



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

МАРТ | MARCH

ТОМ 14 № 1 2025

SCIENTIFIC JOURNAL



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

БОЛЕЗНИ ПТИЦ



Расширение спектра восприимчивых видов млекопитающих в ходе развития эпизоотической ситуации в мире по гриппу птиц за 2023–2024 гг.

стр. 6

Иммуногенная активность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуального для России в 2023 году вируса высокопатогенного гриппа птиц H5N1

стр. 47

Воспроизведение ассоциированной инфекции, обусловленной *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, в лабораторных условиях

стр. 55

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

МАРТ ТОМ 14 № 1 2025

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

FREQUENCY: 4 times a year

MARCH VOLUME 14 No. 1 2025

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 (Russian Science Citation Index).

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 scientometric system – Russian Science Citation Index (RSCI), Directory of Open Access Journals (DOAJ), as well as in the RSCI database.

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, Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), г. Москва, Россия, e-mail: j.melano@ya.ru

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; ResearcherID: IRW-9905-2023

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; Scopus Author ID: 57190309524; ResearcherID: K-9491-2015

Готов Александр Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН», пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; AuthorID: 236129; Scopus Author ID: 7004340265; ResearcherID: L-7720-2017

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; ResearcherID: B-2813-2018

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. П. 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; Scopus Author ID: 56469415600; 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; Scopus Author ID: 24279315500

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; ResearcherID: AAO-7813-2020

Ломако Юрий Васильевич – канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского», 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 Нгуерабе Ямтитина – д-р 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; ResearcherID: AAU-7410-2021

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; ResearcherID: ANB-4663-2022

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; Scopus Author ID: 8630551700; ResearcherID: AGJ-7566-2022

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; ResearcherID: ABE-7283-2020

Дизайн и верстка: Бондарь Мария

Ответственный редактор: Гусева Елена

Редактор-координатор: Власова Яна

Редакторы-корректоры:

Нурмухамбетова-Михайлова Юлия, Рыгузова Мария

Корректор: Тулаева Карина

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, Новомодитровская ул., дом 5а,

строение 4; 8 (499) 700-05-07,

факс: 789-86-36 доб. 3777;

e-mail: moscow@ural-press.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: bymuratdeniz / GettyImages

Никитин Иван Николаевич – д-р вет. наук, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; AuthorID: 768437; Scopus Author ID: 58616318800; 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; Scopus Author ID: 35410040100; ResearcherID: V-4141-2017

Пронин Валерий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», пос. Вольгинский, Владимирская область, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; Scopus Author ID: 57878337900; 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; ResearcherID: JAC-6920-2023

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 Хаматович – 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; Scopus Author ID: 57219163783

Савченкова Ирина Петровна – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. П. 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; ResearcherID: ACB-2749-2022; SciProfiles: 652922

Сидорчук Александр Андреевич – д-р вет. наук, профессор, г. Москва, Россия; AuthorID: 508887; Scopus Author ID: 57191965356

Сисягин Павел Николаевич – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>; AuthorID: 702788; ResearcherID: A-5358-2016

Соколов Марияна – 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; ResearcherID: Y-8635-2019

Старов Сергей Константинович – канд. вет. наук, старший научный сотрудник, заместитель главного редактора, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; AuthorID: 596191; Scopus Author ID: 6507314336

Субботин Александр Михайлович – д-р биол. наук, профессор, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, 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; Scopus Author ID: 57204718558

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; Scopus Author ID: 58822775800

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; ResearcherID: K-5603-2016

Шахов Алексей Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>; AuthorID: 605505; Scopus Author ID: 7005636727; ResearcherID: AAA-8731-2020

Шкуратова Ирина Алексеевна – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, Уральский НИВИ – структурное подразделение ФГБНУ УрФАНЦИ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688; Scopus Author ID: 57192078535; ResearcherID: AAD-3416-2022

Эрдэнэбаатар Жанчивдорж – PhD в области ветеринарии, профессор, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия; Scopus Author ID: 6602798556

Уредитель: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Издатель: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва,

проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12

Адрес редакции: 600901, г. Владимир,

мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Типография: ООО «ГРiН ПРИ»,

152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7

Подписано в печать: 14 марта 2025 года

Дата выхода в свет: 31 марта 2025 года

© ФГБУ «ВНИИЗЖ»,

научное редактирование,

корректурa статей, 2025

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, Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozadzor), Moscow, Russia, e-mail: j.melano@ya.ru

Executive Editor: Tatiana Nikeshina, Cand. Sci. (Biology), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia, e-mail: nikeshina@arriah.ru; AuthorID: 768437; Scopus Author ID: 58616318800; ResearcherID: F-5330-2019

Cover photo: bymuratdeniz / Gettyimages

Editorial Board:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Mongolian University of Life Sciences, Ulan Bator, Mongolia; <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>; Scopus Author ID: 2663473300; ResearcherID: JRW-9905-2023

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; Scopus Author ID: 57190309524; ResearcherID: K-9491-2015

Alexander G. Glotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; AuthorID: 236129; Scopus Author ID: 7004340265; ResearcherID: L-7720-2017

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; ResearcherID: B-2813-2018

Mikhail I. Gulyukin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the RAS, 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; Scopus Author ID: 56469415600; ResearcherID: GZN-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; Scopus Author ID: 24279315500

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; ResearcherID: AAO-7813-2020

Yurij V. Lamaka – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vysheslesky, Minsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; AuthorID: 1049578; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Vladimir V. Makarov – Dr. Sci. (Biology), Professor, Center of Veterinary, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Mahamat Nguerabe Yamtitina – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Comrat State University, Comrat, 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; ResearcherID: AAU-7410-2021

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; ResearcherID: AHB-4663-2022

Ivan Nastasijevic – PhD/DVM, Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia; <https://orcid.org/0000-0002-7141-269X>; SciProfiles: 2500444; Loop profile: 1914298; Scopus Author ID: 8630551700; ResearcherID: AGJ-7566-2022

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; ResearcherID: ABE-7283-2020

Ivan N. Nikitin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Kazan State Academy of Veterinary Medicine n. a. N. E. Bauman, Kazan, Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; AuthorID: 768437; Scopus Author ID: 58616318800; 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; Scopus Author ID: 35410040100; ResearcherID: V-4141-2017

Valery V. Pronin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Research Centre for Virology and Microbiology, Volginsky, Vladimir Region, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; Scopus Author ID: 57878337900; 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; ResearcherID: JAC-6920-2023

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 n. a. 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; Scopus Author ID: 57219163783

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 Samarđžija – PhD/DVM, Professor, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-0402-3173>; Scopus Author ID: 8410731800; ResearcherID: ACB-2749-2022; SciProfiles: 652922

Alexander A. Sidorchuk – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Moscow, Russia; AuthorID: 508887; Scopus Author ID: 57191965356

Pavel N. Sisyagin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>; AuthorID: 702788; ResearcherID: A-5358-2016

Marijana Sokolovic – PhD/DVM, Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID: 21835149800; SciProfiles: 1947001; ResearcherID: Y-8635-2019

Sergey K. Starov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Deputy Editor-in-Chief, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; AuthorID: 596191; Scopus Author ID: 6507314336

Alexander M. Subotsin – Dr. Sci. (Biology), Professor, The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, 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; Scopus Author ID: 57204718558

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; Scopus Author ID: 58822775800

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; ResearcherID: K-5603-2016

Alexey G. Shakhov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>; AuthorID: 605505; Scopus Author ID: 7005636727; ResearcherID: AAA-8731-2020

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, Ural Research Veterinary Institute – UrFASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688; Scopus Author ID: 57192078535; ResearcherID: DAAD-3416-2022

Erdenebaatar Janchidorj – 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: Iana Vlasova

Content editors:

Julia Nurmukhambetova-Mikhailova, Maria Ryaguzova

Proof-reader: Karina Tulaeva

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 Staff Office: 600901, Vladimir, Yur'evets,

Federal Centre for Animal Health

Printing Office: Grand Prix,

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

Approved for print: March 14, 2025

Issued: March 31, 2025

© Federal Centre for Animal Health, scientific editing, proofreading of articles, 2025

Creative Commons Attribution 4.0 License



Содержание

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

6 Расширение спектра восприимчивых видов млекопитающих в ходе развития эпизоотической ситуации в мире по гриппу птиц за 2023–2024 гг.

М. В. Жильцова, Т. П. Акимова, М. Н. Митрофанова, В. П. Семакина, Е. С. Выставкина

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

14 Значение ротавируса, коронавируса и *Escherichia coli* в этиологии болезней молодняка крупного рогатого скота (обзор)

И. А. Круглов, А. В. Кононов, А. А. Нестеров, С. В. Кононова, О. В. Прунтова

24 Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота на Ближнем Востоке – исторические и статистические данные

Я. Хатиб

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

32 Профилактика респираторных болезней свиней вирусно-бактериальной этиологии в условиях импортозамещения

Т. В. Михалева, С. С. Коннова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

40 Разработка тест-системы для выявления РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 методом мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием внутреннего контрольного образца

**А. Д. Грехнева, Н. Г. Зиняков, А. В. Андриясов, А. А. Козлов,
Е. В. Овчинникова, Д. Б. Андрейчук, П. Д. Жестков, И. А. Чвала**

47 Иммуногенная активность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуального для России в 2023 году вируса высокопатогенного гриппа птиц H5N1

Н. В. Мороз, Д. Л. Долгов, С. В. Фролов, А. Д. Грехнева, В. Ю. Кулаков

55 Воспроизведение ассоциированной инфекции, обусловленной *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, в лабораторных условиях

Д. А. Козлов, М. С. Волков, О. А. Чупина, Н. В. Мороз, В. Н. Ирза, В. В. Пронин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

62 Функционально-метаболическая активность нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, сенсibilизированного неагглютиногенным штаммом бруцелл

О. О. Манакова, Т. А. Янченко, В. С. Власенко

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ (COVID-19)

69 Получение рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2

А. С. Яковлева, А. В. Каньшина, А. М. Тимина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

76 Ассоциации полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота

М. В. Бытов, Ю. А. Осипова, Ч. Р. Юсупова, В. Д. Зубарева

82 Отработка режима лиофилизации гипериммунной хламидийной сыворотки

В. В. Евстифеев, С. И. Яковлев, Ф. М. Хусаинов, И. Р. Акбашев, С. В. Садыкова

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

90 Наночастицы металлов, наночастицы серебра и их влияние на организм человека и животных (обзор литературы)

А. Д. Сумарокова, Л. Н. Стацевич

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

101 Анализ инсектицидной устойчивости к пиретроидам, фосфорорганическим соединениям и карбаматам у *Musca domestica* L. методом ПЦР-ПДРФ

**А. Д. Мельничук, К. С. Крестовишина, А. Г. Кинарейкина, К. Ю. Маслакова,
Л. Я. Янгирова, Е. А. Силиванова**

Contents

REVIEWS | AVIAN DISEASES

- 6** Extension of scope of susceptible mammalian species
as avian influenza global situation developed in 2023–2024
M. V. Zhiltsova, T. P. Akimova, M. N. Mitrofanova, V. P. Semakina, E. S. Vystavkina

REVIEWS | BOVINE DISEASES

- 14** Role of rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* in disease etiology
in young cattle (review)
I. A. Kruglov, A. V. Kononov, A. A. Nesterov, S. V. Kononova, O. V. Pruntova
- 24** Lumpy skin disease in the Middle East – historical and statistical data
Ya. Khatib

REVIEWS | PORCINE DISEASES

- 32** Prevention of respiratory diseases of pigs of viral-bacterial etiology in conditions
of import substitution
T. V. Mikhaleva, S. S. Konnova

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 40** Development of test-system for detection of H5 and H7 avian influenza virus RNA
by multiplex real-time RT-PCR assay using internal control
**A. D. Grekhneva, N. G. Zinyakov, A. V. Andriyasov, A. A. Kozlov, E. V. Ovchinnikova,
D. B. Andreychuk, P. D. Zhestkov, I. A. Chvala**
- 47** Immunogenic activity of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine against high-pathogenicity H5N1
avian influenza virus relevant for Russia in 2023
N. V. Moroz, D. L. Dolgov, S. V. Frolov, A. D. Grekhneva, V. Yu. Kulakov
- 55** Creating a laboratory model of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*
associated infection
D. A. Kozlov, M. S. Volkov, O. A. Chupina, N. V. Moroz, V. N. Irza, V. V. Pronin

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 62** Functional and metabolic activity of neutrophils in young cattle sensitized
with a non-agglutinogenic strain of *Brucella*
O. O. Manakova, T. A. Yanchenko, V. S. Vlasenko

ORIGINAL ARTICLES | CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19)

- 69** Preparation of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein
A. S. Yakovleva, A. V. Kanshina, A. M. Timina

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 76** Polymorphisms in *TLR4* gene associated with risks of bovine mastitis development
M. V. Bytov, Yu. A. Osipova, Ch. R. Yusupova, V. D. Zubareva
- 82** Optimization of freeze-drying process for anti-*Chlamydia* hyperimmune serum
V. V. Evstifeev, S. I. Yakovlev, F. M. Khusainov, I. R. Akbashev, S. V. Sadykova

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 90** Metal nanoparticles, silver nanoparticles and their impact on human and animal health (review)
A. D. Sumarokova, L. N. Statsevich

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 101** PCR-RFLP analysis of insecticide resistance to pyrethroids,
organophosphates and carbamates in *Musca domestica* L.
**A. D. Melnichuk, K. S. Kretonoshina, A. G. Kinareikina, K. Yu. Maslakova,
L. Ya. Yangirova, E. A. Silivanova**



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-6-13>
УДК 619:616.98:578.832.1:598.2:636.9:616-036.22



Расширение спектра восприимчивых видов млекопитающих в ходе развития эпизоотической ситуации в мире по гриппу птиц за 2023–2024 гг.

М. В. Жильцова, Т. П. Акимова, М. Н. Митрофанова, В. П. Семакина, Е. С. Выставкина

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Высокопатогенный грипп птиц в настоящее время требует самого пристального внимания всего международного сообщества. Определение факторов, влияющих на передачу и репликацию вируса гриппа птиц у млекопитающих, а также анализ происходящих эволюционных процессов позволит предположить, какие вирусные линии будут иметь потенциал к преодолению видового барьера и инфицированию нетипичных хозяев, в том числе людей.

Цель исследования. Изучение эпизоотической ситуации по гриппу птиц среди млекопитающих, описание особенностей эпизоотического процесса при гриппе птиц, ретроспективный анализ вспышек гриппа у нетипичных хозяев.

Материалы и методы. Работу выполняли в информационно-аналитическом центре Управления ветнадзора при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (г. Владимир). Сбор сведений осуществляли на основе статистического материала базы данных Всемирной организации здравоохранения животных WAHIS и научных публикаций зарубежных и отечественных авторов. Картографический анализ проводили с помощью географической информационной системы ArcGIS (ESRI, США).

Результаты. С 2022 по 2024 г. в эпизоотический процесс, вызванный вирусом гриппа подтипа H5N1, были вовлечены млекопитающие различных семейств, у представителей которых ранее болезнь не регистрировали: полорогие, куницеобразные, медвежь и др. Для эффективного предотвращения распространения заболевания важны строгие меры биобезопасности и актуализация систем оповещения. В ограниченном числе стран (Бангладеш, Доминиканская Республика, Китай, Египет, Индонезия, Лаос, Вьетнам, страны Евросоюза и др.) в качестве профилактической экстренной меры для защиты птиц от гриппа использовали вакцинацию.

Заключение. Передача вируса высокопатогенного гриппа птиц млекопитающим разных видов, в том числе сельскохозяйственным животным, может дать старт будущей пандемии. Межвидовая передача вируса, регистрируемая в последнее время, указывает на возникновение адаптивных мутаций и представляет собой угрозу здоровью животных, общественному здравоохранению, продовольственной безопасности и биоразнообразию.

Ключевые слова: обзор, грипп птиц, млекопитающие, сельскохозяйственные животные, крупный рогатый скот, эпизоотическая ситуация, расширение спектра хозяев, стратегии контроля

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Сбор и анализ эпизоотологических данных для оценки статусов благополучия субъектов Российской Федерации и страны в целом, в том числе для получения и поддержания статусов в соответствии с требованиями Кодекса наземных животных ВОЗЖ».

Для цитирования: Жильцова М. В., Акимова Т. П., Митрофанова М. Н., Семакина В. П., Выставкина Е. С. Расширение спектра восприимчивых видов млекопитающих в ходе развития эпизоотической ситуации в мире по гриппу птиц за 2023–2024 гг. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 6–13. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-6-13>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Жильцова Милена Владимировна, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юр'евец, г. Владимир, 600901, zhiltsova@arriah.ru

Extension of scope of susceptible mammalian species as avian influenza global situation developed in 2023–2024

Milena V. Zhiltsova, Tatiana P. Akimova, Mariya N. Mitrofanova, Valentina P. Semakina, Evgeniya S. Vystavkina

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

ABSTRACT

Introduction. Highly pathogenic avian influenza currently requires the close attention of the international community. Determining the factors affecting transmission and replication of avian influenza virus in mammals and analysing the evolutionary processes involved will suggest which virus lineages will have the spillover potential and infect non-typical hosts, including humans.

Objective. The paper is aimed at studying the avian influenza epidemic situation in mammals, description of the features of the avian influenza epizootic process, retrospective analysis of influenza outbreaks in non-typical hosts.

Materials and methods. The study was carried out in the Information and Analysis Centre of the Veterinary Surveillance Department of the Federal Centre for Animal Health (Vladimir). The data obtained was based on statistical data from the database of the World Organisation for Animal Health WAHIS and scientific publications of foreign and domestic authors. Cartographic analysis was carried out using ArcGIS geographic information system (ESRI, USA).

Results. The avian influenza virus H5N1 epizootic process in 2022–2024 involved mammals of various families (*Bovidae*, *Mustelidae*, *Ursidae* etc.) in which the disease had not been previously recorded. Strict biosecurity measures and updated alert systems are of crucial importance to effectively prevent the spread of the disease. In a limited number of countries (Bangladesh, Dominican Republic, China, Egypt, Indonesia, Laos, Vietnam, EU countries, etc.), vaccination has been used as a preventive and emergency measure to protect birds from influenza.

Conclusion. Transmission of highly pathogenic avian influenza virus to mammals of different species, including livestock, may be the start of a future pandemic. The recently recorded virus spillover indicates emergence of adaptive mutations and poses a threat to animal health, public health, food security and biodiversity.

Keywords: review, avian influenza, mammals, livestock, cattle, epizootic situation, extension of host scope, control strategies

Acknowledgements: The work was financed by Federal Centre for Animal Health within the scope of research topics “Collection and analysis of epizootological data for assessment of disease-free statuses of the Russian Federation Subjects and the country’s entire territory, including for obtaining and maintaining statuses in accordance with the requirements of the WOA Terrestrial Animal Health Code”.

For citation: Zhiltsova M. V., Akimova T. P., Mitrofanova M. N., Semakina V. P., Vystavkina E. S. Extension of scope of susceptible mammalian species as avian influenza global situation developed in 2023–2024. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 6–13. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-6-13>

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

For correspondence: Milena V. Zhiltsova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Yur’evets, Vladimir 600901, Russia, zhiltsova@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Вирус гриппа птиц продолжает представлять угрозу здоровью животных и человека. Подтипы H5 и H7 стали причиной многочисленных вспышек заболевания среди диких и домашних птиц и гибели по меньшей мере 600 млн сельскохозяйственных птиц с 2005 г. Многие страны в настоящее время озабочены разработкой и применением различных стратегий борьбы с гриппом птиц.

В отличие от подтипов вируса H5N2, H5N3, H5N4, H5N5 и H5N6, которые обнаруживали на довольно ограниченной территории или в пределах континента, вирус подтипа H5N1 положил начало масштабному межконтинентальному распространению [1].

Подтип вируса H5N1 стал причиной значительного количества вспышек заболевания во многих странах Европы, Африки, Азии и Америки [2].

Межвидовая передача вируса, как правило, приводит к тупиковому инфекционному процессу. Вероятность приобретения вирусом набора адаптивных мутаций у одного иммунокомпетентного хозяина с последующей передачей другому низка. Адаптивные мутации в ходе эпизоотии могли увеличить приспособленность вируса за счет повышенной активности полимеразы, чтобы обеспечить передачу менее восприимчивым хозяевам. Это демонстрируют результаты как экспериментальных заражений, так и выделения вируса у нетипичных хозяев в дикой природе и сельском хозяйстве во время вспышек заболевания: распространение высокопатогенного гриппа птиц (ВГП) H5N1 на фермах среди свиней в Индонезии, передача вируса крупному рогатому скоту (КРС) и козам в США [3].

Явные изменения в эпидемиологии и экологии вируса в настоящее время представляют собой угрозу здоровью животных, общественности и биоразнообразию, продовольственной безопасности и биоразнообразию. Традиционные меры контроля, такие как биобезопасность, стемпинг аут и ограничение передвижения, хотя и являются важными, могут оказаться недостаточными.

В большинстве стран имеются механизмы, способствующие регулярному обмену информацией и передовым опытом, для координации политики борьбы с заболеванием и разработки научно обоснованных национальных стратегий [4, 5].

Целью исследования было изучение эпизоотической ситуации по гриппу птиц среди млекопитающих, описание особенностей эпизоотического процесса при гриппе птиц, а также ретроспективный анализ вспышек гриппа у нетипичных хозяев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в информационно-аналитическом центре Управления ветернадзора при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир). Сбор сведений осуществляли, используя статистический материал базы данных Всемирной организации здравоохранения животных WAHIS и научные публикации зарубежных и отечественных авторов. Картографический анализ проводили с помощью географической информационной системы ArcGIS (ESRI, США).

ДИНАМИКА ВСПЫШЕК ВГП СРЕДИ НЕТИПИЧНЫХ ХОЗЯЕВ, В ТОМ ЧИСЛЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Во время продолжающейся в мире вспышки гриппа птиц, вызванной вирусом ВГП А/Н5N1, были выявлены случаи заражения как птиц, так и многих видов млекопитающих. С 2022 по 2024 г. заметно изменился спектр и процентное соотношение нетипичных хозяев, зараженных возбудителем ВГП естественным путем. В процесс были вовлечены виды млекопитающих, у которых ранее болезнь не регистрировали, в том числе крупный и мелкий рогатый скот.

Значительное увеличение выявленных случаев инфицирования млекопитающих (рис. 1) с 139 в 2022 г. до 275 в 2023 г. связано с распространением инфекции и применением расширенных программ мониторинга

гриппа птиц [6]. Не исключено, что некоторые нетипичные хозяева могут быть значимыми резервуарами инфекции. Вирус ВГП А/Н5N1 в последнее время легко преодолевает межвидовые барьеры, проникая в дикую природу, сельское хозяйство, и потенциально способен спровоцировать глобальную пандемию.

В настоящее время вирус поразил большое количество видов млекопитающих во всем мире, в том числе тех, которые классифицируются как находящиеся под угрозой исчезновения и уязвимые, что потенциально усугубляет их природоохранный статус. Наиболее вероятным путем инфицирования млекопитающих является тесный контакт с больными птицами, причем некоторые данные свидетельствуют о возможной передаче инфекции от млекопитающего к млекопитающим [7].

Ранее нами была описана ситуация в мире по ВГП у млекопитающих в 2022 г. [8]. Отмечена высокая способность вируса передаваться от птиц таким млекопитающим, как куньи (норки, выдры, хорьки, барсуки), кошачьи (домашние кошки, пумы, леопарды, рыси), ластоногие (обыкновенные тюлени, длинномордые тюлени), медведи (бурые, гризли, американские черные), афалины, скунсы, лисы, опоссумы, еноты. Проявления ВГП у млекопитающих варьируются от бессимптомных до тяжелых форм.

На данный момент продолжается циркуляция штаммов вируса ВГП, которые уже адаптировались к различным видам млекопитающих.

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ВГП У НЕТИПИЧНЫХ ХОЗЯЕВ В 2023–2024 ГГ.

Кроме увеличения числа зарегистрированных случаев ВГП среди млекопитающих, за последние 2 года произошло изменение процентного соотношения заболеваний животных различных семейств (рис. 2, табл.).

Так, в 2022 г. более 50% зараженных животных были представителями семейства псовых (рыжая лисица). В течение 2023 г. отмечали увеличение числа заболевших среди ластоногих, кошачьих, кунцеобразных на фермах, а также регистрировали болезнь у новых видов животных: лесных хорьков, коати. В 2024 г. значительное число вспышек зафиксировано среди представителей семейства полорогих (КРС, козы).

Гибель в 2022 г. тюленей от инфекции, вызванной вирусом ВГП А/Н5N1, была подтверждена в Квебеке (Канада) и на побережье США [9]. Начавшаяся в ноябре 2022 г. вспышка ВГП среди перуанских пеликанов вдоль побережья Перу и на прилегающих островах к началу 2023 г. распространилась на морских млекопитающих, особенно южноамериканских морских львов, вызвав их массовую гибель. Исследователи подтверждают занос данного вируса в Перу из Северной Америки, предположительно, в результате миграции перелетных птиц [10, 11, 12, 13].

Было отмечено несколько случаев распространения ВГП Н5 среди других домашних и диких птиц, а также животных зоопарков и диких хищников.

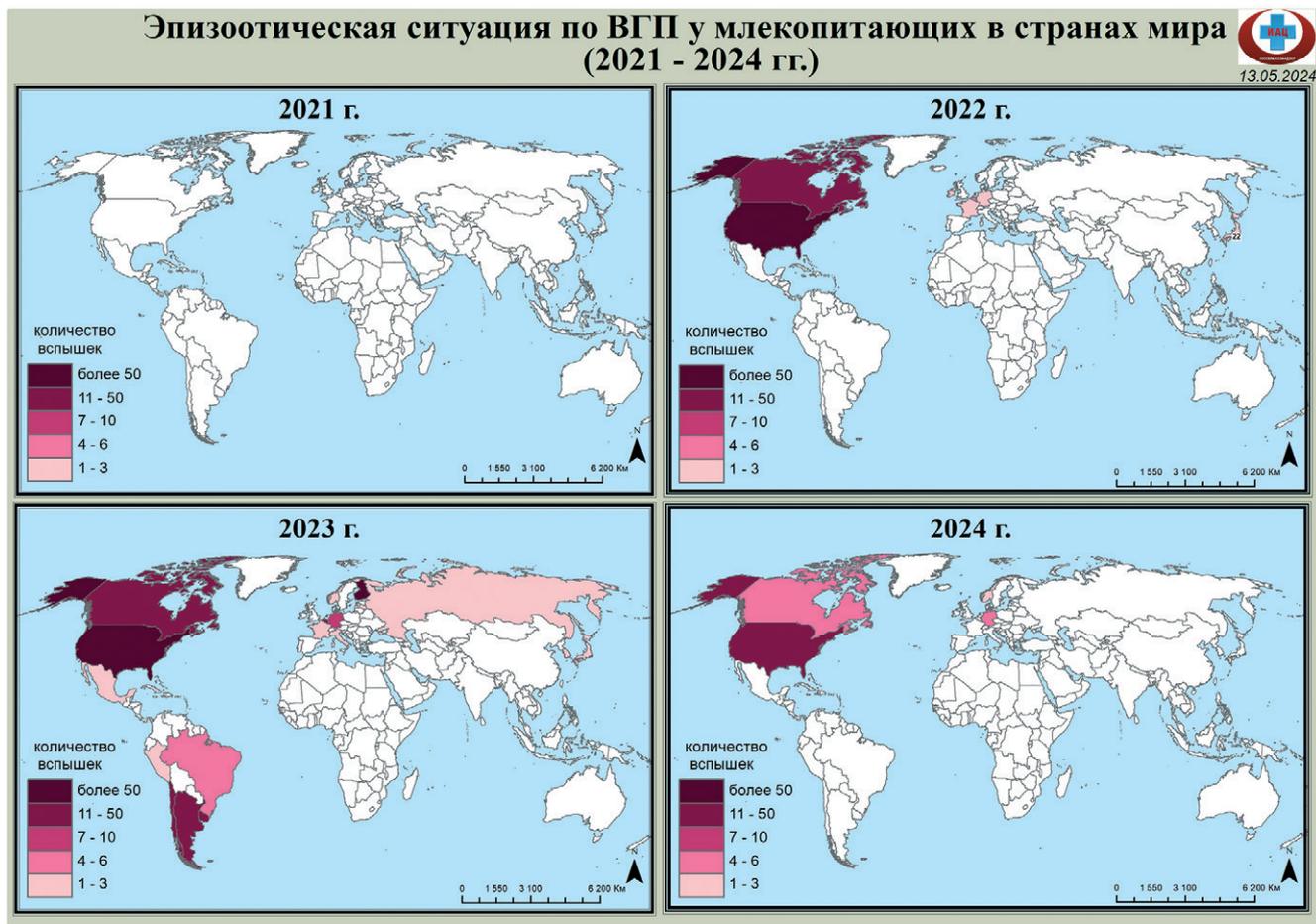


Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по группе птиц у млекопитающих в мире в 2021–2024 гг.

Fig. 1. Avian influenza epizootic situation in mammals in 2021–2024

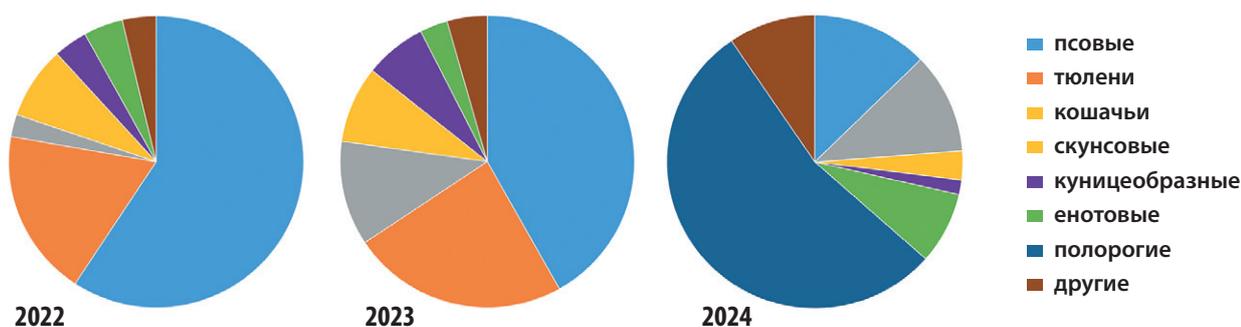


Рис. 2. Распределение очагов гриппа птиц по семействам млекопитающих в мире в 2022–2024 гг.

Fig. 2. Global distribution of avian influenza outbreaks by mammalian families in 2022–2024

Расширение спектра видов и увеличение числа зарегистрированных случаев связаны не только с распространением заболевания, но и с применением разными странами программ мониторинга ВГП [6].

В 2024 г. стали регистрировать случаи заражения КРС вирусом гриппа A/H5N1. Сообщения из США о положительных тестах на ВГП у молочного скота и коз, а также о вероятной передаче вируса подтипа H5N1 между КРС в молочных стадах вызывают опасения из-за возможности быстрой адаптации и дальнейшей межвидовой передачи. У всех животных регистрировали сходные клинические признаки [14, 15]. Вероятным источником заражения явились корм или вода для коров, к которым имели доступ дикие птицы. Зарегистрированы случаи передачи ВГП от КРС к человеку [16, 17].

Вероятно, рекомбинация североамериканских вирусов произошла незадолго до начала вспышки заболевания среди КРС. Все изоляты, выделенные от КРС, относятся к реассортанту евразийского и североамериканского генотипов, впервые обнаруженному в конце 2023 г. Установлено, что вспышка среди коз не была связана со вспышкой среди КРС. Вспышка ВГП H5N1 среди КРС, вероятно, оставалась незамеченной в течение длительного периода. Исследователи предполагают начало возникновения этого события в период с 13 ноября 2023 г. по 18 января 2024 г. [18].

Эпизоотическая ситуация, связанная с ВГП, сложившаяся в последнее время на территории США, вынудила American Association of Bovine Practitioners (AABP) принять решение о введении нового обозначения модификации вируса гриппа птиц, вызывающей заболевание у КРС: Bovine influenza A virus (BIAV, вирус бычьего гриппа А) [19, 20, 21].

Специалисты Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC) считают, что в настоящее время риск заражения населения вирусом ВГП незначителен, что не относится к тем людям, которые контактируют с инфицированными вирусом ВГП A/H5N1 птицами или животными [22].

У инфицированного КРС наблюдалось неспецифическое течение заболевания, снижение потребления корма и резкое падение надоев, однако тяжелая системная форма инфекции развилась у домашних кошек, которых кормили сырым (непастеризованным) молоком от больных коров. Кроме того, были зарегистрированы случаи передачи инфекции от коровы к корове [23].

В связи со сложившейся ситуацией 4 апреля 2024 г. состоялась совещание GF-TADs (Global Framework for the Progressive Control of Transboundary Animal Diseases), посвященное анализу выявленных случаев высокопатогенного гриппа у молочного скота и коз

в Соединенных Штатах Америки и обнаружению вируса у людей. Была подчеркнута важность раннего выявления и прозрачности уведомлений, а также сотрудничества между различными национальными агентствами [24].

Всемирная организация здравоохранения животных (ВОЗЖ) продолжает наблюдение за ситуацией с целью определения рисков для здоровья животных и людей. Своевременная отчетность имеет решающее значение для объективной оценки обстановки по заболеванию и для предотвращения любого типа дезинформации. ВОЗЖ напоминает, что на основании имеющейся в настоящее время информации введение ограничений на перемещение здорового КРС и продуктов из него не рекомендуется, если это не оправдано анализом риска импорта, проведенным в соответствии с главой 2.1 Кодекса здоровья наземных животных ВОЗЖ [25, 26].

ГЛОБАЛЬНЫЕ СТРАТЕГИИ КОНТРОЛЯ

Первой мерой защиты от распространения ВГП является раннее выявление вспышек. Создание точных систем оповещения имеет важное значение для эффективного предотвращения возникновения заболевания и борьбы с ним. Также для предупреждения вспышек необходимы строгие меры биобезопасности и соблюдение правил гигиены. При обнаружении инфекции у домашней птицы обычно применяется политика выбраковки [27].

При определенных условиях может быть рекомендована вакцинация домашней птицы. Используемые вакцины должны соответствовать стандартам, описанным в руководстве ВОЗЖ [28]. В начале 2023 г. было разрешено проведение экстренной вакцинации против ВГП диких птиц в качестве немедленного ответа на вспышку или при повышенном риске заноса инфекции.

Опасения по поводу ограничений международной торговли препятствуют использованию вакцинации, хотя включение ее в качестве инструмента контроля было одобрено международными стандартами, принятыми Всемирной ассамблеей делегатов ВОЗЖ. Неоправданные ограничения на торговлю домашней птицей и птицепродуктами от вакцинированных стад оказывают огромное влияние на сектор, который вносит значительный вклад в глобальную продовольственную безопасность и экономику [29].

На сегодняшний день вакцинация использовалась лишь в ограниченном числе стран в качестве профилактической, экстренной меры для защиты птиц от ВГП [30, 31]. По данным различных источников (включая ВОЗЖ), с 2005 г. более 30 стран прибегли

Таблица

Высокопатогенный грипп птиц H5 у млекопитающих в 2023–2024 гг. (по данным Всемирной организации здравоохранения животных)

Table

Highly pathogenic avian influenza H5 in mammals in 2023–2024 (according to the World Organisation for Animal Health data)

Страна	Вид животных	Очаги	Тип вируса	Страна	Вид животных	Очаги	Тип вируса
Аргентина	южноамериканский морской котик	2	H5	США	американский черный медведь	1	H5N1
	южноамериканский морской лев	14	H5		белка Аберта	1	H5N1
	южноамериканский морской слон	2	H5		белый медведь	1	H5N1
Бельгия	рыжая лиса	16	не типирован		дельфин [13]	1	H5N1
	лесной хорек	2	не типирован		енот	6	H5N1
Бразилия	южноамериканский морской котик	5	H5N1		илька (куница-рыболов)	2	H5N1
	южноамериканский морской лев				кошка домашняя	11	H5N1
Германия	длинномордый тюлень	1	H5N1		обыкновенный тюлень	1	H5N1
	лесная куница	1	H5N1		опоссум	1	H5N1
	рыжая лиса	6	H5N1		пума	17	H5N1
	енот	1	H5N1		рыжая лиса	20	H5N1
Италия	кошка домашняя	1	H5N1		рысь	6	H5N1
	домашняя собака	1	H5N1		скунс	17	H5N1
	рыжая лиса	2	H5N1		коза	1	H5N1
Канада	американская норка	2	H5N1		КРС	33	H5N1
	енот	3	H5N1	Уругвай	коати	1	H5N1
	енот	3	H5N5		южноамериканский морской лев	8	H5N1
	кошка домашняя	2	H5N1		южноамериканский морской котик	3	H5N1
	рыжая лиса	1	H5N5	Финляндия	американская норка	6	H5N1
	рыжая лиса	7	H5N1		выдра	2	H5N1
	скунс	1	H5N5		енотовидная собака	9	H5N1
	скунс	9	H5N1		рыжая лиса	13	H5N1
домашняя собака	1	H5N1	песец		48	H5N1	
рыжая лиса	1	H5N1	рысь		1	H5N1	
Латвия	рыжая лиса	1	H5N1	соболь	1	H5N1	
Норвегия	рыжая лиса	1	H5N1	Франция	рыжая лиса	1	H5N1
	рыжая лиса	2	H5N5	Чили	кошачья выдра	2	H5
Перу	южноамериканский морской лев	2	H5		речная выдра	1	H5
	лев	1	H5		южноамериканский морской лев	31	H5
Россия	северный морской котик	1	H5N1	Южная Корея	кошка домашняя	2	H5N1
США	американская норка	2	H5N1	Япония	рыжая лиса	2	H5N1

к иммунизации против гриппа птиц [32, 33, 34]. Странами, объявившими официальную вакцинацию, являются: Армения, Беларусь, Бангладеш, Доминиканская Республика, Китай (включая Гонконг), Египет, Сальвадор, Германия, Индонезия, Иордания, Казахстан, Корейская Народно-Демократическая Республика, Кувейт, Лаос, Монголия, Мексика, Нигер, Пакистан, Перу, Сингапур, Судан, Туркменистан, Вьетнам, Эквадор, Уругвай и др.

В некоторых европейских странах (Ирландия, Великобритания) иммунизация разрешена только в зоопарках [35, 36, 37]. В России практикуют профилактическому вакцинацию против ВГП в хозяйствах (за исключением птицефабрик) согласно «Ветеринарным правилам осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных

на предотвращение распространения и ликвидацию очагов высокопатогенного гриппа птиц», утвержденным приказом Минсельхоза России от 24.03.2021 № 158.

В США в мае 2023 г. служба Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) объявила, что одобрила экстренное использование вакцины против гриппа для предотвращения дополнительных смертей среди калифорнийских кондоров. До этой вспышки власти США заявляли, что строгих протоколов биобезопасности, включающих усиленные процедуры дезинфекции, а также уничтожение инфицированных птиц, достаточно, чтобы смягчить последствия ВГП. В настоящий момент проводятся работы по созданию препарата для вакцинации КРС против ВГП, поскольку считается, что иммунизация поможет снизить риск распространения болезни на новые виды животных и уменьшить потенциальные убытки предприятий по выпуску молочной продукции. Вакцинация сельскохозяйственных птиц уже давно вызывает споры среди исследователей и фермеров в США. Производители птицы обеспокоены стоимостью и сложностью иммунизации миллионов особей, а также торговыми ограничениями [38, 39].

В мае 2023 г. 27 стран – членов Евросоюза договорились реализовать стратегию вакцинации против гриппа птиц. Они разделили исследования между государствами: Франция работала над вакциной для уток, Нидерланды – для кур-несушек, Италия – для индеек, Венгрия – для пекинских уток. Предварительные результаты были многообещающими: в Венгрии смертность иммунизированных гусей (HVT-H5 производства Seva Sante Animale) после заражения составила 2,93% против 76,23% в контрольной группе, наблюдалось также снижение выделения вируса в окружающую среду. В Италии клиническая защита индеек на высоком уровне была достигнута с помощью вакцины HVT-H5 и введения в качестве бустера субъединичной вакцины или ДНК-вакцины. Гомологичная вакцинация дала неудовлетворительные результаты (защита от 25 до 40%) [40].

Результаты работы голландских исследователей показали, что обе протестированные вакцины HVT-H5 производства Seva Animal Health и Boehringer Ingelheim эффективно защищают домашнюю птицу через 8 нед. после иммунизации [41].

Франция стала первой страной в Европе, которая с октября 2023 г. ввела обязательную вакцинацию поголовья уток, несмотря на риск введения торговых ограничений со стороны третьих стран (США, Япония) [42, 43, 44]. После этого на юге страны вспышек заболевания на птицефабриках среди вакцинированной птицы не регистрировали. В период с 2 декабря 2023 г. по 15 марта 2024 г. инфицирование вирусом гриппа птиц наблюдали преимущественно среди невакцинированного поголовья домашней птицы. Количество случаев выявления ВГП у диких птиц и птиц на птицефабриках было меньше, чем за тот же период прошлого года [45]. По данным отчета European Food Safety Authority, с 16 марта по 14 июня 2024 г. во Франции вспышек среди домашних птиц не регистрировали [46].

Также положительные результаты вакцинации против ВГП фиксируют в Бангладеш, где домашнюю птицу иммунизируют с 2012 г. Число вспышек до вакцинации было в 18 раз больше, чем после. Последние очаги гриппа птиц в стране регистрировали в 2019 г. Результаты исследований, проведенных в Бангладеш, свиде-

тельствуют, что вакцинация домашней птицы может быть частью целостной стратегии смягчения последствий ВГП, если она сопровождается мониторингом, предупреждающим скрытое распространение [47, 48].

Профилактическая вакцинация также успешно используется в Гонконге с 2003 г., где вспышки ВГП среди домашнего поголовья не регистрируют с 2018 г. [49].

В Чехии с помощью экстренной иммунизации (вакцина Nobilis Influenza H5N2) в 2021 г. удалось сохранить национальную породу – чешский гусь. Птицеводы и общественность положительно воспринимают возможность вакцинации [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вирус гриппа А, в том числе подтипа H5N1, может инфицировать многие виды животных. В последние годы некоторые штаммы возбудителя ВГП адаптировались к новым видам млекопитающих, что делает возможным приобретение вирусом набора дополнительных адаптивных мутаций. Передача вируса гриппа птиц А млекопитающим, в том числе людям, может стать первым шагом на пути к будущей пандемии. Идентификация факторов, влияющих на передачу и репликацию вируса у млекопитающих, позволит предсказать, какие вирусные линии с большей вероятностью преодолеют видовой барьер и вызовут заболевание у нетипичных хозяев, в том числе людей [50].

Несмотря на то что инфицирование млекопитающих штаммами вируса ВГП встречается редко, появляется все больше публикаций, сообщающих о росте распространенности этого заболевания. Этот факт делает очевидным необходимость принятия профилактических мер по ограничению передачи вируса для предотвращения возникновения эпидемии среди людей.

