, 19]. В нашем случае концентрация альбумина как у самок, так и у самцов практически не изменялась (табл. 1), статистической разницы не выявлено, показатель находился в диапазоне референтных значений (табл. 2). Изменение концентрации альбумина отмечается при голодании, хронических гастроэнтеритах, когда нарушается переваривание и всасывание белка, при хронических болезнях печени (гепатит, гепатодистрофия, цирроз) [17].

При определении холестерина было отмечено снижение его уровня у самок в возрасте 4 мес. на 7,49%, в возрасте 6 мес. – на 16,78% по сравнению с 1,5-месячным возрастом. Холестерол (холестерин) является важнейшим структурным компонентом клеточных мембран. Он участвует в регуляции проницаемости клеток и предохраняет эритроциты от действия гемолитических ядов. Холестерол используется в организме для синтеза стероидных гормонов, витамина D₃, желчных кислот. Образование холестерина происходит во всех клетках организма, но в кровь поступает холестерол, образующийся в гепатоцитах и клетках тонкого кишечника. Главный синтетический и катаболический орган для холестерина – печень. Изменение уровня холестерина характерно для таких болезней печени (гепатит, обтурация желчных ходов), нефротический синдром, гипотиреоз, хронический панкреатит, ожирение, недостаток витаминов [20, 22, 23].

Таблица 2

Референтные значения биохимических показателей крови у самок и самцов лисиц платинового окраса в онтогенезе

Table 2

Reference limits for biochemical blood parameters in platinum fox females and males in ontogenesis

Показатели	Возраст самок и самцов					
	1,5 мес.		4 мес.		6 мес.	
	♀ min/max	♂ min/max	♀ min/max	♂ min/max	♀ min/max	♂ min/max
АСТ, Е/л	31,50/47,00	28,80/45,30	35,00/39,70	33,50/36,70	36,00/45,30	30,90/36,40
АЛТ, Е/л	60,20/78,80	36,10/106,20	44,10/53,60	47,40/61,30	42,80/84,20	57,60/90,10
Щелочная фосфатаза, Е/л	80,90/135,40	109,80/160,00	59,60/94,70	8,70/112,50	49,60/65,50	60,10/72,70
Мочевина, ммоль/л	4,30/5,30	3,30/5,30	2,80/4,60	3,00/5,20	3,90/7,40	4,70/6,50
Креатинин, мкмоль/л	29,90/54,00	34,80/63,10	64,00/70,10	70,50/86,30	73,70/81,30	46,60/76,80
Общий белок, г/л	72,30/93,90	76,20/93,50	47,10/56,70	51,90/63,80	75,30/92,30	54,80/118,30
Альбумин, г/л	38,10/48,00	40,60/44,00	36,60/42,20	37,70/41,10	33,80/41,40	36,90/46,00
Холестерин, мкмоль/л	5,49/8,95	5,44/6,46	5,31/8,39	5,85/6,22	5,00/7,10	5,10/7,80
α-амилаза, Е/л	417,00/717,40	459,30/703,00	521,30/631,80	554,90/731,70	571,70/672,50	522,20/680,80

ВЫВОДЫ

Таким образом, при определении в возрастном онтогенезе биохимических показателей крови у самок и самцов установлено:

1. Показатели щелочной фосфатазы (Е/л) у самцов начиная с 1,5 мес. были выше, чем у самок на 21,05%. До 6-месячного возраста показатели снижались как у самцов, так и у самок, это обусловлено участием фермента в формировании скелета в процессе онтогенетического развития. С 4 мес. рост и развитие скелета замедляется, а к 6 мес. звери приобретают размеры и массу тела взрослых животных.

2. Значения показателей мочевины и креатинина у лисиц обоих полов в процессе роста животных увеличивались, но оставались в пределах референтных границ.