Экологические и эпизоотологические изменения, вызванные вспышками гриппа птиц в последние годы, поставили под сомнение исключительность программ санитарного уоя. Международные организации (ВОЗ, European Food Safety Authority, European Commission) допускают, что профилактическая вакцинация позволит свести к минимуму количество вспышек и продолжительность эпизоотии. Применение вакцин может снизить риск распространения гриппа птиц на новые виды животных и уменьшить потенциальные убытки. Но вакцинация должна дополнять, а не заменять другие меры профилактики и контроля, такие как мониторинг инфекций среди птиц, раннее выявление и обеспечение биобезопасности, и рекомендуется как часть комплексного подхода в борьбе со вспышками гриппа птиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. EMPRES Global Animal Disease Information System (EMPRES-i+). <https://empres-i.apps.fao.org>
2. WOAH. World Animal Health Information System (WAHIS). <https://wahis.woah.org/#/home>
3. Arruda B., Baker A. L. V., Buckley A., Anderson T. K., Torchetti M., Bergeson N. H., et al. Divergent pathogenesis and transmission of highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in swine. *Emerging Infectious Diseases*. 2024; 30 (4): 738–751. <https://doi.org/10.3201/eid3004.231141>
4. WOAH. High pathogenicity avian influenza (HPAI) – situation report. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/04/hpai-situation-report-20240409.pdf>
5. WOAH. Resolutions. Adopted by the World Assembly of Delegates During the 90th General Session. 21–25 May 2023. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/06/a-resos-2023-all.pdf>

6. Shi J., Zeng X., Cui P., Yan C., Chen H. Alarming situation of emerging H5 and H7 avian influenza and effective control strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2023; 12 (1):2155072. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2155072>
7. PoultryMed. Current trends in mammalian infection patterns with HPAIv H5N1. *Emerging Infectious Diseases* 2024. February 14, 2024. <https://www.poultrymed.com/Poultrymed/Templates/showpage.asp?DBID=1&LNGID=1&TMID=178&FID=9025&PID=0&IID=89640>
8. Жильцова М. В., Акимова Т. П., Варкентин А. В., Митрофанова М. Н., Мазнева А. В., Семкина В. П., Выставкина Е. С. Эпизоотическая ситуация в мире по гриппу птиц (2019–2022 гг.). Расширение спектра хозяев как проявление эволюции вируса высокопатогенного гриппа птиц. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (4): 293–302. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-293-302>
- Zhiltsova M. V., Akimova T. P., Varkentin A. V., Mitrofanova M. N., Mazneva A. V., Semakina V. P., Vystavkina E. S. Global avian influenza situation (2019–2022). Host range expansion as evidence of high pathogenicity avian influenza virus evolution. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (4): 293–302. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-293-302>
9. Lair S., Quesnel L., Signore A. V., Delnatte P., Embury-Hyatt C., Nadeau M.-S., et al. Outbreak of highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in seals, St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. *Emerging Infectious Diseases*. 2024; 30 (6): 1133–1143. <https://doi.org/10.3201/eid3006.231033>
10. Leguia M., Garcia-Glaessner A., Muñoz-Saavedra B., Juárez D., Barreira P., Calvo-Mac C., et al. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) in marine mammals and seabirds in Peru. *Nature Communications*. 2023; 14:5489. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41182-0>
11. Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado. Sernanp despliega protocolo de monitoreo ante casos de aves y lobos marinos afectados por influenza aviar en áreas naturales protegidas. <https://www.gob.pe/institucion/sernanp/noticias/697084-sernanp-despliega-protocolo-de-monitoreo-ante-casos-de-aves-y-lobos-marinos-afectados-por-influenza-aviar-en-areas-naturales-protegidas> (in Spanish)
12. Pardo-Roa C., Nelson M. I., Ariyama N., Aguayo C., Almonacid L. I., Muñoz G., et al. Cross-species transmission and PB2 mammalian adaptations of highly pathogenic avian influenza A/H5N1 viruses in Chile. *bioRxiv (Preprint)*. 2023; 2023.06.30.547205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37786724>
13. Murawski A., Fabrizio T., Ossiboff R., Kackos C., Jeevan T., Jones J. C., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in a common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in Florida. *Communications Biology*. 2024; 7:476. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06173-x>
14. Ly H. Highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections of dairy cattle and livestock handlers in the United States of America. *Virulence*. 2024; 15 (1):2343931. <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2343931>
15. Branda F., Romano C., Giovanetti M., Ciccozzi A., Ciccozzi M., Scarpa F. Emerging threats: Is highly pathogenic avian influenza AH5N1 in dairy herds a prelude to a new pandemic? *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2024; 59:102721. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2024.102721>
16. Cohen J. Worries about bird flu in U.S. cattle intensify. *Science*. 2024; 384 (6691): 12–13. <https://doi.org/10.1126/science.adp6024>
17. Polansek T., Steenhuyzen J., Douglas L. Second US dairy worker infected with bird flu confirmed in Michigan. *Reuters*. May 23, 2024. <https://www.reuters.com/world/us/second-human-case-bird-flu-linked-dairy-cows-detected-us-stat-news-reports-2024-05-22>
18. PoultryMed. Genomic epidemiology of 2024 H5N1 outbreak in US cattle: Preliminary report. *Infectious Diseases* 2024. May 5, 2024. <https://www.poultrymed.com/Poultrymed/Templates/showpage.asp?DBID=1&LNGID=1&TMID=178&FID=9025&PID=0&IID=89896>
19. Brooks R. AABP decides to reference cattle disease as Bovine influenza A virus (BIAV). *Bovine Veterinarian*. April 9, 2024. <https://www.bovinevetonline.com/news/industry/aabp-decides-reference-cattle-disease-bovine-influenza-virus-biav>
20. McCormick L., Currin J. Bovine influenza A virus (BIAV) – HPAI in cattle. *Virginia Cooperative Extension*. April 23, 2024; APSC-197NP. https://ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/APSC/apsc-197/APSC-197.pdf
21. Bird flu strain found in US cows flown to UK lab for testing. *Guardian*. May 11, 2024. <https://www.theguardian.com/world/article/2024/may/11/bird-flu-strain-found-in-us-cows-flown-to-uk-lab-for-testing>
22. CDC. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus: Interim Recommendations for Prevention, Monitoring, and Public Health Investigations. Avian Influenza (Bird Flu). <https://www.cdc.gov/bird-flu/prevention/hpai-interim-recommendations.html>
23. Burrough E. R., Magstadt D. R., Petersen B., Timmermans S. J., Gauger P. C., Zhang J., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) clade 2.3.4.4b virus infection in domestic dairy cattle and cats, United States, 2024. *Emerging Infectious Diseases*. 2024; 30 (7): 1335–1343. <https://doi.org/10.3201/eid3007.240508>
24. WOAAH. GF-TADs Meeting: Detection of HPAI in Ruminants and Humans in the USA. <https://rr-americae.woah.org/en/news/gf-tads-meeting-detection-of-hpai-in-ruminants-and-humans-in-the-usa>
25. WOAAH. High Pathogenicity Avian Influenza in Cattle. <https://www.woah.org/en/high-pathogenicity-avian-influenza-in-cattle>
26. Import risk analysis. In: *WOAH. Terrestrial Animal Health Code*. 2024; Chapter 2.1. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2023/chapitre_import_risk_analysis.pdf
27. WOAAH. Avian Influenza. <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/#ui-id-2>
28. WOAAH. Considerations for emergency vaccination of wild birds against high pathogenicity avian influenza in specific situations. 2023. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/01/vaccination-wild-birds-hpai-outbreak-dec2023.pdf>
29. WOAAH. Avian influenza vaccination: why it should not be a barrier to safe trade. <https://www.woah.org/en/avian-influenza-vaccination-why-it-should-not-be-a-barrier-to-safe-trade>
30. Byrne J. To what extent is vaccination against avian influenza increasing globally? *FeedNavigator. News & Analysis on the Global Animal Feed and Pet Food Industries*. February 14, 2024. <https://www.feednavigator.com/Article/2024/02/14/Boehringer-talks-vaccination-campaigns-against-bird-flu>
31. Bird flu vaccination policies by country. *Reuters*. February 17, 2023. <https://www.reuters.com/business/healthcare-pharmaceuticals/bird-flu-vaccination-policies-by-country-2023-02-17>
32. Swayne D. E., Sims L., Brown I., Harder T., Stegeman A., Abolnik C., et al. Technical Item. Strategic challenges in the global control of high pathogenicity avian influenza. 2023. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/a-90sg-8.pdf>
33. Valencia A. Ecuador to vaccinate more than two million birds against bird flu. *Reuters*. February 1, 2023. <https://www.reuters.com/world/americas/ecuador-vaccinate-more-than-two-million-birds-against-bird-flu-2023-02-01>
34. Cottrell E. Uruguay launches vaccination campaign to curb avian flu. *WATT Poultry*. May 9, 2023. <https://www.wattagnet.com/egg/article/15537941/uruguay-launches-vaccination-campaign-to-curb-avian-flu>
35. WOAAH. Self-declaration of the recovery of country freedom from infection with high pathogenicity avian influenza viruses (HPAI) by Ireland. <https://www.woah.org/app/uploads/2022/12/2022-12-ireland-hpai-selfd.pdf>
36. WOAAH. Self-declaration of the recovery of a zone (Northern Ireland) free from infection with high pathogenicity avian influenza viruses (HPAI) in poultry by the United Kingdom. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/2023-03-northernireland-hpai-selfd-eng.pdf>
37. WOAAH. Self-declaration of the recovery of a zone (Great Britain) free from infection with high pathogenicity avian influenza viruses (HPAI) in poultry by the United Kingdom. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/05/2024-05uk-hpai-selfd-eng.pdf>
38. Avian flu vaccine for California condors approved amid fears of extinction. *Guardian*. May 17, 2023. <https://www.theguardian.com/us-news/2023/may/17/vaccine-california-condor-avian-influenza-near-extinction>
39. Kozlov M. US will vaccinate birds against avian flu for first time – what researchers think. *Nature*. 2023; 618 (7964): 220–221. <https://doi.org/10.1038/d41586-023-01760-0>
40. Highly pathogenic avian influenza. Vaccination rules in the EU. *WOAH 90th General Session*. https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-06/ad_cm_ai_event-woah_20230522_pres_vaccination.pdf
41. Positieve resultaten testfase vaccineren tegen vogelgriepvirus. *Rijksoverheid*. May 28, 2024. <https://www.rijksoverheid.nl/actueel/nieuws/2024/05/28/positieve-resultaten-testfase-vaccineren-tegen-vogelgriepvirus> (in Dutch)
42. WOAAH. Self-declaration by France on the recovery of freedom from highly pathogenic avian influenza in poultry. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/04/2024-03-france-hpai-selfd-eng.pdf>
43. Influenza aviaire: le plan de vaccination de la France. <https://agriculture.gouv.fr/tout-ce-quil-faut-savoir-sur-le-plan-daction-vaccination-iahp-en-france> (in French)
44. Banoun H. Duck vaccination against bird flu in France. https://www.researchgate.net/publication/387723735_Duck_vaccination_against_bird_flu_in_France
45. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Fusaro A., Gonzales J. L., Kuiken T., et al. Scientific report: Avian influenza overview December 2023 – March 2024. *EFSA Journal*. 2024; 22 (3):e8754. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8754>
46. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Alexakis L., Fusaro A., Kuiken T., et al. Scientific report: Avian influenza

overview March – June 2024. *EFSA Journal*. 2024; 22 (7):e8930. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8930>

47. Islam Md. S., Islam Md. H., Sarder Md. J. U., Hossain K. M. M., Rahman Md. S., Akter M. R. Study on vaccination efficacy against avian influenza in Rajshahi, Bangladesh. *Journal of Agricultural Science and Technology A*. 2017; 7 (3): 193–198. <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2017.03.007>

48. Islam A., Munro S., Hassan M. M., Epstein J. H., Klaassen M. The role of vaccination and environmental factors on outbreaks of high pathogenicity avian influenza H5N1 in Bangladesh. *One Health*. 2023; 17:100655. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100655>

49. Craig J. Why aren't we vaccinating birds against bird flu? *Vox*. May 14, 2024. <https://www.vox.com/future-perfect/24155545/bird-flu-vaccines-h5n1-avian-flu-cows>

50. Pinto R. M., Bakshi S., Lytras S., Zakaria M. K., Swingler S., Worell J. C., et al. BTN3A3 evasion promotes the zoonotic potential of influenza A viruses. *Nature*. 2023; 619 (7969): 338–347. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06261-8>

Поступила в редакцию / Received 29.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 27.12.2024

Принята к публикации / Accepted 22.01.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Жильцова Милена Владимировна, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0264-9351>, zhiltsova@arriah.ru

Акимова Татьяна Петровна, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3502-1146>, akimova@arriah.ru

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

Семакина Валентина Петровна, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4078-4458>, semakina@arriah.ru

Выставкина Евгения Сергеевна, ведущий специалист информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; vistavkina@arriah.ru

Milena V. Zhiltsova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0264-9351>, zhiltsova@arriah.ru

Tatiana P. Akimova, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3502-1146>, akimova@arriah.ru

Mariya N. Mitrofanova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0126-9653>, mitrofanova@arriah.ru

Valentina P. Semakina, Head of Sector, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4078-4458>, semakina@arriah.ru

Evgeniya S. Vystavkina, Leading Specialist, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; vistavkina@arriah.ru

Вклад авторов: Жильцова М. В. – поиск научной литературы, анализ и интерпретация данных по эпизоотической ситуации, составление таблицы и подготовка текста; Акимова Т. П. – поиск и анализ информации по стратегиям контроля, создание диаграмм, редактирование материала; Митрофанова М. Н. – мониторинг/проверка информации, редактирование текста, работа со списком литературы; Семакина В. П. – мониторинг/проверка информации, редактирование текста; Выставкина Е. С. – подготовка картографических материалов.

Contribution of the authors: Zhiltsova M. V. – scientific literature search, analysis and interpretation of epizootic data, table creation and text preparation; Akimova T. P. – search and analysis of information on control strategies, diagram creation, material editing; Mitrofanova M. N. – information monitoring/checking, text editing, reference list management; Semakina V. P. – information monitoring/checking, text editing; Vystavkina E. S. – preparation of cartographic materials.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-14-23>
УДК 619:616.98:578:636.22/.28.053.2(048)



Значение ротавируса, коронавируса и *Escherichia coli* в этиологии болезней молодняка крупного рогатого скота (обзор)

И. А. Круглов, А. В. Кононов, А. А. Нестеров, С. В. Коконова, О. В. Прунтова

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Одной из самых распространенных групп патологий, встречающихся у молодняка крупного рогатого скота, являются болезни желудочно-кишечного тракта. Частой их причиной являются возбудители инфекций, среди которых преобладающее значение имеют ротавирус, коронавирус и патогенная форма кишечной палочки.

Цель исследования. Анализ и систематизация актуальной информации о роли рота-, коронавируса и патогенных штаммов *Escherichia coli* в этиологии болезней крупного рогатого скота, в том числе молодняка, сведений о заболеваемости этими инфекциями на территории Российской Федерации и других стран мира, а также актуальности вакцинопрофилактики против вышеуказанных патогенов.

Результаты. В статье представлена информация о строении ротавируса, коронавируса и *Escherichia coli*, биологических свойствах возбудителей, факторах, влияющих на форму и тяжесть течения болезней. На основании анализа научной литературы отечественных и зарубежных авторов представлены данные о распространенности колибактериоза, ротавирусной и коронавирусной инфекций, а также описаны основные методы их контроля. Подтверждена важность вакцин для профилактики указанных болезней, перечислены факторы, влияющие на эффективность вакцинопрофилактики, и приведены меры ее повышения.

Заключение. Средний уровень заболеваемости ротавирусной инфекцией в мире составляет 32,7%, коронавирусной инфекцией – 18,4%, колибактериозом – 39,1%. В России показатель превалентности вышеупомянутых болезней равен 41,4; 33,1 и 30,2% соответственно. Таким образом, в Российской Федерации уровень заболеваемости рота- и коронавирусной инфекциями крупного рогатого скота превышает средний показатель в мире на 8,7 и 14,7% соответственно. Эпизоотическая ситуация по колибактериозу в России благополучнее, чем в большинстве стран: болезнь регистрируется реже среднего мирового значения на 8,9%. Большое генетическое разнообразие и распространенность вышеупомянутых возбудителей требуют комплексного подхода для борьбы с ними. Одним из наиболее эффективных способов является вакцинопрофилактика, что делает разработку эффективных и безопасных вакцинных препаратов против ротавирусной, коронавирусной инфекций и эшерихиоза актуальной задачей.

Ключевые слова: обзор, ротавирус, коронавирус, *Escherichia coli*, молодняк крупного рогатого скота, респираторные и кишечные патологии

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

Для цитирования: Круглов И. А., Кононов А. В., Нестеров А. А., Коконова С. В., Прунтова О. В. Значение ротавируса, коронавируса и *Escherichia coli* в этиологии болезней молодняка крупного рогатого скота (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 14–23. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-14-23>

Конфликт интересов: Кононов А. В. и Прунтова О. В. 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: Круглов Илья Алексеевич, аспирант, ведущий специалист лаборатории биотехнологии и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, kruglov_ia@arriah.ru

Role of rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* in disease etiology in young cattle (review)

Ilya A. Kruglov, Aleksandr V. Kononov, Alexander A. Nesterov, Svetlana V. Kononova, Olga V. Pruntova

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

ABSTRACT

Introduction. One of the most prevalent groups of pathologies detected in young cattle involves gastrointestinal diseases. They are often caused by infectious agents, among which rotavirus, coronavirus and pathogenic *Escherichia coli* are predominant.

Objective. Analysis and systematization of up-to-date information on the role of rotavirus, coronavirus and pathogenic *Escherichia coli* strains in the etiology of diseases of cattle, including young animals, data on the incidence of these infections in the Russian Federation and other countries of the world as well as relevance of vaccination against the above-mentioned pathogens.

Results. The paper provides information on the structure of rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli*, on the biological properties of the pathogens, and factors affecting the disease form and severity. Based on the analysis of domestic and foreign scientific publications, data on the prevalence of colibacillosis, rotavirus and coronavirus infections are presented, and the main methods of their control are described. The significance of the vaccines for the prevention of these diseases is confirmed, the factors influencing the vaccine prevention effectiveness are listed, and measures to increase it are given.

Conclusion. The average global incidence of rotavirus infection is 32.7%, coronavirus infection is 18.4%, and colibacillosis is 39.1%. In Russia, the prevalence rate of the above-mentioned diseases is 41.4, 33.1 and 30.2%, respectively. Thus, in the Russian Federation, the incidence of bovine rotavirus and coronavirus infections exceeds the global average by 8.7 and 14.7%, respectively. The colibacillosis situation in Russia is better than in most countries: the disease is reported by 8.9% less frequently than the global average. High genetic diversity and prevalence of the above-mentioned pathogens require an integrated approach to their control. One of the most effective methods is vaccination, which makes the development of effective and safe vaccines against rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* infections an urgent task.

Keywords: review, rotavirus, coronavirus, *Escherichia coli*, young cattle, respiratory and intestinal pathologies

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

For citation: Kruglov I. A., Kononov A. V., Nesterov A. A., Kononova S. V., Pruntova O. V. Role of rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* in disease etiology in young cattle (review). *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 14–23. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-14-23>

Conflict of interests: Kononov A. V. and Pruntova O. V. 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: Ilya A. Kruglov, Postgraduate Student, Leading Specialist, Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, kruglov_ia@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Болезни желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются одной из самых распространенных групп патологий молодняка крупного рогатого скота (КРС). Чаще всего поражения ЖКТ связаны с отсутствием комплекса необходимых мер профилактики инфекционных болезней молодняка: неэффективная или несвоевременная вакцинация, несвоевременная выпойка молозива, несоблюдение гигиенических норм содержания производственных зон, неграмотно составленный рацион и нарушения технологии кормления. Совокупность указанных факторов создает условия для развития энтеритов инфекционной этиологии у КРС [1, 2].

Одной из наиболее распространенных причин возникновения энтеритов у молодняка КРС является действие ротавирусной, коронавирусной и *Escherichia coli*. Следовательно, они оказывают наиболее существенное влияние на здоровье телят по сравнению с другими возбудителями инфекций, вызывающими поражение органов ЖКТ, что требует принятия надлежащих мер профилактики [3, 4].

Новизна аналитического исследования заключается в обобщении научной информации об эпизоотической ситуации по болезням КРС, вызванным ротавирусами, коронавирусами и патогенными штаммами *E. coli*, в Российской Федерации и других странах мира.

Целью данного обзора является анализ и систематизация актуальной информации о роли ротавируса, коронавируса и патогенных штаммов *E. coli* в этиологии болезней КРС, в том числе молодняка, сведений о заболеваемости этими инфекциями на территории РФ и других стран мира, а также актуальности вакцинопрофилактики против вышеназванных патогенов.

РОЛЬ РОТАВИРУСОВ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЙ КРС

Таксономическая группа *Reoviridae* объединяет безоболочечные вирусы, содержащие двунитевую сегментированную РНК, представленную 11 сегментами. Ротавирусы относятся к семейству *Sedoreoviridae*. Капсид ротавирусов состоит из 3 слоев. Наружный слой представлен белками VP4 и VP7, средний – VP6, внутренний – VP1, VP2 и VP3, размер вирионов составляет

70 нм. Сегментированность генома является причиной реассортации ротавируса [2].

Поскольку ротавирусы распространены повсеместно, молодняк КРС может быть инфицирован ими с первых дней жизни. Клинически ротавирусная инфекция у телят проявляется угнетением, диареей и обезвоживанием (рис. 1). В период молочного кормления фекалии больных телят имеют желтый или белый цвет и разную консистенцию (от водянистой до густой), при этом наличие примесей крови в фекалиях не характерно для ротавирусной инфекции. В случае развития вторичной бактериальной инфекции летальность новорожденных телят может достигать 60%. При вскрытии у погибших животных наблюдают катаральный или катарально-геморрагический энтерит [2].

Наиболее остро ротавирусная инфекция проявляется в холодное время года, при этом тяжесть течения болезни напрямую зависит от снижения температуры в помещении. Риск тяжелого течения заболевания также повышает выпойка молозива от коров, не имеющих



Рис. 1. Клиническое проявление ротавирусной инфекции, характеризующееся диареей и угнетением (фото из личного архива А. В. Кононова)

Fig. 1. Clinical manifestation of rotavirus infection, characterized by diarrhea and depression (photo from the personal archive of A. V. Kononov)

Таблица 1
Превалентность ротавирусной инфекции КРС в странах мира

Table 1
Bovine rotavirus infection prevalence in the countries of the world

Страна	Регион	Оценочная превалентность, %	Источник	
Австралия (2011 г.)	Австралия	79,90	[6]	
Австралия (2004–2005 гг.)		26,00	[7]	
Китай (1984–2021 гг.)	Азия	35,70	[8]	
Иран (2000 г.)		34,00	[9]	
Иран (1981 г.)		31,74	[10]	
Иран (2001 г.)		28,80	[10]	
Иран (2010 г.)		27,90	[10]	
Норвегия (2004–2007 гг.)		Европа	67,70	[11]
Швейцария (2005–2006 гг.)	58,70		[12]	
Испания (2000 г.)	43,50		[10]	
Испания (1998 г.)	42,70		[10]	
Турция (2007 г.)	41,17		[10]	
Беларусь (2020–2021 гг.)	39,60		[13]	
Украина (2012 г.)	28,60		[14]	
Швеция (2003 г.)	13,00		[15]	
Швеция (1987–1988 гг.)	5,40		[16]	
Аргентина (1994–2003 гг.)	Южная и Северная Америка		42,00	[17]
Бразилия (2007 г.)			33,00	[10]
США (2010 г.)			12,20	[18]
Бразилия (2007 г.)		11,00	[19, 20]	
Коста-Рика (1981 г.)		10,00	[10]	
Коста-Рика (1998 г.)		7,00	[10]	

Таблица 2
Превалентность ротавирусной инфекции КРС в РФ

Table 2
Bovine rotavirus prevalence infection in the Russian Federation

Регион РФ	Федеральный округ	Оценочная превалентность, %	Источник
Республика Дагестан (2001–2005 гг.)	Северо-Кавказский	77,90	[21]
Иркутская область (2020 г.)	Сибирский	44,40	[22]
Иркутская область (2004–2017 гг.)		17,60	[5]
Центральное Черноземье (2017–2018 гг.)	Центральный	22,30	[23]
12 областей (2007–2011 гг.)	Центральный, Приволжский и Дальневосточный	44,55	[24]

антител к ротавирусу, и присутствие других энтеропатогенных инфекционных агентов [2].

Помимо молодняка, ротавирусом могут быть заражены и взрослые животные, но у них инфекция протекает бессимптомно. Количество бессимптомных носителей в неблагополучных хозяйствах может достигать 44%. Инфицированные взрослые животные имеют большое значение в распространении вируса: уже в течение нескольких недель одна такая особь может выделить до 10^{10} вирусных частиц на 1 г фекалий. А так как данный вирус имеет высокую устойчивость к воздействию факторов окружающей среды, возбудитель может циркулировать в хозяйстве долгое время и инфицировать большое количество восприимчивых животных, в том числе и телят [2].

Энтериты ротавирусной этиологии регистрируются у телят чаще других инфекционных болезней ЖКТ. В неблагополучных хозяйствах они могут поражать до 100% телят, причем вакцинация поголовья КРС может оказаться неэффективной по причине реассортации ротавируса и в связи с появлением новых рекомбинантных вариантов [5]. Заболеваемость ротавирусной инфекцией КРС в мире и РФ может достигать значения 70% и выше (табл. 1 и 2).

Исходя из систематизированных данных, можно сделать вывод, что в среднем показатель превалентности ротавирусной инфекции КРС в странах мира за период 1981–2021 гг. составляет 32,7%.

Для РФ проблема распространенности ротавирусной инфекции КРС также остается актуальной. Данные таблицы 2 показывают, что за последние 20 лет заболеваемость в хозяйствах РФ в среднем составляет 41,4%, что превышает аналогичный показатель других стран на 8,7%. Столь высокая превалентность может быть связана с нарушением условий содержания телят и отсутствием соответствующих профилактических мероприятий, направленных на все возрастные группы КРС в хозяйствах РФ.

РОЛЬ КОРОНАВИРУСОВ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЙ КРС

Коронавирус КРС относится к семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus*, виду *Betacoronavirus grave-dinis*. Геном представлен одноцепочечной (+)РНК и имеет самую большую длину среди РНК-вирусов. Вирион в диаметре составляет 65–210 нм и содержит суперкапсид.

Коронавирусная инфекция распространена повсеместно. В течение жизни до 90% животных становятся инфицированными коронавирусом. Исходя из клинической картины, различают три формы болезни: кишечная, респираторная и так называемая зимняя дизентерия. Развитие той или иной формы зависит не от серотипа возбудителя, а от возраста реципиента [2].

Кишечная форма наиболее типична для молодняка в период с первых дней жизни и до пятимесячного возраста. Она характеризуется воспалительными поражениями толстого и тонкого кишечника, что приводит к тяжело протекающей диарее (зачастую с примесью крови), а также высокой летальностью, которая может достигать 20% [2, 5].

Для телят от 2 до 6 мес. характерна респираторная форма инфекции, которая сопровождается ринитом, кашлем, повышением температуры тела, потерей аппетита, нередко протекает с диареей (рис. 2).



Рис. 2. Клиническое проявление коронавирусной инфекции, характеризующееся угнетением (фото из личного архива А. В. Кононова)

Fig. 2. Clinical manifestation of coronavirus infection, characterized by depression (photo from the personal archive of A. V. Kononov)

При тяжелом течении болезни наблюдают одышку, бронхопневмонию, снижение массы тела, вплоть до истощения и гибели [2].

У взрослых животных болезнь протекает в виде зимней дизентерии, для которой характерны следующие клинические признаки: профузный понос (до 100% случаев), нередко с примесью крови, кашель, серозно-слизистые выделения из носа, жесткое учащенное дыхание. Болезнь приводит к снижению молочной продуктивности от 25 до 90%, при этом восстановление прежнего уровня удоя может занимать от 2,5 до 4 мес. [25].

Взрослые животные могут быть бессимптомными носителями коронавируса, являясь при этом источником передачи инфекции с фекалиями (96%) и носовой слизью (84%). Более 70% взрослых животных могут выделять вирус, несмотря на наличие антител. Это связано с тем, что для коронавируса характерен длительный период персистенции и выделения у клинически здоровых животных [2].

Низкая температура и меньшее воздействие ультрафиолетовых лучей в зимнее время не только способствуют сохранению возбудителя, но и снижают общий уровень резистентности животных, что приводит к увеличению количества выделяемого в окружающую среду вируса на 50–60%, что, в свою очередь, ведет к росту числа случаев заболевания коронавирусной инфекцией. Помимо времени года, на заражение КРС коронавирусом влияет и физиологическое состояние животного, – например, в период отела и первые две недели после него количество выделяемых инфицированным животным вирионов увеличивается [2].

Проникновение вируса в организм телят возможно не только алиментарным, но и воздушно-капельным путем, что приводит к высокому риску их инфицирования [2, 26].

Анализ публикаций с 1995 по 2022 г. показал, что превалентность коронавируса КРС в мире составила 18,4% (табл. 3), в России – 33,1% (табл. 4), что на 14,7% больше средних мировых значений.

Таблица 3
Превалентность коронавирусной инфекции КРС в странах мира

Table 3
Prevalence of bovine coronavirus infection in the countries of the world

Страна	Регион	Оценочная превалентность, %	Источник
Австралия (2011 г.)	Австралия	21,60	[6]
Япония (1995–1997 гг.)	Азия	57,00	[27]
Иран (2010 г.)		3,10	[10]
Норвегия (2004–2007 гг.)	Европа	39,30	[11]
Беларусь (2020–2021 гг.)		28,70	[13]
Украина (2012–2019 гг.)		22,40	[14]
Швейцария (2005–2006 гг.)		7,80	[12]
Испания (1998 г.)		7,30	[10]
Турция (2007 г.)		1,96	[10]
Швеция (2003 г.)		1,00	[15]
Бразилия (2007 г.)		Южная и Северная Америка	22,00
Бразилия (2007 г.)	16,00		[20]
Коста-Рика (1998 г.)	9,00		[10]
США (2010–2011 гг.)	20,90		[18]

Таблица 4
Превалентность коронавирусной инфекции КРС в РФ

Table 4
Prevalence of bovine coronavirus infection in the Russian Federation

Регион РФ	Федеральный округ	Оценочная превалентность, %	Источник
Республика Дагестан (2001–2005 гг.)	Северо-Кавказский	62,60	[21]
Сибирь (2010 г.)	Сибирский	71,30	[28]
Сибирь (2022 г.)		11,80	[29]
Иркутская область (2020 г.)		11,10	[22]
Иркутская область (2004–2017 гг.)		2,20	[5]
Центральное Черноземье (2017–2018 гг.)	Центральный	26,70	[23]
14 областей (2007–2011 гг.)	Центральный, Приволжский, Южный и Дальневосточный	45,90	[24]

ЗАВИСИМОСТЬ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ МОЛОДНЯКА КРС ОТ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ *ESCHERICHIA COLI*

Среди болезней бактериальной этиологии молодняка КРС наиболее широкое распространение получил колибактериоз (эшерихиоз), возбудителем которого являются различные сероварианты *E. coli*.

Бактерии *E. coli* имеют сложную антигенную структуру, состоящую из трех видов антигенов: соматического O-антигена (содержит 164 варианта), оболочечного K-антигена (90 вариантов) и жгутикового H-антигена (55 вариантов). Эти антигены в различных комбинациях образуют более 9000 серовариантов, 170 из которых проявляют патогенные свойства [2, 30].

Штаммы *E. coli*, вызывающие болезни животных, обладают различными факторами патогенности, которые включают в себя полисахариды, адгезины, энтеротоксины и др. Их функциями являются: противодействие иммунному ответу (капсульные полисахариды), разрушение клеток организма (энтеротоксины), прикрепление бактерий к поверхности восприимчивых клеток (адгезины) и др. [2].

Возбудители эшерихиоза разделяют на 2 группы: диареогенные (DEC – diarrheagenic *E. coli*) и внекишечные патогенные (ExPEC – extraintestinal pathogenic *E. coli*). Для КРС имеют значение 5 основных диареогенных групп: энтеротоксигенные (ETEC), энтеропатогенные (EPEC), энтерогеоморфические (EHEC), шига-токсин-продуцирующие (STEC) и некротоксигенные (NTEC) *E. coli* [31].

Энтеротоксигенные *E. coli* прикрепляются к поверхности энтероцитов с помощью фимбриальных адгезинов. Отличительной чертой представителей данной патогруппы является наличие термостабильных (stl и stII) и/или термолабильных (ltI и ltII) токсинов, которые индуцируют секрецию электролитов и воды. Это приводит к диарее инфицированных животных и, как следствие, к обезвоживанию и гибели [2, 32, 33].

Несмотря на то что EPEC вызывают поражение органов пищеварительной системы у телят реже, чем EHEC и ETEC, они требуют контроля со стороны ветеринарных специалистов в связи с постоянной циркуляцией в хозяйствах. Анализ частоты встречаемости разных патогрупп *E. coli* у телят показал, что EPEC почти в 2 раза чаще циркулирует в организме здоровых животных (14,6%), чем больных (7,5%) [4].

Для энтеропатогенной кишечной палочки свойственно наличие гена *eae*, кодирующего адгезивный фактор патогенности – интимин, и отсутствие способности к выработке шига-токсина (stx). Благодаря интимину бактерия прикрепляется к энтероцитам, после чего происходит их отторжение, что в дальнейшем приводит к диарее [4].

На основании наличия гена *eae* шига-токсические кишечные палочки принято разделять на 2 группы: EHEC (STEC LEE+), имеющие в своем геноме указанный ген, и STEC (STEC LEE–), не обладающие им. Общими чертами обеих групп являются: длительная персистенция в организме хозяина, локализация в тонкой кишке, наличие генов, кодирующих способность производить шига-токсин (stx) [2, 32].

Исходя из проведенных в 18 странах исследований, посвященных выявлению различных патогрупп *E. coli* у телят, установлено, что STEC LEE+ встречается реже, чем STEC LEE–: у здоровых телят частота встречаемости равна 10,7 и 19,4% соответственно, а у больных – 6,0 и 18,2% [4].

Некротоксигенная кишечная палочка (NTEC) обладает специфическим набором генов, кодирующих цитотоксический некротический фактор (CNF) и цитолетальный дистенсивный токсин (CDT). Эта патогруппа обладает многими свойствами *E. coli*, вызывающими

болезни с внекишечной симптоматикой, такими как наличие разных фимбриальных и афимбриальных адгезинов и способность противостоять системе комплемента [4, 33].

На данный момент известно 2 вида цитотоксических некротических факторов: CNF1 и CNF2. Наличие генов, кодирующих фактор первого вида (CNF1), чаще встречается у штаммов, вызывающих диарею. Гены, кодирующие фактор второго вида (CNF2), встречаются у *E. coli*, вызывающих сепсис [33, 34].

Следует отметить, что комменсальные эшерихии при взаимодействии с патогенными видами могут приобретать новые генетические детерминанты, кодирующие не только защитные приспособления клетки, но и факторы патогенности. Таким образом, ошибочно только на основании сероварианта относить штамм к числу патогенных, так как существуют *E. coli*, которые входят в один серовар, но относятся к разным патогруппам и, как следствие, вызывают разные патологические процессы. Такая склонность к изменчивости может даже привести к приобретению одним микроорганизмом факторов патогенности разных патогрупп. Так, в одной из публикаций упоминается гибридный штамм, содержащий гены EHEC и NTEC [31, 35].

Заражение молодняка возбудителем колибактериоза происходит алиментарным путем. Инфицированные взрослые животные играют большую роль в распространении *E. coli*, контаминируя бактериями воду, различные поверхности помещений, подстилки, при контакте с которыми возбудитель инфекции может оказаться на вымени и в дальнейшем передаться теленку [2].

Колонизация кишечника у телят в начале постнатального периода чаще протекает в энтеритной форме, реже – в септической. Тяжелое течение энтеритной формы проявляется сильной диареей, быстрым обезвоживанием животного, впадением глаз в глазницы, угнетением и истощением, появлением сухости и серого оттенка кожи. Нередко такая форма болезни заканчивается гибелью животного. При содержании телят в благоприятных санитарных условиях и наличии у животного колостральных антител энтеритная форма может иметь легкое течение [2].

Септическую форму эшерихиоза вызывают недиагностические *E. coli* (ExPEC). Эта форма колибактериоза развивается при несвоевременной выпойке молозива (первичная) или при наличии вирусных болезней (вторичная). Клинические признаки, свойственные септической форме, выражаются в появлении атаксии, хромоты, анорексии, затруднения дыхания. Через 24–48 ч после их наступления животное погибает [2].

Согласно данным научной литературы за период с 1987 по 2021 г., самыми неблагополучными по эшерихиозу странами являются Мексика, Бразилия, Индия и Иран. Средняя распространенность болезни в мире составила 39,1% (табл. 5). В России показатель заболеваемости находится на уровне 30,2% (табл. 6).

Следует отметить, что *E. coli* является причиной болезней не только телят, но и взрослых животных, у которых в зависимости от свойств возбудителя могут развиваться такие инфекции, как мастит, метрит и эндометрит. Исследования молока от больных маститом животных показало содержание эшерихий в 4 раза больше, чем в молоке здоровых коров, что подтверждает роль *E. coli* как одного из возбудителей мастита КРС [42].

В настоящее время до конца не выяснено, любые ли патогенные штаммы *E. coli* вызывают мастит, или причиной инфекции являются эшерихии какой-то одной патогруппы. Есть сведения о том, что возбудителем мастита является отдельная группа патогенной кишечной палочки МРЕС (mammary pathogenic *Escherichia coli*), в которую входит множество внекишечных патогенных штаммов *E. coli*: при исследовании генома эшерихий, выделенных от больных маститом коров, выявили факторы патогенности, свойственные ЕхРЕС. Однако имеются данные о выделении у больных животных кишечной палочки группы STEC, что говорит о ее возможной причастности к возникновению болезни [42, 43].

Также распространенными в хозяйствах патологиями, вызываемыми *E. coli*, являются метриты и эндометриты, которые нельзя недооценивать, так как при определенных условиях они могут привести к бесплодию и дальнейшей выбраковке коров. Несмотря на то что в настоящее время нет однозначного мнения о наличии отдельной патогруппы эшерихии, вызывающей метриты и эндометриты, некоторые ученые выделяют 6 генов вирулентности, на основании которых, предположительно, можно определить штамм *E. coli*, являющийся причиной этих патологий. Из них выделяют ген kpsMTII, вероятно, отвечающий за тяжесть течения болезни. В некоторых публикациях отмечают, что наличие в микрофлоре матки животного эшерихии, несущей этот ген, снижает вероятность удачного осеменения в 9,2 раза [44].

МЕРЫ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ МОЛОДНЯКА КРС

Исходя из всех изложенных данных, проблема эшерихиоза, ротавирусной и коронавирусной инфекций для РФ и зарубежных стран стоит довольно остро и требует принятия эффективных мер для ее решения.

Вакцинопрофилактика остается одним из наиболее действенных способов борьбы с инфекционными болезнями, в том числе с энтеритами вирусной и бактериальной этиологии, что подтверждается публикациями отечественных и иностранных авторов.

Так, исследование 2022 г., проведенное в Канаде, показало снижение заболеваемости телят, иммунизированных живой вакциной против коронавирусной инфекции, в 2 раза [45].

Результаты иммунизации стельных коров инактивированным препаратом против ротавирусной и коронавирусной инфекций в неблагополучных хозяйствах РФ, Беларуси и Украины продемонстрировали, что выпаживание новорожденным телятам молозива и молока, полученных от вакцинированных животных, снизило заболеваемость молодняка в 7 раз и уменьшило летальность в 6,4 раза [46].

В Эстонии при изучении влияния продолжительности выпойки новорожденным телятам молозива и переходного молока от коров, иммунизированных различными инактивированными вакцинами против ротавирусной, коронавирусной инфекции и колибактериоза, было показано, что вакцинация стельных животных снижает гибель молодняка в сравнении с контрольными группами. Выпаивание телятам молозива и молока от вакцинированных животных в течение первых 14 дней после рождения привело

Таблица 5
Превалентность колибактериоза КРС в странах мира

Table 5
Prevalence of bovine colibacillosis in the countries of the world

Страна	Регион	Оценочная превалентность, %	Источник
Австралия (2011 г.)	Австралия	17,40	[6]
Иран (2013 г.)	Азия	86,70	[9]
Иран (2010 г.)		76,45	[34]
Индия (2009 г.)		75,00	[9]
Пакистан (1997 г.)		54,00	[9]
Индия (1993 г.)		23,00	[9]
Германия (1997 г.)	Европа	42,00	[9]
Испания (2008 г.)		35,90	[9]
Украина (2012–2019 гг.)		31,68	[14]
Франция (1999 г.)		20,30	[9]
Швеция (1987–1988 гг.)		11,50	[16]
Швеция (1993 г.)		11,50	[9]
Швейцария (2005–2006 гг.)		5,50	[12]
Бразилия (2007 г.)		Южная и Северная Америка	69,00
Мексика (2000 г.)	63,70		[9]
США (2010–2011 гг.)	1,80		[18]

Таблица 6
Превалентность колибактериоза КРС в РФ

Table 6
Prevalence of bovine colibacillosis in the Russian Federation

Регион РФ	Федеральный округ	Оценочная превалентность, %	Источник
Амурская область (2003–2005 гг.)	Дальневосточный	33,00	[36]
Амурская область (2016–2019 гг.)		28,50	[37]
Республика Башкортостан (2014–2016 гг.)	Приволжский	30,00	[38]
Пермский край (2010–2020 гг.)		14,40	[38]
Иркутская область (2004–2017 гг.)	Сибирский	18,50	[39]
Иркутская область (2001–2010 гг.)		10,35	[38]
Ростовская область (2021 г.)	Южный	74,20	[40]
Краснодарский край (1996–2015 гг.)		43,55	[38]
Ростовская область (2017 г.)		19,26	[41]

к 4-кратному снижению случаев их гибели от диареи. При этом сокращение срока выпадения приводило к снижению уровня напряженности колострального иммунитета молодняка [47].

Помимо профилактики заболеваний пищеварительной системы, вакцинные препараты с оптимальным набором антигенов ротавируса, коронавируса и *E. coli* потенциально способны сократить число случаев пневмоний, маститов и метритов в хозяйствах у более взрослых животных.

При разработке новых препаратов следует учитывать, что на эффективность средств специфической профилактики влияют такие факторы, как состав вакцины и реализация программы вакцинации.

К первой группе можно отнести использование неэффективных адъювантов или некачественного вирусодержащего сырья, а также применение в качестве активного вещества вакцины штаммов, имеющих низкую степень антигенного соответствия с полевыми изолятами, циркулирующими в том или ином регионе. В связи с этим проведение мониторинга циркулирующих на территории РФ полевых изолятов ротавируса, коронавируса и патогенной *E. coli* и отслеживание изменений их генома позволит своевременно корректировать меры профилактики и определять наиболее актуальный состав вакцин при выборе из существующих или при разработке новых препаратов.

Влияние на качество вакцинопрофилактики антигенного сродства вакцинных штаммов и полевых изолятов возбудителей может говорить о большей эффективности применения отечественных препаратов, так как их разработка ведется на основании выделенных на территории РФ штаммов.

Снижение эффективности иммунизации зависит от некачественного применения средств специфической профилактики: несоблюдения дозы, кратности и сроков вакцинации; недостаточного охвата иммунизацией восприимчивого поголовья животных; нарушения условий хранения и подготовки вакцины к применению; иммунизации больных животных и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекции, вызванные ротавирусом, коронавирусом и *E. coli*, имеют колоссальное значение для животноводства, так как их влиянию подвержены не только новорожденные телята (нарушения функции ЖКТ, недополучение ремонтного стада, гибель телят, затраты на лечение и др.), но и взрослое поголовье КРС (маститы, метриты, источник инфекции и др.), что приводит к значительным экономическим потерям.

Возбудители получили широкое распространение во многих странах мира. При этом средний уровень заболеваемости ротавирусной инфекцией составляет 32,7%, коронавирусной инфекцией – 18,4%, колибактериозом – 39,1%.

Проблема вышеупомянутых инфекций не теряет своей актуальности и для нашей страны. Так, в России уровень заболеваемости рота- и коронавирусной инфекцией превышает средний показатель в мире на 8,7 (41,4%) и 14,7% (33,1%) соответственно. Из перечисленных болезней наименьшее распространение получил эшерихиоз (30,2%), что может быть связано со значительными сезонными перепадами температуры на территории нашей страны в течение года и активным использованием антибиотиков на российских фермах.