3. Содержание общего белка в сыворотке крови у самцов и самок в возрасте 4 мес. было ниже, чем в 1,5 мес. на 32,51 и 43,24% соответственно. По данным В. А. Афанасьева и Н. Ш. Перельдика [21], относительно быстрая стабилизация белкового обмена является биологической особенностью, характерной для многих млекопитающих, рожденных весной, у них ускорен темп роста и в общем сокращена фаза достижения зрелости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Перельдик Д. Н., Губский В. В., Куликов Н. Е. Биохимические показатели крови норки. *Кроlikovodstvo и звероводство*. 1980; (4): 30–31. <https://elibrary.ru/utwfrv>
- Тютюнник Н. Н., Кожевникова Л. К. Биохимическое тестирование как способ оценки физиологического состояния пушных зверей, разводимых в промышленных комплексах. *Сельскохозяйственная биология*. 1996; 31 (2): 39–50.
- Берестов В. А. Биохимия и морфология крови пушных зверей. Петрозаводск: Карелия; 1971. 291 с.
- Берестов В. А. Лабораторные методы оценки состояния пушных зверей. Петрозаводск: Карелия; 1981. 151 с.
- Берестов В. А. Клиническая биохимия пушных зверей: справочное пособие. Петрозаводск: Карелия; 2005. 159 с.
- Ивантер Э. В., Коросов А. В. Элементарная биометрия: учебное пособие. Петрозаводск: ПетрГУ; 2010. 104 с. <https://korosov.narod.ru/126.pdf>
- Балакирев Н. А., Юдин В. К. Методические указания по проведению научно-хозяйственных опытов по кормлению пушных зверей. М.: ООО «Полиграф»; 1994. 31 с.

8. Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос; 1976. 303 с.

9. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных: приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755. <https://docs.cntd.ru/document/456016716>

10. Ильина Е. Д., Соболев А. Д., Чекалова Т. М., Шумилина Н. Н. Звероводство: учебник. СПб.: Лань; 2004. 302 с.

11. Березина Ю. А., Беспятых О. Ю., Кокорина А. Е. Изменение биохимического профиля крови серебристо-черной лисицы в постнатальном онтогенезе. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2019; (3): 252–258. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2019-03-32>

12. Сунцова Н. А., Газизов В. З., Бояринцев Л. Е., Беспятых О. Ю. Енотовидная собака: биология, экология, морфология. Киров: Аверс; 2014. 500 с. <https://www.elibrary.ru/gqvhem>

13. Васильева Е. А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Россельхозиздат; 1982. 254 с.

14. Горелая М. В. Белки крови и мочи. Анализ протеинограмм и клинико-диагностическое значение. Днепропетровск; 2015. 54 с.

15. Кондрашова М. Н. Структурно-кинетическая организация цикла трикарбоновых кислот при активном функционировании митохондрий. *Биофизика*. 1989; 34 (3): 450–458.

16. Ильина Е. Д. Звероводство. М.: Колос; 1975. 288 с.

17. Курдеко А. П., Коваленок Ю. К., Ульянов А. Г., Братушкина Е. Л., Великанов В. В. Клиническая диагностика болезней животных: учебное пособие. Минск: ИВЦ Минфина; 2013. 544 с.

18. Coles E. H. *Veterinary Clinical Pathology*. 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1986. 486 p.

19. Кудрявцев А. А., Кудрявцева Л. А. Клиническая гематология животных. М.: Колос; 1974. 399 с.

20. Кондрахин И. П., Курилов Н. В., Малахов А. Г. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочное издание. М.: Агропромиздат; 1985. 287 с.

21. Афанасьев В. А., Перельдик Н. Ш. Клеточное пушное звероводство. М.: Колос; 1966. 400 с.

22. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Ed. by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss. 5th ed. San Diego: Academy Press; 1997. 932 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396305-5.X5000-3>

23. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: в 2 томах. Т. 1. М.: Мир; 2004. 381 с.

REFERENCES

- Pereldik D. N., Gubsky V. V., Kulikov N. E. Biokhimicheskie pokazately krovi norok = Biochemical blood parameters in minks. *Krolikovodstvo i Zverovodstvo*. 1980; (4): 30–31. <https://elibrary.ru/utwfrv> (in Russ.)
- Tutyunnik N. N., Kozhevnikov L. K. Biokhimicheskoe testirovanie kak sposob otsenki fiziologicheskogo sostoyaniya pushnykh zverey, razvodimyykh v promyshlennykh kompleksakh = Biochemical testing as a method

for assessing of physiological state of farmed fur animals. *Agricultural Biology*. 1996; 31 (2): 39–50. (in Russ.)