Большое разнообразие и распространенность вышеупомянутых возбудителей требуют комплексного подхода для предотвращения заражения КРС (как молодняка, так и взрослых животных), необходимы полноценный рацион, соблюдение правил гигиены, содержания и кормления, осуществление мероприятий по карантинированию животных и др. Говоря о мерах профилактики рота-, коронавирусной инфекций и колибактериоза, нельзя не упомянуть, что одним из наиболее эффективных способов борьбы с ними является вакцинация. Использование вакцины с оптимальным набором антигенов не только позволит защитить телят от развития нарушений функции ЖКТ и уменьшить их смертность, но и потенциально способно сократить число случаев пневмоний, маститов и метритов в хозяйствах у более взрослых животных, что делает разработку эффективных и безопасных вакцинных препаратов против ротавирусной, коронавирусной инфекций и эшерихиоза актуальной задачей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зейналова Ш. К., Аббасов В. Д. Инфекционный ротавирус и коронавирус телят. *Бюллетень науки и практики*. 2023; 9 (4): 167–172. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/89/22>
2. Актуальные инфекционные болезни крупного рогатого скота: руководство. Под ред. проф. Т. И. Алипера. М.: ЗооВетКнига; 2021; 325–363; 624–630.
3. Debelo M., Abdela H., Tesfaye A., Tiruneh A., Mekonnen G., Asefa Z., Moje N. Prevalence of bovine rotavirus and coronavirus in neonatal calves in dairy farms of Addis Ababa, Ethiopia: Preliminary study. *BioMed Research International*. 2021; 2021:5778455. <https://doi.org/10.1155/2021/5778455>
4. Kolenda R., Burdukiewicz M., Schierack P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2015; 5:23. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00023>
5. Батомункуев А. С., Евдокимов П. И., Мельцов И. В. Рота- и коронавирусные инфекции крупного рогатого скота в Иркутской области. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2020; (5): 9–13. <https://elibrary.ru/udcymq>
6. Izzo M. M., Kirkland P. D., Mohler V. L., Perkins N. R., Gunn A. A., House J. K. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*. 2011; 89 (5): 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x>
7. Swiatek D. L., Palombo E. A., Lee A., Coventry M. J., Britz M. L., Kirkwood C. D. Detection and analysis of bovine rotavirus strains circulating in Australian calves during 2004 and 2005. *Veterinary Microbiology*. 2010; 140 (1–2): 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.020>
8. Qin Y.-F., Gong Q.-L., Zhang M., Sun Z.-Y., Wang W., Wei X.-Y., et al. Prevalence of bovine rotavirus among *Bovidae* in China during 1984–2021: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*. 2022; 169:105661. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105661>
9. Bashahun G. M., Amina A. *Colibacillosis* in calves: A review of literature. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*. 2017; 2 (3): 62–71. <https://doi.org/10.31248/JASVM2017.041>
10. Mayameei A., Mohammadi G., Yavari S., Afshari E., Omid A. Evaluation of relationship between *Rotavirus* and *Coronavirus* infections with calf diarrhea by capture ELISA. *Comparative Clinical Pathology*. 2010; 19 (6): 553–557. <https://doi.org/10.1007/s00580-009-0920-x>
11. Gulliksen S. M., Jor E., Lie K. I., Hammes I. S., Løken T., Åkerstedt J., Østerås O. Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92 (10): 5057–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2080>
12. Lanz Uhde F., Kaufmann T., Sager H., Albini S., Zanon R., Schelling E., Meylan M. Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Veterinary Record*. 2008; 163 (12): 362–366. <https://doi.org/10.1136/vr.163.12.362>
13. Дубаневич О. В., Тяпша Ю. И. Вирусные пневмоэнтериты крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь. *Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария*. 2022; (2): 35–41. <https://doi.org/10.47612/2224-168X-2022-2-35-41>
14. Дубин Р. А., Германенко М. Н. Вирусно-бактериальные ассоциации у телят при желудочно-кишечных заболеваниях. *Эпизоотология*

Иммунология Фармакология Санитария. 2020; (2): 21–29. <https://elibrary.ru/jcdmgi>

15. Björkman C., Svensson C., Christensson B., de Verdier K. *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2003; 44 (3–4): 145–152. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-145>

16. Viring S., Olsson S.-O., Aleniüs S., Emanuelsson U., Jacobsson S.-O., Larsson B., et al. Studies of enteric pathogens and γ -globulin levels of neonatal calves in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1993; 34 (3): 271–279. <https://doi.org/10.1186/BF03548191>

17. Garaicoechea L., Bok K., Jones L. R., Combeses G., Odeon A., Fernandez F., Parreno V. Molecular characterization of bovine rotavirus circulating in beef and dairy herds in Argentina during a 10-year period (1994–2003). *Veterinary Microbiology*. 2006; 118 (1–2): 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.06.004>

18. Cho Y.-I., Han J.-I., Wang C., Cooper V., Schwartz K., Engelken T., Yoon K.-J. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhoea. *Veterinary Microbiology*. 2013; 166 (3–4): 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.001>

19. Юров К. П., Гулюкин М. И., Мникова Л. А., Алексеенкова С. В., Ишкова Т. А. Вирусы – возбудители распространенных и эмерджентных желудочно-кишечных инфекций крупного рогатого скота (обзор). *Ветеринария и кормление*. 2021; (2): 55–58. <https://doi.org/10.30917/ATP-VK-1814-9588-2021-2-15>

20. Oliveira Filho J. P., Silva D. P. G., Pacheco M. D., Mascari L. M., Ribeiro M. G., Alferi A. A., et al. Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2007; 27 (10): 419–424. <https://www.researchgate.net/publication/262738825>

21. Курбанмагомедов К. Б. Этиология и технологические методы профилактики энтеритов телят вирусно-бактериальной этиологии в Республике Дагестан. *Ветеринарная практика*. 2008; (4): 16–21. <https://elibrary.ru/kdmwux>

22. Батомункуев А. С., Гретченко Ю. А. Вирусные инфекционные болезни крупного рогатого скота в Иркутской области. *Научно-практический журнал «Вестник ИРГСАХ»*. 2020; (101): 112–119. <https://elibrary.ru/jlbqrm>

23. Пархоменко Ю. С., Перепелкина И. С., Семенова Е. В. Эпизоотическая ситуация в скотоводческих хозяйствах Центрального Черноземья по ротавирусной и коронавирусной инфекциям. *Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии: сборник тезисов докладов 19-й Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной памяти академика РАСХН Г. С. Муромцева (Москва, 15–16 апреля 2019 г.)*. М.: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»; 2019; 141–142. <https://elibrary.ru/sbdxlo>

24. Скитович Г. С., Бьядовская О. П., Прохвятилова Л. Б. Исследование сывороток крови на наличие специфических антител к рота- и коронавирусам среди разных возрастных групп поголовья крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2013; (3): 42–47. <https://elibrary.ru/ratowq>

25. Мищенко В. А., Думова В. В., Гетманский О. И., Кононов А. В., Пономарев А. П., Кухаркина О. В. и др. Коронавирусная инфекция взросло-го крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология*. 2005; (3): 31–34. <https://elibrary.ru/hsqdpf>

26. Ковалев Н., Ломачко Ю. Коронавирусные болезни животных и вакцины против них. *Наука и инновации*. 2021; (8): 30–35. <https://elibrary.ru/dvozcs>

27. Fukutomi T., Tsunemitsu H., Akashi N. Detection of bovine coronaviruses from adult cows with epizootic diarrhea and their antigenic and biological diversities. *Archives of Virology*. 1999; 144 (5): 997–1006. <https://doi.org/10.1007/s007050050562>

28. Мищенко В. А., Думова В. В., Черных О. Ю., Киселев М. Ю., Мищенко А. В., Бакунов И. Н., Кононов А. В. Распространение коронавируса крупного рогатого скота у жвачных животных. *Ветеринария*. 2010; (9): 18–21. <https://elibrary.ru/mugzqr>

29. Нефедченко А. В., Глотова Т. И., Глотов А. Г., Котенева С. В., Терентьева Т. Е. Коронавирусная инфекция телят на молочных комплексах. *Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: материалы Международной научно-практической конференции (Витебск, 2–4 ноября 2022 г.)*. Витебск: УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»; 2022; 106–109. <https://elibrary.ru/cipany>

30. Нечипуренко О. О. Опасная кишечная палочка и колибактериоз. *Свиноводство*. 2019; (5): 35–37. <https://elibrary.ru/oioibr>

31. Fernández M., Casaux M. L., Fraga M., Vignoli R., Bado I., Zunino P., Umpiérrez A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) associated with calf mortality in Uruguay. *Microorganisms*. 2023; 11 (7): 1704. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071704>

32. Поболелова Ю. И., Яцентюк С. П. Идентификация патотипов и генов антибиотикорезистентности музейных штаммов диареогенных *E. coli*. *Труды ВИЭВ*. 2018; 80 (1): 284–290. <https://elibrary.ru/yqpalj>

33. Umpiérrez A., Ernst D., Fernández M., Oliver M., Casaux M. L., Cafarena R. D., et al. Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves. *Revista Argentina de Microbiología*. 2021; 53 (1): 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.004>

34. Shahrani M., Dehkordi F. S., Momtaz H. Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. *Biological Research*. 2014; 47:28. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-28>

35. Забровская А. В. Патогенные *Escherichia coli*: факторы вирулентности, распространение, проблемы диагностики. *Международный вестник ветеринарии*. 2023; (4): 87–95. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2023.4.87>

36. Петрухин М. А., Шульга Н. Н., Желябовская Д. А. Колибактериоз телят в Верхнем Приамурье. *Вестник КрасГАУ*. 2012; (12): 113–116. <https://elibrary.ru/pnfquz>

37. Гоцкало О. С. Анализ распространения возбудителя колибактериоза у сельскохозяйственных животных в Амурской области. *Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития: материялы Всероссийской научно-практической конференции (Благовещенск, 21 апреля 2021 г.)*. Часть 2. Благовещенск: Дальневосточный ГАУ; 2021; 46–51. <https://elibrary.ru/nooxut>

38. Жданова И. Н., Мокрушин В. В., Кузнецова М. В. Колибактериоз крупного рогатого скота в Пермском крае: распространенность, источники возбудителя и его биологические особенности. *Сельскохозяйственная биология*. 2022; 57 (4): 776–790. <https://doi.org/10.15389/agrobiologia.2022.4.776rus>

39. Батомункуев А. С., Аблов А. М., Трофимов И. Г., Дашко Д. В., Лапа Я. В. Эшерихиоз сельскохозяйственных животных на территории Иркутской области. *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р. Филиппова*. 2018; (3): 47–53. <https://elibrary.ru/yarftn>

40. Торопыно А. В., Шевченко А. А., Шевченко Л. В. Роль коров в распространении патогенных эшерихий потомству. *Ветеринарная патология*. 2021; (1): 14–18. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.16.54.007>

41. Шевченко А. А., Торопыно А. В. Эпизоотическая ситуация по эшерихиозу в Ростовской области. *Ветеринарная патология*. 2017; (3): 3–8. <https://elibrary.ru/yngcws>

42. Murinda S. E., Ibekwe A. M., Rodriguez N. G., Quiroz K. L., Mujica A. P., Osmon K. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in mastitis: an international perspective. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2019; 16 (4): 229–243. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2491>

43. Jung D., Park S., Ruffini J., Dussault F., Dufour S., Ronholm J. Comparative genomic analysis of *Escherichia coli* isolates from cases of bovine clinical mastitis identifies nine specific pathotype marker genes. *Microbial Genomics*. 2021; 7 (7): 000597. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000597>

44. Yamamura F., Sugiura T., Munby M., Shiohara T., Murata R., Nakamura T., et al. Relationship between *Escherichia coli* virulence factors, notably *kpsMTII*, and symptoms of clinical metritis and endometritis in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2022; 84 (3): 420–428. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0586>

45. Erickson N. E. N., April S., Campbell J. R., Homerosky E., Ware T., Dorin C., et al. Comparison of postweaning bovine respiratory disease treatment rates between non-vaccinated control beef calves and calves variably primed and boosted using commercially available bovine coronavirus vaccines. *The Canadian Veterinary Journal*. 2024; 65 (6): 581–586. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38827595>

46. Мищенко В. А., Гетманский О. И., Никешина Т. Б., Думова В. В., Павлов Д. К., Жбанова Т. В. и др. Эффективность вакцинопрофилактики вирусных диарей новорожденных телят рота- и коронавирусной этиологии. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2005; 3: 184–193. <https://elibrary.ru/unwzbn>

47. Viidu D.-A., Mõtus K. Implementation of a pre-calving vaccination programme against rotavirus, coronavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* (F5) and association with dairy calf survival. *BMC Veterinary Research*. 2022; 18:59. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03154-2>

REFERENCES

1. Zeinalova Sh., Abbasov V. Infectious rotavirus and coronavirus of calves. *Bulletin of Science and Practice*. 2023; 9 (4): 167–172. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/89/22> (in Russ.)
2. Current infectious diseases of cattle: a manual. Ed. by prof. T. I. Aliper. Moscow: ZooVetKniga; 2021; 325–363; 624–630. (in Russ.)
3. Debelo M., Abdela H., Tesfaye A., Tirneh A., Mekonnen G., Asefa Z., Moje N. Prevalence of bovine rotavirus and coronavirus in neonatal calves in dairy farms of Addis Ababa, Ethiopia: Preliminary study. *BioMed Research International*. 2021; 2021:5778455. <https://doi.org/10.1155/2021/5778455>

4. Kolenda R., Burdukiewicz M., Schierack P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2015; 5:23. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00023>
5. Batomunkuev A. S., Evdokimov P. I., Meltsov I. V. Rotaviral and coronavirus infections of cattle in the Irkutsk region. *Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. 2020; (5): 9–13. <https://elibrary.ru/udcymq> (in Russ.)
6. Izzo M. M., Kirkland P. D., Mohler V. L., Perkins N. R., Gunn A. A., House J. K. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*. 2011; 89 (5): 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x>
7. Swiatek D. L., Palombo E. A., Lee A., Coventry M. J., Britz M. L., Kirkwood C. D. Detection and analysis of bovine rotavirus strains circulating in Australian calves during 2004 and 2005. *Veterinary Microbiology*. 2010; 140 (1–2): 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.020>
8. Qin Y.-F., Gong Q.-L., Zhang M., Sun Z.-Y., Wang W., Wei X.-Y., et al. Prevalence of bovine rotavirus among Bovidae in China during 1984–2021: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*. 2022; 169:105661. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105661>
9. Bashahun G. M., Amina A. *Colibacillosis* in calves: A review of literature. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*. 2017; 2 (3): 62–71. <https://doi.org/10.31248/JASVM2017.041>
10. Mayameei A., Mohammadi G., Yavari S., Afshari E., Omid A. Evaluation of relationship between *Rotavirus* and *Coronavirus* infections with calf diarrhea by capture ELISA. *Comparative Clinical Pathology*. 2010; 19 (6): 553–557. <https://doi.org/10.1007/s00580-009-0920-x>
11. Gulliksen S. M., Jor E., Lie K. I., Hamnes I. S., Løken T., Åkerstedt J., Østerås O. Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92 (10): 5057–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2080>
12. Lanz Uhde F., Kaufmann T., Sager H., Albini S., Zanon R., Schelling E., Meylan M. Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Veterinary Record*. 2008; 163 (12): 362–366. <https://doi.org/10.1136/vr.163.12.362>
13. Dubanevich O. V., Tsiapsha Y. I. Viral pneumoenteritis of cattle in farms of the Republic of Belarus. *Epizootology Immunobiology Pharmacology Sanitation*. 2022; (2): 35–41. <https://doi.org/10.47612/2224-168X-2022-2-35-41> (in Russ.)
14. Dubin R. A., Germanenko M. N. Viral-bacterial associations in calves with gastrointestinal diseases. *Epizootology Immunobiology Pharmacology Sanitation*. 2020; (2): 21–29. <https://elibrary.ru/jcdmgi> (in Russ.)
15. Björkman C., Svensson C., Christensson B., de Verdier K. *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2003; 44 (3–4): 145–152. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-145>
16. Viring S., Olsson S.-O., Aleniús S., Emanuelsson U., Jacobsson S.-O., Larsson B., et al. Studies of enteric pathogens and γ -globulin levels of neonatal calves in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1993; 34 (3): 271–279. <https://doi.org/10.1186/BF03548191>
17. Garaicoechea L., Bok K., Jones L. R., Combessies G., Odeon A., Fernandez F., Parreno V. Molecular characterization of bovine rotavirus circulating in beef and dairy herds in Argentina during a 10-year period (1994–2003). *Veterinary Microbiology*. 2006; 118 (1–2): 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.06.004>
18. Cho Y.-I., Han J.-I., Wang C., Cooper V., Schwartz K., Engelken T., Yoon K.-J. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Veterinary Microbiology*. 2013; 166 (3–4): 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.001>
19. Yurov K. P., Gulyukin M. I., Mnikova L. A., Alexeyenkova S. V., Ishkova T. A. Viruses causing frequent and emergent gastrointestinal infections of cattle (review). *Veterinaria i kormlenie*. 2021; (2): 55–58. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-2-15> (in Russ.)
20. Oliveira-Filho J. P., Silva D. P. G., Pacheco M. D., Mascarini L. M., Ribeiro M. G., Alfieri A. A., et al. Diarréia em bezerras da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico = Diarrhea in Nelore calves: Clinical and etiologic study. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2007; 27 (10): 419–424. <https://www.researchgate.net/publication/262738825> (in Portuguese)
21. Kurbanmagomedov K. B. Etiology and the technological methods of the preventive maintenance enteritis of the calves of virus-bacterial etiology in the Republic of Dagestan. *Veterinarnaya praktika*. 2008; (4): 16–21. <https://elibrary.ru/kdmwyx> (in Russ.)
22. Batomunkuev A. S., Gretchenko Yu. A. Viral infectious diseases of cattle in the Irkutsk Region. *East Siberian Journal of Biosciences*. 2020; (101): 112–119. <https://elibrary.ru/jlbqrm> (in Russ.)
23. Parkhomenko Yu. S., Perepelkina I. S., Semenova E. V. Epizooticheskaya situatsiya v skotovodcheskikh khozyaistvakh Tsentral'nogo Chernozem'ya po rotavirusnoi i koronavirusnoi infektsiyam = Rotavirus and coronavirus infection situation on animal farms of the Central Black Earth Region. *Biotehnologiya v rasteniyevodstve, zhivotnovodstve i sel'skokhozyaistvennoy mikrobiologii: sbornik tezisov dokladov 19-i Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchenykh, posvyashchennoi pamyati akademika RASKhN G. S. Muromtseva (Moskva, 15–16 aprelya 2019 g.) = Biotechnology in plant growing, animal breeding and agricultural microbiology: Proceedings of the 19th All-Russia conference of young researchers dedicated to the memory of G. S. Muromtsev, RAAS Academician (Moscow, 15–16 April 2019)*. Moscow: All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology; 2019; 141–142. <https://elibrary.ru/sbdxlo> (in Russ.)
24. Skitovich G. S., Byadovskaya O. P., Prokhvatilova L. B. Tests of sera from cattle of different age groups for specific antibodies against rotaviruses and coronaviruses. *Veterinary Science Today*. 2013; (3): 45–47. <https://elibrary.ru/ratowq>
25. Mischenko V. A., Dumova V. V., Getmanskii O. I., Kononov A. V., Ponomaryov A. P., Kukharkina O. V., et al. Koronavirusnaya infektsiya vzroslogo krupnogo rogatogo skota = Coronavirus infection in adult cattle. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2005; (3): 31–34. <https://elibrary.ru/hsqdpf> (in Russ.)
26. Kavalev M., Lamaka Yu. Coronavirus diseases of animals and vaccines against them. *Science and Innovations*. 2021; (8): 30–35. <https://elibrary.ru/dvozc5> (in Russ.)
27. Fukutomi T., Tsunemitsu H., Akashi H. Detection of bovine coronaviruses from adult cows with epizootic diarrhea and their antigenic and biological diversities. *Archives of Virology*. 1999; 144 (5): 997–1006. <https://doi.org/10.1007/s007050050562>
28. Mischenko V. A., Dumova V. V., Chernykh O. Yu., Kiselyov M. Yu., Mischenko A. V., Bakunov I. N., Kononov A. V. Bovine coronavirus distribution in ruminants. *Veterinariya*. 2010; (9): 18–21. <https://elibrary.ru/mugzqp> (in Russ.)
29. Nefedchenko A. V., Glotova T. I., Glotov A. G., Koteneva S. V., Terentieva T. E. Coronavirus infection of calves on dairy complexes. *Aktual'nye problemy lecheniya i profilaktiki boleznei molodnyaka: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 2–4 noyabrya 2022 g.) = Current problems of young animal disease treatment and prevention: proceedings of the International research-to-practice conference (Vitebsk, 2–4 November 2022)*. Vitebsk: Vitebsk the Order of “the Badge of Honor” State Academy of Veterinary Medicine; 2022; 106–109. <https://www.elibrary.ru/cipany> (in Russ.)
30. Nechipurenko O. O. The dangerous *E. coli* and colibacillosis. *Pig-breeding*. 2019; (5): 35–37. <https://elibrary.ru/oiobkr> (in Russ.)
31. Fernández M., Casaux M. L., Fraga M., Vignoli R., Bado I., Zunino P., Umpiérrez A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) associated with calf mortality in Uruguay. *Microorganisms*. 2023; 11 (7):1704. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071704>
32. Pobolelova Yu. I., Yatsentyuk S. P. Identification of patotypes and antibiotic resistance genes of museum strains of diarrheagenic *E. coli*. *Trudi VIEV*. 2018; 80 (1): 284–290. <https://elibrary.ru/yqpalj> (in Russ.)
33. Umpiérrez A., Ernst D., Fernández M., Oliver M., Casaux M. L., Cafarena R. D., et al. Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves. *Revista Argentina de Microbiología*. 2021; 53 (1): 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.004>
34. Shahrani M., Dehkordi F. S., Momtaz H. Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. *Biological Research*. 2014; 47:28. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-28>
35. Zabrovskaia A. V. Pathogenic *Escherichia coli*: virulence factors, spread, diagnostic problems. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2023; (4): 87–95. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2023.4.87> (in Russ.)
36. Petrukhin M. A., Shulga N. N., Zhelyabovskaya D. A. Calves colibacillosis in the upper Amur region. *Bulletin of KSAU*. 2012; (12): 113–116. <https://elibrary.ru/pnfqz> (in Russ.)
37. Gotskalo O. S. Analiz rasprostraneniya vozбудitelya kolibakterioza u sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh v Amurskoi oblasti = Analysis of colibacillosis agent spread in farm animals in Amur Oblast. *Agropromyshlennyy kompleks: problemy i perspektivy razvitiya: materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Blagoveshchensk, 21 aprelya 2021 g.) = Agroindustrial complex: development challenges and prospects: proceedings of the All-Russia research-to-practice conference (Blagoveshchensk, 21 April 2021)*. Part 2. Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University; 2021; 46–51. <https://elibrary.ru/nooxut> (in Russ.)
38. Zhdanova I. N., Mokrushin V. V., Kuznetsova M. V. Cattle colibacillosis in Perm krai: prevalence, sources of the causative agent and its biological characterization. *Agricultural Biology*. 2022; 57 (4): 776–790. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.4.776eng>
39. Batomunkuev A., Ablov A., Trofimov I., Dashko D., Lapa Y. Escherichiosis of farm animals in Irkutsk oblast. *Vestnik of Buryat State Academy*

of Agriculture named after V. Philipov. 2018; (3): 47–53. <https://elibrary.ru/yarftn> (in Russ.)

40. Toropyno A. V., Shevchenko A. A., Shevchenko L. V. The role of cows in the distribution of pathogenic *Escherichia* to the offspring. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2021; (1): 14–18. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.16.54.007> (in Russ.)

41. Shevchenko A. A., Toropyno A. V. Epizootical situation of eserhiiosis in the Rostov region. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2017; (3): 3–8. <https://elibrary.ru/ynycws> (in Russ.)

42. Murinda S. E., Ibekwe A. M., Rodriguez N. G., Quiroz K. L., Mujica A. P., Osmon K. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in mastitis: an international perspective. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2019; 16 (4): 229–243. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2491>

43. Jung D., Park S., Ruffini J., Dussault F., Dufour S., Ronholm J. Comparative genomic analysis of *Escherichia coli* isolates from cases of bovine clinical mastitis identifies nine specific pathotype marker genes. *Microbial Genomics*. 2021; 7 (7):000597. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000597>

44. Yamamura F., Sugiura T., Munby M., Shiokura Y., Murata R., Nakamura T., et al. Relationship between *Escherichia coli* virulence factors, notably *kpM7II*, and symptoms of clinical metritis and endometritis in dairy cows.

Journal of Veterinary Medical Science. 2022; 84 (3): 420–428. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0586>

45. Erickson N. E. N., April S., Campbell J. R., Homerosky E., Ware T., Dorin C., et al. Comparison of postweaning bovine respiratory disease treatment rates between non-vaccinated control beef calves and calves variably primed and boosted using commercially available bovine coronavirus vaccines. *The Canadian Veterinary Journal*. 2024; 65 (6): 581–586. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38827595>

46. Mischenko V. A., Getmanskii O. I., Nikeshina T. B., Dumova V. V., Pavlov D. K., Zhanova T. V., et al. Effectiveness of preventive vaccination against bovine neonatal viral diarrhea of rota- and coronavirus etiology. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 184–193. <https://elibrary.ru/unwzbn> (in Russ.)

47. Viidu D.-A., Mõtus K. Implementation of a pre-calving vaccination programme against rotavirus, coronavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* (F5) and association with dairy calf survival. *BMC Veterinary Research*. 2022; 18:59. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03154-2>

Поступила в редакцию / Received 10.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 18.11.2024

Принята к публикации / Accepted 04.12.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Круглов Илья Алексеевич, аспирант, ведущий специалист лаборатории биотехнологии и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0007-5126-4283>, kruglov_ia@arriah.ru

Кононов Александр Владимирович, д-р вет. наук, заведующий лабораторией биотехнологии и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>, kononov@arriah.ru

Нестеров Александр Александрович, канд. вет. наук, заведующий сектором лаборатории биотехнологии и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4288-1964>, nesterov@arriah.ru

Кононова Светлана Владимировна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3932-2416>, kononova@arriah.ru

Прунтова Ольга Владиславовна, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, pruntova@arriah.ru

Ilya A. Kruglov, Postgraduate Student, Leading Specialist, Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, Federal Centre for Animal Health, Vladimir Russia; <https://orcid.org/0009-0007-5126-4283>, kruglov_ia@arriah.ru

Aleksandr V. Kononov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>, kononov@arriah.ru

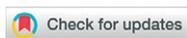
Alexander A. Nesterov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4288-1964>, nesterov@arriah.ru

Svetlana V. Kononova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3932-2416>, kononova@arriah.ru

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

Вклад авторов: Круглов И. А. – подготовка текста статьи, проведение поисково-аналитической работы; Кононов А. В. – научное руководство, редактирование статьи, концепция обзора; Нестеров А. А. – редактирование статьи, подготовка текста статьи; Кононова С. В. – редактирование статьи; Прунтова О. В. – редактирование статьи, подготовка текста статьи.

Contribution of the authors: Kruglov I. A. – text preparation, information search and analysis; Kononov A. V. – scientific guidance, paper editing, review concept; Nesterov A. A. – paper editing, text preparation; Kononova S. V. – paper editing; Pruntova O. V. – paper editing, text preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-24-31>
УДК 619:616.98:578.821.2:636.22/.28:616-036.22

Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота на Ближнем Востоке – исторические и статистические данные

Я. Хатиб

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН), ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота, также известный как нодулярный дерматит, на данный момент представляет собой актуальную проблему ветеринарии вследствие значительного экономического ущерба, причиняемого животноводческой отрасли. Риск распространения заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота и проникновения его в благополучные по заболеванию страны с каждым годом увеличивается. В связи с этим актуальным вопросом становится своевременное отслеживание распространения инфекции для выработки стратегии борьбы с ней. В представленном обзоре рассмотрены особенности проявления и течения заболевания, оцениваются исторические и статистические данные по распространению заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота в странах Ближнего Востока и будущие направления совместных действий на международном уровне.

Цель исследования. Анализ исторических и статистических данных проявления заразного узелкового дерматита у крупного рогатого скота в странах Ближнего Востока.

Материалы и методы. Сбор теоретического материала проводился в электронных библиотеках с использованием ресурсов: PubMed, Web of Science, eLIBRARY.RU, mdpi.com, frontiersin.org, researchgate.net и др. Проанализированы англоязычные литературные данные за последние 10 лет.

Результаты. После выхода вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота за границы Африканского континента в 1988 г. он ненадолго задержался в пределах стран Ближнего Востока, уже через два года проникнув далее на запад и восток. Несмотря на дальнейшее распространение, в ближневосточных странах еще в течение нескольких последующих лет отмечались повторные вспышки заболевания. Многие страны Ближнего Востока все еще сталкиваются с проблемой бесконтрольного перемещения скота, отсутствием возможностей для проведения качественной лабораторной диагностики, нерегулярностью контактов с международными организациями в сфере здравоохранения и надзора, усугубляемыми нестабильностью политической ситуации в регионе. Данные проблемы подчеркивают важность борьбы с заразным узелковым дерматитом крупного рогатого скота на международном уровне, значение регионального и международного сотрудничества и проведения эффективной политики биобезопасности.

Заключение. Определена роль Ближневосточного региона в распространении возбудителя болезни, названы вероятные причины неблагополучия региона по данному заболеванию, сформулировано направление дальнейших действий в рамках борьбы с заразным узелковым дерматитом крупного рогатого скота.

Ключевые слова: обзор, заразный узелковый дерматит, крупный рогатый скот, Ближний Восток, историческая вспышка, трансграничные болезни животных

Благодарности: Автор выражает благодарность за бескорыстную помощь в подготовке статьи доктору биологических наук, профессору Владимиру Владимировичу Макарову.

Для цитирования: Хатиб Я. Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота на Ближнем Востоке – исторические и статистические данные. *Ветеринария сегодня.* 2025; 14 (1): 24–31. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-24-31>

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Хатиб Язид, аспирант, департамент ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, Россия, yazedkhatib@hotmail.com

Lumpy skin disease in the Middle East – historical and statistical data

Yazid Khatib

Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow 117198, Russia

ABSTRACT

Introduction. Lumpy skin disease (LSD) is currently a matter of veterinary concern due to the significant economic losses of the livestock industry. The risk of LSD spread and penetration into the disease-free countries is increasing every year. Therefore, timely monitoring of the infection spread for the development a strategy for this disease control becomes of current importance. Description of the disease manifestations and course, evaluation of historical and statistical data on LSD spread in the Middle Eastern countries as well as the further joint actions at the international level are presented in this review.

© Хатиб Я., 2025

Objective. Analysis of historical and statistical data on clinical lumpy skin disease in the Middle Eastern countries.

Materials and methods. The following electronic databases were used for relevant data searching and collection: PubMed, Web of Science, eLIBRARY.RU, mdpi.com, frontiersin.org, researchgate.net, etc. English literature data for 10 years were analyzed.

Results. In 1988 LSD spread outside the African continent then LSD stayed for a short time within the Middle Eastern countries and two years later spread further to the west and east. Despite the further spread, recurrent LSD outbreaks were reported in the Middle Eastern countries over the next few years. Many countries in the Middle East still face the problem of uncontrolled livestock movement, lack of high-quality laboratory diagnostics, and irregular contacts with international health and surveillance organizations aggravated by the unstable political situation in the region. These problems indicate the importance of LSD control at the international level, the significance of regional and international cooperation and effective biosafety policies.

Conclusion. Role of the Middle East region in LSD virus spread, probable causes of LSD infection in the region, trends for further actions for LSD control were determined.

Keywords: review, lumpy skin disease, cattle, Middle East, historical outbreak, transboundary animal diseases

Acknowledgements: The author expresses his gratitude to Professor Vladimir V. Makarov, Dr. Sci. (Biology), for the help in preparing the paper.

For citation: Khatib Ya. Lumpy skin disease in the Middle East – historical and statistical data. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 24–31. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-24-31>

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

For correspondence: Yazid Khatib, Postgraduate Student, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow 117198, Russia, yazedkhatib@hotmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Заразный узелковый (нодулярный) дерматит крупного рогатого скота (ЗУД) на данный момент представляет собой актуальную проблему ветеринарии вследствие значительного экономического ущерба, который причиняет животноводческой отрасли данное заболевание. ЗУД крупного рогатого скота вызывает ДНК-вирус из рода *Capripoxvirus*, семейства *Poxviridae*. Вирус поражает крупный рогатый скот и водяных буйволов, вызывая у инфицированных животных образование узелковых поражений на коже. Данный вирус антигенно близок к возбудителю оспы овец и оспы коз, поэтому может заразить и мелких жвачных животных, не вызывая при этом проявления клинических признаков заболевания [1, 2, 3].

Болезнь носит характер энзоотии, развивается быстро и может привести к летальному исходу, хотя, как отмечают многие авторы, при высоком уровне заболеваемости (чаще около 20%, но может варьировать от 3 до 85%) ЗУД крупного рогатого скота отличается достаточно низким уровнем смертности (менее 5%) [4, 5, 6, 7]. Поражая продуктивных животных, ЗУД крупного рогатого скота приводит к снижению надоев молока у молочных животных и потере веса скотом мясных пород, что влияет на глобальную продовольственную безопасность, ограничивая наличие и доступность высококачественных продуктов животного происхождения на мировом рынке. Значительно ухудшаются в инфицированных стадах показатели воспроизводства, а также качество кожи убойных животных [2, 5, 6, 8, 9, 10]. Помимо этого, болезнь негативно влияет на торговые связи и требует финансовых затрат на проведение противоэпизоотических мероприятий. В связи со способностью быстро распространяться через границы государств и наносить значительный ущерб Всемирная организация здравоохранения животных (World Organization for Animal Health) включила ЗУД крупного рогатого скота в список наиболее экономически важных и подлежащих регистрации трансграничных вирусных болезней животных.

Впервые ЗУД крупного рогатого скота был зарегистрирован в 1929 г. в Северной Родезии (ныне – Замбия) и с тех пор проявлял себя в виде вспышек в различных районах Африки, не выходя за пределы континента. Так продолжалось до 1988–1989 гг., когда появились первые случаи регистрации данного заболевания в Египте и Израиле, а затем ЗУД крупного рогатого скота постепенно стал распространяться на страны Ближнего Востока, Восточной Европы, Балканского полуострова и Россию [4, 11, 12].

В 2019 г. ЗУД крупного рогатого скота уже регистрировался в Южной и Восточной Азии. Данное положение дел поставило под угрозу скотоводство таких стран, как Афганистан, Пакистан, Индия и др. Случаи заболевания ЗУД крупного рогатого скота выявляются также в Китае, Камбодже, Сингапуре и Индонезии, существует угроза распространения в свободные от данной болезни государства со значительными популяциями скота (Австралия и др.) [4, 6]. Имеются также и первые сообщения о заболевании людей ЗУД крупного рогатого скота [10], хотя, согласно другим данным, этот вирус человеку не передается [2].

Риск дальнейшего распространения ЗУД крупного рогатого скота и проникновения в благополучные по заболеванию страны с каждым годом увеличивается. В связи с этим актуальным вопросом становится своевременное отслеживание распространения инфекции для выработки стратегии борьбы с данным заболеванием.

В представленном обзоре рассматриваются особенности проявления и течения ЗУД крупного рогатого скота, оцениваются исторические и статистические данные по распространению возбудителя на Ближнем Востоке и будущие направления совместных действий на международном уровне.

Цель работы – провести анализ исторических и статистических данных проявления ЗУД у крупного рогатого скота в странах Ближнего Востока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ англоязычных литературных данных за последние 10 лет по проблеме заразного узелкового (нодулярного) дерматита крупного рогатого скота на Ближнем Востоке. Сбор теоретического материала осуществлялся в электронных библиотеках с использованием ресурсов: PubMed, Web of Science, eLIBRARY.RU, mdpi.com, frontiersin.org, researchgate.net и др.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Заразный узелковый (нодулярный) дерматит крупного рогатого скота – это трансмиссивное заболевание, передающееся через укусы насекомых. Переносчиками вируса являются кровососущие комары (*Aedes aegypti*), мухи (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*, *Musca domestica*) и некоторые виды клещей (*Rhipicephalus appendiculatus*, *Rhipicephalus decoloratus*, *Amblyomma hebraeum*) [13]. ЗУД крупного рогатого скота также может передаваться и не векторным путем: через контакт животных с зараженными предметами (кормушки, поилки), а также через молоко, сперму или внутриутробно [6, 10]. Жаркий и влажный климат, сезоны дождей и низинная, болотистая местность являются предрасполагающими факторами для размножения переносчиков вируса ЗУД крупного рогатого скота [1, 4, 9].

Клиническая картина при ЗУД крупного рогатого скота варьируется от острого течения до субклинической или хронической формы. Среди основных симптомов выделяют лихорадку, отсутствие аппетита, отеки, генерализованные узелки на коже, увеличение лимфатических узлов, истощение, пониженную лактацию и аборт у стельных животных. При тяжелой форме течения возможно появление язвенных поражений на слизистой оболочке ротовой полости, гортани, трахеи и пищевода. При локализации в репродуктивной системе вирус ЗУД крупного рогатого скота может вызывать временное или постоянное бесплодие коров и быков [7, 8, 9].

Выделение вируса происходит различными путями: через слезные и носовые пути, а также с кровью, слюной, молоком и спермой инфицированных животных. Узелки, появляющиеся на слизистых оболочках глаз, рта, носа, вымени, прямой кишки и половых органов и затем изъязвляющиеся, можно отнести к приоритетным путям выделения вируса [9].

В целях искоренения ЗУД крупного рогатого скота и его профилактики важными задачами становятся: соблюдение строгого карантина поступающих в хозяйство животных, борьба с переносчиками заболевания, профилактическая вакцинация скота. Большое значение приобретают также мероприятия по контролю ЗУД крупного рогатого скота на международном уровне, региональное и международное сотрудничество и эффективная политика биобезопасности [14].

Первый случай регистрации ЗУД крупного рогатого скота в Северной Родезии (ныне – Замбия) в 1929 г. рассматривался в качестве реакции гиперчувствительности животных к укусам насекомых и обозначался термином «псевдокрапивница». Инфекционная природа заболевания была открыта в период с 1943 по 1945 г., когда ЗУД крупного рогатого скота уже фиксировали в Южной Родезии (ныне – территория Зимбабве), Ботсване и ЮАР. К 1946 г. болезнь распространилась в Мозамбике, в 1950 г. была обнаружена в Анголе и Замбии, в 1954 г. – на Мадагаскаре, в 1956 г. – в Намибии,

Танзании и Уганде. В течение последующих трех десятилетий вспышки ЗУД крупного рогатого скота наблюдались в разных странах Африканского континента (Кения, Судан, Чад, Нигер, Эфиопия и др.), в связи с чем вирус долгое время считался эндемичным для африканских стран [4, 10].

После регистрации заболевания в 1988–1989 гг. в Египте ЗУД крупного рогатого скота вышел за пределы Африканского континента и был обнаружен в Израиле. Ранее, в 1984 г., сообщалось о вспышке ЗУД крупного рогатого скота в Омане, но случаи заболевания не были подтверждены, хотя повторно наблюдались и в 2009 г. В 1986 г. ЗУД крупного рогатого скота был обнаружен в Кувейте, в 1991 г. произошла повторная вспышка. В 1993 г. заболевание зарегистрировано в Ливане, в 1995 г. – в Йемене, в 2000 г. – в ОАЭ, в 1993 г. и повторно в 2002 г. – в Бахрейне, а в 2013 г. – в Саудовской Аравии и Ираке [4, 15].

В 2014 г. ЗУД крупного рогатого скота отметился вспышкой в Азербайджане, в 2015 г. уже регистрировался в таких европейских странах, как Греция, Албания и Россия (повторный случай в России – массовая вспышка в 2017 г.). Начало проведения масштабной вакцинации против ЗУД крупного рогатого скота в странах Европы воспрепятствовало широкому распространению инфекции, хотя случаев заболевания избежать и не удалось [16]. В 2016 и 2018 гг. ЗУД крупного рогатого скота зафиксирован в Грузии, а в 2018 г. был обнаружен в таких странах Балканского полуострова, как Греция, Болгария, Северная Македония, Сербия, Косово и Албания [4, 17].

На рисунке 1 представлена карта вспышек ЗУД крупного рогатого скота, зафиксированных в период с 2013 по 2017 г. на территории Ближнего Востока и соседних стран [18].

С 2019 г. ЗУД крупного рогатого скота стал серьезной проблемой животноводства в азиатских странах: заболевание отметилось разрушительными вспышками в Бангладеш (2019–2020 гг.), затем в Индии и Китае (2020 г.), перекинувшись далее на Непал, Бутан, Шри-Ланку, Вьетнам и Малайзию (2020 г.). В 2021 г. ЗУД крупного рогатого скота отмечался в Таиланде, Лаосской Народно-Демократической Республике, Пакистане, в 2022 г. был подтвержден в Индонезии и Сингапуре [4].

Заболеемость и смертность во время евразийских эпизоотий составляет примерно 10 и 1% соответственно, что, по мнению некоторых авторов, зависит от генетической предрасположенности скота к ЗУД крупного рогатого скота.

Что касается именно изучаемого региона, то после выхода вируса за границы Африканского континента он ненадолго задержался в пределах стран Ближнего Востока, уже через два года продвинувшись далее на запад и восток. В Ближневосточном регионе еще в течение нескольких последующих лет отмечались повторные вспышки заболевания. Отметим некоторые из них, описанные в научной литературе.

В 2012–2013 гг. вирус ЗУД крупного рогатого скота обнаружен в Сирии и Ираке. Нестабильная политическая обстановка, гражданские конфликты и войны негативно отразились на деятельности ветеринарных служб, что способствовало дальнейшему продвижению возбудителя в соседние страны Юго-Западной Азии [1, 6]. Специфического лечения зараженных животных не проводилось, консервативное



Рис. 1. Вспышки ЗУД крупного рогатого скота, зафиксированные с 2013 по 2017 г. на территории Ближневосточного региона и соседних с ним стран [18]

Fig. 1. LSD outbreaks reported from 2013 to 2017 in the Middle East region and neighboring countries [18]

вмешательство ограничивалось симптоматической терапией [6].

В 2013 г. ЗУД крупного рогатого скота выявлен в Турции вблизи границ с Сирией и Ираком [19, 20, 21, 22, 23]. Зараженные животные не были вакцинированы против инфекции. С 2014 г. в Турции началась массовая иммунизация скота, но вспышки еще фиксировались вплоть до 2019 г. [6, 24].

В 2013 г. ЗУД крупного рогатого скота был обнаружен в Иордании среди поголовья молочного скота. Зараженные стада лечили антибиотиками широкого спектра действия и противовоспалительными препаратами [6].

В 2014 г. ЗУД крупного рогатого скота все еще регистрировался в Ираке (в 2014 г. зафиксировано 9 вспышек болезни) [9, 25].

С 2014 по 2016 г. вспышки заболевания отмечались в Иране, куда болезнь, предположительно, распространилась из Ирака вследствие неконтролируемого перемещения зараженных животных через общую границу [26, 27, 28]. За два года наблюдений, по данным P. Samea Yousefi et al. [7], из 683 гол. крупного рогатого скота, обследованных на наличие клинических признаков ЗУД крупного рогатого скота (лихорадка, отсутствие аппетита, снижение молочной продуктивности, обнаружение на коже типичных узелков и увеличение лимфатических узлов), у 122 гол. выявили искомую симптоматику (распространенность 17,9%). Причем в разрезе возрастных групп самый высокий

уровень заболеваемости отмечался у животных старше 5 лет, а самый низкий – у особей младше 6 мес. Среди вакцинированного поголовья клинические признаки наблюдались у 40,8% животных, среди невакцинированного – у 71,3%. При уровне заболеваемости в 17,9% совокупные смертность и летальность в четырех исследованных иранских провинциях составили 3,5 и 19,7% соответственно, что расходилось с более ранними данными из Турции (заболеваемость 12,3%, смертность 6,4%) [29], Омана (заболеваемость 13,6–29,7%, смертность 15,4–26,3%) [30], Иордании (заболеваемость 26,0%, смертность 1,9%) [31], Саудовской Аравии (заболеваемость 6,0%, смертность 0,99%) [32]. Причиной несоответствия данных о распространенности заболевания и смертности авторы указанного выше исследования видят в различной выраженности предрасполагающих к ЗУД крупного рогатого скота факторов (влажность климата, температура окружающей среды и др.).

В 2018 и 2019 гг. продолжались вспышки в Ираке, в частности в провинции Басра. Общая распространенность заболевания по всем возрастным группам крупного рогатого скота составила 18,7% (было выявлено 112 инфицированных животных из 600 обследованных). В 92,8% случаев у животных наблюдался узелковый дерматит, у 17,8% заболевших – артрит, и в 2,5% случаев была выявлена лимфаденопатия [8].

Организация и качество контроля за перемещением животных, проведение специфической профилактики

ЗУД крупного рогатого скота в странах Ближнего Востока зависят от слаженной деятельности ветеринарных служб. Проводимый в Египте и Израиле санитарный убой зараженных животных позволил в 2006 г. искоренить ЗУД крупного рогатого скота в этих странах. Но другие государства Ближнего Востока все еще сталкиваются с проблемой бесконтрольного перемещения скота, отсутствием возможностей для проведения качественной лабораторной диагностики, нерегулярностью контактов с международными организациями в сфере здравоохранения и надзора, усугубляемыми нестабильностью политической ситуации в регионе [1].

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота представляет собой серьезную проблему для животноводства многих стран в связи с быстрым распространением и крупными экономическими потерями. Вышедшее за пределы Африканского континента заболевание постепенно захватило Ближний Восток и страны Азии, угрожая теперь Западной Европе и Австралии. Для предупреждения дальнейшего распространения ЗУД крупного рогатого скота и искоренения его в уже охваченных данным заболеванием странах необходимы совместные усилия, направленные на контроль за перемещением скота, снижение факторов риска, ликвидацию контаминированных объектов (трупов и инфицированных материалов).

На данный момент вопрос контроля распространения инфекции встает особенно остро в связи с локализацией значительного количества вспышек заболевания в странах Ближнего Востока, откуда ЗУД крупного рогатого скота может переноситься как на запад, в на-

правлении Балканского полуострова и Европы [33], так и на восток и юго-восток, в направлении стран Азии и далее к Австралии и Новой Зеландии, которые известны большой популяцией скота и еще не охвачены данным заболеванием. Дальнейшее распространение ЗУД крупного рогатого скота грозит значительными экономическими потерями в секторе скотоводства на мировом уровне.

Ближний Восток в данном случае можно рассматривать как своеобразные входные ворота для распространяющейся из Африки в направлении Европы и Азии инфекции. Так, на рисунке 1 хорошо видно продвижение заболевания со стороны Египта и Израиля на территорию других стран Ближнего Востока, затем на запад – к Балканскому полуострову, на север – в южные регионы России, а также в восточном направлении – в страны Азии.

Причины быстрого распространения вируса ЗУД крупного рогатого скота на территории разных стран могут быть связаны с перемещением крупного рогатого скота через международные границы и с миграцией кровососущих насекомых – переносчиков данной болезни.

На рисунке 2 показаны направления перемещения домашних жвачных животных в пределах Африки и Ближнего Востока и связь миграционных потоков скота данных регионов с азиатскими странами [34]. На карте видно, что Ближний Восток является тесным партнером африканских и азиатских стран в плане купли-продажи скота, что значительно увеличивает риск переноса инфекционных заболеваний крупных и мелких жвачных через территории ближневосточных стран на новые территории.

Рассмотрим временные интервалы проявления ЗУД крупного рогатого скота на каждом из континентов.