3. Berestov V. A. Fur animal blood biochemistry and morphology. Petrozavodsk: Karelia; 1971. 291 p. (in Russ.)

4. Berestov V. A. Laboratory methods for fur animal state assessment. Petrozavodsk: Karelia; 1981. 151 p. (in Russ.)

5. Berestov V. A. Clinical biochemistry of fur animals: reference-book. Petrozavodsk: Karelia; 2005. 159 p. (in Russ.)

6. Ivantsev E. V., Korosov A. V. Basic biometrics: study guide. Petrozavodsk: PetrSU; 2010. 104 p. <https://korosov.narod.ru/126.pdf> (in Russ.)

7. Balakirev N. A., Yudin V. K. Methodical guidelines for field tests of fur animals for effect of their feeding on their performance. Moscow: Polygraph; 1994. 31 p. (in Russ.)

8. Ovsyannikov A. I. Fundamentals of testing practice in animal farming. Moscow: Kolos; 1976. 303 p. (in Russ.)

9. Rules for experimental animal handling: Annex to Order of the Ministry of Health of the USSR No. 755 of 12 August 1977. <https://docs.cntd.ru/document/456016716>

10. Ilyina E. D., Sobolev A. D., Chekalova T. M., Shumilina N. N. Fur animal farming: study guide. Saint Petersburg: Lan'; 2004. 302 p. (in Russ.)

11. Berezina Yu. A., Bespyatykh O. Yu., Kokorina A. E. Change in biochemical blood parameters of the silver-black fox in postnatal ontogenesis. *Proceedings of Nizhnevolzhskiy Agrouniversity Complex: Science and Higher Vocational Education*. 2019; (3): 252–258. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2019-03-32> (in Russ.)

12. Suntsova N. A., Gazizov V. Z., Boyarintsev L. E., Bespyatykh O. Yu. Raccoon dog: biology, ecology, morphology. Kirov: Avers; 2014. 500 p. <https://www.elibrary.ru/gqvhem> (in Russ.)

13. Vasil'eva E. A. Clinical biochemistry of livestock animals. 2nd ed., revised and corrected. Moscow: Rossel'khozizdat; 1982. 254 p. (in Russ.)

14. Gorelaya M. V. Blood and urea proteins. Analysis of proteinograms and clinical and diagnostic significance. Dnipropetrovsk; 2015. 54 p. (in Russ.)

15. Kondrashova M. N. Structural-kinetic organization of the tricarboxylic acid cycle on active functioning of the mitochondria. *Biophysica*. 1989; 34 (3): 486–495. <https://www.elibrary.ru/xkpane>

16. Ilyina E. D. Fur animal farming. Moscow: Kolos; 1975. 288 p. (in Russ.)

17. Kurdeko A. P., Kavalionak Yu. K., Ulyanov A. G., Bratushkina E. L., Velikanov V. V. Clinical diagnosis of animal diseases: study guide. Minsk: IVTs Minfina; 2013. 544 p. (in Russ.)

18. Coles E. H. Veterinary Clinical Pathology. 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1986. 486 p.

19. Kudryavtsev A. A., Kudryavtseva L. A. Clinical hematology of animals. Moscow: Kolos; 1974. 399 p. (in Russ.)

20. Kondrakhin I. P., Kurilov N. V., Malakhov A. G. Veterinary clinical laboratory diagnosis: reference book. Moscow: Agropromizdat; 1985. 287 p. (in Russ.)

21. Afanasyev V. A., Pereldik N. Sh. Caged fur animal farming. Moscow: Kolos; 1966. 400 p. (in Russ.)

22. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Ed. by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss. 5th ed. San Diego: Academy Press; 1997. 932 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396305-5.X5000-3>

23. Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W. Harper's Biochemistry. 25th ed. Norwalk: Appleton & Lange; 1988. 927 p.

Поступила в редакцию / Received 11.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 05.06.2024

Принята к публикации / Accepted 07.08.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Окулова Ираида Ивановна, канд. вет. наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии отдела звероводства, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9938-4769>, okulova_i@mail.ru

Березина Юлия Анатольевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии отдела звероводства, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5082-716X>, uliya180775@bk.ru

Сюткина Анна Сергеевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии отдела звероводства, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3234-8602>, annetochka@mail.ru

Плотников Игорь Аркадьевич, д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией разведения пушных зверей отдела звероводства, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0458-5029>, bio.vniioz@mail.ru

Беспятых Олег Юрьевич, д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории разведения пушных зверей отдела звероводства ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова; заведующий кафедрой ВятГУ, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4539-7385>, oleg-bp@mail.ru