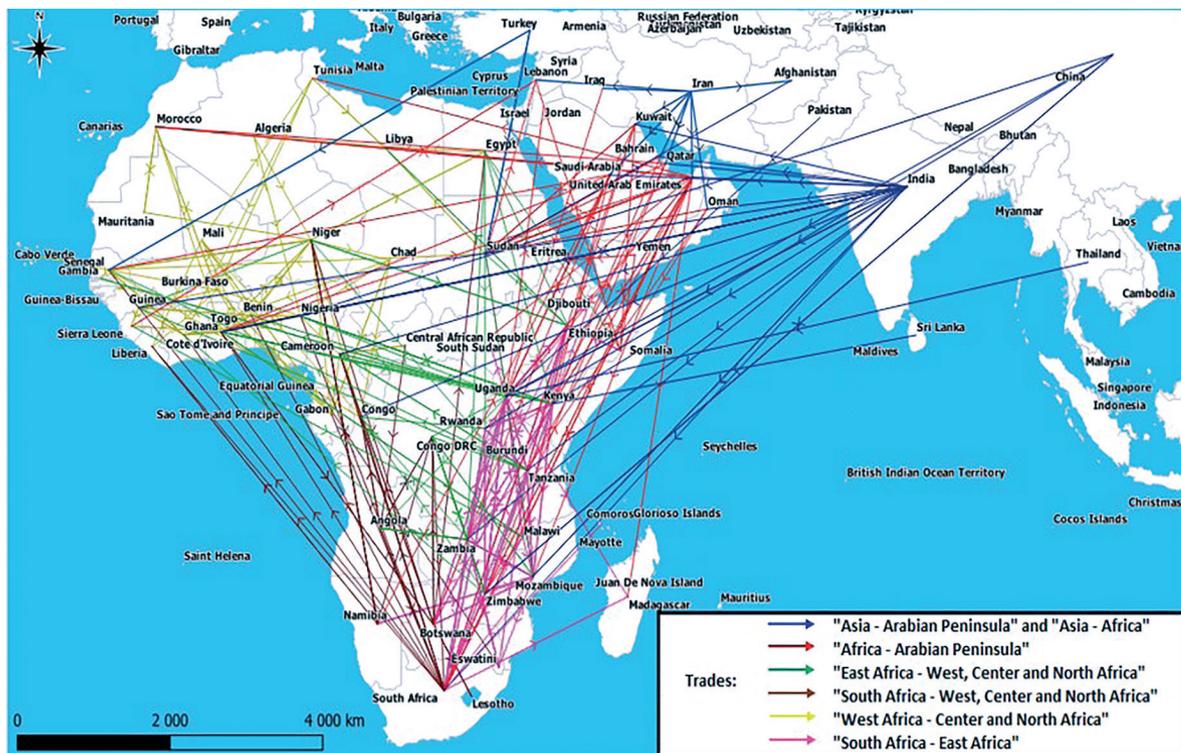


Рис. 2. Картирование нерегулярных потоков домашних жвачных животных в Африке и их связей с Азией [34]

Fig. 2. Mapping of irregular flows of domestic ruminants in Africa and their links to Asia [34]

Таблица
Последовательность регистрации вспышек ЗУД крупного рогатого скота в разных регионах мира

Table
LSD outbreaks sequentially reported in different world regions

Годы	Страна	Происхождение вируса	Возможные дальнейшие пути распространения	Время локализации в пределах одного региона до дальнейшего распространения
1929	Замбия	Неизвестно	Соседние африканские страны	59 лет в пределах Африканского континента
1943	Ботсвана	Замбия	Зимбабве и Южная Африка	
1944–1945	Зимбабве, ЮАР	Замбия, Ботсвана	Судан и Эфиопия	
1946–1956	Мозамбик, Ангола, Мадагаскар, Танзания, Уганда	Замбия, Ботсвана	Пограничные страны вывоза крупного рогатого скота	
1957	Кения	Неизвестно	Африканские страны – импортеры скота	
1971	Судан	Данных недостаточно	Данных недостаточно	
1973–1974	Чад, Нигер, Нигерия	Камерун через штат Гонгола в Нигерии	Данных недостаточно	
1981–1983	Эфиопия	Судан	Данных недостаточно	
1983	Сомали	Данных недостаточно	Данных недостаточно	
1988–1989	Египет	Африканские страны	Европейские страны, в первую очередь Израиль	2 года в пределах стран Ближнего Востока
1989	Израиль	Египет	Данных недостаточно	
1990–2010	Страны Средиземноморья	Египет, Израиль	Все соседние страны	20 лет – распространение на страны Средиземноморья
2012–2014	Страны Средиземноморья	Сирия, Ирак	Греция, Болгария	6–7 лет – евразийская эпизоотия ЗУД крупного рогатого скота (распространение вируса в странах Юго-Восточной Европы, Ближнего Востока и Евразии)
2013	Турция, Иран	Сирия, Ирак	Данных недостаточно	
2015–2017	Россия	Турция, Азербайджан, Иран, Казахстан	Северные регионы Европы	
	Страны Балканского полуострова	Турция	Страны Центральной и Южной Азии	
2019	Бангладеш	Возможно, соседние страны	Индия, Мьянма	5 лет – распространение в странах Юго-Восточной Азии
	Индия		Непал, Бутан	
2019	Китай	Казахстан, Россия	Тайвань	
2020	Непал	Индия, Китай	Неизвестно	
	Вьетнам	Китай	Неизвестно	
2021	Таиланд	Неизвестно	Данных недостаточно	
	Пакистан	Индия	Ясно не указано	
	Монголия	Россия, Китай	Китай, Индия	
	Камбоджа	Ясно не указано	Ясно не указано	
2022	Афганистан	Неизвестно	Данных недостаточно	
	Корея	Китай, Непал	Данных недостаточно	
	Индонезия	Индия	Индонезия, угроза северным регионам Австралии	
2023	Ливия	Неизвестно	Тунис и другие страны Северо-Западной Африки (Магриб)	

Как видно из сводной таблицы регистрации вспышек заболевания, с момента его возникновения в Замбии (в 1929 г.) и до 1988 г., то есть в течение 59 лет, болезнь была локализована в границах Африканского континента, в связи с чем ЗУД крупного рогатого скота считали эндемиком африканских стран. Нет сведений относительно определенной страны, откуда возбудитель ЗУД крупного рогатого скота в 1988 г. был занесен на Ближний Восток, в Египет, хотя есть данные по его дальнейшему распространению: из Египта произошел занос вируса в Израиль, и годом позже обе эти страны стали воротами для проникновения возбудителя в страны Средиземноморья, а также прочие страны Ближнего Востока. Таким путем вирус ЗУД крупного рогатого скота распространился с Африканского континента на территорию стран Ближневосточного региона и далее в западные (страны Средиземноморья) и восточные (страны Южной, Восточной и Юго-Восточной Азии) регионы [35].

Обращает на себя внимание короткий период нахождения вируса ЗУД крупного рогатого скота именно в границах стран Ближнего Востока до момента его распространения на Балканский полуостров и далее на восток – в страны Азии. Объяснением данного факта может быть исторически высокий уровень развития торговых взаимоотношений в данном регионе, подходящий климат для переносчиков вируса и недостаточный уровень контроля со стороны органов ветеринарного надзора.

Специфическая профилактика является на сегодняшний день единственным действенным методом предотвращения вспышек ЗУД крупного рогатого скота, потому стратегия массовых вакцинаций представляется достаточно важным мероприятием в общей стратегии борьбы с этой болезнью. Для успешной ликвидации заболевания, помимо вакцинации стад крупного рогатого скота, необходимо также принимать строгие меры карантинного характера в отношении поступающих животных, а также проводить убой больного ЗУД крупного рогатого скота. Ветеринарные надзорные органы должны обеспечить строгий контроль за перемещением восприимчивых к ЗУД крупного рогатого скота животных между соседними странами. Таким образом, борьба с заболеванием должна проводиться на всех уровнях организации животноводства: от хозяйства до международных надзорных структур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Alkhamis M. A., VanderWaal K. Spatial and temporal epidemiology of lumpy skin disease in the Middle East, 2012–2015. *Frontiers in Veterinary Science*. 2016; 3:19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00019>
- Кривонос Р. А., Джаилиди Г. А., Мищенко А. В., Мищенко В. А., Черных О. Ю., Шевкопляс В. Н. и др. Проблема профилактики и ликвидации очагов нодулярного дерматита крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2017; (1): 38–44. <https://elibrary.ru/yqqdtb>
- Krivonos R. A., Dzhaileidi G. A., Mischenko A. V., Mischenko V. A., Chernykh O. Yu., Shevkoplyas V. N., et al. Problem of lumpy skin disease outbreak prevention and eradication. *Veterinary Science Today*. 2017; (1): 45–49. <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/287/288>
- Abdulqā H. Y., Rahman H. S., Dyary H. O., Othman H. H. Lumpy skin disease. *Reproductive Immunology: Open Access*. 2016; 1 (4):25. <https://doi.org/10.21767/2476-1974.100025>
- Akther M., Akter S. H., Sarker S., Aleri J. W., Annandale H., Abraham S., Uddin J. M. Global burden of lumpy skin disease, outbreaks, and future challenges. *Viruses*. 2023; 15 (9):1861. <https://doi.org/10.3390/v15091861>
- Amin D. M., Shehab G., Emran R., Hassanien R. T., Alagmy G. N., Haggag N. M., et al. Diagnosis of naturally occurring lumpy skin disease virus infection in cattle using virological, molecular, and immunohistopathological

- assays. *Veterinary World*. 2021; 14 (8): 2230–2237. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2230-2237>
- Saltykov Yu. V., Kolosova A. A., Feodorova V. A. Update of lumpy skin disease: emergence in Asian part of Eurasia. *Acta Veterinaria*. 2022; 72 (3): 287–299. <https://doi.org/10.2478/acve-2022-0023>
- Sameea Yousefi P., Mardani K., Dalir-Naghadeh B., Jalilzadeh-Amin G. Epidemiological study of lumpy skin disease outbreaks in North-western Iran. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (6): 1782–1789. <https://doi.org/10.1111/tbed.12565>
- Aldeewan A. B., Muhsen R. K. Clinical and serological study of lumpy skin disease in cattle in Basrah Province. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*. 2019; 10 (1): 99–104. <https://doi.org/10.36326/kjvs/2019/v10i13329>
- Al-Sabaawy H. B., Al-Hamdany E. K., Al-Sultan A. A., Rdam S. A. A high light on lumpy skin disease in Iraq and the Middle East: A review article. *Journal of Applied Veterinary Sciences*. 2020; 5 (2): 94–103. <https://www.researchgate.net/publication/347910605>
- Pal M., Gutama K. P. Can lumpy skin disease be considered a zoonosis? *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*. 2023; 11 (1): 13–17. <https://doi.org/10.12691/ajidm-11-1-3>
- Макаров В. В. Глобальная эпизоотология. *Российский ветеринарный журнал*. 2019; (6): 26–35. <https://doi.org/10.32416/2500-4379-2019-2019-6-26-35>
- Makarov V. V. Global epizootology. *Russian Veterinary Journal*. 2019; (6): 26–35. <https://doi.org/10.32416/2500-4379-2019-2019-6-26-35> (in Russ.)
- Elhaig M. M., Selim A., Mahmoud M. Lumpy skin disease in cattle: Frequency of occurrence in a dairy farm and a preliminary assessment of its possible impact on Egyptian buffaloes. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2017; 84 (1):a1393. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v84i1.1393>
- Moosa-Kazemi S. H., Asgarian T. S., Sedaghat M. M., Akbarian M. The mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) and their medical and veterinary importance in an arid zone of Central Iran. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2021; 40 (3): 32283–32290. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2021.40.006455>
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Scientific opinion on lumpy skin disease. *EFSA Journal*. 2015; 13 (1):3986. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3986>
- Al-Salihi K. A., Hassan I. Q. Lumpy skin disease in Iraq: Study of the disease emergence. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2015; 62 (5): 457–462. <https://doi.org/10.1111/tbed.12386>
- EFSA, Calistri P., De Clercq K., Gubbins S., Klement E., Stegeman A., et al. Lumpy skin disease epidemiological report IV: data collection and analysis. *EFSA Journal*. 2020; 18 (2):e6010. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6010>
- Turan N., Yilmaz A., Tekelioglu B. K., Yilmaz H. Lumpy skin disease: global and Turkish perspectives. *Approaches in Poultry, Dairy & Veterinary Sciences*. 2017; 1 (1): 11–15. <https://doi.org/10.31031/APDV.2017.01.000504>
- Нодулярный дерматит в странах Ближнего Востока и Европы, 2013–2017 гг. https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/06/dermatit_east.pdf
- Lumpy skin disease in the Middle Eastern countries and Europe in 2013–2017. https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/06/dermatit_east.pdf (in Russ.)
- Ince Ö. B., Çakir S., Dereli M. A. Risk analysis of lumpy skin disease in Turkey. *Indian Journal of Animal Research*. 2016; 50 (6): 1013–017. <https://doi.org/10.18805/ijar.9370>
- Albayrak H., Ozan E., Kadi H., Cavunt A., Tamer C., Tutuncu M. Molecular detection and seasonal distribution of lumpy skin disease virus in cattle breeds in Turkey. *Medycyna Weterynaryjna*. 2018; 74 (3): 175–178. <https://doi.org/10.21521/mw.6081>
- Ince O. B., Türk T. Analyzing risk factors for lumpy skin disease by a geographic information system (GIS) in Turkey. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2020; 70 (4): 1797–1804. <https://dx.doi.org/10.12681/jhvms.22222>
- Ün H., Yumusak N., Özgünlük I., Yılmaz R., Çabalar M. A lumpy skin disease case in the Southeast Turkey: A threat for Eurasia. *Indian Journal of Animal Research*. 2019; 53(1): 129–135. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-732>
- Doğan F., Dağalp S. B., Ataseven V. S., Farzani T. A. The molecular detection of lumpy skin disease virus from infected cattle in Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2016; 10 (2): 1–3. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/416194>
- Mat B., Arikan M. S., Akin A. C., Çevrimli M. B., Yonar H., Tekindal M. A. Determination of production losses related to lumpy skin disease among cattle in Turkey and analysis using SEIR epidemic model. *BMC Veterinary Research*. 2021; 17:300. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02983-x>
- Jarullah B. A. Incidence of lumpy skin disease among Iraqi cattle in Wasit Governorate, Iraq Republic. *International Journal of Advanced*

Research. 2015; 3 (4): 936–939. https://www.journalijar.com/uploads/393_IJAR-5553.pdf

26. Isapour H., Sakha M., Varshovi H. R. The effect of Iranian capripox-virus vaccine strains on neutralizing antibody titer in cattle. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2020; 12 (2): 77–82. <https://doi.org/10.22067/veterinary.v12i2.84928>

27. Sameea Yousefi P., Dalir-Naghadeh B., Mardani K., Jalilzadeh-Amin G. Phylogenetic analysis of the lumpy skin disease viruses in northwest of Iran. *Tropical Animal Health and Production*. 2018; 50 (8): 1851–1858. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1634-3>

28. Ghalyanchilangeroudi A., Ziafati Kafi Z., Rajeoni A., Ataai J., Sadri N., Hajizamani N., et al. Molecular detection and phylogenetic analysis of lumpy skin disease virus in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 2021; 15 (2): 169–173. <https://doi.org/10.22059/ijvm.2020.299359.1005071>

29. Şevik M., Doğan M. Epidemiological and molecular studies on lumpy skin disease outbreaks in Turkey during 2014–2015. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017; 64 (4): 1268–1279. <https://doi.org/10.1111/tbed.12501>

30. Tageldin M. H., Wallace D. B., Gerdes G. H., Putterill J. F., Greyling R. R., Phosiwa M. N., et al. Lumpy skin disease of cattle: an emerging problem in the Sultanate of Oman. *Tropical Animal Health and Production*. 2014; 46 (1): 241–246. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0483-3>

31. Abutarbush S. M., Hananeh W. M., Ramadan W., Al Sheyab O. M., Al-najjar A. R., Al Zoubi I. G., et al. Adverse reactions to field vaccination against lumpy skin disease in Jordan. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2016; 63 (2): e213–e219. <https://doi.org/10.1111/tbed.12257>

32. Kasem S., Saleh M., Qasim I., Hashim O., Alkarar A., Abu-Obeida A., et al. Outbreak investigation and molecular diagnosis of Lumpy skin disease among livestock in Saudi Arabia 2016. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (2): e494–e500. <https://doi.org/10.1111/tbed.12769>

33. Tuppurainen E., Oura C. Lumpy skin disease: an African cattle disease getting closer to the EU. *Veterinary Record*. 2014; 175 (12): 300–301. <https://doi.org/10.1136/vr.g5808>

34. Lezaar Y., Manneh M., Apolloni A., Berrada J., Bouslikhane M. Transboundary livestock network in Africa: How circulate pathogens and where to act to prevent the epizootics spread? *Epidemiology Open Journal*. 2023; 8 (1): 1–19. <https://www.researchgate.net/publication/376785686>

35. Hasib F. M. Y., Islam M. S., Das T., Rana E. A., Uddin M. H., Bayzid M., et al. Lumpy skin disease outbreak in cattle population of Chattogram, Bangladesh. *Veterinary Medicine and Science*. 2021; 7 (5): 1616–1624. <https://doi.org/10.1002/vms3.524>

Поступила в редакцию / Received 27.08.2024

Поступила после рецензирования / Revised 04.10.2024

Принята к публикации / Accepted 12.12.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Хатиб Язид, аспирант, департамент ветеринарной медицины Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4326-0462>, yazedkhatib@hotmail.com

Yazid Khatib, Postgraduate Student, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4326-0462>, yazedkhatib@hotmail.com

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

Contribution of the author: review conceptualization, data searching and analysis, tabulation for data visualization, draft paper preparation and paper writing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-32-39>
УДК 619:616.2:636.4:615.371



Профилактика респираторных болезней свиней вирусно-бактериальной этиологии в условиях импортозамещения

Т. В. Михалева¹, С. С. Коннова²

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ); Самарский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ (СамНИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. Магнитогорская, 8, г. Самара, 443013, Россия

² ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ); Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ (СарНИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. 53-й Стрелковой дивизии, 6, г. Саратов, 410028, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Свиноводство, как скороспелая отрасль животноводства, способно в короткие сроки добиться существенного увеличения производства свинины с высокими пищевыми свойствами и биологической полноценностью. Одной из острых проблем отрасли являются респираторные болезни вирусно-бактериальной этиологии. В сложившихся экономических условиях особое значение приобретает снижение технологической импортозависимости российского свиноводства, поэтому выпуск кормовых и ветеринарных препаратов отечественного производства необходимо рассматривать как важнейшее условие достижения технологического суверенитета Российской Федерации.

Цель исследования. Анализ обеспеченности свиноводства отечественными вакцинами против таких значимых респираторных болезней свиней, как грипп, энзоотическая (микоплазменная) пневмония, репродуктивно-респираторный синдром, цирковиральная инфекция, а также выявление факторов, которые препятствуют разработке иммунобиологических лекарственных препаратов против указанных заболеваний.

Материалы и методы. Информационной базой исследований являлись данные свиноводческих организаций Российской Федерации, государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного применения Россельхознадзора, нормативно-справочная и специальная литература, публикации научно-исследовательских учреждений.

Результаты. Возбудители гриппа, энзоотической (микоплазменной) пневмонии, репродуктивно-респираторного синдрома, цирковиральной инфекции являются наиболее распространенными патогенами, которые вызывают респираторные болезни свиней на свиноводческих комплексах. На протяжении последних лет российские биофабрики разрабатывают программы импортозамещения необходимых иммунобиологических лекарственных препаратов. По итогам 2023 г. отечественные предприятия выпустили 19,3 млрд доз вакцин для ветеринарного применения, что на 3 млрд доз больше по сравнению с 2022 г.

Заключение. Вакцинация является наиболее эффективным и экономичным способом профилактики вирусных инфекций. Однако отечественные иммунобиологические лекарственные препараты против гриппа свиней еще не разработаны в нашей стране, а вакцины против энзоотической (микоплазменной) пневмонии, репродуктивно-респираторного синдрома, цирковиральной инфекции свиней требуют доработки в связи с высокой изменчивостью возбудителей.

Ключевые слова: обзор, вакцины, импортозамещение, свиноводство, респираторные болезни свиней, национальная безопасность

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

Для цитирования: Михалева Т. В., Коннова С. С. Профилактика респираторных болезней свиней вирусно-бактериальной этиологии в условиях импортозамещения. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 32–39. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-32-39>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Михалева Татьяна Владимировна, канд. вет. наук, ученый секретарь СамНИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, ул. Магнитогорская, 8, г. Самара, 443013, Россия, tatyamihaleva@mail.ru

Prevention of respiratory diseases of pigs of viral-bacterial etiology in conditions of import substitution

Tatyana V. Mikhaleva¹, Svetlana S. Konnova²

¹ Federal Research Center for Virology and Microbiology; Samara Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, 8, Magnitogorskaya str., Samara 443013, Russia

² Federal Research Center for Virology and Microbiology; Saratov Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, 6, 53 Strelkovy divizii str., Saratov 410028, Russia

ABSTRACT

Introduction. Pig farming, as a fast-growing branch of animal husbandry, is capable of prompt achieving a significant increase in the production of pork with high nutritional properties and biological value. One of the acute problems of pig farming is respiratory diseases of viral and bacterial etiology. In the current economic conditions, reducing the dependence of the Russian pig farming on technological imports is of particular significance. Production of domestically manufactured feeds and veterinary drugs should be considered as the most important condition for achieving the technological sovereignty of the Russian Federation.

© Михалева Т. В., Коннова С. С., 2025

Objective. To analyze the provision of pig farming with domestic vaccines against such significant porcine respiratory diseases as swine influenza, porcine enzootic (mycoplasmal pneumonia), porcine reproductive and respiratory syndrome and circovirus infection as well as to identify factors that hinder the development of immunobiological drugs against these diseases.

Materials and methods. The information base of the research included data from pig-breeding organizations of the Russian Federation, the Rosselkhoznadzor's state register of veterinary medicinal products, reference and special literature, publications of research institutions.

Results. Agents of swine influenza, porcine enzootic (mycoplasmal) pneumonia, porcine reproductive and respiratory syndrome, porcine circovirus infection are the most prevalent pathogens that cause respiratory diseases in pigs on the pig farms. Over the past few years, Russian biofactories have been developing import substitution programs for the necessary immunobiological drugs. By the end of 2023, the domestic establishments manufactured 19.3 billion doses of veterinary vaccines, which is 3 billion doses more than in 2022.

Conclusion. Vaccination is the most efficient and cost-effective way to prevent viral infections. However, domestic immunological drugs against swine influenza have not yet been developed in our country, and vaccines against porcine enzootic (mycoplasmal) pneumonia, porcine reproductive and respiratory syndrome, porcine circovirus infection require modification due to high variability of the agents.

Keywords: review, vaccines, import substitution, pig farming, porcine respiratory diseases, national security

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

For citations: Mikhaleva T. V., Konnova S. S. Prevention of respiratory diseases of pigs of viral-bacterial etiology in conditions of import substitution. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 32–39. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-32-39>

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

For correspondence: Tatyana V. Mikhaleva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Academic Secretary, Samara Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, 8 Magnitogorskaya str., Samara 443013, Russia, tatyanamihaleva@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Согласно доктрине, утвержденной президентом Российской Федерации в 2010 г., продовольственная безопасность РФ – это состояние экономики, при котором обеспечивается продовольственная независимость страны, гарантируется физическая и экономическая доступность пищевых продуктов, соответствующих требованиям законодательства РФ.

Свинина, наряду с мясом птицы, является наиболее доступным видом мяса для населения и основным сырьем для мясоперерабатывающей промышленности, а свиноводство, как скороспелая отрасль животноводства, способно в короткие сроки добиться существенного увеличения производства свинины, отличающейся высокими пищевыми свойствами и биологической полноценностью [1]. По данным Национального союза свиноводов, общий объем промышленного производства свинины в 2023 г. составил 5627,2 тыс. тонн живого веса, что на 352,1 тыс. тонн больше, чем в 2022 г., и это значение в последнее десятилетие ежегодно увеличивается как минимум на 3–4%.

В сложившихся экономических условиях особое значение приобретает снижение импортозависимости российского свиноводства. Преобладание на отечественном рынке технологического оборудования, кормовых добавок и ветеринарных препаратов иностранного производства может сделать отрасль зависимой от международной обстановки. Поэтому повышение уровня технического оснащения объектов, модернизацию технологического оборудования, выпуск кормовых и ветеринарных препаратов отечественного производства необходимо рассматривать как важнейшее условие повышения эффективности и устойчивого развития отрасли [2].

Одним из приоритетных направлений «Федеральной научно-технической программы развития сель-

ского хозяйства на 2017–2030 годы», утвержденной постановлением Правительства РФ от 25.08.2017 № 996, станет подпрограмма «Развитие технологий производства лекарственных препаратов для ветеринарного применения». Комплексный план научных исследований подпрограммы включает в себя в том числе разработку научных основ технологии производства новых отечественных вакцин для профилактики инфекционных болезней свиней, способствующих обеспечению защиты здоровья поголовья, а также его сохранности и увеличению технологических характеристик с целью импортозамещения.

Одной из острых проблем свиноводства, замедляющих темпы роста производства свинины, являются респираторные болезни вирусно-бактериальной этиологии, такие как грипп свиней, энзоотическая (микоплазменная) пневмония свиней, репродуктивно-респираторный синдром свиней (PPCC), цирковирусная инфекция свиней, которые наносят значительный экономический ущерб свиноводческим хозяйствам РФ [3].

Цель исследования – провести анализ обеспеченности свиноводства РФ отечественными вакцинами против респираторных болезней свиней вирусно-бактериальной этиологии, а также выявить факторы, которые препятствуют разработке иммунобиологических лекарственных препаратов против указанных заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Информационной базой исследований являлись данные свиноводческих организаций Российской Федерации, государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного применения Россельхознадзора, нормативно-справочная и специальная литература, публикации научно-исследовательских учреждений. Анализ ассортимента вакцин проводили на основе данных отечественных

биофабрик и компаний – производителей средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении последних лет российские био-предприятия и профильные научно-исследовательские учреждения разрабатывают программы импортозамещения актуальных и перспективных иммунобиологических лекарственных препаратов. Руководствуясь целью достижения технологического суверенитета РФ, ключевые игроки заполняют дефицитные ниши и вкладывают средства в разработку новых препаратов.

По данным Национальной ветеринарной ассоциации (НВА), в которую входят ведущие производители фармацевтических и иммунологических препаратов для животноводства, такие как ООО «Группа компаний ВИК», ООО «НВЦ Агроветзащита», ООО «НИТА-ФАРМ», ООО «Апиценна», ООО «Ветбиохим», ООО «НПП «Ави-вак» и др., в 2023 г. объем рынка ветеринарных лекарственных средств в России составил 97,7 млрд руб. с НДС. Существенный вклад в прирост внесли отечественные производители, входящие в НВА, совокупно увеличившие объем производства в 2023 г. более чем на 25%. По итогам года отечественные предприятия выпустили 19,3 млрд доз вакцин для ветеринарного применения, что на 3 млрд доз больше по сравнению с 2022 г. Положительная динамика наблюдается и в наращивании номенклатуры отечественными предприятиями: за 2023 г. разработано и зарегистрировано порядка 100 наименований лекарственных средств, что на 70% больше, чем в 2022 г.

Комплекс респираторных болезней свиней (КРБС; porcine respiratory disease complex, PRDC) является серьезной проблемой свиноводства, вызывая разрушительные экономические потери отрасли из-за снижения темпов роста молодняка, увеличения смертности и высокой стоимости лечения. КРБС относится к многофакторным заболеваниям, развитие которого обусловлено комбинацией инфекционных патогенов, воздействием экологических стрессоров и недостатками производственной системы выращивания животных [4]. Заболевания, входящие в данный комплекс, вкуче с гриппом свиней присутствуют во всех основных странах – мировых производителях свинины, а триада *Mycoplasma hyopneumoniae*, вирус РРСС и цирковирус свиней типа 2 (ЦВС-2) являются наиболее распространенными патогенами, вызывающими КРБС в странах Азии. Данные этиологические агенты подавляют иммунную систему хозяина и усиливают репликацию друг друга и других патогенов. Это приводит к ослаблению поголовья, высокой смертности молодняка, ухудшению качества спермы хряков-производителей, а также дополнительным расходам, связанным с диагностическими, карантинными и лечебными мероприятиями.

Грипп свиней – острое респираторное заболевание свиней, вызываемое вирусом гриппа типа А, принадлежащим к семейству *Orthomyxoviridae*. Болезнь сопровождается высокой заболеваемостью (до 100%), невысокой смертностью (10–15%) и характеризуется лихорадкой, вялостью, анорексией, серозными выделениями из носа и поражением верхних дыхательных путей [5, 6].

Особенности распространения гриппа свиней различаются между странами и внутри государств из-за таких факторов, как климат, численность поголовья свиней и методы ведения сельского хозяйства. Основные механизмы передачи вируса – аэрозольный, контактный, а также через персонал и средства ухода. Люди и свиньи имеют одинаковый набор рецепторов в клетках дыхательных путей, поэтому межвидовая передача вирусов гриппа А происходит в обоих направлениях. Таким образом, внедрение эффективных мер контроля и профилактики гриппа позволит сохранить здоровье не только свиней, но и человека [7].

При попадании на слизистую оболочку дыхательных путей, которая, как правило, является входными воротами инфекции, вирус гриппа начинает реплицироваться, что приводит к некрозу пораженных клеток трахеи и бронхов, нарушению микроциркуляции крови, поражению сосудистой системы и далее, в сложных случаях, к геморрагиям на коже и слизистых, кровоизлияниям во внутренние органы.

В настоящее время во всем мире, в том числе и в РФ, совместно циркулируют как минимум три различных подтипа вируса гриппа А: H1N1, H1N2 и H3N2. При этом свиньи могут выступать в качестве «смешивающего сосуда», в котором вирусы гриппа различного происхождения могут реассортироваться (в том числе с возбудителями гриппа птиц и человека), создавая новые вирусы-потомки, способные реплицироваться и распространяться среди людей [7].

Основным инструментом борьбы с гриппом свиней является вакцинация. Однако, несмотря на большое количество вакцин, заболевание по-прежнему не поддается эффективному контролю, так как штаммы возбудителя очень разнообразны и склонны к мутациям. По этой причине разработка вакцин, способных обеспечить широкую гетерологичную защиту от антигенно разнообразных штаммов вируса, имеет решающее значение для эффективного контроля этого заболевания [8, 9, 10].

Большинство современных вакцин против гриппа свиней, применяющихся в мире, содержат цельные инактивированные вирусы с адьювантом для внутримышечных инъекций и используются либо у свиноматок для защиты во время беременности и поросят в период подсоса, либо у ремонтного молодняка для уменьшения клинических признаков. Целью применения этих препаратов является индуцирование продукции сывороточных антител, которые на слизистых оболочках дыхательных путей нейтрализуют вирус гриппа. Инактивированные вакцины, применяемые за рубежом, содержат различные антигенные и генетические штаммы вируса, циркулирующие в соответствующем регионе, что свидетельствует о высокой эволюционной способности вируса [7]. Например, около половины вакцин, используемых в США, производится под заказ для конкретных стад. Одним из вариантов решения данной проблемы мог бы стать подход к созданию вакцин, предусматривающий смешивание многочисленных иммунологически перспективных аминокислотных последовательностей различных штаммов вируса гриппа свиней [11].

Для профилактики гриппа в свиноводческих хозяйствах РФ в реестре лекарственных средств для ветеринарного применения Россельхознадзора на сегодняшний день зарегистрированы иммунологические

лекарственные препараты только зарубежного производства. Все вакцины являются инактивированными и содержат вирус гриппа свиней типа А подтипов H1N1 и H3N2 (Италия, Испания) и подтипов H1N1, H1N2 и H3N2 (Германия) (табл. 1). Таким образом, несмотря на достаточно широкий ассортимент препаратов, представленных на российском рынке, требуется разработка отечественной инактивированной вакцины против гриппа свиней с учетом тех штаммов вирусов, которые циркулируют на территории РФ.

Энзоотическая (микоплазменная) пневмония свиней – хроническая инфекционная болезнь, вызываемая бактерией *Mycoplasma hyopneumoniae*, которая сопровождается кашлем, катаральной бронхопневмонией и снижением таких производственных показателей, как сохранность, среднесуточный прирост массы тела, коэффициент конверсии корма [12]. Распространение инфекции в основном происходит воздушно-капельным путем, также возможен непрямой тип передачи и заражение при контакте с дикими кабанями [13].

Патогенез болезни очень сложен и до конца не изучен. Возбудитель прикрепляется к мерцательному эпителию трахеи, бронхов и бронхиол, вызывает поражение системы мукоцилиарного клиренса слизистой оболочки (цилиостаза), что препятствует нормальному функционированию ресничек, ведет к замедленному и неэффективному иммунному ответу и способствует более высокой восприимчивости животных к другим респираторным инфекциям [14].

Mycoplasma hyopneumoniae способна усиливать репликацию вирусов РРСС и ЦВС-2, увеличивая тяжесть пневмонии у свиней. Практикующие свиноводы вместо применения антибиотиков предпочитают проводить вакцинацию, для этого используют комбинированные препараты, позволяющие эффективно контролировать весь комплекс респираторных заболеваний свиней. Иммунизацию против *M. hyopneumoniae* обычно проводят в возрасте 21 сут. В случае если возбудитель обнаруживается в мазках из гортани поросят-сосунов, вакцинация может быть проведена в 7-суточном возрасте во избежание передачи *M. hyopneumoniae* среди поросят-отъемышей и для контроля энзоотической пневмонии в период откорма на фермах [15, 16]. Что касается племенного поголовья свиноматок, то в некоторых стадах свиней иммунизируют против *M. hyopneumoniae* в период карантина, перед отправкой их в помещения для разведения свиноматок. Эта практика позволяет избежать дестабилизации иммунитета племенного поголовья за счет снижения бактериальной нагрузки и выраженности клинических признаков у вакцинированных свиней в стадах, положительных на *M. hyopneumoniae* [17].

Большинство коммерческих доступных бактериновых вакцин – адъювантные цельноклеточные препараты инактивированной культуры *M. hyopneumoniae* [18]. Для профилактики энзоотической пневмонии свиней в реестре лекарственных средств для ветеринарного применения Россельхознадзора зарегистрирована отечественная инактивированная вакцина «ВЕРРЕС-М.хуо» (ООО «Ветбиохим», г. Москва), а также ряд вакцин зарубежного производства, которые могут применяться в неблагополучных по данной болезни репродуктивных и товарных свиноводческих комплексах (табл. 2).

Таблица 1
Реестр основных вакцин против гриппа свиней, зарегистрированных на территории РФ

Table 1
Register of main vaccines against swine influenza registered in the Russian Federation

Название вакцины	Тип вакцины	Используемый штамм вируса гриппа	Производитель
«Байовак® Инфлю»	инактивированная	X53a (H1N1), MRC 11 (H3N2)	Fatro S.p.A., Италия
«ГРИПОРК»	инактивированная	A(H1N1)OLL, A(H3N2)GHA	Laboratorios Hipra, S.A., Испания
«Респипорк ФЛЮ 3»	инактивированная	Haselünne/IDT2617/2003 (H1N1), Bakum/1832/2000 (H1N2), Bakum/IDT1769/2003 (H3N2)	IDT Biologika GmbH, Германия

Таблица 2
Реестр основных вакцин против энзоотической (микоплазменной) пневмонии свиней, зарегистрированных на территории РФ

Table 2
Register of main vaccines against porcine enzootic (mycoplasmal) pneumonia registered in the Russian Federation

Название вакцины	Тип вакцины	Используемый штамм	Производитель
«ВЕРРЕС-М.хуо»	инактивированная	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	ООО «Ветбиохим», Россия
«Ингельвак МикоФЛЕКС®»	инактивированная	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (штамм J)	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия
«Порцилис® М Хуо ID Онсе»	инактивированная	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (штамм 11)	Intervet International B.V., Нидерланды
«Сувакцин МН-Один»	инактивированная	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (штамм P-5722-3)	Zoetis Inc., США
«Хиоген»	инактивированная	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (штамм 2940)	Ceva Sante Animale, Венгрия

Основные преимущества вакцинации заключаются в увеличении суточного привеса поросят (2–8%), коэффициента конверсии корма (2–5%) и снижении уровня смертности животных. Кроме того, сокращается время достижения убойного веса, наблюдается уменьшение клинических симптомов поражений легких и снижаются затраты на лечение [19]. При этом недостатком данных вакцин является то, что защита от появления клинических признаков и поражений, вызываемых *M. hyopneumoniae*, часто является неполной, а вакцинация приводит лишь к незначительному снижению скорости передачи инфекции. Поэтому существует потребность в разработке новых вакцин, обеспечивающих более эффективную защиту. В настоящее время активно проводятся испытания новых вакцин, включая аэрозольные и кормовые, а также субъединичные и ДНК-вакцины. Кормовые вакцины или препараты в виде аэрозоля могли бы существенно облегчить рабочий процесс при массовой иммунизации свиней, а также позволили бы создать иммунитет во входных воротах инфекции – в респираторном тракте. Однако

в результате экспериментов было установлено, что даже 3-кратная аэрозольная иммунизация была менее эффективной чем внутримышечное введение, поэтому данная технология еще требует доработки [12, 14, 19].

Репродуктивно-респираторный синдром свиней (PPCC) является вирусным карантинным, контагиозным заболеванием, которое проявляется нарушением репродуктивной функции у свиноматок и хряков и тяжелой пневмонией у новорожденных поросят и поросят-отъемышей в период откорма.

Этиологический агент PPCC – РНК-геномный артеивирус (род *Betaarterivirus*, семейство *Arteriviridae*) – способен размножаться в макрофагах свиней, что приводит к повышенной восприимчивости животных к первичным и вторичным инфекциям, снижению скорости роста и развития животных, повышению уровня заболеваемости и смертности [20].

Передача вируса возможна как горизонтально, так и вертикально. Заражение происходит в основном контактным путем от больных животных, а также через транспортные средства, одежду и обувь обслуживающего персонала, через кровососущих насекомых и птиц. Кроме того, заражение возможно через сперму хряков, где возбудитель сохраняет активность до 2 нед. Вирус может преодолевать трансплацентарный барьер во второй половине супоросности и инфицировать плод, а выжившие поросята становятся носителями возбудителя. Также есть некоторые доказательства передачи данного инфекционного агента воздушно-капельным (аэрозольным) путем [21].

Экономический ущерб от заболевания складывается из потерь вследствие нарушения репродуктивной функции свиноматок (аборты, мертворождение, гибель 80–100% поросят после рождения) и затрат на проведение диагностических и карантинных мероприятий, особенно в период острых и массовых вспышек, во вре-

мя которых могут погибать 1–3% взрослого племенного поголовья [22, 23, 24, 25].

Основным средством профилактики PPCC является вакцинация, однако проведенные генетические исследования показали, что геном вируса имеет одну из самых высоких скоростей мутаций среди РНК-вирусов, что способствует его обширной антигенной и генетической изменчивости [26]. Существует по крайней мере три подтипа вируса PPCC типа 1, которые выделяют на основании анализа гена ORF-5 [27]. Наблюдаемое генетическое разнообразие среди полевых изолятов вируса является основным препятствием для контроля болезни [28].

На территории Российской Федерации в настоящее время зарегистрирован ряд вакцин как отечественного, так и зарубежного производства, которые можно разделить на две большие группы: живые аттенуированные и инактивированные. Ассортимент основных российских вакцин против PPCC представлен в таблице 3.

Принимая во внимание как безопасность, так и большое разнообразие штаммов вируса PPCC, инактивированные вакцины предпочтительнее аттенуированных, но, несмотря на эти преимущества, они недостаточно эффективны. Инактивированные препараты вызывают более слабый иммунный ответ, чем живые аттенуированные, поскольку вакцинные штаммы вируса не реплицируются в организме вакцинированных животных. Использование инактивированных вакцин не рекомендовано для иммунизации серонегативных животных. Тем не менее вакцинация серопозитивных животных (в результате естественного инфицирования или иммунизации живыми вакцинами) инактивированными препаратами вызывает выраженный вторичный гуморальный и клеточный иммунный ответ, что позволяет использовать их в комбинированных программах вакцинации [29].

Эффективность ослабленных живых вакцин обусловлена тем, что они обеспечивают развитие не только гуморального, но и клеточного иммунного ответа против вируса PPCC. Однако у живых вакцин есть и существенные недостатки. Защитный иммунный ответ, вызванный аттенуированными вакцинами против PPCC, зависит от генетического разнообразия полевых штаммов вируса, которые циркулируют в данном регионе. Предполагается, что наибольший эффект от иммунизации достигается тогда, когда вакцинный вирус антигенно идентичен полевому вирусу. Кроме того, существуют серьезные опасения относительно безопасности ослабленных вакцин, поскольку после иммунизации свиней живыми препаратами развивается виремия и в течение нескольких недель с секретами выделяется вакцинный вирус, который может прямо или опосредованно передаваться восприимчивым невакцинированным животным [30].

Цирковирусная инфекция свиней – вирусное заболевание, главным образом поросят-отъемышей [31]. Возбудителем является ЦВС-2, который относится к роду *Circovirus* семейства *Circoviridae*. Это небольшие одноцепочечные безоболочечные ДНК-вирусы с не сегментированным кольцевым геномом [32]. Механизмы распознавания, прикрепления и проникновения ЦВС-2 в организм в настоящее время не до конца изучены. Считается, что вирус использует относительно распространенный клеточный рецептор, поскольку репликация вируса и антиген ЦВС-2 были обнаружены

Таблица 3
Реестр основных вакцин против репродуктивно-респираторного синдрома свиней, зарегистрированных на территории РФ

Table 3
Register of main vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome registered in the Russian Federation

Название вакцины	Тип вакцины	Используемый штамм вируса PPCC	Производитель
«ВЕРРЕС-PPCC»	инактивированная	отечественный авторский штамм «ОБ»	ООО «Ветбиохим», Россия
«ВНИИЗЖ-PPCC инакт»	инактивированная	производственный штамм «КПР-96», генотип европейский	ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия
«ВНИИЗЖ-РеПовак»	инактивированная ассоциированная	производственный штамм «КПР-96», генотип европейский	ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия
«ВНИИЗЖ-Ауески+PPCC»	инактивированная ассоциированная	производственный штамм «КПР-96», генотип европейский	ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия
«Ресвак»	живая сухая	штамм «PRRS-1SBC», генотип 1	ФКП «Щелковский биоккомбинат», Россия

во многих различных типах клеток [33]. После попадания в организм хозяина и завершения инкубационного периода длительностью 2–4 нед. ЦВС-2 размножается в лимфатических узлах, заражает В-клетки и распространяется по всему организму через лимфатическую систему. Виремию у свиней выявляют между 7-м и 14-м днями после инокуляции вируса. ЦВС-2 обладает способностью вызывать длительную инфекцию, при этом вирусная ДНК обнаруживается у свиней до 125 дней после экспериментального заражения [34].

Цирковироз свиней 2-го типа может распространяться несколькими способами. Основной путь – с инфицированными выделениями (в том числе с мочой, со слюной, спермой) или непосредственно при контакте с инфицированными свиньями. Вирус также может передаваться трансплацентарно, хотя этот способ передачи более редкий [35, 36]. Также в эксперименте на поросятах показано, что некоторые продукты убоя (лимфоидная ткань, скелетные мышцы и костный мозг) могут являться источником заражения свиней и при скармливании в течение 3 дней приводить к виремии и сероконверсии у всех экспериментальных животных [37, 38].

Возбудитель цирковирозной инфекции свиней широко распространен во многих странах мира с развитым промышленным свиноводством и наносит значительный экономический ущерб, обусловленный высокой заболеваемостью и смертностью, снижением продуктивности и репродуктивных качеств животных [38].

В настоящее время в мире выделено четыре типа цирковирусов свиней: ЦВС-1, ЦВС-2, ЦВС-3 и ЦВС-4 [39]. ЦВС-2 играет важную роль в патологии поросят 6–16-недельного возраста. Он вызывает поражения различных систем, однако клинические признаки болезни развиваются только у молодняка с ослабленной иммунной системой. Размножаясь в клетках иммунной системы поросят, ЦВС-2 вызывает иммунодефицитные состояния, которые повышают восприимчивость организма к другим инфекционным агентам, снижают иммунный ответ на вакцинацию и приводят к гибели животных [40].

Специфическую профилактику цирковирозной инфекции успешно осуществляют инактивированными и рекомбинантными субъединичными вакцинами, которые значительно снижают заболеваемость и гибель поросят в периоды дорастивания и откорма [38].

Вирусная субъединичная вакцина изготавливается из компонентов основного иммуногена вируса с помощью генной инженерии. Коммерческие субъединичные вакцины против цирковирозной инфекции свиней разработаны и произведены главным образом на основе экспрессии рекомбинантного капсидного белка ORF-2 в бакуловирусной системе.

Для приготовления инактивированной вакцины клетки, инфицированные ЦВС-2, инактивируют физическим или химическим методом, в результате чего вирус теряет способность к инфицированию, но при этом сохраняет иммуногенность [40]. В России на сегодняшний день зарегистрировано и сертифицировано несколько отечественных вакцин против цирковирозной инфекции, которые содержат рекомбинантный капсидный белок ORF-2 цирковируса свиней типа 2 (табл. 4).

Технология изготовления вакцин против цирковирозной инфекции свиней постоянно обновляется из-за

Таблица 4
Реестр основных вакцин против цирковирозной инфекции свиней, зарегистрированных на территории РФ

Table 4
Register of main vaccines against porcine circovirus infection registered in the Russian Federation

Название вакцины	Тип вакцины	Используемый штамм ЦВС-2	Производитель
«ВЕРРЕС-ЦИРКО»	рекомбинантная	рекомбинантный капсидный белок ORF-2 вируса	ООО «Ветбиохим», Россия
«РеЦиркоВак»	рекомбинантная	рекомбинантный капсидный белок ORF-2 вируса (PCV2b)	ФКП «Армавирская биофабрика», Россия
«Циркостоп»	инактивированная	штамм PCV2/SHBC	ФКП «Щелковский биокомбинат», Россия

высокой частоты мутаций генома ЦВС-2 и появления новых подтипов вируса. В настоящее время известно девять генотипов ЦВС-2 (от ЦВС-2a до ЦВС-2i). Генотипы 2a, 2b и 2d цирковируса распространены во всем мире, тогда как остальные генотипы выявляются спорадически [41]. Появление новых генотипов вируса приводит к неэффективности вакцинации, что резко увеличивает распространение вспышек цирковирозной инфекции. На сегодняшний день ЦВС-2d является наиболее распространенным и доминирующим генотипом, имеет более высокую вирулентность, вызывает более серьезные клинические признаки и патологические поражения по сравнению с классическими генотипами 2a и 2b. Большинство имеющихся на рынке коммерчески доступных вакцин против цирковирозной инфекции свиней изготовлены на основе капсидного белка ЦВС-2a и ЦВС-2b и часто являются неэффективными против ЦВС-2d. В связи с этим имеется необходимость в разработке новых, эффективных вакцин для защиты от наиболее клинически значимых генотипов ЦВС-2 [42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Респираторные болезни свиней являются серьезной проблемой, вызывающей разрушительные экономические потери в свиноводческой отрасли из-за снижения темпов роста животных, а также из-за повышения смертности поголовья и увеличения стоимости лечения. Среди множества этиологических агентов *Mycoplasma hyopneumoniae*, вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней и цирковироз свиней типа 2 остаются наиболее распространенными патогенами, вызывающими КРБС в РФ. Грипп свиней также наносит большой экономический ущерб производству, являясь одновременно потенциально опасным агентом для человека.

Вакцинация относится к наиболее эффективным и экономичным способам профилактики вирусных инфекций. Однако отечественные иммунологические лекарственные препараты против гриппа свиней еще не разработаны, а вакцины против энзоотической (микоплазменной) пневмонии, репродуктивно-респираторного синдрома, цирковирозной инфекции свиней требуют доработки в связи с высокой изменчивостью возбудителей, которая препятствует созданию универсального вакцинного препарата.

В сложившихся экономических условиях особое значение приобретает снижение использования зарубежных иммунобиологических препаратов и увеличение темпов производства отечественных вакцин с целью достижения технологического суверенитета РФ. В связи с этим производители ветеринарных препаратов активно разрабатывают новые и совершенствуют уже выпускаемые вакцины, проводят работы по расширению коллекции возбудителей, которые в дальнейшем могут стать основой для создания новых препаратов. Однако полный цикл создания одной вакцины занимает от трех до пяти лет, и пока отечественные производители не могут полностью покрыть потребности отрасли.

Господдержка, оказываемая производителям ветеринарных препаратов по ускоренной регистрации лекарственных средств, способствует внедрению новых капиталоемких проектов, а создание новых производственных мощностей позволит значительно увеличить объемы выпускаемой продукции в ближайшие годы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- VanderWaal K., Deen J. Global trends in infectious diseases of swine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018; 115 (45): 11495–11500. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806068115>
- Тихомиров А. И. Состояние технологического и продуктового импортозамещения в свиноводстве России. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2015; (1): 159–165. <https://elibrary.ru/tbdcxv>
- Tikhomirov A. I. The state of pig breeding technological and product import substitution in Russia. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2015; (1): 159–165. <https://elibrary.ru/tbdcxv> (in Russ.)
- Полищук С. В., Белявцева Е. А. Диагностика энзоотической пневмонии свиней в ООО «Велес-Крым». *Известия сельскохозяйственной науки Тавриды*. 2015; (1): 164–171. <https://elibrary.ru/wfdujf>
- Polishchuk S. V., Belyavtseva E. A. Diagnosis enzootic pneumonia pigs at farm "Veles-Crimea". *Transactions of Taurida Agricultural Science*. 2015; (1): 164–171. <https://elibrary.ru/wfdujf> (in Russ.)
- Chae C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *The Veterinary Journal*. 2016; 212: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.030>
- Rajao D. S., Anderson T. K., Gauger P. C., Vincent A. L. Pathogenesis and vaccination of influenza A virus in swine. In: *Influenza Pathogenesis and Control – Vol. I. Eds. R. Compans, M. Oldstone. Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer; 2014; 385: 307–326. https://doi.org/10.1007/82_2014_391
- Chauhan R. P., Gordon M. L. A systematic review analyzing the prevalence and circulation of influenza viruses in swine population worldwide. *Pathogens*. 2020; 9 (5):355. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050355>
- Mancera Gracia J. C., Pearce D. S., Masic A., Balasch M. Influenza A virus in swine: epidemiology, challenges and vaccination strategies. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:647. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00647>
- Ma W. Swine influenza virus: Current status and challenge. *Virus Research*. 2020; 288:198118. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198118>
- Sandbulte M. R., Spickler A. R., Zaabel P. K., Roth J. A. Optimal use of vaccines for control of influenza A virus in swine. *Vaccines*. 2015; 3 (1): 22–73. <https://doi.org/10.3390/vaccines3010022>
- Pliasis V. C., Neasham P. J., Naskou M. C., Neto R., Strate P. G., North J. F., et al. Heterologous prime-boost H1N1 vaccination exacerbates disease following challenge with a mismatched H1N2 influenza virus in the swine model. *Frontiers in Immunology*. 2023; 14:1253626. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1253626>
- Bullard B. L., Corder B. L., DeBeauchamp J., Rubrum A., Korber B., Webby R. J., Weaver E. A. Epigraph hemagglutinin vaccine induces broad cross-reactive immunity against swine H3 influenza virus. *Nature Communications*. 2021; 12:1203. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21508-6>
- Raev S. A., Алипер Т. И. Диагностика и специфическая профилактика энзоотической пневмонии свиней. *Ветеринария*. 2014; (10): 15–21. <https://elibrary.ru/sxsylf>
- Raev S. A., Aliper T. I. Diagnosis and prevention enzootic pneumonia pigs. *Veterinariya*. 2014; (10): 15–21. <https://elibrary.ru/sxsylf> (in Russ.)
- Овсянко Т. В., Терентьев С. С., Яшин И. В., Блохин А. А. Инфекция, вызванная *Mycoplasma hyopneumoniae*, у свиней. *Свиноводство*. 2023; (5): 44–49. <https://doi.org/10.37925/0039-713X-2023-5-44-49>
- Ovsukhno T. V., Terentiev S. S., Yashin I. V., Blokhin A. A. *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. *Pigbreeding*. 2023; (5): 44–49. <https://doi.org/10.37925/0039-713X-2023-5-44-49> (in Russ.)
- Maes D., Boyen F., Devriendt B., Kuhnert P., Summerfield A., Haesebrouck F. Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. *Veterinary Research*. 2021; 52:67. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00941-x>
- Yang S., Oh T., Mago J., Iwakuma A., Chae C. Optimal vaccination strategy against *Mycoplasma hyopneumoniae*, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and porcine circovirus type 2 in case of early *M. hyopneumoniae* infection. *Veterinary Medicine and Science*. 2020; 6 (4): 860–874. <https://doi.org/10.1002/vms3.284>
- Tassis P. D., Tsakmakidis I., Papatsiros V. G., Kouliaris D., Nell T., Brelou G., Tzika E. D. A randomized controlled study on the efficacy of a novel combination vaccine against enzootic pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*) and porcine Circovirus type 2 (PCV2) in the presence of strong maternally derived PCV2 immunity in pigs. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13:91. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1014-7>
- Arsenakis I., Michiels A., Schagemann G., Gomez-Duran C. O., Boyen F., Haesebrouck F., et al. Effects of pre-farrowing sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on offspring colonisation and lung lesions. *Veterinary Research*. 2019; 184 (7):222. <https://doi.org/10.1136/vr.104972>
- Michiels A., Arsenakis I., Boyen F., Krejci R., Haesebrouck F., Maes D. Efficacy of one dose vaccination against experimental infection with two *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13:274. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1195-0>
- Maes D., Segales J., Meyns T., Sibila M., Pieters M., Haesebrouck F. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Veterinary Microbiology*. 2008; 126 (4): 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.09.008>
- Niederwerder M. C., Jaing C. J., Thissen J. B., Cino-Ozuna A. G., McLoughlin K. S., Rowland R. R. Microbiome associations in pigs with the best and worst clinical outcomes following co-infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and porcine circovirus type 2 (PCV2). *Veterinary Microbiology*. 2016; 188: 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.03.008>
- Arruda A. G., Tousignant S., Sanhueza J., Vilalta C., Poljak Z., Torremorell M., et al. Aerosol detection and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): What is the evidence, and what are the knowledge gaps? *Viruses*. 2019; 11 (8):712. <https://doi.org/10.3390/v11080712>
- Renken C., Nathues C., Swam H., Fiebig K., Weiss C., Eddicks M., et al. Application of an economic calculator to determine the cost of porcine reproductive and respiratory syndrome at farm-level in 21 pig herds in Germany. *Porcine Health Management*. 2021; 7:3. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00183-x>
- Calderón Díaz J. A., Fitzgerald R. M., Shalloo L., Rodrigues da Costa M., Niemi J., Leonard F. C., et al. Financial analysis of herd status and vaccination practices for porcine reproductive and respiratory syndrome virus, swine influenza virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae* in farrow-to-finish pig farms using a bio-economic simulation model. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:556674. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.556674>
- Boeters M., Garcia-Morante B., van Schaik G., Segalés J., Rushton J., Steeneveld W. The economic impact of endemic respiratory disease in pigs and related interventions – a systematic review. *Porcine Health Management*. 2023; 9:45. <https://doi.org/10.1186/s40813-023-00342-w>
- Ruedas-Torres I., Rodríguez-Gómez I. M., Sánchez-Carvajal J. M., Larenas-Muñoz F., Pallarés F. J., Carrasco L., Gómez-Laguna J. The jigsaw of PRRSV virulence. *Veterinary Microbiology*. 2021; 260:109168. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109168>
- Renukaradhya G. J., Meng X.-J., Calvert J. G., Roof M., Lager K. M. Inactivated and subunit vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome: Current status and future direction. *Vaccine*. 2015; 33 (27): 3065–3072. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.04.102>
- Stadejek T., Stankevicius A., Murtaugh M. P., Oleksiewicz M. B. Molecular evolution of PRRSV in Europe: Current state of play. *Veterinary Microbiology*. 2013; 165 (1–2): 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.02.029>
- Huang Y. W., Meng X. J. Novel strategies and approaches to develop the next generation of vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Virus Research*. 2010; 154 (1–2): 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.020>
- Матеу Э., Прьетто С. Типы доступных вакцин против репродуктивно-респираторного синдрома свиней и ожидаемые результаты их применения. *Эффективное животноводство*. 2022; (1): 24–25. <https://elibrary.ru/ufidwc>
- Mateu E., Prieto C. Tipy dostupnykh vaksyn protiv reproduktivno-respiratornogo sindroma svinei i ozhidaemye rezul'taty ikh primeneniya = Types of available vaccines against porcine reproductive and respiratory

syndrome and expected results of their use. *Effectivnoe zhivotnovodstvo*. 2022; (1): 24–25. <https://elibrary.ru/ufidwc> (in Russ.)

30. 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>

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.)

31. Ouyang T., Zhang X., Liu X., Ren L. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses*. 2019; 11 (2):185. <https://doi.org/10.3390/v11020185>

32. Gillespie J., Opriessnig T., Meng X. J., Pelzer K., Buechner-Maxwell V. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009; 23 (6): 1151–1163. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0389.x>

33. Darwich L., Segalés J., Mateu E. Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by *Porcine circovirus 2*: An immune riddle. *Archives of Virology*. 2004; 149 (5): 857–874. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0280-9>

34. Poganichnyy R. M., Yoon K.-J., Harms P. A., Swenson S. L., Zimmerman J. J., Sorden S. D. Characterization of immune response of young pigs to porcine circovirus type 2 infection. *Viral Immunology*. 2000; 13 (2): 143–153. <https://doi.org/10.1089/vim.2000.13.143>

35. Allan G. M., Kennedy S., McNeilly F., Foster J. C., Ellis J. A., Krakowka S. J., et al. Experimental reproduction of severe wasting disease by coinfection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*. 1999; 121 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1998.0295>

36. Park J.-S., Kim J., Ha Y., Jung K., Choi C., Lim J.-K., et al. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *Journal of Comparative Pathology*. 2005; 132 (2–3): 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.09.003>

37. Opriessnig T., Patterson A. R., Meng X.-J., Halbur P. G. Porcine circovirus type 2 in muscle and bone marrow is infectious and transmissible to naive pigs by oral consumption. *Veterinary Microbiology*. 2009; 133 (1–2): 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.06.018>

38. Гринь С. А., Матвеева И. Н., Богомолова О. А., Федоров Ю. Н., Попова В. М., Крюкова Е. Н., Литенкова И. Ю. Цирковирусная инфекция свиней 2-го типа и антигенная активность вакцины против этой инфекции. *Ветеринария*. 2019; (12): 20–26. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.12.20-26>

Green S. A., Matveeva I. N., Bogomolova O. A., Fedorov Yu. N., Popova V. M., Kryukova E. N., Litenkova I. Yu. Assessment of PCV2 circulation among pigs of different ages and antigenic activity of a vaccine against this infection. *Veterinariya*. 2019; (12): 20–26. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.12.20-26> (in Russ.)

39. Fehér E., Jakab F., Bányai K. Mechanisms of circovirus immunosuppression and pathogenesis with a focus on porcine circovirus 2: a review. *Veterinary Quarterly*. 2023; 43 (1): 1–18. <https://doi.org/10.1080/01652176.2023.2234430>

40. Guo J., Hou L., Zhou J., Wang D., Cui Y., Feng X., Liu J. Porcine circovirus type 2 vaccines: commercial application and research advances. *Viruses*. 2022; 14 (9):2005. <https://doi.org/10.3390/v14092005>

41. Pleguezuelos P., Sibila M., Cuadrado-Matías R., López-Jiménez R., Pérez D., Huerta E., et al. Efficacy studies of a trivalent vaccine containing PCV-2a, PCV-2b genotypes and *Mycoplasma hyopneumoniae* when administered at 3 days of age and 3 weeks later against porcine circovirus 2 (PCV-2) infection. *Vaccines*. 2022; 10 (8):1234. <https://doi.org/10.3390/vaccines10081234>

42. Lim J., Jin M., Yoon I., Yoo H. S. Efficacy of bivalent vaccines of porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* in specific pathogen-free pigs challenged with porcine circovirus type 2d. *Journal of Veterinary Science*. 2022; 23 (3):e49. <https://doi.org/10.4142/jvs.21287>

Поступила в редакцию / Received 15.11.2024

Поступила после рецензирования / Revised 11.12.2024

Принята к публикации / Accepted 29.01.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Михалева Татьяна Владимировна, канд. вет. наук, ученый секретарь СамНИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Самара, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6411-6027>, tatyanamihaleva@mail.ru

Коннова Светлана Сергеевна, заместитель директора СарНИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Саратов, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1282-7980>, konnovass@yandex.ru

Tatyana V. Mikhaleva, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Academic Secretary, Samara Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Samara, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6411-6027>, tatyanamihaleva@mail.ru

Svetlana S. Konnova, Deputy Director, Saratov Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Saratov, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1282-7980>, konnovass@yandex.ru

Вклад авторов: Михалева Т. В. – изучение научных публикаций по теме, поиск информации в Государственном реестре лекарственных средств для ветеринарного применения Россельхознадзора, разработка концепции исследований и подготовка статьи; Коннова С. С. – изучение научных публикаций по теме, сбор и анализ данных свиноводческих организаций, отечественных биофабрик и компаний – производителей средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней животных, подготовка статьи.

Contribution of the authors: Mikhaleva T. V. – review of the research publications on the topic, search for information in the Rosselkhozndzor's state register of the veterinary medicinal products, development of the research concept and text preparation; Konnova S. S. – review of the research publications on the topic, collection and analysis of the data of the pig breeding organizations, biofactories and manufacturers of the animal infectious disease diagnostic, prevention and treatment tools, text preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-40-46>
УДК 619:578.832.1:598.2:616-076:577.2



Разработка тест-системы для выявления РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 методом мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием внутреннего контрольного образца

А. Д. Грехнева, Н. Г. Зиняков, А. В. Андриясов, А. А. Козлов, Е. В. Овчинникова, Д. Б. Андрейчук, П. Д. Жестков, И. А. Чвала
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Высокопатогенный грипп птиц является особо опасной высококонтагиозной вирусной инфекцией домашних и диких птиц, в последние годы получившей широкое распространение на территории стран Европы, Азии, Африки и Америки. Возбудитель заболевания – вирус гриппа типа А подтипов H5 и H7. Одним из наиболее быстрых и эффективных способов идентификации и типирования вируса гриппа птиц является ОТ-ПЦР в режиме реального времени, в связи с чем представляется актуальной разработка тест-системы на основе данного метода с использованием внутреннего контрольного образца для возможности контроля основных этапов проведения реакции. При этом постановка реакции в мультиплексном формате позволяет одновременно идентифицировать несколько целевых мишеней, что уменьшает расход реагентов и время постановки реакции.

Цель исследования. Разработка тест-системы для выявления в пробах биологического материала РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 методом мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени и определение ее основных характеристик.

Материалы и методы. Использовали изоляты вируса гриппа птиц подтипов H5, H7, H3, H4, H10, H16, вирусы ньюкаслской болезни, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, болезни Марека и аденовирус птиц. В качестве внутреннего контрольного образца служил бактериофаг MS2.

Результаты. Подобраны оптимальные сочетания систем праймеров и зондов, определены характеристики тест-системы: специфичность в отношении гомологичных и гетерологичных вирусов болезней птиц, аналитическая чувствительность, эффективность реакции амплификации, повторяемость и воспроизводимость.

Заключение. При определении валидационных характеристик разработанной тест-системы установлена ее специфичность в отношении только вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7, аналитическая чувствительность для каждого подтипа составила $1,5 \text{ Ig ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, эффективность амплификации – 92 и 97% соответственно. Проведена апробация тест-системы при исследовании поступающих в лабораторию проб биологического материала, результаты соответствовали таковым для стандартных диагностических методов, используемых в референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Ключевые слова: высокопатогенный грипп птиц, вирус гриппа птиц подтипа H5, вирус гриппа птиц подтипа H7, ОТ-ПЦР-РВ, тест-система

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

Для цитирования: Грехнева А. Д., Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Козлов А. А., Овчинникова Е. В., Андрейчук Д. Б., Жестков П. Д., Чвала И. А. Разработка тест-системы для выявления РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 методом мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием внутреннего контрольного образца. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 40–46. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-40-46>

Конфликт интересов: Чвала И. А. 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: Грехнева Алена Дмитриевна, аспирант, ведущий специалист референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, grehneva@arriah.ru

Development of test-system for detection of H5 and H7 avian influenza virus RNA by multiplex real-time RT-PCR assay using internal control

Alena D. Grekhneva, Nikolay G. Zinyakov, Artem V. Andriyasov, Anton A. Kozlov, Evgenia V. Ovchinnikova,
Dmitry B. Andreychuk, Pavel D. Zhestkov, Ilya A. Chvala
Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. High pathogenicity avian influenza is a dangerous highly contagious viral infection of domestic and wild birds that recently has become widespread in Europe, Asia, Africa and Americas. The causative agent of the disease is type A influenza virus of subtypes H5 and H7. Real-time RT-PCR is one of the most rapid and effective techniques for avian influenza virus identification and typing, so development of the test system based on this technique with internal control to be

used for control of the reaction main stages is of current importance. At the same time, the multiplex format of RT-PCR allows for simultaneous identification of several targets that reduces the consumption of reagents and the reaction time.

Objective. Development of test-system for detection of H5 and H7 avian influenza virus RNA with multiplex real-time RT-PCR in biological samples and its characterization.

Materials and methods. H5, H7, H3, H4, H10, H16 avian influenza virus, Newcastle disease virus, infectious bursal disease virus, infectious bronchitis virus, Marek's disease virus, avian adenovirus isolates were used. MS2 bacteriophage was used as internal control.

Results. Optimal primer-probe combinations were selected, test-system characteristics were determined: specificity for homologous and heterologous avian disease viruses, analytical sensitivity, reaction amplification efficiency, repeatability and reproducibility.

Conclusion. Determination of the developed test system validation parameters has shown that it is specific only for H5 and H7 avian influenza virus, its analytical sensitivity for each subtype was 1.5 lg EID₅₀/cm³, and the amplification efficiency was 92 and 97%, respectively. The test system was validated through its use for testing biological samples submitted to the laboratory, the test results were consistent with the results of tests with standard diagnostic methods used in the Reference Laboratory for Avian Viral Diseases of the Federal Centre for Animal Health.

Keywords: high pathogenicity avian influenza, H5 avian influenza virus, H7 avian influenza virus, real-time RT-PCR, test-system

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

For citation: Grekhneva A. D., Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Kozlov A. A., Ovchinnikova E. V., Andreychuk D. B., Zhestkov P. D., Chvala I. A. Development of test-system for detection of H5 and H7 avian influenza virus RNA by multiplex real-time RT-PCR assay using internal control. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 40–46. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-40-46>

Conflict of interests: Chvala I. A. 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: Alena D. Grekhneva, Postgraduate Student, Leading Specialist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, grekhneva@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц – одно из наиболее опасных вирусных заболеваний домашних и диких птиц, характеризующееся в первую очередь поражением органов дыхательной и пищеварительной систем. Возбудителем заболевания является вирус из рода *Alphainfluenzavirus* семейства *Orthomyxoviridae*. Геном вируса представляет собой линейную одноцепочечную (–)РНК и содержит 8 сегментов, что обуславливает высокую скорость эволюции вируса за счет реассортации [1]. На основании антигенных различий поверхностных белков вирус гриппа птиц (ВГП) подразделяется на 16 подтипов по гемагглютинуину (НА) и на 9 подтипов по нейраминидазе (НА) [2].

Естественный резервуар вируса гриппа птиц – дикие водоплавающие птицы, инфекция у которых протекает бессимптомно или в легкой форме. Распространение возбудителя в природе происходит по путям миграции диких перелетных птиц, при этом вирус передается и домашней птице [3, 4]. Наиболее опасным для птицеводства является вирус высокопатогенного гриппа птиц, способный вызывать тяжелое быстроразвивающееся заболевание с летальностью до 100%. Считается, что высокопатогенные ВГП возникают из низкопатогенных вирусов подтипов H5 и H7 в естественных условиях за счет точечных мутаций в гене НА, вызывающих накопление нескольких основных аминокислот в сайте расщепления гемагглютинаина [4, 5, 6, 7, 8]. Высокопатогенный грипп птиц относится к заболеваниям, подлежащим обязательному уведомлению Всемирной организации здравоохранения животных независимо от подтипа вируса-возбудителя.

На территории Российской Федерации с 2021 до начала 2024 г. регулярно регистрировали вспышки заболевания среди домашних и диких птиц, вы-

званные вирусами высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5 (выделяли изоляты подтипов H5N1, H5N5 и H5N8) [9]. В 2024 г. вспышка высокопатогенного гриппа птиц, вызванная ВГП подтипа H7N3, была зафиксирована в Австралии у птиц на птицефабрике [10]. До этого года регистрировались случаи заболевания, в том числе у людей, вызванные ВГП подтипа H7 в странах Северной и Южной Америки, Европы, Африки и Азии [11, 12].

Текущая эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц в Российской Федерации требует постоянного мониторинга. Наиболее быстрым и точным методом выявления РНК возбудителя гриппа птиц в биологическом материале от различных видов домашних и диких птиц с возможностью одновременного типирования вируса является полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Данный метод характеризуется высокой чувствительностью, специфичностью, относительной быстротой постановки реакции и получения результата.

В этой статье предложена высокоэффективная тест-система для выявления РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 методом ОТ-ПЦР-РВ. В разработанной тест-системе используется внутренний контрольный образец (ВКО) экзогенного типа, что позволяет контролировать основные этапы проведения исследования (выделение нуклеиновых кислот, обратную транскрипцию и ПЦР) и исключить ложноотрицательные результаты.

Целью исследования являлась разработка тест-системы на основе ОТ-ПЦР-РВ, способной одновременно выявлять РНК ВГП подтипов H5 и H7 в биологическом материале и контролировать проведение исследования на всех этапах, начиная с выделения нуклеиновых кислот.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусы. В исследовании использовали изоляты вирусов гриппа птиц различных подтипов, ньюкаслской болезни, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, болезни Марека и аденовируса птиц, полученные из рабочей коллекции референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (табл. 1). В качестве ВКО служил бактериофаг MS2 с титром инфекционной активности 10^6 БОЕ/см³ [13].

Выделение РНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора) согласно инструкции производителя. На этапе выделения в каждую пробу (включая отрицательный контроль выделения) добавляли 0,01 мл ВКО.

Праймеры и зонды. В результате анализа публикаций по разработке тест-систем и методов обнаружения возбудителя гриппа птиц подтипов H5/H7 в пробах биологического материала методом ОТ-ПЦР-РВ [14, 15, 16, 17] были выбраны и протестированы несколько систем праймеров и зондов для амплификации фрагментов гена HA вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7.

Поскольку реакция ОТ-ПЦР-РВ в данном случае проходит в мультиплексном формате, красители, входящие в состав TaqMan-зондов, подбирались таким образом, чтобы давать стабильный флуоресцентный сигнал и не искажать сигналы по другим каналам детекции (каналы Green/H5, Orange/H7, Crimson/ВКО). Выбранные праймеры и зонды синтезированы НПК «Синтол» (Россия), специфичные праймеры и зонд для ВКО [13] – компанией «Алкор Био» (Россия).

ОТ-ПЦР-РВ проводили в один этап с помощью реагентов для амплификации производства НПК «Синтол» (Россия) в программируемом амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research Pty Ltd, Австралия). Реакционная смесь (20 мкл на одну пробу) включала: воду деионизированную (бидистиллированную) – 5,35 мкл; 10× ПЦР-буфер – 2,5 мкл; раствор MgCl₂ 25 мМ – 4 мкл; раствор дезоксирибонуклеозидтрифосфата (дНТФ) 25 мМ – 0,4 мкл; растворы прямого и обратного праймеров для ВГП/H5 10 пмоль/мкл – по 1 мкл каждый; флуоресцентный зонд для ВГП/H5 10 пмоль/мкл – 0,75 мкл; растворы прямого и обратного праймеров для ВГП/H7 10 пмоль/мкл – по 1 мкл каждый; флуоресцентный зонд для ВГП/H7 10 пмоль/мкл – 0,75 мкл; растворы прямого и обратного праймеров, раствор флуоресцентного зонда для MS2 10 пмоль/мкл – по 0,5 мкл каждый; SypTaq ДНК-полимеразу – 0,25 мкл; MMLV-ревертазу – 0,5 мкл. Реакция проводилась согласно протоколу: обратная транскрипция – 20 мин при 40 °С; активация полимеразы – 8 мин при 95 °С; 40 циклов ПЦР – 10 с при 95 °С; 35 с при 55 °С; 15 с при 72 °С. Сигнал флуоресценции детектировался на этапе отжига праймеров по каналам Green/H5, Orange/H7 и Crimson/ВКО.

Оценку *специфичности* тест-системы проводили при постановке ОТ-ПЦР-РВ с выделенной РНК гомологичных и гетерологичных вирусов (табл. 1).

Аналитическую чувствительность тест-системы определяли при постановке ОТ-ПЦР-РВ с выделенной РНК серии последовательных десятикратных разведений (10^{-8} – 10^{-3}) вирусосодержащей суспензии (штаммы ВГП A/duck/KChR/1590-20/2020 H5N8 и A/turkey/Italy/9289/02 H7N3, исходный титр инфекционной активности – 8,5 Ig ЭИД₅₀/см³) с ВКО в трех повторностях для каждого разведения. Чувствительность реакции для каждого образца оценивали как количество вируса (в единицах измерения Ig ЭИД₅₀/см³), соответствующее последнему разведению, при котором получали не менее 95% положительных результатов (в 20-кратной повторности) [18].

Для оценки *повторяемости* положительные образцы тестировали 3 раза в 5-кратной повторности на протяжении трех дней. Определяли среднее значение порогового цикла (Ct), значение стандартного отклонения и коэффициент вариации для полученных результатов в пределах одной постановки ОТ-ПЦР-РВ и между постановками.

Для определения *эффективности реакции (E)* использовали результаты, полученные при постановке реакций для определения аналитической чувствительности. Расчет значения эффективности реакции производился после построения графика линейной регрессии (в координатах «разведение вируса» / «пороговый цикл амплификации Ct») по формуле:

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

где *m* – коэффициент наклона прямой [19, 20, 21].

Таблица 1
Изоляты вирусов болезней птиц, использованные в исследовании

Table 1
Avian virus isolates used for the study

Вирус	Штамм/изолят
Вирус гриппа птиц подтипа H5N2	A/duck/Italy/5952/2015
Вирус гриппа птиц подтипа H5N2	A/avian/Italy/6558/2015
Вирус гриппа птиц подтипа H5N2	A/duck/Italy/6926/2017
Вирус гриппа птиц подтипа H5N1	A/duck/Altai/469/2014
Вирус гриппа птиц подтипа H5N1	A/dalmatian pelican/Astrakhan/485-1/2022
Вирус гриппа птиц подтипа H5N5	A/shelduck/Kalmykia/1814-1/2021
Вирус гриппа птиц подтипа H5N8	A/duck/KChR/1590-20/2020
Вирус гриппа птиц подтипа H7N2	A/chicken/Italy/1670/2015
Вирус гриппа птиц подтипа H7N3	A/turkey/Italy/9289/02
Вирус гриппа птиц подтипа H7N7	A/duck/Italy/4932/2018
Вирус гриппа птиц подтипа H3N8	A/wild duck/Primorsky/1872-13/21
Вирус гриппа птиц подтипа H4N6	A/wild duck/Primorsky/1872-11/21
Вирус гриппа птиц подтипа H9N2	A/chicken/Udmurtya/2008-1/21
Вирус гриппа птиц подтипа H9N2	A/gull/Tyva/767-113/21
Вирус гриппа птиц подтипа H10N7	A/wild duck/Primorsky/1872-13/21
Вирус гриппа птиц подтипа H16N3	A/mallard/Khabarovsk/12/14
Вирус инфекционного бронхита кур	H-120
Вирус инфекционной бурсальной болезни	Винтерфилд 2512
Вирус ньюкаслской болезни	LaSota (генотип II)
Аденовирус птиц	KR95 (вид С)
Вирус болезни Марека	3004

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам тестирования комбинаций систем праймеров и зондов для амплификации фрагментов гена HA вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7 были определены оптимальные сочетания праймеров и зондов, нуклеотидные последовательности представлены в таблице 2.

Выбранные системы тестировали в ОТ-ПЦР-РВ со штаммами вируса гриппа птиц подтипов H5N2, H5N1, H5N5, H5N8, H7N2, H7N3 и H7N7 с ВКО в формате моно- и мультиплексной реакции. Значение порогового цикла, выше которого результаты реакции следует считать отрицательными, установили на уровне 36,00 для каналов Green/H5 и Orange/H7. Во всех случаях наличие РНК вируса гриппа птиц подтипов H5 или H7 подтверждалось только в пробах, содержащих соответствующий подтип вируса.

Таблица 2
Праймеры и зонды для амплификации фрагментов гена HA вируса гриппа птиц подтипов H5 и H7

Table 2
Primers and probes used for amplification of H5 and H7 avian influenza virus HA gene fragments

Название	Структура олигонуклеотида
H5LH1	ACATATGACTACCCACARTATTTCAG
H5RH1	AGACCAGCTAYCATGATTGC
H5Zond	(FAM)TCWACAGTGGCGAGTTCCTAGCA(RTQ1)
LH6H7	GGCCAGTATTAGAAACAACACCTATGA
RH4H7	GCCCCGAAGCTAAACCAAAGTAT
H7Zond	(ROX)CCGCTGCTAGTTTGACTGGGTCAATCT(BHQ2)

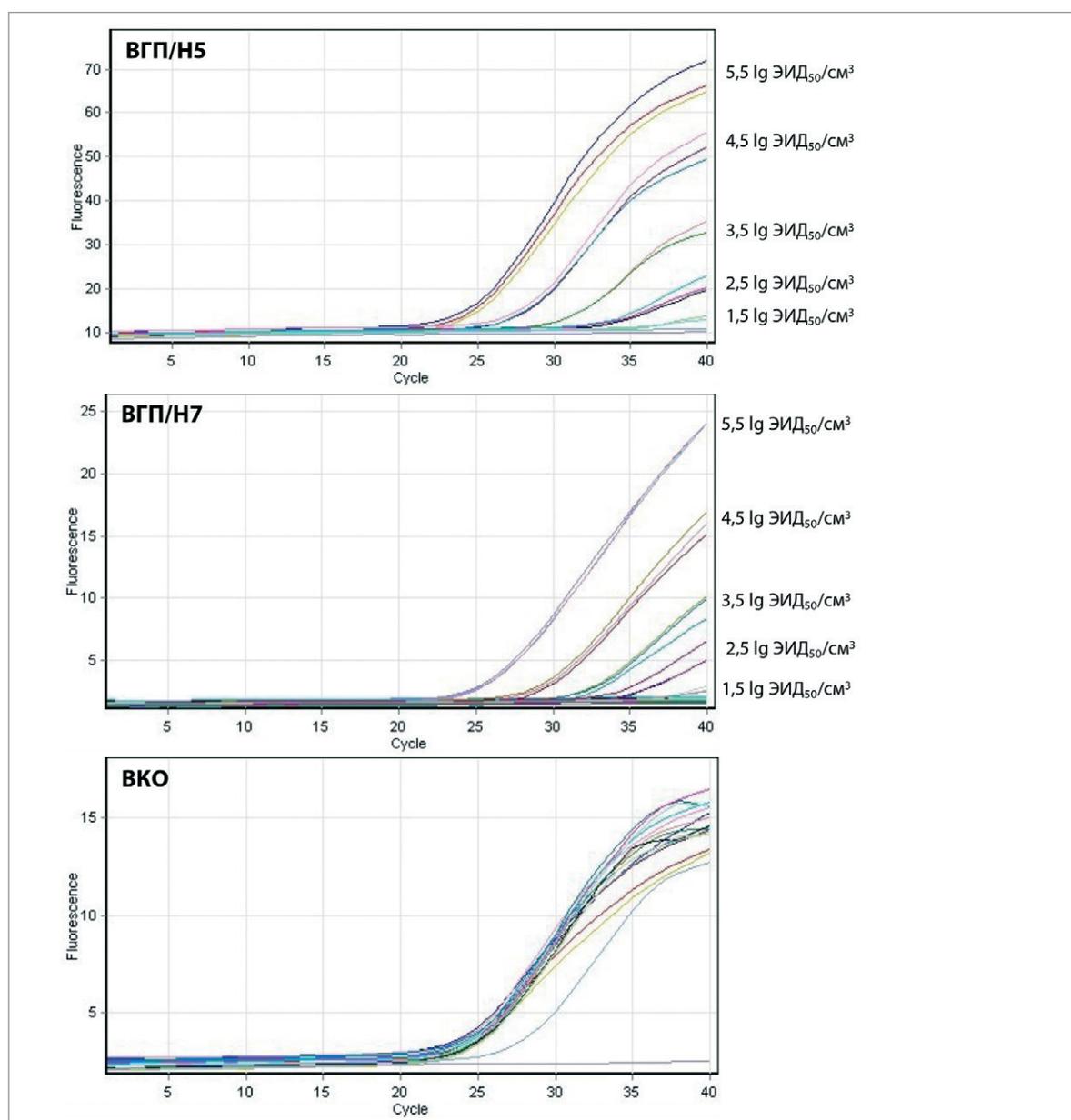


Рис. 1. Графики нарастания флуоресцентного сигнала в ОТ-ПЦР-РВ по каналам Green (10-кратные разведения ВГП H5), Orange (10-кратные разведения ВГП H7) и Crimson (ВКО)

Fig. 1. Graphs of fluorescence intensity increase during real-time RT-PCR on Green (10-fold H5 avian influenza virus dilutions), Orange (10-fold H7 avian influenza virus dilutions) and Crimson (internal control) channels

Таблица 3
Значения порогового цикла для 10-кратных разведений ВГП/Н5 и ВГП/Н7 в ОТ-ПЦР-РВ

Table 3
Real-time RT-PCR Ct values for 10-fold avian influenza virus H5 and avian influenza virus H7 dilutions

Канал детекции / подтип ВГП (титр вируса в исходной суспензии 8,5 lg ЭИД ₅₀ /см ³)	Среднее значение Ct для разведения, n = 3					
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
Green/H5	19,74 ± 0,13	23,13 ± 0,02	26,76 ± 0,53	30,37 ± 0,44	33,80 ± 0,07	–
Orange/H7	21,20 ± 0,11	25,17 ± 0,08	28,23 ± 0,03	31,39 ± 0,39	35,08 ± 0,52	–

«–» – отрицательный результат (negative result).

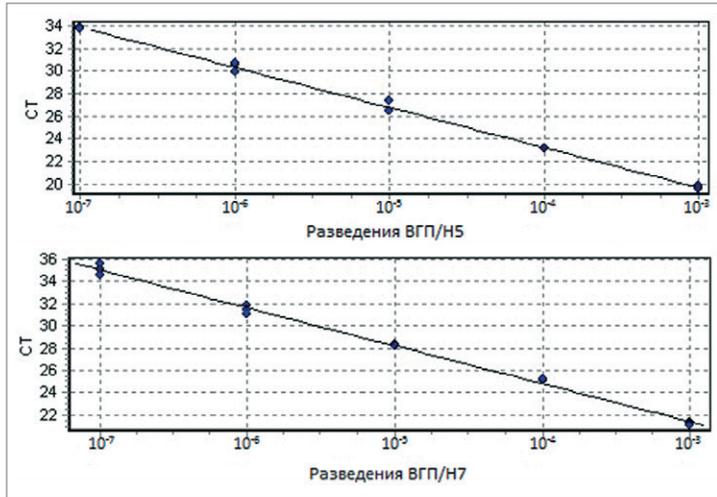


Рис. 2. Графики стандартных прямых по результатам ОТ-ПЦР-РВ с 10-кратными разведениями ВГП подтипов Н5 и Н7

Fig. 2. Graphs of standard straight lines based on real-time RT-PCR results when 10-fold H5 and H7 avian influenza virus dilutions were used

Таблица 4
Значения параметров эффективности реакции для ВГП/Н5 и ВГП/Н7

Table 4
Reaction efficiency parameters for avian influenza virus H5 and avian influenza virus H7

Канал детекции / подтип ВГП	Коэффициент корреляции (R ²)	Наклон прямой (m)	Эффективность реакции (E), %
Green/H5	0,997	–3,537	91,74
Orange/H7	0,996	–3,398	96,92

Оптимальную концентрацию ВКО определяли при постановке ОТ-ПЦР-РВ с несколькими 10-кратными разведениями вирусосодержащей суспензии MS2 (10⁵–10⁷ БОЕ/см³) и одновременной идентификации одной или двух целевых мишеней тест-системы (ВГП/Н5 и ВГП/Н7). По результатам проверки была выбрана концентрация 10⁶ БОЕ/см³, обеспечивающая стабильное возрастание флуоресцентного сигнала по каналу детекции для ВКО без ингибирования сигнала по другим каналам для ВГП/Н5 и ВГП/Н7 (рис. 1) и не выходящая за пределы чувствительности системы праймеров и зонда для ВКО при одновременной идентификации ВГП/Н5 и ВГП/Н7 в высоких концентрациях. При значении Ct > 35 по каналу детекции Crimson/ВКО результаты всего исследования признаются недостоверными, то есть на этапе выделения нуклеиновых кислот, постановки обратной транскрипции или ПЦР

допущены ошибки либо в исследуемом образце содержится примеси, способные ингибировать реакцию.

Проверка специфичности тест-системы при постановке ОТ-ПЦР-РВ с выделенной РНК вируса гриппа птиц подтипов Н3, Н4, Н9, Н10, Н16 и других РНК- и ДНК-содержащих вирусов (возбудители ньюкаслской болезни, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, болезни Марека, аденовирус) показала отсутствие перекрестных реакций с перечисленными патогенами.

Аналитическая чувствительность реакции при титровании 10-кратных разведений вируса с инфекционным титром 8,5 lg ЭИД₅₀/см³ (рис. 1, табл. 3) для ВГП/Н5 соответствовала разведению вируса 10⁻⁷ (при 20-кратной повторности положительный результат получен в 95% случаев) со средним значением Ct = 34,16 ± 0,54 и коэффициентом вариации 1,59%; для ВГП/Н7 предел чувствительности соответствовал разведению вируса 10⁻⁷ (при 20-кратной повторности положительный результат получен в 100% случаев) со средним значением Ct = 35,17 ± 0,65 и коэффициентом вариации 1,84%.

Соответственно, минимальное количество вируса, которое способна обнаружить разработанная тест-система, составляет 1,5 lg ЭИД₅₀/см³ для ВГП/Н5 и ВГП/Н7.

Для определения параметров эффективности построили графики линейной регрессии для реакций с ВГП/Н5 и ВГП/Н7 (рис. 2). При оценке эффективности реакции необходимо учитывать такие параметры, как коэффициент наклона прямой (m) и коэффициент корреляции (R²). В идеальном случае (при эффективности 100%) значение m равняется –3,32, но оптимальными считаются значения в пределах от –3,2 до –3,5. Оптимальными для R² являются значения более 0,98 [20, 22]. Результаты определения параметров эффективности реакции для разработанной тест-системы представлены в таблице 4.

Эффективность реакции для ВГП/Н5 (канал Green) составила 91,74%, для ВГП/Н7 (канал Orange) – 96,92%. Такие параметры, как коэффициент наклона прямой и коэффициент детерминации, для обоих подтипов ВГП соотносятся с оптимальными значениями [20, 22].

Воспроизводимость тест-системы оценивали по величине стандартного отклонения (SD) для каждой серии 10-кратных разведений (10⁻⁷–10⁻³, n = 3). Для ВГП/Н5 значения SD варьировали от 0,02 до 0,53; для ВГП/Н7 – от 0,03 до 0,52.

Для оценки повторяемости использовали те же вирусы в разведении 10⁻⁴, каждую пробу тестировали в 5 повторностях. Среднее значение Ct внутри постановок для ВГП/Н5 варьировало от 22,89 до 23,36;

значение SD составляло 0,22–0,33; коэффициент вариации – от 0,92 до 1,17%. Для ВГП/Н7 среднее значение Ct находилось в пределах от 24,53 до 25,06; значение SD – в диапазоне 0,18–0,23, коэффициент вариации был от 0,71 до 0,94%. Значения повторяемости между постановками для ВГП/Н5: среднее Ct – 23,09 ± 0,32, коэффициент вариации – 1,41%; для ВГП/Н7: среднее Ct – 24,53 ± 0,31, коэффициент вариации – 1,25%.

С помощью разработанной тест-системы были исследованы 434 пробы биологического материала на наличие РНК ВГП подтипов Н5 и Н7, из них РНК ВГП/Н5 выявили в 268 случаях. РНК ВГП/Н7 не была обнаружена в исследуемых пробах. Результаты, полученные с помощью данной тест-системы, соответствуют таковым, полученным при исследовании этих же проб стандартными методами молекулярной диагностики, используемыми в референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы была разработана тест-система для выявления РНК вируса гриппа птиц подтипов Н5 и Н7 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Определены параметры предложенной тест-системы: специфичность составила 100% (ВГП/Н5 и ВГП/Н7), предел аналитической чувствительности – 1,5 I_g ЭИД₅₀/см³ (ВГП/Н5 и ВГП/Н7), эффективность реакции – 92% (ВГП/Н5) и 97% (ВГП/Н7). Данная тест-система может быть использована для качественного анализа наличия РНК вируса гриппа птиц подтипов Н5 и Н7 в пробах биологического материала от птиц и других животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lycett S. J., Duchatel F., Digard P. A brief history of bird flu. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2019; 374 (1775):20180257. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0257>
- 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)
- Olsen B., Munster V. J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A. D. M. E., Fouchier R. A. M. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*. 2006; 312 (5772): 384–388. <https://doi.org/10.1126/science.1122438>
- Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*. 1992; 56 (1): 152–179. <https://doi.org/10.1128/mr.56.1.152-179.1992>
- Kida Y., Okuya K., Saito T., Yamagishi J., Ohnuma A., Hattori T., et al. Structural requirements in the hemagglutinin cleavage site-coding RNA region for the generation of highly pathogenic avian influenza virus. *Pathogens*. 2021; 10 (12):1597. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121597>
- Spackman E. A brief introduction to avian influenza virus. *Methods in Molecular Biology*. 2020; 2123: 83–92. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_7
- Pasick J., Handel K., Robinson J., Copps J., Ridd D., Hills K., et al. Intersegmental recombination between the haemagglutinin and matrix genes was responsible for the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. *Journal of General Virology*. 2005; 86 (3): 727–731. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80478-0>
- Suarez D. L., Senne D. A., Banks J., Brown I. H., Essen S. C., Lee C., et al. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerging Infectious Diseases*. 2004; 10 (4): 693–699. <https://doi.org/10.3201/eid1004.030396>
- Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В. О текущей панзоотии высокопатогенного гриппа птиц. *Эффективное животноводство*. 2022; (5): 85–86. <https://elibrary.ru/rcsilt>
- Liu W. J., Xiao H., Dai L., Liu D., Chen J., Qi X., et al. Avian influenza A (H7N9) virus: from low pathogenic to highly pathogenic. *Frontiers of Medicine*. 2021; 15 (4): 507–527. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0814-5>
- World Organisation for Animal Health. WAHIS. Disease situation. <https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>
- Sutton T. C. The pandemic threat of emerging H5 and H7 avian influenza viruses. *Viruses*. 2018; 10 (9):461. <https://doi.org/10.3390/v10090461>

- 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>
- Kalthoff D., Bogs J., Harder T., Grund C., Pohlmann A., Beer M., Hoffmann B. Nucleic acid-based detection of influenza A virus subtypes H7 and N9 with a special emphasis on the avian H7N9 virus. *Eurosurveillance*. 2014; 19 (10):20731. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.10.20731>
- Liu L., Yao L., Zhai F., Chen Y., Lei J., Bi Z., et al. Development and application of a triplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of avian influenza virus subtype H5, H7 and H9. *Journal of Virological Methods*. 2018; 252: 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.11.005>
- Liu L., Fang B., Yu X., Li X., Lei Y. K., Chen D. Strengthened monitoring of H5 avian influenza viruses in external environment in Hubei, 2018. *Current Medical Science*. 2020; 40 (1): 63–68. <https://doi.org/10.1007/s11596-020-2147-7>
- Spackman E., Senne D. A., Myer T. J., Bulaga L. L., Garber L. P., Perdue M. L., et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002; 40 (9): 3256–3260. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002>
- 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>
- Ребриков Д. В., Саматов Г. А., Трофимов Д. Ю., Семенов П. А. ПЦР в реальном времени: учебное пособие. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2011. 225 с. <https://elibrary.ru/raympl>
- Green M. R., Sambrook J. Constructing a standard curve for real-time polymerase chain reaction (PCR) experiments. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2018; 2018 (10). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095026>
- Доронин М. И., Михалишин Д. В., Спрыгин А. В., Мазлум А., Жбанова Т. В., Груздев К. Н., Чернышова Е. В. Современные подходы к разработке тест-систем на основе количественной ПЦР в режиме реального времени. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (3): 197–207. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-3-197-207>
- Green M. R., Sambrook J. Analysis and normalization of real-time polymerase chain reaction (PCR) experimental data. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2018; 2018 (10). <https://doi.org/10.1101/pdb.top095000>
- Андрейчук Д. Б., Андриясов А. В., Чвала И. А. Методические рекомендации по выявлению РНК вируса гриппа птиц подтипов Н5 и Н7 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени: № 46-16. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2016. 12 с.