Домский Игорь Александрович, д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, г. Киров, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1633-1341>, gnu-vniioz@mail.ru

Iraida I. Okulova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Senior Researcher, Veterinary Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9938-4769>, okulova_i@mail.ru

Yulia A. Berezina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Veterinary Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5082-716X>, uliya180775@bk.ru

Anna S. Syutkina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Veterinary Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3234-8602>, annetochka@mail.ru

Igor A. Plotnikov, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Head of Fur Animal Breeding Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0458-5029>, bio.vniioz@mail.ru

Oleg Yu. Bespyatykh, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Fur Animal Breeding Laboratory of the Fur Animal Farming Department, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Vyatka State University, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4539-7385>, oleg-bp@mail.ru

Igor A. Domskey, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, Director, Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1633-1341>, gnu-vniioz@mail.ru

Вклад авторов: Авторы внесли равный вклад в проведение исследования: сбор и анализ материала; определение целей и задач, методов исследования; формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи.

Contribution: The authors made an equal contribution to the study: material collection and analysis; definition of goals and objectives, study methods; formulation and scientific justification of conclusions, presentation of key study results in the form of paper.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-298-300>
УДК 619:578.842.1:575.28(470)



Первое выявление рекомбинантного варианта вируса африканской чумы свиней в Российской Федерации (краткое сообщение)

А. С. Иголкин¹, Р. С. Чернышев¹, Н. Г. Зиняков¹, Е. О. Морозова¹, А. Р. Шотин¹, К. Н. Груздев¹, И. А. Чвала¹, А. Мазлум²

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

² Университет штата Луизиана, г. Батон-Руж, LA 70803, США

РЕЗЮМЕ

В рамках проведения комплексных молекулярно-генетических исследований изолятов вируса африканской чумы свиней, циркулирующих в России, идентифицирован рекомбинантный вариант с мозаичной структурой генома, вызвавший вспышку заболевания на территории свинокомплекса Приморского края в 2023 г. Охарактеризованный штамм ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec обладал феноменом «гемадсорбции», высокой репродукционной активностью в первичных культурах клеток макрофагов свиней, 99,9917%-й идентичностью с первыми рекомбинантными изолятами из Китайской Народной Республики, выявленными в 2021 г. Сайты рекомбинации включали 79 открытых рамок считывания, гомологичных изолятам генотипа II, 49 – генотипу I и 12 смешанных. Исследование методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени биологического материала, отобранного от павших свиней, не показало изменения чувствительности и специфичности, несмотря на значительные генетические различия рекомбинанта в сравнении с изолятами генотипа II, энзоотичными для Российской Федерации. Однако D. Zhao et al. в 2023 г. сообщалось о высоковирулентных свойствах родственных вариантов вируса в острых опытах на домашних свиньях. В связи с нарастающими темпами молекулярной эволюции вируса африканской чумы свиней в странах Восточной Азии (Китае, Вьетнаме и дальневосточных регионах России) необходимо усовершенствование мер контроля, общей и специфической профилактики, внутреннего и международного надзора за экономически значимой болезнью животных.

Ключевые слова: африканская чума свиней, рекомбинантный вариант, I генотип, II генотип, Приморский край, Дальний Восток

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

Для цитирования: Иголкин А. С., Чернышев Р. С., Зиняков Н. Г., Морозова Е. О., Шотин А. Р., Груздев К. Н., Чвала И. А., Мазлум А. Первое выявление рекомбинантного варианта вируса африканской чумы свиней в Российской Федерации (краткое сообщение). *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 298–300. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-298-300>

Конфликт интересов: Иголкин А. С. и Чвала И. А. являются членами редколлегии, Груздев К. Н. является главным редактором журнала «Ветеринария сегодня», но не имеют никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Иголкин Алексей Сергеевич, канд. вет. наук, заместитель руководителя лабораторно-диагностического центра, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, igolkin_as@arriah.ru

First detection of recombinant variant of African swine fever virus in the Russian Federation (brief communication)

Alexey S. Igolkin¹, Roman S. Chernyshev¹, Nikolay G. Zinyakov¹, Elizaveta O. Morozova¹, Andrey R. Shotin¹, Konstantin N. Gruzdev¹, Ilya A. Chvala¹, Ali Mazloun²

¹ Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

² Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803, USA

ABSTRACT

As part of extensive molecular and genetic research into African swine fever virus isolates circulating in Russia, a recombinant variant with a mosaic genome structure has been identified. The one that caused an outbreak on a pig farm in the Primorsky Krai, in 2023. The characterized strain ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec demonstrates hemadsorption, active propagation in porcine primary macrophage cell culture, 99.9917% identity with the first recombinant isolates from the People's Republic of China, recovered in 2021. Recombination sites included 79 open reading frames homologous to genotype II isolates; 49 ones homologous to genotype I and 12 mixed ones. Testing biomaterial from dead pigs in real-time polymerase chain reaction showed no changes in sensitivity or specificity, despite significant genetic distinctions between the recombinant and genotype II isolates that are enzootic to the Russian Federation. However, in 2023, D. Zhao et al. reported on high virulence of the virus related variants as revealed by the challenge tests in domestic pigs. Given the accelerating rates of ASFV molecular evolution in the East Asian countries (China, Vietnam and the Far Eastern regions of Russia), it is required to improve control measures, general and specific prevention, national and international surveillance over the economically significant animal disease.

Keywords: African swine fever, recombinant variant, genotype I, genotype II, the Primorsky Krai, the Far East

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

© Иголкин А. С., Чернышев Р. С., Зиняков Н. Г., Морозова Е. О., Шотин А. Р., Груздев К. Н., Чвала И. А., Мазлум А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

For citation: Igolkin A. S., Chernyshev R. S., Zinyakov N. G., Morozova E. O., Shotin A. R., Gruzdev K. N., Chvala I. A., Mazloum A. First detection of recombinant variant of African swine fever virus in the Russian Federation (brief communication). *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 298–300. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-298-300>

Conflict of interests: Igolkin A. S., Chvala I. A. are members of the editorial board, Gruzdev K. N. is the editor-in-chief of the “Veterinary Science Today” journal. None of the authors were involved into decision making process related to the article publication. The authors declared no other conflicts of interests.

For correspondence: Aleksey S. Igolkin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Deputy Head of the Laboratory Diagnostic Center, Head of Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, igolkin_as@arriah.ru

Эпизоотическая ситуация по африканской чуме свиней (АЧС) на территории России в 2023 г. оставалась неблагоприятной. Очаги болезни выявлены в популяциях диких кабанов и домашних свиней как в личных подсобных хозяйствах, так и на свиноводческих предприятиях ряда субъектов страны.

В рамках реализуемых в ФГБУ «ВНИИЗЖ» научно-исследовательских работ проведены комплексные исследования с использованием методов секвенирования и филогенетического анализа образца вируса АЧС (штамм ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec), выделенного из биологического материала во время вспышки (май 2023 г.) инфекции на свинокомплексе Приморского края (с. Первомайское Михайловского района).

Проведен сравнительный анализ с данными из открытых источников, описывающими изоляты, выделенные в 2018–2023 гг. на территории Приморского края и других субъектов Российской Федерации. В качестве референс-образцов использованы генетические последовательности штаммов вируса АЧС I и II генотипов из международной базы данных GenBank (штамм OURT 88/3 – № AM712240.1; штамм Georgia 2007/1 – № FR682468.2 соответственно), а также последовательности рекомбинантных (I и II генотипа) изолятов, выявленных во время вспышек АЧС в 2021–2022 гг. от домашних свиней в следующих провинциях Китая: Хайнань, Внутренняя Монголия и Цзянсу [1].

В ходе исследований идентифицирован вирус АЧС, накапливающийся в культуре клеток костного мозга свиней в титре $(8,2 \pm 0,23) \lg \text{ГДЕ}_{50}/\text{см}^3$, демонстрирующий феномен «плотной гемадсорбции».

Полногеномные последовательности ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec и ASFV/Pig/Jiangsu/LG_China/2021 (рекомбинантный вариант, зарегистрированный в Китае в 2021 г.) продемонстрировали 99,9917%-ю гомологию (рис. 1).

Результаты филогенетического полногеномного анализа, представленные на рисунке 2, наглядно демонстрируют соответствие исследуемого вируса из

Приморского края отдельной кладе рекомбинантных изолятов из Китая (2021–2022 гг.).

Формирование сайтов рекомбинации (79 открытых рамок считывания (ОРС) принадлежат к генотипу II, 49 – к генотипу I, 12 – смешанных) в геноме штамма ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec представлены на рисунке 3.