REFERENCES

- Lycett S. J., Duchatel F., Digard P. A brief history of bird flu. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2019; 374 (1775):20180257. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0257>
- 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)
- Olsen B., Munster V. J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A. D. M. E., Fouchier R. A. M. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*. 2006; 312 (5772): 384–388. <https://doi.org/10.1126/science.1122438>
- Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*. 1992; 56 (1): 152–179. <https://doi.org/10.1128/mr.56.1.152-179.1992>
- Kida Y., Okuya K., Saito T., Yamagishi J., Ohnuma A., Hattori T., et al. Structural requirements in the hemagglutinin cleavage site-coding RNA region for the generation of highly pathogenic avian influenza virus. *Pathogens*. 2021; 10 (12):1597. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121597>
- Spackman E. A Brief introduction to avian influenza virus. *Methods in Molecular Biology*. 2020; 2123: 83–92. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_7
- Pasick J., Handel K., Robinson J., Copps J., Ridd D., Hills K., et al. Intersegmental recombination between the haemagglutinin and matrix genes was responsible for the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. *Journal of General Virology*. 2005; 86 (3): 727–731. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80478-0>
- Suarez D. L., Senne D. A., Banks J., Brown I. H., Essen S. C., Lee C., et al. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerging Infectious Diseases*. 2004; 10 (4): 693–699. <https://doi.org/10.3201/eid1004.030396>
- Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В. О текучей панзоотии высокопатогенного гриппа птиц = About ongoing high pathogenicity avian influenza panzootic. *Effectivnoe zhivotnovodstvo*. 2022; (5): 85–86. <https://elibrary.ru/rcsilt> (in Russ.)
- Liu W. J., Xiao H., Dai L., Liu D., Chen J., Qi X., et al. Avian influenza A (H7N9) virus: from low pathogenic to highly pathogenic. *Frontiers of Medicine*. 2021; 15 (4): 507–527. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0814-5>

11. World Organisation for Animal Health. WAHIS. Disease situation. <https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>
12. Sutton T. C. The pandemic threat of emerging H5 and H7 avian influenza viruses. *Viruses*. 2018; 10 (9):461. <https://doi.org/10.3390/v10090461>
13. 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>
14. Kalthoff D., Bogs J., Harder T., Grund C., Pohlmann A., Beer M., Hoffmann B. Nucleic acid-based detection of influenza A virus subtypes H7 and N9 with a special emphasis on the avian H7N9 virus. *Eurosurveillance*. 2014; 19 (10):20731. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.10.20731>
15. Liu J., Yao L., Zhai F., Chen Y., Lei J., Bi Z., et al. Development and application of a triplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of avian influenza virus subtype H5, H7 and H9. *Journal of Virological Methods*. 2018; 252: 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.11.005>
16. Liu L., Fang B., Yu X., Li X., Lei Y. K., Chen D. Strengthened monitoring of H5 avian influenza viruses in external environment in Hubei, 2018. *Current Medical Science*. 2020; 40 (1): 63–68. <https://doi.org/10.1007/s11596-020-2147-7>
17. Spackman E., Senne D. A., Myer T. J., Bulaga L. L., Garber L. P., Perdue M. L., et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002; 40 (9): 3256–3260. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002>
18. 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>
19. Rebrikov D. V., Samatov G. A., Trofimov D. Yu., Semenov P. A. Real-time PCR: study guide. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2011. 225 p. <https://elibrary.ru/raympl> (in Russ.)
20. Green M. R., Sambrook J. Constructing a standard curve for real-time polymerase chain reaction (PCR) experiments. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2018; 2018 (10). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095026>
21. Doronin M. I., Mikhailishin D. V., Sprygin A. V., Mazloum A., Zhabanova T. V., Gruzdev K. N., Chernyshova E. V. Current approaches to development of real-time qPCR test-kits. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (3): 197–207. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-3-197-207>
22. Green M. R., Sambrook J. Analysis and normalization of real-time polymerase chain reaction (PCR) experimental data. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2018; 2018(10). <https://doi.org/10.1101/pdb.top095000>
23. Andreychuk D. B., Andriyasov A. V., Chvala I. A. Methodical guidelines for detection of H5 and H7 avian influenza virus RNA with real-time RT-PCR: No. 46-16. Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2016. 12 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 05.11.2024

Поступила после рецензирования / Revised 16.12.2024

Принята к публикации / Accepted 12.02.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Грехнева Алена Дмитриевна, аспирант, ведущий специалист референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-6119-0202>, grehneva@arriah.ru

Зиняков Николай Геннадьевич, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, zinyakov@arriah.ru

Андриясов Артем Валерьевич, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6314-2119>, andriyasov_av@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

Овчинникова Евгения Валерьевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5501-4432>, ovchinnikova@arriah.ru

Андрейчук Дмитрий Борисович, канд. биол. наук, заведующий референтной лабораторией вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, andreychuk@arriah.ru

Жестков Павел Дмитриевич, ведущий специалист референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8204-280X>, zhestkov@arriah.ru

Чвала Илья Александрович, канд. вет. наук, заместитель директора по НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, chvala@arriah.ru

Alena D. Grekhneva, Postgraduate Student, Leading Specialist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-6119-0202> grehneva@arriah.ru

Nikolay G. Zinyakov, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, zinyakov@arriah.ru

Artem V. Andriyasov, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6314-2119>, andriyasov_av@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

Evgenia V. Ovchinnikova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5501-4432>, ovchinnikova@arriah.ru

Dmitry B. Andreychuk, Cand. Sci. (Biology), Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, andreychuk@arriah.ru

Pavel D. Zhestkov, Leading Specialist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8204-280X>, zhestkov@arriah.ru

Ilya A. Chvala, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, chvala@arriah.ru

Вклад авторов: Грехнева А. Д. – разработка тест-системы и определение ее валидационных характеристик, подготовка текста статьи; Зиняков Н. Г. – дизайн исследования, редактирование текста статьи; Андриясов А. В. – научное консультирование, редактирование текста статьи; Козлов А. А. – разработка ВКО, участие в валидации тест-системы; Овчинникова Е. В. – участие в валидации тест-системы; Андрейчук Д. Б. – составление плана исследования, редактирование текста статьи; Жестков П. Д. – наработка вирусного материала для исследования; Чвала И. А. – организация отбора и доставки материала для исследования.

Contribution of the authors: Grekhneva A. D. – development of the test-system and determination of its validation parameters, preparation of the paper text; Zinyakov N. G. – study design, paper editing; Andriyasov A. V. – scientific support, paper editing; Kozlov A. A. – development of internal control, participation in the test-system validation; Ovchinnikova E. V. – participation in the test-system validation; Andreychuk D. B. – study concept, paper editing; Zhestkov P. D. – virus-containing material scaling up for the study; Chvala I. A. – organization of the material sampling and transportation for testing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-47-54>

УДК 619:616.98:578.832.1:636.52/.58:615.371:616-097.3(470)

Иммуногенная активность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуального для России в 2023 году вируса высокопатогенного гриппа птиц H5N1

Н. В. Мороз, Д. Л. Долгов, С. В. Фролов, А. Д. Грехнева, В. Ю. Кулаков

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Вакцинопрофилактика высокопатогенного гриппа птиц является надежным способом борьбы с болезнью. Среди антигриппозных вакцин наиболее широкое распространение имеют инактивированные цельновирионные препараты. Изучение иммуногенной активности вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуальных вирусов высокопатогенного гриппа птиц является важной задачей.

Цель исследования. Оценка иммуногенной активности инактивированной вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуального для России в 2023 г. высокопатогенного вируса гриппа птиц подтипа H5N1.

Материалы и методы. Для испытаний готовили 4 вакцинных образца, содержащих цельный и разведенный 1/25, 1/50 и 1/100 антиген вируса гриппа птиц H5 в прививном объеме. Каждым препаратом была привита отдельная группа птиц 4-недельного возраста. Через 28 сут куры были заражены вирусом гриппа птиц A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1, который был выделен во время вспышки заболевания на территории Российской Федерации и филогенетически определен как высокопатогенный возбудитель, принадлежащий к азиатской генетической линии вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5 (клада 2.3.4.4b). В группах зараженных птиц в течение 6 дней регистрировали погибших и больных особей.

Результаты. Установили, что птицы, привитые цельной дозой антигена, были полностью защищены от клинического проявления болезни после контрольного заражения. Уменьшение концентрации антигена в прививном объеме обусловило снижение протективной защиты вакцины. Показатель смертности после заражения контрольных (интактных) цыплят составил 10/10. Анализ зависимости протективной активности вакцины от величины иммунизирующей дозы антигена показал, что одна прививная доза содержала 97 ПД₅₀. Исследование связи протективной защиты и напряженности поствакцинального гуморального иммунитета позволило определить, что ожидаемый среднegrupповой титр антител, который соответствует защите 90% вакцинированных птиц, составил 5,7 log₂, или ≈ 1:52.

Заключение. Вакцина «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» обладает высокой иммуногенной активностью против актуального для России в 2023 г. вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1.

Ключевые слова: высокопатогенный вирус гриппа птиц, инактивированные вакцины, доза антигена в вакцине, протективный эффект вакцины

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

Для цитирования: Мороз Н. В., Долгов Д. Л., Фролов С. В., Грехнева А. Д., Кулаков В. Ю. Иммуногенная активность вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против актуального для России в 2023 году вируса высокопатогенного гриппа птиц H5N1. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 47–54. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-47-54>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мороз Наталья Владимировна, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, moroz@arriah.ru

Immunogenic activity of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine against high-pathogenicity H5N1 avian influenza virus relevant for Russia in 2023

Natalia V. Moroz, Dmitry L. Dolgov, Sergey V. Frolov, Alena D. Grekhneva, Vladimir Yu. Kulakov

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

ABSTRACT

Introduction. Vaccination against high-pathogenicity avian influenza (HPAI) is a well-proven way to control the disease. Inactivated whole-virion products are the most popular among the influenza vaccines. It is important to study immunogenicity of “ARRIAH-AviFluVac” vaccine against currently circulating HPAI viruses.

Objective. To assess immunogenic activity of “ARRIAH-AviFluVac” inactivated vaccine against high-pathogenicity avian influenza virus (H5N1 subtype) which was relevant for Russia in 2023.

© Мороз Н. В., Долгов Д. Л., Фролов С. В., Грехнева А. Д., Кулаков В. Ю., 2025

Materials and methods. For testing purposes 4 vaccine dilutions were prepared containing whole and diluted H5 avian influenza virus antigen (1/25, 1/50 and 1/100). Each diluted sample was used to vaccinate a separate group of 4-week-old chickens. On day 28 post vaccination, the chickens were challenged with avian influenza virus A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1, which was isolated during an outbreak in the Russian Federation and was phylogenetically defined as high-pathogenicity agent belonging to the Asian genetic lineage of HPAI subtype H5 (clade 2.3.4.4b). Dead and sick chickens were reported in the infected groups for 6 days.

Results. The chickens vaccinated with a whole antigen dose were found to be completely protected from the clinical signs after the challenge. A decrease in the antigen concentration in the vaccine volume decreased the vaccine-induced protection. The mortality rate after the challenge of control (intact) chickens was 10/10. An analysis of the dependence of the vaccine protectivity on the volume of the antigen immunizing dose showed that one inoculation dose contained 97 PD₅₀. An analysis of the link between protection and strength of the post-vaccination humoral immunity allowed to calculate that the expected mean antibody titer in the group, which corresponds to 90% protection in the vaccinated birds, was 5.7 log₂, or ≈ 1:52.

Conclusion. "ARRIAH-AviFluVac" vaccine demonstrates high immunogenicity against high-pathogenicity avian influenza virus (H5N1) which was relevant for Russia in 2023.

Keywords: high-pathogenicity avian influenza, inactivated vaccines, antigen dose in the vaccine, vaccine protective effect

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health as a part of research activities "Veterinary Welfare".

For citation: Moroz N. V., Dolgov D. L., Frolov S. V., Grekhneva A. D., Kulakov V. Yu. Immunogenic activity of "ARRIAH-AviFluVac" vaccine against high-pathogenicity H5N1 avian influenza virus relevant for Russia in 2023. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 47–54. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-47-54>

Conflict of interests: The authors declare no conflict 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

В настоящее время высокопатогенный грипп птиц (ВПГП) – это актуальная проблема для птицеводства всего мира. Вирус ВПГП (H5N1) является причиной разрушительных эпизоотий, приносящих значительный экономический урон. Например, в 2022 г. в результате распространения ВПГП (H5N1) во Франции к марту было уничтожено 11 млн птиц, в США к сентябрю 2022 г. потери превысили 20 млн гол. [1, 2]. Всего в 2022 г. 67 стран на пяти континентах сообщили о вспышках ВПГП (H5N1), что привело к потере более 131 млн гол. домашней птицы [3]. В период с апреля по июнь 2023 г. вспышки ВПГП (H5N1) были зарегистрированы в 25 странах Европы среди домашних и диких птиц, всего 98 и 634 эпизода соответственно [4].

В Российской Федерации, по данным Россельхознадзора, на 17.10.2023 вспышки ВПГП (H5N1) зарегистрированы: в 57 населенных пунктах – среди дикой птицы; в 6 – на птицефабриках; в 8 – среди домашней птицы в личных подсобных хозяйствах [5]. Отмечено, что в этом году болезнь поражала нетипичные виды диких птиц, а именно чаек. Например, очагом заболевания в Москве стали Борисовские пруды, где были найдены погибшие чайки, из останков которых был выделен геном вируса ВПГП подтипа H5N1 [6]. В центральных регионах России неблагополучные по гриппу птицефабрики во всех случаях находятся в непосредственной близости от населенных пунктов, где зафиксированы вспышки ВПГП (H5N1) среди диких птиц [5], что явно указывает на источник распространения вируса.

Широкое распространение гриппа в первую очередь связано с особенностями возбудителя. На этапе синтеза в инфицированной клетке вирусная РНК не имеет механизма репарации и сохраняет все возможные «ошибки» структуры, которые с вероятностью не менее чем 1/10⁶ детерминируют изменения фенотипа

вируса [7]. В сравнении с ДНК-содержащими вирусами, у которых вероятность ошибки при репликации генома составляет не более 1/10⁹, это разница в три порядка. Каждый раунд репликации РНК-вируса приводит к образованию смешанной популяции со множеством вариантов, большинство из которых нежизнеспособны, но некоторые из них содержат мутации, которые могут стать доминирующими при соответствующих условиях отбора [8, 9]. На уровне фенотипа это могут быть изменения антигенных свойств и/или изменения тропизма возбудителя. В первом случае измененный агент может уклониться от иммунного ответа макроорганизма, во втором – может повысить вирулентность.

Подчеркнем, что геном вируса гриппа представлен независимыми фрагментами РНК (8 фрагментов). В случае инфицирования одной клетки различными вариантами вируса может произойти рекомбинация – обмен фрагментами генома, что приведет к качественным изменениям свойств возбудителя, вплоть до изменений видового спектра патогенности [1]. Например, в июне 2023 г. в Польше у 24 домашних кошек был выявлен вирус гриппа А (H5N1). У инфицированных животных наблюдались неврологические и респираторные признаки, в некоторых случаях наступала гибель. В июле 2023 г. в Великобритании было зарегистрировано два случая обнаружения у людей вируса гриппа А подтипа H5N1 и в двух случаях был выделен вирус гриппа А подтипа H9N2 [4].

Таким образом, представленный на рисунке 1 фрагмент схемы известных экологических ниш вируса гриппа [10] лишь частично отражает сферу обитания возбудителя в природе.

Наряду с ограничительными мерами надежным способом борьбы с ВПГП служит специфическая профилактика. Среди антигриппозных вакцин наиболее широкое распространение имеют инактивированные цельновирионные препараты [11, 12].

Протективный эффект таких вакцин зависит от двух связанных составляющих: концентрации антигена в составе препарата и структурного соответствия между антигенами вакцины и полевого агента [12, 13]. При этом из соображений эпизоотической безопасности для получения антигенов рекомендуется использовать вирус низкопатогенных вариантов [14]. Примером инактивированного препарата для специфической профилактики ВППП на основе низкопатогенного варианта вируса является вакцина «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак».

Целью настоящей работы была оценка эффективности инактивированной вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против высокопатогенного гриппа птиц H5N1, обусловившего локальные вспышки заболевания в ряде регионов России в 2023 г.

В рамках указанной цели были поставлены следующие задачи:

- определение филогенетической принадлежности изолята вируса ВППП, выделенного во время вспышки заболевания на территории РФ, который будет использован для испытания протективного эффекта вакцины;
- оценка 50%-й протективной дозы, содержащейся в прививном объеме вакцины;
- определение величины титра поствакцинальных антител, обеспечивающих защиту 90% вакцинированных птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования: вакцина против гриппа птиц (H5) инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак». Концентрацию антигена (D), представленного производственным штаммом «Ямал» вируса низкопатогенного гриппа птиц H5, в прививном объеме вакцины регулировали путем разведения антигена физиологическим раствором в соотношениях 1/25, 1/50 и 1/100. При приготовлении вакцинных образцов активный компонент (антиген) объединяли с масляным адъювантом в соотношении 30:70 (по весу) и эмульгировали на высокоскоростном лабораторном смесителе «Сильверсон» (Великобритания) при скорости 6000 об/мин в течение 5 мин. Стабильность эмульсии после смешивания оценивали центрифугированием при 1000 g в течение 10 мин. Эмульсию считали стабильной, если отслоение легкой (масляной) фракции не превышало 5% по объему, а отслоения тяжелой (водной) фракции не происходило.

Таким образом, были приготовлены образцы вакцины, содержащие цельный антиген (D = 1), а также антиген в разведениях 1/25, 1/50 и 1/100 (D = 25, D = 50 и D = 100) от исходного.

Птица. В эксперименте использовали серонегативных к вирусу гриппа птиц цыплят яичного кросса Ломан Браун в возрасте 4 нед. Работу с птицей проводили в соответствии с ГОСТ 33215-2014, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU (от 22.09.2010) по охране животных, используемых в научных целях.

Иммунизация птиц. Каждый образец вакцины был испытан на отдельной группе птиц численностью 10 гол. Препарат вводили внутримышечно в область груди в объеме 0,5 см³. Дополнительно была образована группа контроля активности вируса численностью 10 гол., в которой иммунизацию не проводили (интактные особи). Группы птиц содержали в изолированных боксах с автономной вентиляцией, подачей воды и корма.

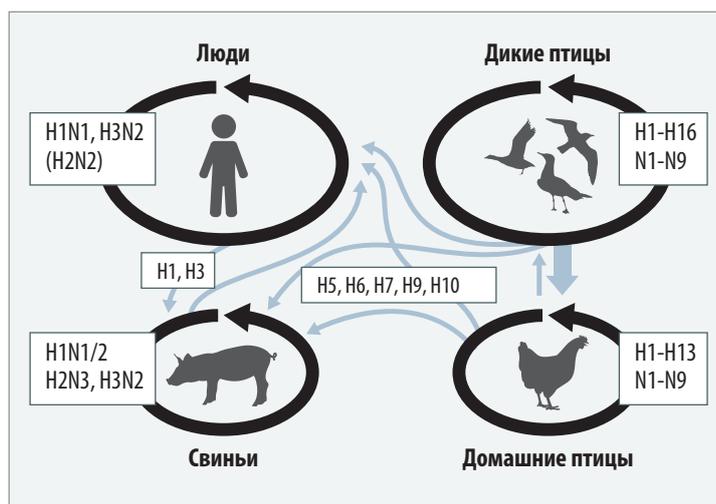


Рис. 1. Экология вируса гриппа А ([10] с изменениями). Обозначены варианты гемагглютинина (H) и нейраминидазы (N). Черными стрелками показана циркуляция возбудителя в пределах вида хозяина, серыми – направления межвидового распространения инфекции

Fig. 1. Ecology of influenza A virus ([10] with changes). Hemagglutinin (H) and neuraminidase (N) variants are indicated. Black arrows show the pathogen circulation in host species, gray arrows show the virus interspecies spread

Эмбрионы кур. В работе использовали развивающиеся 9–11-суточные эмбрионы кур категории СПФ (VALO BioMedia GmbH, Германия).

Выделение вируса гриппа птиц. Использовали паттерматериал, полученный от павших от ВППП чаек. На фосфатном буфере (pH 7,2–7,4) готовили 10%-ю тканевую суспензию, которую центрифугировали в течение 15 мин при 1000 g. В супернатант добавляли антибиотики (100 Ед/мл бензилпенициллина натрияевую соль, 100 мкг/мл стрептомицина сульфата и 50 Ед/мл нистатина). Полученный материал вводили в аллантоисную полость куриных эмбрионов в объеме 0,2 см³. Эмбрионы инкубировали при температуре 37 °С и относительной влажности 60–70%. Ежедневно проводили овоскопию. Эмбрионы, погибшие после 24 ч инкубации и более, использовали для сбора экстраэмбриональной жидкости. Специфичность гибели подтверждали наличием гемагглютинирующей активности в реакции гемагглютинации и идентификацией в реакции торможения гемагглютинации со специфической сывороткой [15].

Определение титра вируса на эмбрионах кур. Использовали метод предельных разведений. Готовили последовательные десятикратные разведения вирусного материала на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4). Каждое разведение тестировали на группе эмбрионов (n ≥ 5). Материал инокулировали в аллантоисную полость в объеме 0,2 см³. Положительной реакцией (присутствие вируса) считали гибель эмбриона, установленную после более чем 24 ч инкубации. Расчет величины титра производили по Керберу и выражали в ЭИД₅₀/см³.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Суммарную РНК выделяли, используя набор RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Нидерланды, кат. № 74106) в соответствии с инструкцией производителя. ОТ-ПЦР проводили в одну стадию с применением набора OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN, Нидерланды, кат. № 210212) с соответствующими

системами праймеров для выявления генома вируса гриппа птиц и идентификации подтипа H5N1.

Секвенирование генома вируса. Нуклеотидные последовательности фрагментов генов определяли с применением автоматического секвенатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Анализ и сравнение нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей проводили, используя пакет прикладных программ BioEdit, версия 7.0.5.3. Также для сравнительного анализа использовали ранее опубликованные в международной базе GenBank последовательности изолятов и штаммов вируса гриппа птиц A/H5 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database>). Построение и редактирование филогенетического дерева осуществляли с помощью алгоритма NJ в реализации пакета MEGA, версия 7.

Реакция гемагглютинации (РГА). Пробы антигенсодержащих материалов исследовали в РГА в соответствии с методикой, изложенной в инструкции по применению набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации. Определяли титр гемагглютинирующих единиц.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Пробы сывороток крови птиц исследовали в РТГА в соответствии с инструкцией к набору для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия) [16]. Определяли величину титра антител. Положительной считали реакцию, где показатель титра имел оценку 1:16 и более, то есть $4 \log_2$.

Заражение птиц. В группах иммунизированных и интактных птиц проводили контрольное заражение через 28 сут после вакцинации. Для этого использовали вирус ВППГ штамма A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1 в дозе $6,0 \text{ Ig ЭИД}_{50}$. Вирусный материал вводили внутримышечно в область бедра в объеме $0,5 \text{ см}^3$. Наблюдение за клиническим состоянием зараженной птицы вели в течение 10 сут.

Обработка экспериментальных данных. Использовали общепринятые способы обработки выборок варьирующих переменных (определяли средние значения, стандартные отклонения и стандартные ошибки средних). Применяли элементы регрессионного анализа. Описание специальных статистических методов дано в тексте. Вычислительные операции и графические построения выполняли в приложении Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение вируса, оценка вирулентности и определение филогенетической принадлежности штамма. Установили, что исследуемый биологический материал содержал инфекционный вирус, который был летальным для эмбрионов (специфический падеж составил 23/30). При исследовании проб экстраэмбриональной жидкости в РГА получен положительный результат (от 1:64 до 1:256), по результатам ОТ-ПЦР в них установлено содержание генома вируса гриппа птиц в высокой концентрации (средняя оценка $St = 18$). Сайт расщепления гемагглютинаина выделенного вируса гриппа имел структуру -REKRRKR-, что позволило охарактеризовать его как потенциально высоковирулентный.

Внутривенная инъекция вирусосодержащей экстраэмбриональной жидкости (10-кратное разведение на фосфатном буфере), произведенная в объеме

$0,1 \text{ см}^3$ 10 цыплятам в возрасте 5 нед. (серонегативным к вирусу гриппа птиц), в течение последующих 10 сут привела к гибели 9 цыплят (90%), у которых наблюдали характерные для ВППГ клинические признаки (диарея, выделения из носа, цианоз неоперенных участков кожи). Специфичность падежа подтверждена в ОТ-ПЦР, с помощью которой в биологическом материале установлено присутствие генома вируса ВППГ. Полученные результаты соответствовали клиническим критериям проявления ВППГ [14].

При проведении сравнительного генетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена гемагглютинаина определили, что вирус принадлежит к азиатской генетической линии вируса ВППГ подтипа H5 (клада 2.3.4.4.b), получившего эпизоотическое распространение в предыдущие годы в странах Азии, Европы, Африки, Северной и Южной Америки. Выделенный вирус был определен как штамм вируса гриппа птиц A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1. Положение штамма в структуре филогенетического дерева показано на рисунке 2.

Согласно данным международных баз GenBank и GISAID (EpiFlu), наиболее генетически близкими к A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1 являются вирусы подтипа H5N1, выявленные в 2023 г. на территории ряда европейских стран. Исходя из сроков выявления на территории европейских стран (февраль – май 2023 г.), по данным базы GISAID (EpiFlu), идентичные изоляты активно циркулировали уже несколько месяцев, как минимум с начала 2023 г.

Таким образом, учитывая распространение вируса гриппа H5N1 в регионе, а также занос и распространение инфекции в ряде регионов Российской Федерации, в дальнейшей работе был использован штамм вируса A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1.

Оценка иммуногенной активности вакцин. Все образцы вакцин, содержащие определенные концентрации антигена, были испытаны на птицах параллельно. Через 28 сут после вакцинации определяли средние по группам логарифмические титры антител к вирусу гриппа птиц, установленные в РТГА ($\log_2 T$).

Далее во всех подопытных группах птиц провели заражение штаммом A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1. В течение 10 сут в каждой группе ежедневно оценивали текущие клинические показатели ($c = a + b$, где a и b – количество клинически больных и погибших птиц соответственно). По окончании срока наблюдений в группах определяли накопленные клинические показатели ($\sum c/n$, где n – число птиц в группе до заражения) и вычисляли протективную активность вакцины вида $P = (1 - \sum c/n) \times 100$.

Показатели иммуногенной активности вакцин, установленные в подопытных группах птиц, приведены в таблице.

Исследовали связь между концентрацией антигена в прививном объеме (D) и протективной активностью (P) вакцины. Для построения наиболее вероятной модели связи показателей концентрации антигена и протективной активности вакцины применили регрессионный анализ [17]. Получили линейное регрессионное уравнение, имеющее вид $P = (-0,5184) D + 100,31$ ($R^2 = 0,98$), где P – прогнозируемое значение индекса соответственно заданному D .

Для графического представления регрессии P и D использовали корреляционно-регрессионный анализ. Полученные результаты представлены на рисунке 3.

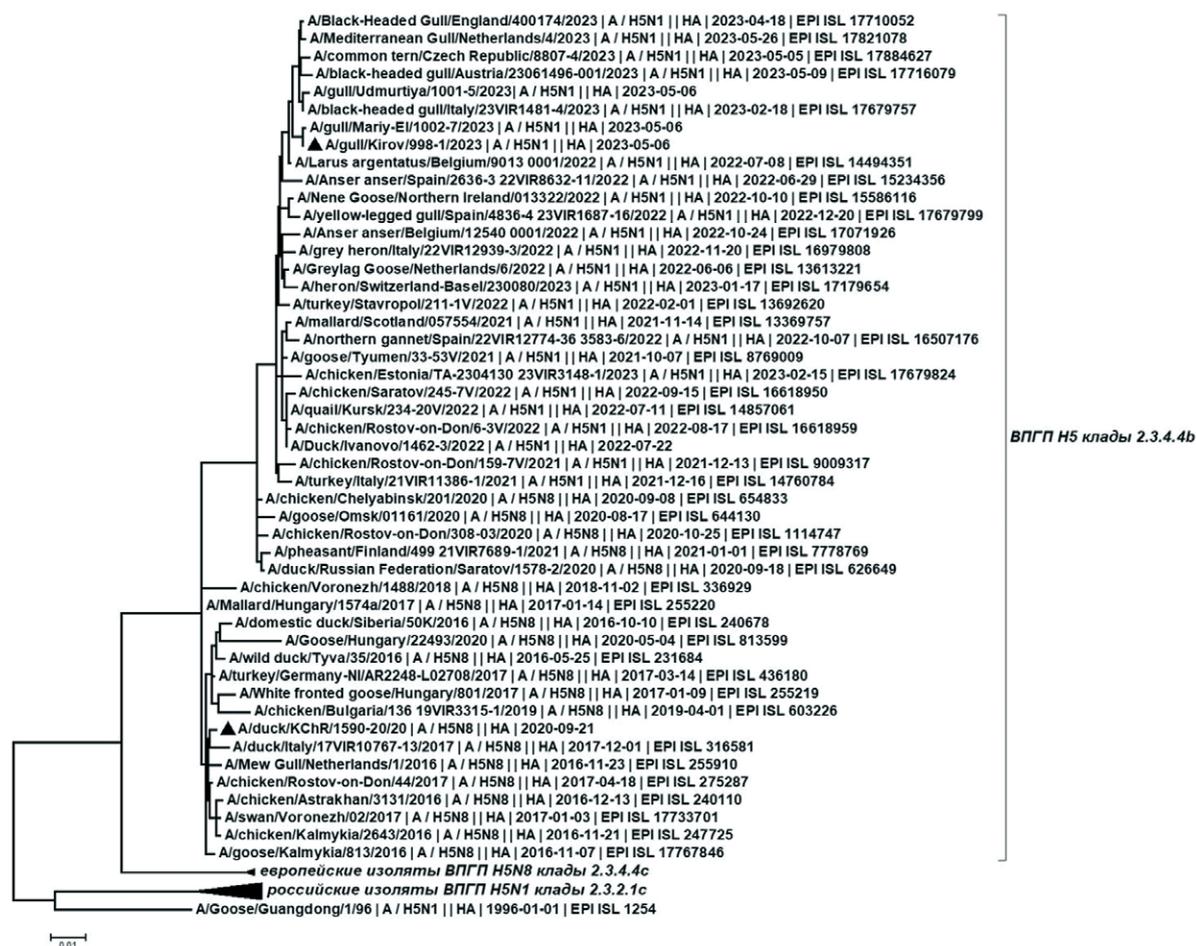


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное по полноразмерной последовательности гена гемагглютинаина
 Fig. 2. A phylogenetic tree based on the full-length hemagglutinin gene sequences

С помощью регрессионного уравнения рассчитали, что концентрация антигена, обеспечивающая защиту 50% (ПД₅₀) вакцинированных птиц, равна 97, что соответствует степени разведения исходного антигена 1:97. Таким образом, протективная активность вакцины равняется 97 ПД₅₀, что согласуется с требованиями Всемирной организации здравоохранения животных, устанавливающими ПД₅₀ ≥ 50.

Исследование связи протективной активности вакцины и титров гуморальных антител. Провели анализ зависимости между титрами гуморальных антител (T, log₂) и протективной активностью вакцины (P, %), установленными для испытанных концентраций антигена. Полученные результаты представлены на рисунке 4.

Показана линия регрессии P по log₂ T, где 'P – индекс, прогнозируемый по уравнению 'P = (11,093) log₂ T + 26,667, имеющему оценку адекватности R² = 0,97.

Полученное уравнение позволило определить ожидаемый титр антител (T₉₀), который соответствует 90% защиты вакцинированных птиц. Искомая оценка составила величину log₂ T₉₀ = 5,7.

Известно, что вспышки ВПГП на птицеводческих предприятиях (например, в США) в большинстве случаев географически совпадают с путями миграции диких водоплавающих птиц [1]. Учитывая роль орнитофауны в распространении инфекции в ряде регионов РФ, штамм A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1 следует считать эпизоотически опасным. На этом основании

Таблица

Показатели иммуногенности вакцин против вируса гриппа птиц H5N1

Table
Indicators of vaccine immunogenicity against H5N1 avian influenza virus

Оценки показателей соответственно испытанным концентрациям антигена			
Разведение антигена, D*	титр в РТГА	Клинический показатель Σc/n***	Протективная активность (P), % P = (1 - Σc/n) × 100
	log ₂ T**		
1	6,67	0/10	100
1:25	5,33	1/10	90
1:50	4,33	4/10	70
1:100	2,00	6/10	50
контроль	0,47	10/10	0

* величина разведения антигена в прививном объеме (antigen concentration in the inoculation volume);

** средний логарифмический титр антител в группе птиц после вакцинации (mean log antibody titer in the group of the vaccinated chickens), n = 3;

*** Σc – количество клинически больных и погибших птиц после контрольного заражения [накопленный в течение опыта показатель] (number of clinically diseased and dead birds after the challenge [indicator assessed during the experiment]);
 n – число птиц в группе до заражения (number of chickens in the group before the challenge).

использование данного штамма в качестве вируса-пробойника для оценки протективного действия вакцин против ВППГ является обоснованным.

Концентрация антигена в прививном объеме инактивированной вакцины является важнейшей характеристикой препарата. Основной антиген вируса (гемагглютинин) может быть измерен в абсолютных единицах, например в весовых [11], или в единицах действия, например в ПД₅₀. Считается, что прививной объем эффективной вакцины против гриппа птиц должен содержать 50 ПД₅₀ [12, 14], что соответствует 0,3–7,8 [12] или 3 мкг гемагглютинина [14].

Процедура проведения острого опыта полностью соответствовала общепринятой методике [14]. Как следует из полученных результатов, прививной объем препарата «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» содержал 97 ПД₅₀, это обеспечило защиту 100% иммунизированных птиц при введении одного прививного объема, что доказывает возможность практического применения вакцины

в соответствии с прилагаемой инструкцией. Это означает, что антигенный потенциал «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» против штамма A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1 в 1,9 раза превосходит рекомендуемую протективную активность [14].

Ранее уже была проведена оценка протективных свойств вакцинного препарата из штамма «Ямал» [18], в результате которой показана эффективная защита против гетерологичного подтипа вируса ВППГ H5N8 на примере штамма A/duck/KChR/1590-20/2, который также принадлежит к генетической кладе 2.3.4.4b. Результаты филогенетического анализа, приведенные в данной работе, свидетельствуют об активном антигенном дрейфе вирусов гриппа птиц подтипа H5 на территории Евразии в 2016–2023 гг. (рис. 1). Изоляты вируса гриппа птиц, против которых была экспериментально показана эффективная защита вакцинным препаратом на основе штамма «Ямал», отмечены на рисунке 2 черным треугольником.

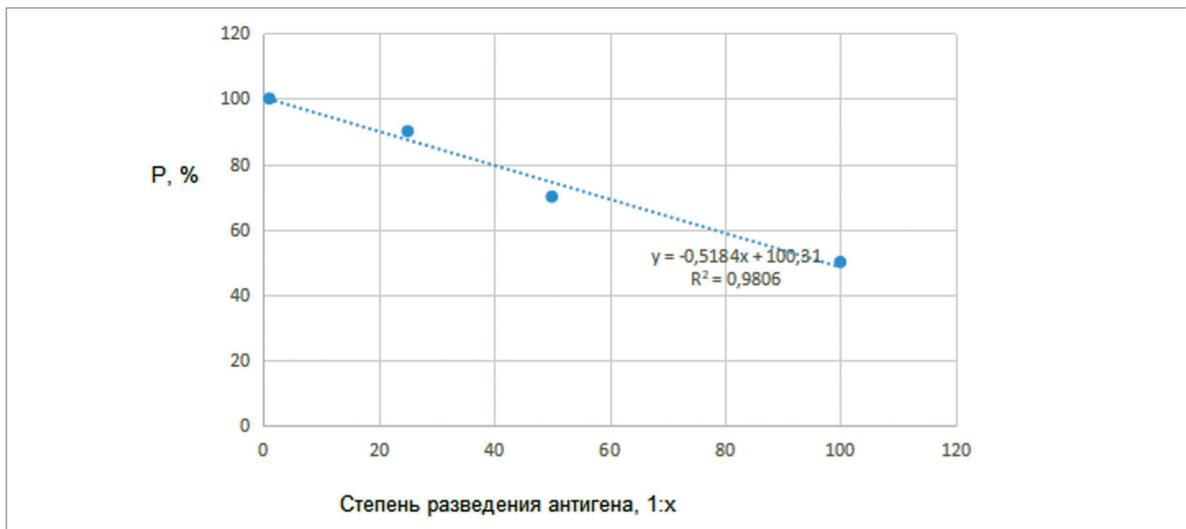


Рис. 3. Зависимость между испытанными концентрациями антигена и протективной активностью вакцины против ВППГ H5N1

Fig. 3. Relationship between the tested antigen concentrations and protectivity of the vaccine against HPAI H5N1

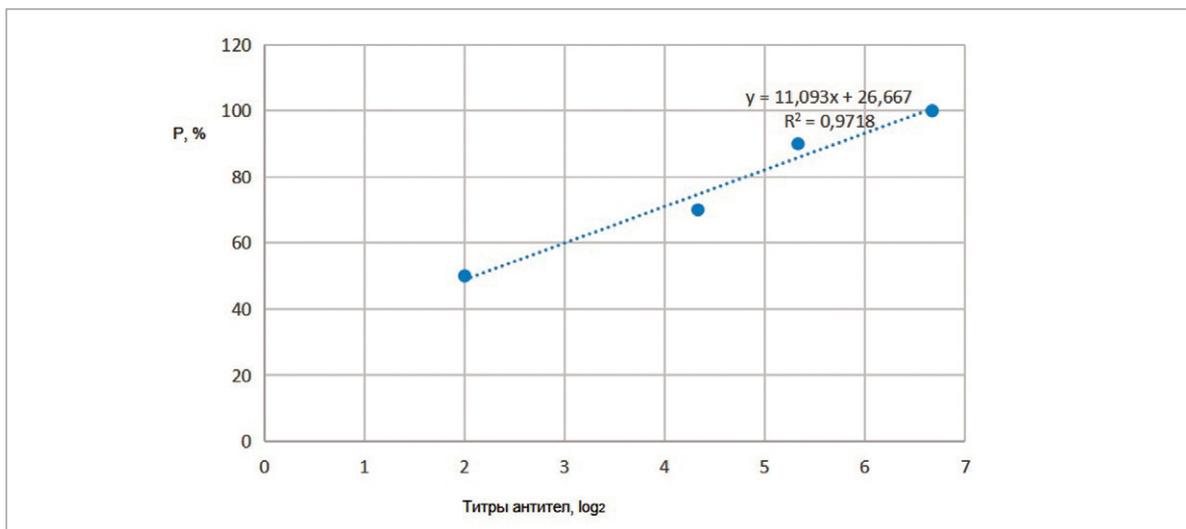


Рис. 4. Зависимость между величиной титра антител к вирусу гриппа H5 и уровнем протективной защиты вакцины

Fig. 4. Relationship between H5 virus antibody titer and level of the vaccine protectivity

Поскольку защита птиц от генерализованной инфекции, вызванной вирусом гриппа, в основном обеспечивается выработкой антител против вирусного гемагглютинаина [19], то данные РТГА являются важными показателями напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Известно, что титр иммунных сывороток на уровне $4 \log_2$ в РТГА свидетельствует о защите птиц от заболеваемости и смертности [14, 19], а титр антител на уровне $6,5 \log_2$ предотвращает в том числе локальную репродукцию вируса [20]. При этом необходимо, чтобы антитела в титре более $4 \log_2$ присутствовали у 80% поголовья птиц [21]. При выполнении настоящих исследований защита 90% вакцинированных птиц соответствовала ожидаемым титрам $5,7 \log_2$ для вакцины «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак».

ВЫВОДЫ

Результаты проведенных исследований позволили сделать следующие выводы.

1. Выделенный из патологического материала вирус определен как штамм A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1, который принадлежит к азиатской генетической линии вируса ВППП подтипа H5 (клада 2.3.4.4b). Штамм охарактеризован как эпизоотически опасный для Российской Федерации.

2. Установлено, что инактивированная вакцина «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» обладает протективным эффектом против штамма ВППП A/gull/Kirov/998-1/2023 H5N1 и на 28-е сут после иммунизации полностью предотвращает клиническое проявление болезни при заражении вакцинированных птиц. Протективный потенциал вакцины составил 97 ПД_{50} в одном прививном объеме.

3. Показано, что вакцина «ВНИИЗЖ-АвиФлуВак» на 28-е сут после применения индуцирует у птиц напряженный гуморальный иммунитет против гриппа. Поствакцинальный титр антител к вирусу гриппа в РТГА, соответствующий защите 90% привитых птиц, составил прогнозируемую величину $5,7 \log_2$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маилян Э. С. Грипп птиц. Новый взгляд на прошлое, настоящее и будущее птицеводства. *НПК Фарминдустрия*. <https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinariii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva>
2. U. S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Current Situation: Bird Flu in Poultry. https://www.cdc.gov/bird-flu/situation-summary/current-bird-flu-situation-in-poultry.html?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/flu/avianflu/poultry.htm
3. FAO. Ongoing avian influenza outbreaks in animals pose risk to humans: Situation analysis and advice to countries from FAO, WHO, WOA. 12.07.2023. <https://www.fao.org/animal-health/news-events/news/detail/ongoing-avian-influenza-outbreaks-in-animals-posses-risk-to-humans/en>
4. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J. L., et al. Avian influenza overview April – June 2023. *EFSA Journal*. 2023; 21 (7):e08191. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8191>
5. Вспышки гриппа птиц на территории РФ в 2023 г. (по данным ВОЗЖ на 17.10.2023). <https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/10/%D0%92%D0%9F%D0%93%D0%9F-%D0%BD%D0%B0-17.10.2023-scaled.jpg> (дата обращения: 03.07.2024).
6. Комментарий Управления Россельхознадзора по городу Москва, Московской и Тульской областям по выявлению случаев высокопатогенного гриппа птиц на территории города Москвы. 18.05.2023. <https://777.fsvps.gov.ru/news/kommentarij-upravlenija-ros-selhozнадзора-po-g-moskva-moskovskoj-i-tulskoj-oblastjam-po-vyjavleniju-slucaev-vysokopatogennogo-grippa-ptic-na-territorii-g-moskvy/?ysclid=m3y8yxbxy957274774>

7. Suárez P, Valcárcel J, Ortín J. Heterogeneity of the mutation rates of influenza A viruses: isolation of mutator mutants. *Journal of Virology*. 1992; 66 (4): 2491–2494. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.4.2491-2494.1992>
8. Holland J., Spindler K., Horodyski F., Grabau E., Nichol S., VandePol S. Rapid evolution of RNA genomes. *Science*. 1982; 215 (4540): 1577–1585. <https://doi.org/10.1126/science.7041255>
9. Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*. 1992; 56 (1): 152–179. <https://doi.org/10.1128/mr.56.1.152-179.1992>
10. Long J. S., Mistry B., Haslam S. M., Barclay W. S. Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. *Nature Reviews Microbiology*. 2019; 17 (2): 67–81. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0115-z>
11. Peyre M., Fusheng G., Desvaux S., Roger F. Avian influenza vaccines: a practical review in relation to their application in the field with a focus on the Asian experience. *Epidemiology and Infection*. 2009; 137 (1): 1–21. <https://doi.org/10.1017/s0950268808001039>
12. Swayne D. E. Laboratory methods for assessing and licensing influenza vaccines for poultry. In: *Animal Influenza Virus. Methods and Protocols*. Ed. by E. Spackman. 3rd ed. New York: Humana Press; 2020; Chapter 16: 211–225. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_16
13. Lee Y. J., Sung H. W., Choi J. G., Lee E. K., Jeong O. M., Kwon Y. K, et al. Effects of homologous and heterologous neuraminidase vaccines in chickens against H5N1 highly pathogenic avian influenza. *Avian Diseases*. 2007; 51 (Suppl. 1): 476–478. <https://doi.org/10.1637/7548-033106R.1>
14. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.4. [https://www.woah.org/fileadmin/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf)
15. Чвала И. А., Манин Т. Б., Мудрак Н. С., Дрыгин В. В. Методические рекомендации по выделению вируса гриппа птиц на куриных эмбрионах: утв. ФГУ «ВНИИЗЖ» № 59-08. Владимир; 2008. 9 с.
16. Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации. <https://shop.arriah.ru/upload/iblock/ad5/rwd6v5w4evkwfvcv11ba1kck0z-b13zkr.pdf>
17. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина; 1975. 297 с.
18. Фролов С. В., Чвала И. А., Мороз Н. В., Кулаков В. Ю., Сосипатова В. Ю., Андрейчук Д. Б. Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа A/H5N1 различной вирулентности. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 367–374. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374>
19. Katz J. M., Lu X., Frace A. M., Morken T., Zaki S. R., Tumpey T. M. Pathogenesis of and immunity to avian influenza A H5 viruses. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2000; 54 (4): 178–187. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(00\)89024-1](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(00)89024-1)
20. Kumar M., Chu H.-J., Rodenberg J., Krauss S., Webster R. G. Association of serologic and protective responses of avian influenza vaccines in chickens. *Avian Diseases*. 2007; 51 (Suppl. 1): 481–483. <https://doi.org/10.1637/7605-041706R.1>
21. Джавадов Э. Д., Дмитриева М. Е. Грипп птиц. СПб.; Ломоносов: ГНУ ВНИИВР Россельхозакадемии; 2011. 188 с. <https://elibrary.ru/scyuthi>

REFERENCES

1. Maïlyan E. S. Gripp ptits. Novyi vzglyad na proshloe, nastoyashchee i budushchee ptitsevodstva = Avian Influenza. A new look at the past, present and future of poultry farming. *НПК Фарминдустрия*. <https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinariii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva> (in Russ.)
2. U. S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Current Situation: Bird Flu in Poultry. https://www.cdc.gov/bird-flu/situation-summary/current-bird-flu-situation-in-poultry.html?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/flu/avianflu/poultry.htm
3. FAO. Ongoing avian influenza outbreaks in animals pose risk to humans: Situation analysis and advice to countries from FAO, WHO, WOA. 12.07.2023. <https://www.fao.org/animal-health/news-events/news/detail/ongoing-avian-influenza-outbreaks-in-animals-posses-risk-to-humans/en>
4. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J. L., et al. Avian influenza overview April – June 2023. *EFSA Journal*. 2023; 21 (7):e08191. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8191>
5. Avian influenza outbreaks in the Russian Federation in 2023 (according to the WHO data as of 17.10.2023). <https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/10/%D0%92%D0%9F%D0%93%D0%9F-%D0%BD%D0%B0-17.10.2023-scaled.jpg> (date of access: 03.07.2024). (in Russ.)
6. Comment from the Rosselkhoz nadzor Administration for the city of Moscow, Moscow and Tula Oblasts on identification of HPAI cases in the

city of Moscow. 18.05.2023. <https://777.fsvps.gov.ru/news/kommentarij-upravlenija-rosselhoznadzora-po-g-moskva-moskovskoj-i-tulskoj-oblast-jam-po-vyjavleniju-slucaev-vysokopatogennogo-grippa-ptic-na-territorii-g-moskvy/?ysclid=m3y8yxby957274774> (in Russ.)

7. Suárez P, Valcárcel J, Ortín J. Heterogeneity of the mutation rates of influenza A viruses: isolation of mutator mutants. *Journal of Virology*. 1992; 66 (4): 2491–2494. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.4.2491-2494.1992>

8. Holland J, Spindler K, Horodyski F, Grabau E, Nichol S, VandePol S. Rapid evolution of RNA genomes. *Science*. 1982; 215 (4540): 1577–1585. <https://doi.org/10.1126/science.7041255>

9. Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*. 1992; 56 (1): 152–179. <https://doi.org/10.1128/mr.56.1.152-179.1992>

10. Long J. S., Mistry B., Haslam S. M., Barclay W. S. Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. *Nature Reviews Microbiology*. 2019; 17 (2): 67–81. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0115-z>

11. Peyre M., Fusheng G., Desvaux S., Roger F. Avian influenza vaccines: a practical review in relation to their application in the field with a focus on the Asian experience. *Epidemiology and Infection*. 2009; 137 (1): 1–21. <https://doi.org/10.1017/s0950268808001039>

12. Swayne D. E. Laboratory methods for assessing and licensing influenza vaccines for poultry. In: *Animal Influenza Virus. Methods and Protocols*. Ed. by E. Spackman. 3rd ed. New York: Humana Press; 2020; Chapter 16: 211–225. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_16

13. Lee Y. J., Sung H. W., Choi J. G., Lee E. K., Jeong O. M., Kwon Y. K, et al. Effects of homologous and heterologous neuraminidase vaccines in chickens against H5N1 highly pathogenic avian influenza. *Avian Diseases*. 2007; 51 (Suppl. 1): 476–478. <https://doi.org/10.1637/7548-033106R.1>

14. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for*

Terrestrial Animals. 2021; Chapter 3.3.4. [https://www.woah.org/fileadmin/](https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf)

Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf
15. Chvala I. A., Manin T. B., Mudrak N. S., Drygin V. V. Guidelines for isolation of avian influenza virus in chicken embryos: approved by the Federal Centre for Animal Health No. 59-08. Vladimir; 2008. 9 p. (in Russ.)

16. Instructions for the use of a HI kit for detection of antibodies to avian influenza virus subtype H5. <https://shop.arriah.ru/upload/iblock/ad5/rwd6v5w4evkwfvcv11ba1kck0zb13zkkp.pdf> (in Russ.)

17. Urbakh V. Yu. Statistical analysis in biological and medical research. Moscow: Medicina; 1975. 297 p. (in Russ.)

18. Frolov S. V., Chvala I. A., Moroz N. V., Kulakov V. Yu., Sosipatorova V. Yu., Andreychuk D. B. Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 367–374. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374>

19. Katz J. M., Lu X., Frace A. M., Morken T., Zaki S. R., Tumpey T. M. Pathogenesis of and immunity to avian influenza A H5 viruses. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2000; 54 (4): 178–187. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(00\)89024-1](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(00)89024-1)

20. Kumar M., Chu H.-J., Rodenberg J., Krauss S., Webster R. G. Association of serologic and protective responses of avian influenza vaccines in chickens. *Avian Diseases*. 2007; 51 (Suppl. 1): 481–483. <https://doi.org/10.1637/7605-041706R1.1>

21. Javadov E. J., Dmitrieva M. E. Avian influenza. Saint Petersburg; Lomonosov: All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science; 2011. 188 p. <https://elibrary.ru/ccythi> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 23.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 09.12.2024

Принята к публикации / Accepted 18.12.2024

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

Долгов Дмитрий Львович, канд. вет. наук, заведующий сектором лаборатории профилактики болезней птиц, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0009-5177-953X>, dolgov@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

Грехнева Алена Дмитриевна, аспирант, ведущий специалист референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-6119-0202>, grekhneva@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

Dmitry L. Dolgov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0009-5177-953X>, dolgov@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

Alena D. Grekhneva, Postgraduate Student, Leading Specialist, Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-6119-0202>, grekhneva@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; Долгов Д. Л. – технический исполнитель иммунологических исследований; Фролов С. В. – технический исполнитель иммунологических исследований, оформление статьи; Грехнева А. Д. – технический исполнитель генетических исследований, оформление статьи; Кулаков В. Ю. – анализ результатов исследований.

Contribution of the authors: Moroz N. V. – initiator and head of the research; Dolgov D. L. – technical expert in immunological tests; Frolov S. V. – technical expert in immunological tests and the article design; Grekhneva A. D. – technical expert in genetic tests, the article design; Kulakov V. Yu. – analysis of test results.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-55-61>
УДК 619:616.98:579.887.111:001.891.53

Воспроизведение ассоциированной инфекции, обусловленной *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, в лабораторных условиях

Д. А. Козлов¹, М. С. Волков¹, О. А. Чупина¹, Н. В. Мороз¹, В. Н. Ирза¹, В. В. Пронин²

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

² ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ), ул. Академика Бакулова, стр. 1, пос. Вольгинский, 601125, Петушинский р-н, Владимирская обл., Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит птиц являются экономически значимыми и нотифицируемыми болезнями, поэтому вопрос борьбы с *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* на птицеводческих предприятиях является актуальным. Применение вакцин – один из способов специфической профилактики, однако при разработке препаратов особое внимание уделяется оценке их протективных свойств. Контрольное заражение не всегда приводит к проявлению болезни ввиду ее преимущественно хронического течения и факторности.

Цель исследования. Воссоздание факторов, способствующих проявлению болезни в лабораторных условиях, и выявление патологических изменений в организме зараженных и иммунизированных птиц на гистологическом уровне.

Материалы и методы. В качестве подопытных животных были отобраны серонегативные и вакцинированные куры кросса Хайсекс белый в возрасте 67 сут. В ходе опыта использовали штамм S6 *Mycoplasma gallisepticum*, штамм WVU 1853 *Mycoplasma synoviae* и штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 вируса низкопатогенного гриппа птиц.

Результаты. Ассоциированное течение микоплазмозов с низкопатогенным гриппом птиц проявляется заболеванием и патогистологическими изменениями, среди которых легкие респираторные расстройства и суставной синдром. При гистологическом исследовании у зараженных невакцинированных птиц выявили нарушение целостности реснитчатого эпителия трахеи с очагами десквамации. У вакцинированной против микоплазмоза и экспериментально инфицированной птицы признаков отслаивания эпителия не наблюдалось, однако выявляли локальный отек подслизистого слоя трахеи. В железе третьего века у невакцинированных птиц, зараженных вирусом низкопатогенного гриппа птиц H9N2, *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, отмечали дистрофические изменения и инфильтрацию лимфоцитами, что свидетельствовало о наличии воспаления. В группе как вакцинированных, так и невакцинированных экспериментально инфицированных птиц в тканях легких выявляли лимфоцитарную инфильтрацию. Во всех группах птиц, кроме контрольной, наблюдали картину депопуляции лимфоцитов в корковом веществе фабрициевой сумки.

Заключение. Результатом данного исследования является создание метода проведения контрольного заражения птиц *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, а также выявление условий для клинического проявления микоплазмозов, установление патологических изменений на клеточном уровне вследствие инфицирования.

Ключевые слова: *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, гистология, контрольное заражение

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

Для цитирования: Козлов Д. А., Волков М. С., Чупина О. А., Мороз Н. В., Ирза В. Н., Пронин В. В. Воспроизведение ассоциированной инфекции, обусловленной *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, в лабораторных условиях. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 55–61. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-55-61>

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

Для корреспонденции: Козлов Дмитрий Александрович, ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, kozlov_da@arriah.ru

Creating a laboratory model of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* associated infection

Dmitry A. Kozlov, Mikhail S. Volkov, Olga A. Chupina, Natalia V. Moroz, Viktor N. Irza, Valery V. Pronin

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

² Federal Research Center for Virology and Microbiology, bldg. 1, Akademika Bakulova str., Volginsky 601125, Petushinsky District, Vladimir Oblast, Russia

ABSTRACT

Introduction. Respiratory mycoplasmosis and infectious synovitis are economically significant and notifiable avian diseases, therefore, the issue of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* control on poultry farms is of great importance. Vaccination is one of the ways to ensure specific prevention, however, when a vaccine is developed, its protective properties are assessed with special focus. Challenge does not always lead to the disease manifestation due to its predominantly chronic and factor-dependant nature.

© Козлов Д. А., Волков М. С., Чупина О. А., Мороз Н. В., Ирза В. Н., Пронин В. В., 2025

Objective. Laboratory simulation of the factors that contribute to the disease manifestation and a histological analysis of pathological changes in the infected and vaccinated poultry.

Materials and methods. Seronegative and vaccinated 67-day-old Haysex white cross chickens were selected for the experimental purposes. We used S6 strain of *Mycoplasma gallisepticum*, WVU 1853 strain of *Mycoplasma synoviae* and A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 strain of low-pathogenicity avian influenza virus.

Results. The associated infection of mycoplasmoses and low-pathogenicity avian influenza is manifested as a disease with pathohistological changes that include mild respiratory and joint disorders. Histological tests of the infected non-vaccinated poultry revealed damaged tracheal ciliated epithelium with desquamation. The poultry vaccinated against mycoplasmosis and experimentally infected showed no signs of epithelial separation, however, local submucosal edema was observed in the trachea. Non-vaccinated poultry infected with low-pathogenicity avian influenza virus H9N2, *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* demonstrated dystrophic changes and lymphocyte infiltration in the third eyelid gland which suggested an inflammation. Lymphocytic lung tissue infiltration was detected both in the vaccinated and non-vaccinated experimentally infected poultry. All groups of chickens, except for the control one, demonstrated lymphocyte depopulation in the cortical substance of the fabricium sac.

Conclusion. The study resulted in developing a challenge procedure for poultry using *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* agents, in defining conditions for clinical manifestation of mycoplasmoses, in detecting infection-caused pathological changes at the cellular level.

Keywords: *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, histology, challenge

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health as a part of research activities "Veterinary Welfare".

For citation: Kozlov D. A., Volkov M. S., Chupina O. A., Moroz N. V., Irza V. N., Pronin V. V. Creating a laboratory model of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* associated infection. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 55–61. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-55-61>

Conflict of interests: Irza V. N. and Pronin V. V. are the members of the editorial board of the "Veterinary Science Today" journal, but were 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: Dmitry A. Kozlov, Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, kozlov_da@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит – экономически значимые заболевания, возбудителями которых являются *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* [1]. Особенность данных микоплазмозов – их хроническое течение с обострением в периоды снижения естественной резистентности организма или при наличии стресс-факторов различного генеза [2]. Одним из способов профилактики данных заболеваний является вакцинация [3]. При разработке средств специфической профилактики особое внимание уделяется протективным свойствам нового препарата, испытаниям вакцины в остром опыте с контрольным заражением. Учитывая факторность микоплазмозов птиц, в лабораторных условиях инфекционный процесс воспроизвести довольно сложно. Таким образом, вопрос проверки протективных свойств вакцин, профилаксирующих респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит, приобрел особую актуальность в эру борьбы с антибиотикорезистентностью.

Mycoplasma gallisepticum вызывает у кур и индеек респираторный микоплазмоз, который проявляется хрипами, кашлем, ринореей, аэросаккулитами. Данное заболевание характеризуется преимущественно скрытым течением, микоплазмозом, распространяется в стаде медленно, может обостряться при воздействии на птиц стресс-факторов, среди которых вакцинация, неудовлетворительное кормление, сквозняки, высокая концентрация аммиака в воздухе и др. Патолого-анатомически респираторный микоплазмоз проявляется наличием серозного, серозно-фибринозного или фибринозного экссудата в полости носовых и подглазничных синусов. Слизистая трахеи гиперемирована, легкие полнокровны, может отмечаться пневмония. Патогномичный признак – серозный,

серозно-фибринозный или фибринозный аэросаккулит грудных или брюшных воздухоносных мешков: стенка их уплотнена, непрозрачна, в полости скапливается экссудат. При неосложненной форме поражения паренхиматозных органов отсутствуют [4, 5].

Mycoplasma synoviae – возбудитель инфекционного синовита птиц, характерными признаками которого являются артриты, тендовагиниты, синовиты и анемия. Клинически заболевание может проявляться хромотой, побледнением гребня, отставанием в росте, припухлостями в области метатарзальных и тибиотарзальных суставов, плантарной поверхности подошвы, грудной бурсе [6]. При подостром и хроническом течении болезни поверхность пораженных суставов мацерируется, покрывается корочками экссудата и некротическими массами [7, 8, 9]. Периартикулярные ткани и сухожильные влагалища в области пораженных суставов отекают, в полости суставов выявляют скопление прозрачного экссудата, при хроническом течении – значительное количество фибринозных масс [10]. Болезнь может проявляться и респираторным синдромом, неотличимым от респираторного микоплазмоза. Считается, что патогномичным признаком инфекционного синовита является синдром стекловидной вершины яйца (Egg Apical Abnormalities, EAA), который обуславливает существенные экономические потери из-за выбраковки товарных и инкубационных яиц [4, 11].

Несмотря на обширный список синдроматики микоплазмозов птиц, такие их свойства, как хроническое течение и факторность, создают определенные трудности при воспроизведении инфекций в лабораторных условиях.

При разработке средств специфической профилактики против хронических болезней сложность заключается в оценке протективных свойств вакцины. Если при

острых инфекциях, таких как высокопатогенный грипп птиц, ньюкаслская болезнь, протективную активность биопрепарата легко оценить в опыте с контрольным заражением, то для хронических инфекций, включая микоплазмозы, данный способ имеет существенные ограничения, так как не всегда в лабораторных условиях есть возможность воспроизвести клинически выраженную болезнь [12, 13, 14]. Кроме того, возбудители микоплазмозов могут длительное время персистировать в организме и оставаться незамеченными для иммунной системы (биологическая мимикрия) [4, 9, 15].

Таким образом, создание модели воспроизведения микоплазмоза в лабораторных условиях для оценки протективных свойств разрабатываемых вакцин представляется своевременной и актуальной задачей. Учитывая, что инфекции микоплазменной этиологии относятся к факторным болезням, для проявления клинического микоплазмоза необходимо было подобрать триггер [16, 17]. С этой целью в эксперименте была апробирована модель воспроизведения ассоциированной инфекции, вызванной *M. gallisepticum*, *M. synoviae* и вирусом низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2, имеющим индекс внутривенной патогенности, равный нулю (IVPI = 0). По данным некоторых зарубежных авторов, коинфекция вирусом низкопатогенного гриппа птиц (H3N8) значительно влияет на патогенез инфекции *M. gallisepticum* [18]. Заражение клинически здоровой птицы данным патогеном в лабораторных условиях не приводит к клинически выраженной болезни. Однако в условиях птицефабрик ассоциированная форма низкопатогенного гриппа птиц с микоплазмозами обуславливает респираторную инфекцию [10, 19].

Создание модели по воспроизведению ассоциированной формы микоплазменной инфекции с низкопатогенным гриппом птиц в лабораторных условиях позволило бы не только использовать ее в оценке протективных свойств вакцины, но и понять роль каждого возбудителя в патогенезе микст-инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. В ходе опыта были использованы штаммы S6 *M. gallisepticum* и WVU 1853 *M. synoviae*. В качестве коинфицирующего агента (триггера) – штамм вируса низкопатогенного гриппа птиц A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 (далее – H9N2).

Вакцина ассоциированная против респираторного микоплазмоза и инфекционного синовита инактивированная эмульсионная производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (экспериментальная серия).

Заражающие дозы. Для инфицирования использовали культуру *M. gallisepticum* с активностью 6,0 log₂ гемагглютинирующих единиц и *M. synoviae* с активностью 3,0 log₂ агглютинирующих единиц. Заражающая доза вируса низкопатогенного гриппа птиц составила 10⁶ Ig ЭИД/0,5 см³.

Птица. Для экспериментального заражения были использованы серонегативные и вакцинированные куры яичного кросса Хайсекс белый в возрасте 67 сут. Птицы содержались в виварии ФГБУ «ВНИИЗЖ», условия содержания и рацион кормления соответствовали зоогиеническим требованиям.

Доза и метод заражения. Схема и методы заражения птиц представлены в таблице 1.

Клиническое наблюдение и патолого-анатомическое вскрытие. В течение всего периода эксперимента

(35 сут после вакцинации) за подопытной птицей вели наблюдение, при этом оценивали общее состояние (подвижность, упитанность, реакцию на внешние раздражители, скученность, депрессию, отказ от корма и воды и др.).

Через 14 сут после заражения проводили эвтаназию птиц и их патолого-анатомическое вскрытие с описанием изменений в органах и тканях. Кусочки органов и тканей отбирали для проведения гистологического исследования.

Все эксперименты проводились согласно требованиям Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых в научных целях.

Гистологические исследования проводили на базе центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ». Образцы срезов органов окрашивали гематоксилином и эозином, просматривали под микроскопом с последующей фотофиксацией.

Серологические исследования. Количественное определение специфических антител к *M. gallisepticum* и *M. synoviae* в сыворотках крови птиц осуществляли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», детекцию антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9N2 проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) также с использованием наборов производства ФГБУ «ВНИИЗЖ».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 3-и сут после заражения невакцинированных птиц комбинацией патогенов H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae* (группа № 2) наблюдали развитие легких респираторных признаков: птица была неактивной,

Таблица 1
Схема и методы заражения птицы

Table 1
Infection procedure (scheme and methods)

Номер группы	Количество птиц в группе	Вакцина	Заражение
1	10	Вакцина ассоциированная против респираторного микоплазмоза и инфекционного синовита инактивированная эмульсионная (экспериментальная серия)	H9N2 (интраназально, окулярно); <i>M. gallisepticum</i> , <i>M. synoviae</i> (интраназально, окулярно, внутримышечно)
2	10	Не вакцинированы	H9N2 (интраназально, окулярно); <i>M. gallisepticum</i> , <i>M. synoviae</i> (интраназально, окулярно, внутримышечно)
3	10	Не вакцинированы	H9N2 (интраназально, окулярно)
4	10	Не вакцинированы	<i>M. gallisepticum</i> , <i>M. synoviae</i> (интраназально, окулярно, внутримышечно)
5 (контроль)	5	Не вакцинированы	Не проводилось



Рис. 1. Точечные и полосчатые кровоизлияния на слизистой трахеи у невакцинированной птицы после заражения H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae* (фото – Д. А. Козлов)

Fig. 1. Petechial and striped hemorrhages on the tracheal mucosa in the non-vaccinated poultry after infection with H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae* (photo by D. A. Kozlov)



Рис. 2. Воспаление плантарной поверхности стопы у невакцинированной птицы на 7-е сут после заражения H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae*: отек, стадия экссудации (фото – Д. А. Козлов)

Fig. 2. Inflammation of the plantar surface of the foot in the non-vaccinated chicken on day 7 after infection with H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae*: edema, exudation (photo by D. A. Kozlov)

отмечали слезотечение, инъекцию сосудов конъюнктивы (у 6 из 10 птиц). С 5-х по 10-е сут развивались стойкая гиперемия кожи в области бесперьевых участков головы, слезотечение, ринорея. Экссудат из носовых отверстий засыхал и образовывал струпья, которые легко отделялись (у 9 из 10 птиц). При этом у 5 особей из группы отмечали изменение в поведении в виде гиподинамии. При вскрытии птиц данной группы наблюдали признаки катарального ларинготрахеита с мелкоточечными кровоизлияниями (рис. 1).

На 7-е сут после заражения у некоторых особей из группы № 2 отмечали хромоту, при этом птица была апатичной. На плантарной поверхности (подошва стопы) лап наблюдали выраженный отек, трещины кожи и экссудацию (рис. 2). Большую часть светового дня птица находилась в лежачем положении. При вскрытии пораженной части подошвы стопы наблюдали сильный отек мягких тканей с выпотом серозного экссудата, на разрезе мягкая ткань была набухшей и имела студнеобразную консистенцию. Данные признаки могут указывать на суставную форму проявления инфекционного синовита.

В группах № 1 (вакцинированные против микоплазмозов), № 3 (зараженные H9N2), № 4 (зараженные *M. gallisepticum* и *M. synoviae*) и № 5 (отрицательный контроль) видимых клинических отклонений от нормы не наблюдалось.

При морфологическом исследовании органов респираторного тракта отмечено, что у невакцинированной птицы, зараженной вирусом гриппа H9N2, *M. gallisepticum* и *M. synoviae* (группа № 2), была нарушена целостность реснитчатого эпителия трахеи с очагами отслаивания. У вакцинированных против микоплазмоза кур, инфицированных H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae* (группа № 1), признаков десквамации не наблюдалось, однако выявляли локальный отек подслизистого слоя. У птиц контрольной группы морфологическая структура трахеи была сохранена, все слои хорошо просматривались (рис. 3). При этом в легких лимфоцитарная инфильтрация ткани была выявлена в группе как вакцинированных, так и невакцинированных птиц. Во всех группах птиц, кроме контрольной, наблюдали картину депопуляции лимфоцитов

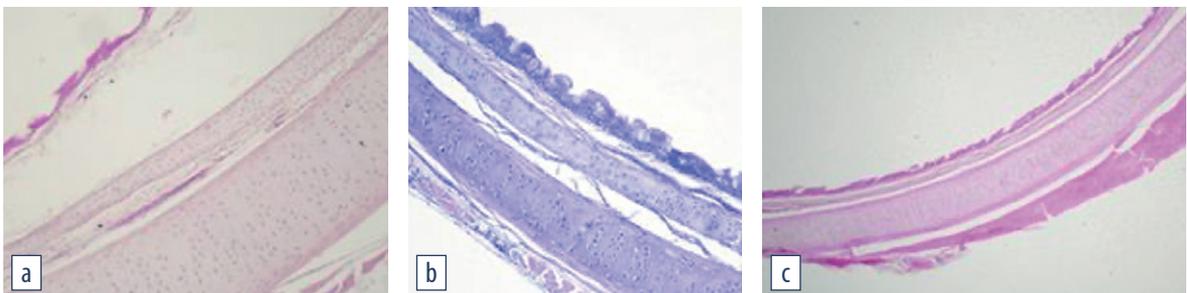


Рис. 3. Морфологическая структура трахеи: а – невакцинированная и зараженная птица; наблюдается десквамация реснитчатого эпителия и отек подслизистой основы; б – вакцинированная и зараженная птица; сохраненная структура трахеи; в – контрольная группа; нормальная структура трахеи (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х; фото – О. А. Чупина, В. В. Пронин)

Fig. 3. Morphological structure of the trachea: a – vaccinated and infected chicken; desquamation of the ciliated epithelium and submucosal swelling; b – vaccinated and infected chicken; preserved tracheal structure; c – control group; normal tracheal structure (hematoxylin and eosin staining, magnification 100x; photo by O. A. Chupina, V. V. Pronin)

в корковом веществе фабрициевой сумки, что говорит об активации иммунной системы и перераспределении лимфоцитов после инфицирования.

После заражения невакцинированных птиц интраназальным и окулярным методами (H9N2 + *M. gallisepticum* + *M. synoviae*) в железе третьего века отмечали дистрофические изменения и инфильтрацию лимфоцитами (рис. 4), что свидетельствовало о наличии воспаления [16, 20]. В группе вакцинированных зараженных птиц, напротив, в ткани железы наблюдали депопуляцию лимфоцитов.

У всех подопытных птиц, кроме контрольных, отмечали признаки акцидентальной инволюции тимуса. У невакцинированных зараженных кур наблюдали преобладание белой пульпы селезенки над красной. В подопытной группе невакцинированных птиц, экспериментально инфицированных вирусом H9N2 (группа № 3), выявлена очаговая лимфоцитарная инфильтрация почек и очаговые кровоизлияния.

Во всех группах при гистологическом исследовании кишечника установлено, что серозная и мышечная оболочки двенадцатиперстной кишки сохранены, апикальная часть ворсинок в состоянии автолиза, кишечные крипты были хорошо выражены. В просвете кишечника определялся химус. На границе тонкого и толстого отдела кишечника определялись слепок кишечные лимфоидные фолликулы. Они были структурированы, имели овальную форму, без выраженного реактивного центра.

Выявленная гиперемия сосудов различных органов, вероятно, обусловлена недостаточным обескровливанием.

Специфичность заболевания птиц после заражения подтверждали при исследовании проб сывороток крови кур в ИФА и РТГА. В таблице 2 приведены значения среднего титра антител у вакцинированных и невакцинированных птиц до и после инфицирования.

Из полученных данных видно, что иммунная система невакцинированных птиц реагировала на заражение каждым патогеном. При этом в группах № 2 и 4 титр антител к возбудителям микоплазмозов достоверно повышался после инфицирования с увеличением возраста, что указывало на репродукцию микоплазм в организме птиц и стимуляцию иммунного ответа. Аналогично для групп № 2 и 3 увеличение титра антигемагглютининов к вирусу гриппа H9N2 с возрастом свидетельствовало о его репликации в организме. В группе № 1 (вакцинированная птица) титры антител к *M. gallisepticum*, *M. synoviae* и вирусу гриппа H9N2 после заражения также с возрастом увеличивались. Однако следует учесть, что на 21-е сут после вакцинации возбудители микоплазмозов вводились в том числе и внутримышечным способом, что усилило иммунный ответ (бустерный эффект), который сопровождался повышением титра специфических антител. При этом отсутствие клинически выраженной болезни и патологических гистологических изменений у иммунизированных птиц свидетельствовало об эффективности вакцины.

ВЫВОДЫ

1. Для оценки протективной активности вакцин против микоплазмоза методом контрольного заражения в лабораторных условиях в качестве коинфицирующего агента можно использовать вирус низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2 с нулевым индексом внутренней патогенности.

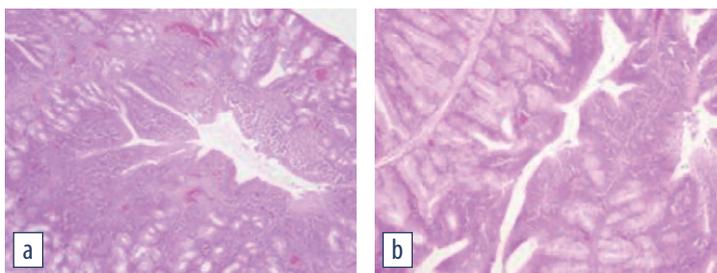


Рис. 4. Гистологическое исследование железы третьего века: а – невакцинированная зараженная птица; лимфоцитарная инфильтрация и дистрофические изменения; б – контрольная группа; нормальная структура железы третьего века (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х; фото – О. А. Чупина, В. В. Пронин)

Fig. 4. Histological examination of the third eyelid gland: a – non-vaccinated infected chicken; lymphocytic infiltration and dystrophic changes; b – control group; normal structure of the third eyelid gland (hematoxylin and eosin staining, magnification 100x; photo by O. A. Chupina, V. V. Pronin)

Таблица 2

Титры антител до и после вакцинации и заражения

Table 2

Antibody titre before and after vaccination and infection

Группа	Средний титр антител по группе			
	До заражения / вакцинации	После вакцинации (21-е сут)	После заражения	
			7-е сут	14-е сут
1	Mg = 102 ± 64 Ms = 34 ± 12 H9N2 = 0	Mg = 2688 ± 902 Ms = 2830 ± 803 H9N2 = 0	Mg = 4013 ± 1012 Ms = 3590 ± 899 H9N2 = 3,4 ± 0,33	Mg = 7105 ± 1812 Ms = 7200 ± 1679 H9N2 = 4,3 ± 0,15
2	Mg = 84 ± 53 Ms = 12 ± 8 H9N2 = 0	Не вакцинированы	Mg = 1002 ± 402 Ms = 948 ± 899 H9N2 = 3,3 ± 0,4	Mg = 3013 ± 914 Ms = 2590 ± 688 H9N2 = 4,4 ± 0,3
3	H9N2 = 0	Не вакцинированы	H9N2 = 4,0 ± 0,44	H9N2 = 4,5 ± 0,3
4	Mg = 66 ± 43 Ms = 24 ± 12	Не вакцинированы	Mg = 1383 ± 212 Ms = 907 ± 64	Mg = 2080 ± 765 Ms = 1648 ± 966
5	Mg = 16 ± 9 Ms = 28 ± 12 H9N2 = 0	Не вакцинированы	Незараженные	
			Mg = 206 ± 82 Ms = 118 ± 89 H9N2 = 0,6 ± 0,3	Mg = 304 ± 102 Ms = 194 ± 90 H9N2 = 0,5 ± 0,2

Mg – *Mycoplasma gallisepticum*; Ms – *Mycoplasma synoviae*.

Для Mg и Ms были рассчитаны средние геометрические титры ИФА по группе, для H9N2 титры выражены в log₂ РТГА (for Mg and Ms geometric mean ELISA titers were calculated in the group, for H9N2 the titers were expressed as HI log₂).

2. Ассоциированное течение микоплазмозов с низкопатогенным гриппом птиц проявляется клинически выраженным заболеванием и патогистологическими изменениями.

3. Клиническая ассоциированная форма респираторного микоплазмоза и инфекционного синовита производится в лабораторных условиях после предварительного заражения птицы вирусом низкопатогенного гриппа птиц H9N2 и сопровождается легкими респираторными расстройствами и суставным синдромом. При гистологическом исследовании

у экспериментально инфицированных невакцинированных птиц выявили нарушение целостности реснитчатого эпителия трахеи с очагами отслаивания. У вакцинированной против микоплазмоза птицы, зараженной вирусом гриппа H9N2, *M. gallisepticum* и *M. synoviae*, признаков десквамации не наблюдалось, однако выявляли локальный отек подслизистого слоя. У птиц контрольной группы морфологическая структура трахеи была сохранена, все слои хорошо просматривались.

4. Достоверное увеличение титров антител после заражения у невакцинированных к возбудителям микоплазмозов и низкопатогенного гриппа птиц свидетельствовало о репродукции патогенов в организме кур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Feberwee A., de Wit S., Dijkman R. Clinical expression, epidemiology, and monitoring of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*: an update. *Avian Pathology*. 2022; 51 (1): 2–18. <https://www.doi.org/10.1080/03079457.2021.1944605>
2. Stipkovits L., Kempf I. Mycoplasmoses in poultry. *Revue Scientifique et Technique*. 1996; 15 (4): 1495–1525. <https://doi.org/10.20506/rst.15.4.986>
3. Whithear K. G. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. *Revue Scientifique et Technique*. 1996; 15 (4): 1527–1553. <https://doi.org/10.20506/rst.15.4.985>
4. Микоплазмозы животных. Под ред. Я. Р. Коваленко. М.: Колос; 1976. 304 с.
5. Бессарабов Б. Ф., Василевич Ф. И., Мельникова И. И., Сушкова Н. К., Чекмарев А. Д. Практикум по болезням птиц. М.: КолосС; 2007. 200 с.
6. Morrow C. J., Bradbury J. M., Gentle M. J., Thorp B. H. The development of lameness and bone deformity in the broiler following experimental infection with *Mycoplasma gallisepticum* or *Mycoplasma synoviae*. *Avian Pathology*. 1997; 26 (1): 169–187. <https://doi.org/10.1080/03079459708419203>
7. Ирза В. Н. Инфекционный синовит птиц – эпизоотология и профилактика. *Птицеводство*. 2009; (11): 39–40. <https://elibrary.ru/ojzdet>
8. Yadav J. P., Tomar P., Singh Y., Khurana S. K. Insights on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in poultry: a systematic review. *Animal Biotechnology*. 2022; 33 (7): 1711–1720. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1908316>
9. Прозоровский С. В., Пронин А. В., Санин А. В. Иммунологические механизмы персистенции микоплазм. *Вестник Академии медицинских наук СССР*. 1985; (10): 43–51.
10. Chaidez-Ibarra M. A., Velazquez D. Z., Enriquez-Verdugo I., Castro del Campo N., Rodriguez-Gaxiola M. A., Montero-Pardo A., et al. Pooled molecular occurrence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in poultry: A systematic review and meta-analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (5): 2499–2511. <https://doi.org/10.1111/tbed.14302>
11. Catania S., Bilato D., Gobbo F., Granato A., Terregino C., Iob L., Nicholas R. A. J. Treatment of eggshell abnormalities and reduced egg production caused by *Mycoplasma synoviae* infection. *Avian Diseases*. 2010; 54 (2): 961–964. <https://doi.org/10.1637/9121-110309-Case.1>
12. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.5. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.05_AVIAN_MYCO.pdf
13. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.4. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf
14. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.10. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.10_NEWCASTLE_DIS.pdf
15. Шаравий А. О., Смирнова С. В., Поликарпов Л. С., Игнатова И. А. Респираторный микоплазмоз. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2005; (4): 114–118. <https://elibrary.ru/pkvydb>
16. Kleven S. H. Mycoplasmas in the etiology of multifactorial respiratory disease. *Poultry Science*. 1998; 77 (8): 1146–1149. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1146>
17. Roussan D. A., Khawaldeh G., Shaheen I. A. A survey of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* with avian influenza H9 subtype in meat-type chicken in Jordan between 2011–2015. *Poultry Science*. 2015; 94 (7): 1499–1503. <https://doi.org/10.3382/ps/pev119>
18. Stipkovits L., Egyed L., Palfi V., Beres A., Pitlik E., Somogyi M., et al. Effect of low-pathogenicity influenza virus H3N8 infection on *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Avian Pathology*. 2012; 41 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.635635>
19. Volkov M. S., Varkentin A. V., Irza V. N. Spread of low pathogenic avian influenza A/H9N2 in the world and Russian Federation. Challenges of

gallisepticum infection of chickens. *Avian Pathology*. 2012; 41 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.635635>

19. Волков М. С., Варкентин А. В., Ирза В. Н. О распространении вируса низкопатогенного гриппа А/Н9N2 в мире и на территории Российской Федерации. Проблемы искоренения болезни. *Ветеринария сегодня*. 2019; (3): 51–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2019-3-30-51-56>

20. Kulappu Arachchige S. N., Wawegama N. K., Coppo M. J. C., Derseh H. B., Vaz P. K., Kanci Condello A., et al. Mucosal immune responses in the trachea after chronic infection with *Mycoplasma gallisepticum* in unvaccinated and vaccinated mature chickens. *Cellular Microbiology*. 2021; 23 (1): e13383. <https://doi.org/10.1111/cmi.13383>

REFERENCES

1. Feberwee A., de Wit S., Dijkman R. Clinical expression, epidemiology, and monitoring of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*: an update. *Avian Pathology*. 2022; 51 (1): 2–18. <https://www.doi.org/10.1080/03079457.2021.1944605>
2. Stipkovits L., Kempf I. Mycoplasmoses in poultry. *Revue Scientifique et Technique*. 1996; 15 (4): 1495–1525. <https://doi.org/10.20506/rst.15.4.986>
3. Whithear K. G. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. *Revue Scientifique et Technique*. 1996; 15 (4): 1527–1553. <https://doi.org/10.20506/rst.15.4.985>
4. Animal mycoplasmoses. Ed. by Ya. R. Kovalenko. Moscow: Kolos; 1976. 304 p. (in Russ.)
5. Bessarabov B. F., Vasilevich F. I., Melnikova I. I., Sushkova N. K., Chekmarev A. D. Guide on Avian Diseases. Moscow: KolosS; 2007. 200 p. (in Russ.)
6. Morrow C. J., Bradbury J. M., Gentle M. J., Thorp B. H. The development of lameness and bone deformity in the broiler following experimental infection with *Mycoplasma gallisepticum* or *Mycoplasma synoviae*. *Avian Pathology*. 1997; 26 (1): 169–187. <https://doi.org/10.1080/03079459708419203>
7. Irza V. N. Infectious synovitis birds – epizootology and prevention. *Ptitsevodstvo*. 2009; (11): 39–40. <https://elibrary.ru/ojzdet> (in Russ.)
8. Yadav J. P., Tomar P., Singh Y., Khurana S. K. Insights on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in poultry: a systematic review. *Animal Biotechnology*. 2022; 33 (7): 1711–1720. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1908316>
9. Prozorovskii S. V., Pronin A. V., Sanin A. V. Immunologic mechanisms of the persistence of *Mycoplasma*. *Vestnik Akademii Meditsinskikh Nauk SSSR*. 1985; (10): 43–51. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4082756> (in Russ.)
10. Chaidez-Ibarra M. A., Velazquez D. Z., Enriquez-Verdugo I., Castro del Campo N., Rodriguez-Gaxiola M. A., Montero-Pardo A., et al. Pooled molecular occurrence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in poultry: A systematic review and meta-analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (5): 2499–2511. <https://doi.org/10.1111/tbed.14302>
11. Catania S., Bilato D., Gobbo F., Granato A., Terregino C., Iob L., Nicholas R. A. J. Treatment of eggshell abnormalities and reduced egg production caused by *Mycoplasma synoviae* infection. *Avian Diseases*. 2010; 54 (2): 961–964. <https://doi.org/10.1637/9121-110309-Case.1>
12. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.5. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.05_AVIAN_MYCO.pdf
13. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.4. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf
14. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.10. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.10_NEWCASTLE_DIS.pdf
15. Sharavii A. O., Smirnova S. V., Polikarpov L. S., Ignatova I. A. Respiratornyi mikoplazmoz = Respiratory mycoplasmosis. *Far Eastern Medical Journal*. 2005; (4): 114–118. <https://elibrary.ru/pkvydb> (in Russ.)
16. Kleven S. H. Mycoplasmas in the etiology of multifactorial respiratory disease. *Poultry Science*. 1998; 77 (8): 1146–1149. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1146>
17. Roussan D. A., Khawaldeh G., Shaheen I. A. A survey of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* with avian influenza H9 subtype in meat-type chicken in Jordan between 2011–2015. *Poultry Science*. 2015; 94 (7): 1499–1503. <https://doi.org/10.3382/ps/pev119>
18. Stipkovits L., Egyed L., Palfi V., Beres A., Pitlik E., Somogyi M., et al. Effect of low-pathogenicity influenza virus H3N8 infection on *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Avian Pathology*. 2012; 41 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.635635>
19. Volkov M. S., Varkentin A. V., Irza V. N. Spread of low pathogenic avian influenza A/H9N2 in the world and Russian Federation. Challenges of

disease eradication. *Veterinary Science Today*. 2019; (3): 51–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2019-3-30-51-56>

20. Kulappu Arachchige S. N., Wawegama N. K., Coppo M. J. C., Derseh H. B., Vaz P. K., Kanci Condello A., et al. Mucosal immune responses in the trachea after chronic infection with *Mycoplasma gallisepticum* in unvaccinated and vac-

inated mature chickens. *Cellular Microbiology*. 2021; 23 (11):e13383. <https://doi.org/10.1111/cmi.13383>

Поступила в редакцию / Received 01.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 26.11.2024

Принята к публикации / Accepted 10.01.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Козлов Дмитрий Александрович, ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4893-6567>, kozlov_da@arriah.ru

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

Чупина Ольга Андреевна, канд. биол. наук, заместитель руководителя центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6832-0348>, chupina@arriah.ru

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

Пронин Валерий Васильевич, д-р биол. наук, профессор, заместитель директора ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>, proninvv63@mail.ru

Dmitry A. Kozlov, Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4893-6567>, kozlov_da@arriah.ru

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

Olga A. Chupina, Cand. Sci. (Biology), Deputy Head of the Centre for Preclinical Tests, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6832-0348>, chupina@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

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

Valery V. Pronin, Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy Director, Federal Research Center for Virology and Microbiology, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>, proninvv63@mail.ru

Вклад авторов: Козлов Д. А. – формирование идеи, проведение исследований, создание рисунков, анализ и интерпретация полученных данных, составление черновика рукописи; Волков М. С. – внесение замечаний интеллектуального содержания, анализ и интерпретация полученных данных, утверждение окончательного варианта; Чупина О. А. – проведение исследований, создание рисунков; Мороз Н. В. – подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта; Ирза В. Н. – внесение замечаний интеллектуального содержания; Пронин В. В. – проведение исследований, создание рисунков.

Contribution of the authors: Kozlov D. A. – the idea generation, conducting research, creating figures, analyzing and interpreting the data obtained, drafting a manuscript; Volkov M. S. – making comments on the paper content, analyzing and interpreting the data obtained, approving the final version; Chupina O. A. – conducting research, creating figures; Moroz N. V. – preparing the text and editing, approval of the final version; Irza V. N. – making comments on the paper content; Pronin V. V. – conducting research, creating figures.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-62-68>
УДК 619:579.841.93:636.22/.28:616-097.3



Функционально-метаболическая активность нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, сенсibilизированного неагглютиногенным штаммом бруцелл

О. О. Манакова, Т. А. Янченко, В. С. Власенко

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ»), пр. Королёва, 26, г. Омск, 644012, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Бруцеллез остается одной из наиболее распространенных инфекций в группе особо опасных зоонозов. Устойчивость к патогенным микроорганизмам рода *Brucella* зависит от полноценного клеточно-опосредованного иммунитета, включающего в себя активацию бактерицидных механизмов фагоцитов. Несмотря на неоднократно доказанную роль нейтрофилов в борьбе со многими бактериальными патогенами, функции этих иммунокомпетентных клеток при бруцеллезе оставались неизученными в течение продолжительного времени.

Цель исследования. Изучение функционально-метаболической активности нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, сенсibilизированного неагглютиногенным штаммом бруцелл.