Описанный в публикации D. Zhao et al. в 2023 г. рекомбинантный вариант охарактеризован как высоко-вирулентный для домашних свиней [1]. Также сообщается, что экспериментальные вакцины против АЧС, изготовленные на основе штамма HLJ/18-7GD (разработчик Harbin Veterinary Research Institute), обеспечивающие защиту от заражения вирулентным вирусом генотипа II, не защищали свиней от заражения рекомбинантным вариантом [2].

В 2023 г. подобный предыдущим рекомбинантный вариант вируса был обнаружен в северных провинциях Вьетнама [3].

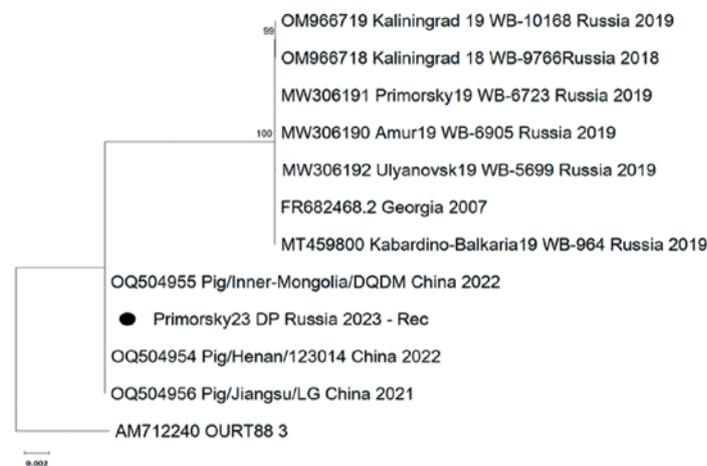


Рис. 2. Филогенетическое древо ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec (●) и других штаммов вируса АЧС

Fig. 2. Phylogenetic tree of ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec (●) and other ASF virus strains

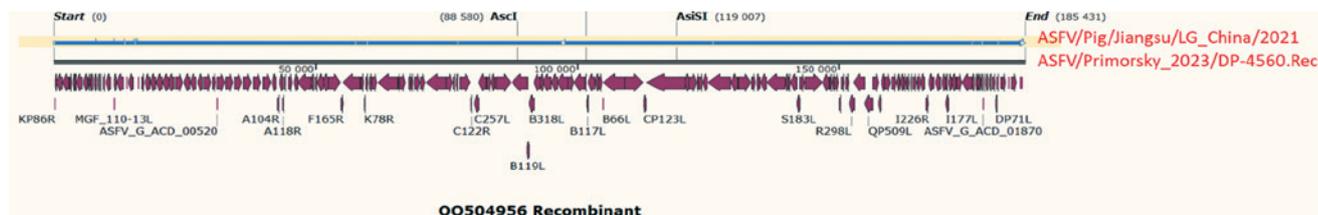


Рис. 1. Карта соответствия полногеномных последовательностей изолятов вируса АЧС ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec и ASFV/Pig/Jiangsu/LG_China/2021 (синий цвет показывает гомологию между последовательностями)

Fig. 1. Genome-wide map showing correspondence of sequences between ASF isolates ASFV/Primorsky_2023/DP-4560.Rec and ASFV/Pig/Jiangsu/LG_China/2021 (blue color shows homology between the sequences)

ЖУРНАЛ «ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ» ПРИГЛАШАЕТ АВТОРОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ СВОИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».
- Статьи публикуются на двух языках: русском и английском.
- Основными направлениями являются результаты теоретических и экспериментальных исследований в области ветеринарии и ветеринарной микробиологии, тенденций развития ветеринарной науки, обсуждение актуальных вопросов в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных.
- Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.
- Мы публикуем статьи как выдающихся, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области.
- Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Никешина Татьяна Борисовна,
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Узнайте больше на сайте журнала
<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>

**«Ветеринария сегодня» –
это прекрасная возможность
заявить о себе миру!**

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках – русском и английском, – содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 6–8 страниц (до 10 страниц – для обзора); но не менее 5 (при одинарном интервале и размере шрифта 12 пт). Оптимальный объем статьи: 3000–6000 слов.

Предоставление в редакцию рукописи статьи является подтверждением согласия автора на использование его произведения как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник. Материалы направляются в редакцию с сопроводительным письмом от организации автора (форма на сайте).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ

1. **УДК**
 2. **Название статьи**
 3. **Имя, отчество, фамилия авторов**, место работы, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.
 4. **Резюме** (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков.
 5. **Ключевые слова** (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
 6. **Благодарности** (в случае финансирования исследования организацией или желания выразить благодарность определенным людям).
 7. **Для цитирования**
 8. **Конфликт интересов**
 9. **Для корреспонденции** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, адрес, электронная почта).
 10. **Введение**
 11. **Материалы и методы**
 12. **Результаты и обсуждение**
 13. **Выводы или заключение**
 14. **Список литературы** (*ванкуверский стиль* – расположение источников в порядке их цитирования; количество цитируемых работ в оригинальных статьях – около 30, в обзорах – не более 60).
 15. **Информация об авторах** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, город, страна).
 16. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, графики) хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).
- Работа должна быть представлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12 пт, межстрочный интервал – одинарный, размер полей – по 2 см, отступ в начале абзаца – 1 см, форматирование по ширине.
- Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и уместиться в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком. Максимальное суммарное количество таблиц и рисунков в одной статье должно быть не более 5.
- Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
FGBI "FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH" (FGBI "ARRIAH")

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЖЖ ПО ЯЩУРУ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЖЖ ПО ГРИППУ ПТИЦ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR AVIAN INFLUENZA

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЖЖ ПО БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR NEWCASTLE DISEASE

**ЦЕНТР ВОЖЖ ПО СОТРУДНИЧЕСТВУ В ОБЛАСТИ
ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ЖИВОТНЫХ ДЛЯ СТРАН ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ,
ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ И ЗАКАВКАЗЬЯ**
WOAH COLLABORATING CENTRE FOR DIAGNOSIS AND CONTROL OF VIRAL
ANIMAL DISEASES IN EASTERN EUROPE, CENTRAL ASIA AND TRANSCAUCASIA

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЯЩУРУ
FAO REFERENCE CENTRE FOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE

**РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЗООНОЗНЫМ
КОРОНАВИРУСАМ**
FAO REFERENCE CENTRE FOR ZOO NOTIC CORONAVIRUSES

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ПО БЕШЕНСТВУ И ВСЕ ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Г. ВЛАДИМИР):

- выполняет анализ по определению титра антител к вирусу бешенства у домашних животных (FAVN);
- проводит исследования с использованием следующих аккредитованных методов:
 - 1) диагностика бешенства животных в реакции иммунофлуоресценции;
 - 2) выделение вируса бешенства в культуре клеток нейробластомы мыши;
 - 3) обнаружение флуоресцентным методом антибиотиков тетрациклинового ряда в тканях зубов и костей животных для контроля поедаемости оральных антирабических вакцин;
 - 4) определение вируснейтрализующих антител к вирусу бешенства в крови диких плотоядных животных в реакции нейтрализации в культуре клеток ВНК-21 (RFFIT);
- является разработчиком и производителем средств диагностики бешенства животных:
 - 1) Иммуноглобулина антирабического флуоресцирующего диагностического «ФЛУРАБ»;
 - 2) Набора по обнаружению антител к вирусу бешенства в конкурентном варианте твердофазного иммуоферментного анализа;
 - 3) Тест-системы для выявления фрагмента генома вируса бешенства методом совмещенной обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции в режиме реального времени;
- является разработчиком и координатором комплекса мер по борьбе с бешенством в государствах – участниках СНГ и других мероприятий по контролю бешенства в РФ;
- проводит обучение в форме стажировок, вебинаров и курсов повышения квалификации по:
 - 1) лабораторной диагностике бешенства животных методами флуоресцирующих антител, биологической пробы на мышах, выделения вируса бешенства в культуре клеток;
 - 2) определению наличия антибиотиков тетрациклинового ряда в тканях зубов и костей методом флуоресценции;
 - 3) эпизоотологии, диагностике и контролю бешенства животных.
- оказывает услуги по проверке квалификации лабораторий, осуществляющих диагностику бешенства.

**Подробную информацию можно получить
по тел. 8 (4922) 26-15-12 доб. 23-33;**

**Елена Владимировна Чернышова,
кандидат ветеринарных наук,
заведующий референтной
лабораторией по бешенству и BSE,
chernishova@arriah.ru**