Материалы и методы. У молодняка крупного рогатого скота, иммунизированного против бруцеллеза вакциной из неагглютиногенного штамма *Brucella abortus* RB-51, оценивали функционально-метаболическое состояние нейтрофилов на 7, 14, 21, 28, 35-е сут после иммунизации в тесте с нитросиним тетразолием, а также по уровню ферментной активности миелопероксидазы и содержанию неферментных катионных белков. Измерения показателей проводили фотометрическим способом в спонтанном и стимулированном вариантах постановки с последующим расчетом коэффициентов стимуляции. В качестве стимуляторов реакции применяли дезинтеграты бруцелл и корпускулярные антигены, изготовленные из вакцинных штаммов бруцелл с разной антигенной структурой.

Результаты. Было установлено, что при иммунизации молодняка крупного рогатого скота неагглютиногенным штаммом бруцелл функционально-метаболический статус нейтрофилов характеризуется усилением активности нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием на 7-е и 35-е сут исследования, отсутствием выраженных изменений в показателях ферментной активности миелопероксидазы, а также снижением количества неферментных катионных белков на 7–14-е сут после вакцинации.

Заключение. Наиболее выраженное увеличение коэффициентов стимуляции отмечается при применении в качестве стимулятора реакции дезинтегратов бруцелл. При оценке кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием максимальные значения коэффициентов стимуляции отмечали на 28-е сут после вакцинации, при оценке кислороднезависимого метаболизма – на 14-е сут.

Ключевые слова: нейтрофилы, антигены, крупный рогатый скот, вакцинация, бруцеллы

Благодарности: Статья подготовлена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме FNUN-2022-0035 «Разработка новых и усовершенствование существующих средств и методов диагностики и профилактики социально значимых инфекций с целью сохранения эпизоотического благополучия и получения качественной и безопасной продукции с учетом генетических баз данных и особенностей возбудителей, направлений и селекции животноводства, технологий кормления, экономических и географических условий».

Для цитирования: Манакова О. О., Янченко Т. А., Власенко В. С. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, сенсibilизированного неагглютиногенным штаммом бруцелл. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 62–68. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-62-68>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Манакова Ольга Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории специфической профилактики бруцеллеза отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», ул. Лермонтова, 93, г. Омск, 644001, Россия; golovachcheva@mail.ru

Functional and metabolic activity of neutrophils in young cattle sensitized with a non-agglutinogenic strain of *Brucella*

Olga O. Manakova, Tatiana A. Yanchenko, Vasily S. Vlasenko

Omsk Agrarian Scientific Center, 26 Korolev ave., Omsk 644012, Russia

ABSTRACT

Introduction. Brucellosis remains one of the most common highly dangerous zoonotic infections. Resistance to the pathogenic microorganisms of the genus *Brucella* depends on the appropriate cell-mediated immunity, which includes the activation of the bactericidal mechanisms of phagocytes. Despite the repeatedly proven role of neutrophils in the fight against many bacterial pathogens, the functions of these immunocompetent cells in the setting of brucellosis have long remained unstudied.

© Манакова О. О., Янченко Т. А., Власенко В. С., 2025

Objective. The study aimed to examine the functional and metabolic activity of neutrophils in young cattle sensitized with a non-agglutinogenic strain of *Brucella*.

Materials and methods. The functional and metabolic state of neutrophils in young cattle immunized against brucellosis with a vaccine produced from the non-agglutinogenic RB-51 strain of *Brucella abortus* was assessed on days 7, 14, 21, 28, 35 after immunization using nitroblue tetrazolium (NBT) test, as well as based on the level of the enzymatic activity of myeloperoxidase and the content of non-enzymatic cationic proteins. The measurements were made photometrically in the spontaneous and stimulated variants of the test, with subsequent calculation of stimulation coefficients. Disintegrated and corpuscular antigens prepared from *Brucella* vaccine strains with different antigen structures were used as reaction stimulants.

Results. It was found that the functional and metabolic status of neutrophils in young cattle immunized with the non-agglutinogenic strain of *Brucella* is characterized by increased neutrophil activity in the NBT test on days 7 and 35 of the experiment, by the absence of significant changes in the enzymatic activity of myeloperoxidase and a decrease in the content of non-enzymatic cationic proteins on days 7–14 after vaccination.

Conclusion. The most pronounced increase in stimulation coefficients was observed when using disintegrated *Brucella* antigens as a reaction stimulant. The highest stimulation coefficients were registered on day 28 after vaccination during the assessment of the oxygen-dependent metabolism of neutrophils with the NBT test and on day 14 during the assessment of the oxygen-independent metabolism.

Keywords: neutrophils, antigens, cattle, vaccination, *Brucella*

Acknowledgements: The paper was prepared with the financial support from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation as part of research project FNU-2022-0035 “Developing new and improving existing tools and methods for diagnosis and prevention of socially significant infections in order to maintain animal disease freedom and produce high-quality and safe products, taking into account genetic databases, characteristics of pathogens, trends in livestock breeding, feeding technologies, economic and geographical conditions”.

For citation: Manakova O. O., Yanchenko T. A., Vlasenko V. S. Functional and metabolic activity of neutrophils in young cattle sensitized with a non-agglutinogenic strain of *Brucella*. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 62–68. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-62-68>

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

For correspondence: Olga O. Manakova, Junior Researcher, Laboratory of Specific Prevention of Brucellosis, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, 93 Lermontova str., Omsk 644001, Russia, golovachcheva@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез крупного рогатого скота, несмотря на применяемую в животноводстве научно обоснованную систему противобруцеллезных мероприятий, остается эндемичным для большинства территорий Российской Федерации и представляет опасность для животноводческих предприятий [1, 2].

В настоящее время одной из основных составляющих системы противобруцеллезных мероприятий является специфическая профилактика [3, 4, 5, 6], главная цель которой заключается в воспроизведении у сельскохозяйственных животных бессимптомной или латентной инфекции в сочетании с нестерильным иммунитетом, переходящим в постинфекционный стерильный [7, 8, 9].

Устойчивость макроорганизма к патогенным микроорганизмам рода *Brucella* на первых этапах развития инфекционного процесса определяется активностью клеточных факторов защиты, а именно активацией бактерицидных механизмов фагоцитов [10, 11, 12]. Основными фагоцитирующими клетками, осуществляющими противобруцеллезную защиту, являются полиморфно-ядерные нейтрофилы. Функционально-метаболический статус нейтрофилов определяет выраженность воспалительной реакции, развивающейся в ответ на проникновение в организм инфекционных возбудителей [13, 14, 15]. Бактерицидные свойства нейтрофилов обеспечиваются гидролитическими ферментами, катионными белками, активными формами кислорода [16, 17, 18].

Исследования ферментативных и неферментативных систем нейтрофилов позволяют обнаружить изменения в организме на ранних стадиях развития инфекционного процесса, до появления более глубоких

изменений в органах и системах, выявляемых с помощью традиционных методов исследований. В научной литературе описаны особенности функционирования систем нейтрофилов в опытах на лабораторных и других животных [19, 20, 21].

На сегодняшний день особый научный интерес представляет проблема клеточно-опосредованного противобруцеллезного иммунитета у продуктивных животных. Исследование клеточных реакций *in vitro* в ответ на стимуляцию изготовленными в ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ») бруцеллезными антигенами можно считать информативным и объективным подходом при анализе иммунологической перестройки организма на ранних сроках после вакцинации, что очень важно при оценке эффективности иммунобиологических препаратов.

Цель исследования – изучить функционально-метаболическую активность нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, сенсibilизированного неагглютиногенным штаммом бруцелл.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в отделе ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ».

Материалом для исследования служила гепаринизированная периферическая кровь крупного рогатого скота. Отбор проб осуществляли до вакцинации и на 7, 14, 21, 28, 35-е сут после вакцинации.

Штаммы бактерий. Для изготовления антигенов использовали штаммы бруцелл, находящиеся в биоресурсной коллекции отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ»: *Brucella abortus* 16/4 в стабильной R-форме и *Brucella abortus* 19 в S-форме.

Для иммунизации молодняка применяли вакцину против бруцеллеза крупного рогатого скота из неаглютиногенного штамма *B. abortus* RB-51 производства США.

Животные. Эксперимент проводили на 4–5-месячных телках ($n = 50$) красной степной породы, находящейся на выгульном содержании и сбалансированном рационе.

Антигены изготовлены в условиях научной лаборатории по модифицированным методикам Н. П. Иванова [22].

C_S – корпускулярный антиген, изготовленный из штамма *B. abortus* 19.

C_R – корпускулярный антиген, изготовленный из штамма *B. abortus* 16/4.

D_S – антиген, изготовленный методом ультразвуковой дезинтеграции (дезинтеграт) из штамма *B. abortus* 19.

D_R – антиген, изготовленный методом ультразвуковой дезинтеграции (дезинтеграт) из штамма *B. abortus* 16/4.

Функционально-метаболическое состояние нейтрофилов оценивали в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) по модифицированной методике [23], а также по количеству катионных белков и миелопероксидазы по модифицированной методике, описанной Н. М. Хитрик [24]. Измерения проводили фотометрическим методом в спонтанном (без обработки антигеном) и стимулированном (с обработкой антигеном) вариантах постановки. Результаты реакции фиксировали с помощью многоканального иммунохимического анализатора Fluorofot STD-Less-486-M (Россия) и выражали в условных единицах оптической плотности с последующим подсчетом коэффициента стимуляции по формуле

$$\text{Коэффициент стимуляции} = \frac{\text{показатель стимулированной пробы}}{\text{показатель спонтанной пробы}}$$

В качестве стимуляторов реакций использовали дезинтеграты бруцелл (D_R и D_S) и корпускулярные антигены (C_R и C_S).

Математическую обработку полученных цифровых данных осуществляли с помощью стандартных методов вариационной статистики с определением средних арифметических (M) и расчета ошибок средних арифметических (m). С целью оценки достоверности различий (p) использовали t -критерий Стьюдента. Также применяли метод нормированного отклонения с автоматическим определением показателей с помощью специальной программы для ПК [25] в соответствии с формулой

$$t = \frac{M_2 - M_1}{S_{d_1}}$$

где t – нормированное отклонение;

M – среднее опытной (M_2) и контрольной (M_1) групп;

S_d – стандартное отклонение контрольной группы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование проведено в благополучном по бруцеллезу сельскохозяйственном предприятии с регулярным применением вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота из неаглютиногенного штамма *B. abortus* RB-51.

На начальном этапе исследований была проведена оценка функционально-метаболического состояния нейтрофилов при помощи НСТ-теста, ферментной активности миелопероксидазы и содержания неферментных катионных белков в разные сроки после сенсибилизации животных неаглютиногенным штаммом бруцелл.

Установлено, что уровень спонтанной тетразолиевой активности нейтрофилов после повышения к 7-м сут от начала эксперимента имел некоторую тенденцию к снижению, достигая минимума к 28-м сут, после чего вновь увеличивался, но не достигал достоверной разницы относительно фоновых значений.

При внесении в клеточную взвесь фагоцитов как корпускулярных (C_S , C_R), так и дезинтегрированных (D_S , D_R) антигенов также наблюдали усиленную генерацию кислородных радикалов в нейтрофильных гранулоцитах к 7-м сут, которая, в зависимости от используемого антигена, возвращалась к исходному уровню (до введения вакцины) на 14–28-е сут от начала эксперимента. Следует отметить, что на 35-е сут отмечали повторное увеличение значений индуцированной НСТ-активности. Так, при стимуляции антигенами C_S и D_S регистрировали статистически значимое увеличение показателей в 2,1 ($p < 0,05$) и 1,9 ($p < 0,05$) раза соответственно относительно показателей до вакцинации.

С 14-х сут после вакцинации отмечали увеличение коэффициента стимуляции НСТ при использовании в качестве индукторов корпускулярных антигенов C_S , C_R и дезинтеграта D_S , тогда как стимулирующее действие антигена D_R проявлялось с 21-х сут. Следует также отметить, что максимальных значений коэффициент стимуляции достигал на 28-е сут от начала эксперимента, особенно при взаимодействии фагоцитов с дезинтегратами D_S и D_R , где этот параметр относительно значений, зарегистрированных до сенсибилизации бруцеллами, возрос соответственно в 1,6 и 2,3 раза. В последующем отмечали снижение коэффициентов стимуляции НСТ, однако при применении антигена C_S коэффициент оставался на том же уровне (табл. 1).

Данные проведенного исследования подтверждают ранее полученные нами результаты. Так, у морских свинок, иммунизированных неаглютиногенным штаммом бруцелл, максимальные значения коэффициентов стимуляции при определении тетразолиевой активности нейтрофилов отмечали на 28-е сут после иммунизации [26].

Спонтанная и стимулированная ферментная активность миелопероксидазы, которая также характеризует кислородпродуцирующую способность нейтрофилов, в ходе динамических исследований не имела статистически значимых изменений. Значения коэффициентов стимуляции достигали максимума на 21-е сут от начала эксперимента, за исключением тех случаев, когда в качестве антигена в пробы крови вносили дезинтеграт D_S (табл. 2).

Катионные белки нейтрофилов – другой показатель, который, в отличие от двух предыдущих, характеризовал анаэробный метаболизм фагоцитов, в ходе динамических исследований имел некоторые особенности изменений, которые не наблюдали при изучении тетразолиевой и ферментной активности нейтрофилов. Так, спонтанная активность антимикробных пептидов, которая в начале эксперимента составила $(2,15 \pm 0,48)$,

Таблица 1

Динамика коэффициентов стимуляции при определении тетразолиевой активности нейтрофильных гранулоцитов у молодняка крупного рогатого скота в разные сроки после вакцинации, $M \pm m$

Table 1

Stimulation coefficient dynamics in tests for tetrazolium activity of neutrophil granulocytes in young cattle at different time points after vaccination, $M \pm m$

Антиген	Срок после вакцинации, сут					
	до введения	7	14	21	28	35
C _S	0,63 ± 0,17	0,65 ± 0,02	1,00 ± 0,28	1,05 ± 0,06	1,00 ± 0,08	1,03 ± 0,24
C _R	0,72 ± 0,31	0,75 ± 0,13	0,89 ± 0,10	0,85 ± 0,10	1,04 ± 0,14	0,80 ± 0,11
D _S	0,82 ± 0,44	0,71 ± 0,09	0,85 ± 0,22	0,87 ± 0,09	1,33 ± 0,19	0,80 ± 0,16
D _R	0,78 ± 0,25	0,70 ± 0,07	0,72 ± 0,14	1,18 ± 0,33	1,80 ± 0,32	0,73 ± 0,13

Таблица 2

Динамика коэффициентов стимуляции при определении ферментной активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов у молодняка крупного рогатого скота в разные сроки после вакцинации, $M \pm m$

Table 2

Stimulation coefficient dynamics in tests for enzymatic activity of myeloperoxidase of neutrophil granulocytes in young cattle at different time points after vaccination, $M \pm m$

Антиген	Срок после вакцинации, сут					
	до введения	7	14	21	28	35
C _S	0,87 ± 0,13	0,99 ± 0,02	0,99 ± 0,01	1,02 ± 0,01	0,99 ± 0,01	1,00 ± 0,01
C _R	1,00 ± 0,02	0,99 ± 0,02	0,97 ± 0,01	1,03 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,97 ± 0,01
D _S	1,01 ± 0,03	1,00 ± 0,01	1,00 ± 0,004	0,98 ± 0,02	0,85 ± 0,10	0,99 ± 0,01
D _R	0,96 ± 0,02	0,98 ± 0,02	0,97 ± 0,01	1,03 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,96 ± 0,01

достигла минимума уже на 14-е сут после сенсibilизации животных бруцеллами (1,03 ± 0,03), а затем после кратковременного незначительного повышения на 28-е сут до (1,23 ± 0,19) вновь снизилась на 35-е сут и составила (1,07 ± 0,11).

При обработке проб крови корпускулярным антигеном из S-штамма активность катионных белков к 14-м сут от начала эксперимента по сравнению с фоновыми значениями снижалась в 1,3 раза ($p < 0,05$), затем на 28-е сут – в 1,78 раза ($p < 0,05$) и на 35-е сут – в 1,67 раза ($p < 0,05$), тогда как при применении антигена, изготовленного из R-штамма бруцелл, достоверное уменьшение кислороднезависимого метаболизма ней-

трофилов регистрировали с 21-х сут после введения молодняку крупного рогатого скота неагглютиногенного штамма бруцелл.

В более поздний срок наблюдали спад активности катионных белков нейтрофилов в случаях использования дезинтегрированных D_S- и D_R-антигенов. В частности, на 28-е сут от начала эксперимента относительно исходных значений антимикробная деятельность фагоцитов была снижена соответственно в 1,73 ($p < 0,05$) и 2,24 раза ($p < 0,05$), а на 35-е – в 2,46 ($p < 0,05$) и 3,4 раза ($p < 0,05$).

На 14-е сут после сенсibilизации животных бруцеллами коэффициент стимуляции достигал

Таблица 3

Динамика коэффициентов стимуляции при оценке неферментных катионных белков нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота в разные сроки после вакцинации, $M \pm m$

Table 3

Stimulation coefficient dynamics in tests for non-enzymatic cationic proteins of neutrophils in young cattle at different time points after vaccination, $M \pm m$

Антиген	Срок после вакцинации, сут					
	до введения	7	14	21	28	35
C _S	0,89 ± 0,18	1,22 ± 0,21	1,30 ± 0,10	1,49 ± 0,31	0,86 ± 0,12	0,96 ± 0,13
C _R	1,24 ± 0,14	1,25 ± 0,27	1,80 ± 0,26	1,03 ± 0,03 ^a	1,10 ± 0,26	1,38 ± 0,16
D _S	1,43 ± 0,18	1,45 ± 0,35	2,20 ± 0,19 ^a	1,41 ± 0,24	1,40 ± 0,20	1,16 ± 0,19
D _R	1,28 ± 0,18	1,31 ± 0,28	2,15 ± 0,11 ^a	1,52 ± 0,29	0,96 ± 0,12	0,74 ± 0,06 ^a

^a $p < 0,05$.

Таблица 4
Определение специфической сенсибилизации нейтрофилов к бруцеллам по анализу коэффициентов стимуляции НСТ-теста, миелопероксидазы и катионных белков

Table 4
Determination of specific sensitization of neutrophils to *Brucella* by analysis of stimulation coefficients of NBT test, myeloperoxidase and cationic proteins

Антиген	Срок исследования, сут				
	7	14	21	28	35
НСТ-тест					
C _S	+0,05	+1,21	+1,39	+1,21	+1,30
C _R	+0,52	+0,30	+0,24	+0,60	+0,13
D _S	-0,14	+0,41	+0,61	+0,67	-0,20
D _R	-0,19	-0,14	+0,93	+2,38	-0,10
миелопероксидаза					
C _S	+0,50	+0,53	+0,67	+0,50	+0,54
C _R	-0,30	-0,72	+0,96	-1,47	-0,90
D _S	-0,17	-0,29	-0,53	-2,78	-0,44
D _R	+0,40	+0,22	+1,69	-0,66	-0,07
катионные белки					
C _S	+1,06	+1,32	+1,93	-0,10	+0,21
C _R	+0,05	+2,23	-1,47	-0,56	+0,55
D _S	+0,06	+2,42	-0,07	-0,09	-0,85
D _R	+0,09	+2,76	+0,76	-1,01	-1,69

максимального уровня, особенно это касалось дезинтеграторов D_S и D_R, при применении которых увеличение относительно фоновых значений было наиболее выраженным, соответственно в 1,54 ($p < 0,05$) и 1,68 ($p < 0,05$) раза. В последующие сроки исследования происходило снижение этого коэффициента (табл. 3).

Динамика коэффициентов стимуляции при оценке неферментных катионных белков нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота подтверждает результаты, полученные нами при проведении эксперимента на морских свинках, иммунизированных неагглютиногенным штаммом бруцелл, по результатам которого наиболее выраженную активность неферментных катионных белков нейтрофилов проявляли на 14-е сут после введения иммунобиологического препарата [27].

На следующем этапе исследований с помощью специальной компьютерной программы была проведена статистическая обработка коэффициентов стимуляции НСТ-теста, миелопероксидазы и катионных белков с помощью метода нормированного отклонения для установления степени их трансформации относительно среднего уровня в разные сроки исследований. В тех случаях, когда отклонение от среднего уровня вышло за пределы +1,0 сигмы, отмечали статистически достоверную разницу, что указывало на выраженную специфическую сенсибилизацию нейтрофилов к бруцеллам. Результаты представлены в таблице 4.

Как показывают полученные данные, при постановке НСТ-теста выраженная специфическая сенсибилизация была зарегистрирована на 14–35-е сут от начала

эксперимента при использовании корпускулярного антигена C_S и на 28-е сут при стимуляции дезинтегратором D_R, тогда как при оценке ферментной активности миелопероксидазы только на 21-е сут при индукции дезинтегрированным антигеном D_R ($t = +1,69$).

В отличие от параметров кислородзависимого метаболизма при определении катионных белков, выполняющих свою функцию в анаэробных условиях, специфическую сенсибилизацию фиксировали в более ранние сроки. Так, при использовании C_S-антигена отклонение от среднего уровня за пределы +1,0 сигмы наблюдали с 7-х по 21-е сут, а C_R-, D_S- и D_R-антигенов только на 14-е сут. Необходимо отметить, что дезинтегрированные антигены индуцировали более выраженную специфическую сенсибилизацию (от +2,42 и выше).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно прийти к заключению, что функционально-метаболическая активность нейтрофилов у молодняка крупного рогатого скота, иммунизированного *B. abortus* RB-51, характеризуется усилением спонтанной и стимулированной тетразолиевой активности нейтрофилов независимо от применяемого антигена на 7-е и 35-е сут после вакцинации в 1,1–2,4 раза, снижением концентрации катионных белков с 7–14-х сут от начала эксперимента в 1,2–2,1 раза при отсутствии выраженных изменений в содержании миелопероксидазы.

Выраженное увеличение коэффициентов стимуляции в 1,5–2,3 раза наблюдали при применении дезинтегрированных антигенов. По результатам математической обработки методом нормированного отклонения максимальные значения коэффициентов стимуляции отмечали при оценке аэробного метаболизма нейтрофилов (НСТ-тест) на 28-е сут после инокуляции вакцинного штамма при внесении D_R-антигена ($t = +2,38$), а при анализе анаэробного метаболизма (катионные белки) – на 14-е сут с применением D_S- и D_R-антигенов (соответственно $t = +2,42$ и $+2,76$), что свидетельствовало о выраженной специфической сенсибилизации нейтрофилов к бруцеллам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arakelyan P. K., Dimova A. S., Dimov S. K., Rudenko A. V., Yanchenko T. A., Orobets V. A. Ecological bases of the epizootic process of brucellosis and its control in small ruminants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021; 723:042015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/723/4/042015>
2. Гордиенко Л. Н., Новиков А. Н., Куликова Е. В. Динамика развития эпизоотического процесса в свежем очаге бруцеллеза, возникшем на фоне длительного благополучия. *Ветеринария*. 2023; (6): 16–19. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.6.16-19>
3. Elrashedy A., Gaafar M., Mousa W., Nayel M., Salama A., Zaghawa A., et al. Immune response and recent advances in diagnosis and control of brucellosis. *German Journal of Veterinary Research*. 2022; 2 (1): 10–24. <https://doi.org/10.51585/gjvr.2022.1.0033>
4. Аракелян П. К., Трегубов А. Н., Вергун А. А., Ильин Е. Н., Димова А. С., Димов С. К., Янченко Т. А. Роль специфической профилактики в контроле эпизоотического процесса бруцеллеза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2021; (11): 28–32. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.11.28-32>
5. Аракелян П. К., Трегубов А. Н., Вергун А. А., Ильин Е. Н., Янченко Т. А., Димова А. С. и др. Эффективность конъюнктивной иммунизации крупного рогатого скота вакциной из штамма *B. abortus* 19 при бруцеллезе. *Ветеринария*. 2020; (10): 9–12. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.09-12>
6. Heidary M., Dashtbin S., Ghanavati R., Mahdizade Ari M., Bostanghadiri N., Darbandi A., et al. Evaluation of brucellosis vaccines: A comprehensive review. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:925773. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.925773>

7. Gheibi A., Khanahmad H., Kashfi K., Sarmadi M., Khorramzadeh M. R. Development of new generation of vaccines for *Brucella abortus*. *Heliyon*. 2018; 4 (12):e01079. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01079>

8. Simpson G. J. G., Marcotty T., Rouille E., Chilundo A., Letteson J.-J., Godfroid J. Immunological response to *Brucella abortus* strain 19 vaccination of cattle in a communal area in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2018; 89:a1527. <https://doi.org/10.4102/jsava.v89i0.1527>

9. Senevirathne A., Hewawaduge C., Lee J. H. Attenuated *Salmonella* secreting *Brucella* protective antigens confer dual-faceted protection against brucellosis and salmonellosis in a mouse model. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2019; 209: 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.02.001>

10. Zimmermann P., Curtis N. Factors that influence the immune response to vaccination. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019; 32 (2):e00084-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00084-18>

11. Абдессемед Д., Агольцов В. А., Веселовский С. Ю., Попова О. М., Красникова Е. С., Семиволос А. М., Девришов Д. А. Значение клеточных факторов иммунитета при применении экологически безопасной сплит-конъюгированной противобруцеллезной вакцины в сочетании с иммуномодуляторами. *Теоретическая и прикладная экология*. 2020; (2): 172–179. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-2-172-179>

12. Celli J. The intracellular life cycle of *Brucella* spp. *Microbiology Spectrum*. 2019; 7:10.1128/microbiolspec.bai-0006-2019. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0006-2019>

13. Сакидиров О. П., Дмитриев А. Ф. Критерии оценки сущности функционирования инфекционных паразитарных систем хронических инфекций. *Известия Дагестанского ГАУ*. 2023; (2): 126–130. <https://elibrary.ru/nakndr>

14. Avila-Calderón E. D., Flores-Romo L., Sharon W., Donis-Maturano L., Becerril-García M. A., Arreola M. G. A., et al. Dendritic cells and *Brucella* spp. interaction: the sentinel host and the stealthy pathogen. *Folia Microbiologica*. 2020; 65 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00691-6>

15. Çelik M., Ceylan M. R., Altındağ D., Dinçer N. G., Alkan S. Diagnostic significance of hematological parameters in brucellosis. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2023; 20 (1): 50–55. <https://doi.org/10.23950/jcmk/12929>

16. Moreno E., Barquero-Calvo E. The role of neutrophils in brucellosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2020; 84 (4):e00048-20. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00048-20>

17. Кулаков Ю. К. Молекулярные механизмы персистенции возбудителя бруцеллеза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 95 (4): 68–76. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-68-76>

18. Горчакова Н. Г. Особенности паразитарной системы бруцеллеза. *Научно-исследовательские публикации*. 2017; (4): 14–27. <https://elibrary.ru/yqdcst>

19. Алимов А. М., Закирова Л. А. Показатели клеточного иммунитета у морских свинок при вакцинации и экспериментальной бруцеллезной инфекции. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2016; 227 (3): 4–7. <https://elibrary.ru/wmapzf>

20. Дегтяренко Л. В., Власенко В. С., Скляров О. Д. Оценка иммунологических тестов при бруцеллезе собак, вызываемом *B. canis*. *Ветеринария*. 2016; (7): 60–63. <https://elibrary.ru/wjdhbb>

21. Дегтяренко Л. В., Власенко В. С., Бронников В. С. Оценка механизмов иммуногенеза у морских свинок, сенсibilизированных бруцеллами. *Вестник ветеринарии*. 2015; (2): 42–46. <https://elibrary.ru/tvqmnx>

22. Иванов Н. П. Научные основы разработки диагностических препаратов из бруцелл: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Казань; 1984. 41 с.

23. Дегтяренко Л. В., Гордиенко Л. Н., Власенко В. С., Гулюкин М. И., Альбертян М. П., Искандаров М. И. и др. Методы иммунологической оценки животных, сенсibilизированных измененными формами бруцелл: методическое пособие. М.; Омск: ЛИТЕРА; 2017. 30 с. <https://elibrary.ru/zenyrb>

24. Хитрик Н. М. Функциональная активность фагоцитов у больных с инфекцией, вызванной вирусом простого герпеса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2007. 28 с.

25. Власенко В. С., Борисов Е. С., Кособоков Е. А. Оценка эффективности иммунных реакций на введение иммунобиологических препаратов. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023611548 Российская Федерация. ФГБНУ «Омский аграрный научный центр». № 2023610734. Заявл. 23.01.2023. Опубл. 23.01.2023. Бюл. № 2.

26. Манакова О. О., Янченко Т. А., Власенко В. С. Испытание экспериментальных бруцеллезных антигенов в стимулированном клеточном тесте с нитросиним тетразолием. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет)*. 2024; (1): 212–218. <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-70-1-212-218>

27. Манакова О. О., Янченко Т. А., Власенко В. С. Особенности килород-независимого метаболизма нейтрофилов у животных, сенсibilизированных неагглютиногенным штаммом бруцелл. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2024; 54 (5): 81–88. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2024-5-8>

REFERENCES

1. Arakelyan P. K., Dimova A. S., Dimov S. K., Rudenko A. V., Yanchenko T. A., Orobets V. A. Ecological bases of the epizootic process of brucellosis and its control in small ruminants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021; 723:042015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/723/4/042015>

2. Gordienko L. N., Novikov A. N., Kulikova E. V. The dynamics of development the epizootic process in the new brucellosis focus, which was emerged against the background longtime welfare. *Veterinariya*. 2023; (6): 16–19. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.6.16-19> (in Russ.)

3. Elrashedy A., Gaafar M., Mousa W., Nayel M., Salama A., Zagahwa A., et al. Immune response and recent advances in diagnosis and control of brucellosis. *German Journal of Veterinary Research*. 2022; 2 (1): 10–24. <https://doi.org/10.51585/gjvr.2022.1.0033>

4. Arakelyan P. K., Tregubov A. N., Vergun A. A., Ilyin E. N., Dimova A. S., Dimov S. K., Yanchenko T. A. The role of specific prevention in the control of the epizootic process of brucellosis cattle. *Veterinariya*. 2021; (11): 28–32. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2021.24.11.28-32> (in Russ.)

5. Arakelyan P. K., Tregubov A. N., Vergun A. N., Yanchenko T. A., Dimova A. S., et al. Antiepi-zootic effectiveness of conjunctival immunization of cattle with a vaccine from the *B. abortus* 19 strain in brucellosis. *Veterinariya*. 2020; (10): 9–12. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.10.09-12> (in Russ.)

6. Heiday M., Dashtbin S., Ghanavati R., Mahdizade Ari M., Bostanghadiri N., Darbandi A., et al. Evaluation of brucellosis vaccines: A comprehensive review. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:925773. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.925773>

7. Gheibi A., Khanahmad H., Kashfi K., Sarmadi M., Khorramzadeh M. R. Development of new generation of vaccines for *Brucella abortus*. *Heliyon*. 2018; 4 (12):e01079. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01079>

8. Simpson G. J. G., Marcotty T., Rouille E., Chilundo A., Letteson J.-J., Godfroid J. Immunological response to *Brucella abortus* strain 19 vaccination of cattle in a communal area in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2018; 89:a1527. <https://doi.org/10.4102/jsava.v89i0.1527>

9. Senevirathne A., Hewawaduge C., Lee J. H. Attenuated *Salmonella* secreting *Brucella* protective antigens confer dual-faceted protection against brucellosis and salmonellosis in a mouse model. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2019; 209: 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.02.001>

10. Zimmermann P., Curtis N. Factors that influence the immune response to vaccination. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019; 32 (2):e00084-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00084-18>

11. Abdessmed D., Agoltsov V. A., Veselovsky S. Yu., Popova O. M., Krasnikova E. S., Semyvolos A. M., Devrishov D. A. Importance of cellular immunity factors in application of the environmentally safe split-conjugated anti-brucellosis vaccine in combination with immunomodulators. *Theoretical and Applied Ecology*. 2020; (2): 172–179. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-2-172-179> (in Russ.)

12. Celli J. The intracellular life cycle of *Brucella* spp. *Microbiology Spectrum*. 2019; 7:10.1128/microbiolspec.bai-0006-2019. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0006-2019>

13. Sakidibirov O. P., Dmitriev A. F. Criteria for assessing the essence of functioning infectious parasitic systems of chronic infections. *Daghestan GAU Proceedings*. 2023; (2): 126–130. <https://elibrary.ru/nakndr> (in Russ.)

14. Avila-Calderón E. D., Flores-Romo L., Sharon W., Donis-Maturano L., Becerril-García M. A., Arreola M. G. A., et al. Dendritic cells and *Brucella* spp. interaction: the sentinel host and the stealthy pathogen. *Folia Microbiologica*. 2020; 65 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00691-6>

15. Çelik M., Ceylan M. R., Altındağ D., Dinçer N. G., Alkan S. Diagnostic significance of hematological parameters in brucellosis. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2023; 20 (1): 50–55. <https://doi.org/10.23950/jcmk/12929>

16. Moreno E., Barquero-Calvo E. The role of neutrophils in brucellosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2020; 84 (4):e00048-20. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00048-20>

17. Kulakov Yu. K. Molecular mechanisms of *Brucella* persistence. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 95 (4): 68–76. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-68-76> (in Russ.)

18. Gorchakova N. G. Features of the parasitic system of brucellosis. *Journal of Scientific Research Publications*. 2017; (4): 14–27. <https://elibrary.ru/yqdcst> (in Russ.)

19. Alimov A. M., Zakirova L. A. Data of cell immunity at guinea pigs through vaccination and experimental brucellosis infection. *Scientific Notes*

Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine. 2016; 227 (3): 4–7. <https://elibrary.ru/wmapzf> (in Russ.)

20. Degtyarenko L. V., Vlasenko V. S., Sclyarov O. D. The estimation of immunological tests at dogs' brucellosis caused by *B. canis*. *Veterinariya*. 2016; (7): 60–63. <https://elibrary.ru/wjdhhb> (in Russ.)

21. Degtyarenko L. V., Vlasenko V. S., Bronnikov V. S. Immunogenesis mechanisms in *Brucella*-sensitized guinea pigs. *Vestnik veterinarii*. 2015; (2): 42–46. <https://elibrary.ru/tvqmnx> (in Russ.)

22. Ivanov N. P. Scientific bases for the development of *Brucella*-based diagnostics: Author's abstract of thesis for degree of Dr. Sci. (Veterinary Medicine). Kazan; 1984. 41 p. (in Russ.)

23. Degtyarenko L. V., Gordienko L. N., Vlasenko V. S., Gulyukin M. I., Albertyan M. P., Iskandarov M. I., et al. Methods of immunological evaluation of animals sensitized with altered forms of *Brucella*: a methodological guide. Moscow; Omsk: LITERA; 2017. 30 p. <https://elibrary.ru/zenyrb> (in Russ.)

24. Khitrik N. M. Functional activity of phagocytes in patients with herpes simplex virus infection: Author's abstract of thesis for degree of Cand. Sci. (Medicine). Moscow; 2007. 28 p. (in Russ.)

25. Vlasenko V. S., Borisov E. S., Kosobokov E. A. Assessment of effectiveness of immune responses to the administration of immunobiologicals. Certificate of official registration for computer software No. 2023611548 Russian Federation. Omsk Agrarian Scientific Center. No. 2023610734. Date of filing: 23.01.2023. Date of publication: 23.01.2023. Bull. No. 2. (in Russ.)

26. Manakova O. O., Yanchenko T. A., Vlasenko V. S. Testing of experimental brucellosis antigens in a stimulated cell test with nitroblue tetrazolium. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2024; (1): 212–218. <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-70-1-212-218> (in Russ.)

27. Manakova O. O., Yanchenko T. A., Vlasenko V. S. Features of oxygen-independent metabolism of neutrophils in the animals sensitized with non-agglutinogenic *Brucella* strain. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2024; 54 (5): 81–88. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2024-5-8> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 01.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 02.11.2024

Принята к публикации / Accepted 10.12.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Манакова Ольга Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории специфической профилактики бруцеллеза отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0009-0005-7523-4981>, golovachcheva@mail.ru

Янченко Татьяна Александровна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории специфической профилактики бруцеллеза отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-6886-0309>, tatyana_vass@mail.ru

Власенко Василий Сергеевич, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, vvs-76@list.ru

Olga O. Manakova, Junior Researcher, Laboratory of Specific Prevention of Brucellosis, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0005-7523-4981>, golovachcheva@mail.ru

Tatiana A. Yanchenko, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Specific Prevention of Brucellosis, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-6886-0309>, tatyana_vass@mail.ru

Vasily S. Vlasenko, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, vvs-76@list.ru

Вклад авторов: Манакова О. О. – проведение экспериментов, подбор научной литературы, статистическая обработка результатов, оформление статьи; Янченко Т. А. – проведение экспериментов, редактирование статьи; Власенко В. С. – концепция представления материалов, статистическая обработка результатов, интерпретация данных и обобщение результатов исследования.

Contribution of the authors: Manakova O. O. – conducting experiments, selecting scientific literature, statistical processing of results, paper design; Yanchenko T. A. – conducting experiments, editing the paper; Vlasenko V. S. – conceptualization of material presentation, statistical processing of results, data interpretation and summarizing research results.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-69-75>
УДК 619:578.834.1:616-078



Получение рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2

А. С. Яковлева, А. В. Каньшина, А. М. Тимина

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Возбудитель новой коронавирусной инфекции (COVID-19) SARS-CoV-2 получил широкое распространение в мире, став причиной пандемии, которая началась в 2019 г. Вирус является зооантропонозным инфекционным агентом, вызывает инфекцию как у человека, так и у многих видов млекопитающих. К настоящему времени имеются сообщения о выявлении SARS-CoV-2 у домашних животных, а также у представителей дикой фауны. Кроме того, проведены исследования по успешному экспериментальному заражению некоторых видов животных. Имеются также доказательства того, что инфицированные особи могут передавать вирус другим животным в естественных условиях при контакте, в том числе между разными видами. В настоящее время ряд исследователей опасается, что SARS-CoV-2 распространится на виды млекопитающих в дикой природе, которые станут природным резервуаром, что может быть причиной вспышек инфекции в популяции людей. При этом воздействие вируса на потенциально восприимчивые виды животных дикой природы, в том числе исчезающие, в настоящее время до конца не изучено. В связи с этим необходимо проводить исследования по изучению распространения данной инфекции среди животных дикой фауны. Для этого требуются высокочувствительные и специфические диагностические методы. Иммуноферментный анализ с применением в качестве антигена нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 может быть использован для серологического надзора за новой коронавирусной инфекцией среди животных. Применение в качестве антигена рекомбинантного белка является наиболее предпочтительным с точки зрения безопасности.

Цель исследования. Получение рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 в высокой концентрации и проверка его антигенной активности и специфичности.

Материалы и методы. В работе использовали: SARS-CoV-2, плазмиду pQE, штамм *Escherichia coli* JM109; осуществляли обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию, молекулярное клонирование, синтез рекомбинантного белка, очистку рекомбинантного белка, применяли непрямой вариант иммуноферментного анализа.

Результаты. Выполнено молекулярное клонирование N-гена SARS-CoV-2 с использованием прокариотической системы экспрессии. Получены клоны *Escherichia coli*, продуцирующие рекомбинантный нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2 размером 33 кДа. Определены оптимальные условия экспрессии и очистки, обеспечивающие получение препарата антигена в высокой концентрации. Показано, что оптимальной концентрацией индуктора является 0,5 мМ, оптимальный период экспрессии – 4 ч. В результате исследования оптимальных условий очистки рекомбинантного антигена в качестве денатурирующего агента определена мочевиная в концентрации 8 М, подобрана оптимальная концентрация имидазола – 0,4 М в элюирующем буфере. Использование оптимальной схемы экспрессии и очистки позволило получить 1,5 мг очищенного антигена с 100 мл культуры *Escherichia coli*. Показана высокая антигенная активность и специфичность рекомбинантного белка в непрямом варианте иммуноферментного анализа.

Заключение. Получение рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 в высокой концентрации позволит в перспективе использовать его в качестве антигена при разработке иммуноферментной тест-системы для выявления антител к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2 в сыворотках крови животных.

Ключевые слова: коронавирус, SARS-CoV-2, нуклеокапсидный белок, иммуноферментный анализ

Благодарности: Работа выполнена в рамках тематики государственной научно-исследовательской работы «Экспериментальные разработки методик, диагностических тест-систем» (2023 г.).

Для цитирования: Яковлева А. С., Каньшина А. В., Тимина А. М. Получение рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 69–75. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-69-75>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Яковлева Анастасия Сергеевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, yakovleva_as@arriah.ru

Preparation of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein

Anastasia S. Yakovleva, Anzhelika V. Kanshina, Anna M. Timina

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

ABSTRACT

Introduction. The new coronavirus infection (COVID-19) agent SARS-CoV-2 has become widespread in the world and has caused the pandemic that started in 2019. The virus is a zoonoanthropotic infectious agent that causes infection in humans as well as in many mammal species. To date, SARS-CoV-2 has been reported both in domestic and in wild animals. Moreover, successful experimental infection of certain animal species was reported during the studies. There is also the evidence

© Яковлева А. С., Каньшина А. В., Тимина А. М., 2025

that infected animals can transmit the virus to other animals in natural settings through contact including virus transmission between animals of different species. Currently, some researchers fear that SARS-CoV-2 may spread to mammalian species in the wild that will become a natural reservoir responsible for this infection outbreaks in humans. Furthermore, the virus effect on potentially susceptible wild animal species, including endangered animal species, is currently not fully understood. Therefore, the infection spread in wild animals requires further study. This requires highly sensitive and specific diagnostic methods. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using SARS-CoV-2 nucleocapsid protein as an antigen can be used for serological surveillance of the new coronavirus infection in animals. Recombinant protein used as an antigen is the most preferable because of its safety.

Objective. The study was aimed at preparing highly concentrated recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and testing it for antigenic activity and specificity.

Materials and methods. The following was used for the study: SARS-CoV-2, pQE plasmid, *Escherichia coli* JM109 strain. The following was performed: reverse transcription and polymerase chain reaction, molecular cloning, recombinant protein synthesis, recombinant protein purification, indirect ELISA was used.

Results. Molecular cloning of SARS-CoV-2 N-gene was carried out using prokaryotic expression system. *Escherichia coli* clones producing 33 kDa recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein were prepared. Optimal expression and purification conditions for highly concentrated antigen preparation were determined. It was shown that optimal inducer concentration was 0.5 mM, optimal expression period was 4 hours. Urea at a concentration of 8 M as a denaturing agent and optimal imidazole concentration of 0.4 M in the elution buffer were selected based on the results of study of optimal conditions for recombinant antigen purification. Use of the optimal expression and purification procedure allowed us to prepare 1.5 mg of purified antigen from 100 mL of *Escherichia coli* culture. The recombinant protein demonstrated its high antigenic activity and specificity when tested with indirect ELISA.

Conclusion. Preparation of highly concentrated recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein enables its further use as an antigen for ELISA test system for detection of antibodies against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in animal sera.

Keywords: coronavirus, SARS-CoV-2, nucleocapsid protein, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Acknowledgements: The study was performed within the governmental research activities "Experimental development of methods and diagnostic test systems" (2023).

For citation: Yakovleva A. S., Kanshina A. V., Timina A. M. Preparation of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 69–75. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-69-75>

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

For correspondence: Anastasia S. Yakovleva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, yakovleva_as@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Новый коронавирус (SARS-CoV-2) стал причиной пандемии острой респираторной инфекции, которая охватила весь мир и привела к гибели нескольких миллионов человек [1]. Заболевание у инфицированного человека может проходить как бессимптомно, так и в форме тяжелой пневмонии, приводящей к смерти в случае тотального поражения легких. SARS-CoV-2 – оболочечный одноцепочечный РНК-содержащий вирус семейства *Coronaviridae*, рода *Betacoronavirus*. Вирион вируса имеет характерный вид короны с шиповидными (S), мембранными (M) и оболочечными (E) белками, расположенными в двухслойной фосфолипидной оболочке. РНК-геном размером 30 kb кодирует 16 неструктурных белков и 4 основных структурных белка: спайк (S), мембранный (M), оболочечный (E) и нуклеокапсидный (N) [2].

Помимо людей, SARS-CoV-2 способен заражать многие виды млекопитающих [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), новый коронавирус выявляли у кошек, собак, грызунов (хомяков), норок и хорьков, зоопарковых животных (обезьян, тигров, львов, пум и др.), оленей, лис, лошадей. С начала пандемии 35 стран заявили в ВОЗЖ о выявлении SARS-CoV-2 у животных, что следует из обзора информационно-аналитического центра Россельхознадзора [11].

В настоящее время установлено, что вирус может передаваться от одного вида животного к другому, от человека к животному и от животного к человеку [12, 13, 14, 15, 16, 17, 18].

В мае 2023 г. Всемирная организация здравоохранения объявила о конце пандемии, однако некоторые

группы ученых считают данное объявление преждевременным. Они предполагают, что вирус может представлять угрозу общественному здравоохранению в течение десятилетий. Даже при условии полной ликвидации циркуляции вируса в популяции людей SARS-CoV-2 будет представлять опасность для здоровья человека, домашних и диких животных из-за скрытых резервуаров в дикой природе [13, 19, 20].

Потенциально некоторые виды животных могут играть роль природного резервуара этого вируса. С целью изучения такой возможности в некоторых странах проводится серологический мониторинг новой коронавирусной инфекции в популяциях домашних и диких животных. Так, во Франции на наличие антител к SARS-CoV-2 было исследовано более 5600 проб сывороток крови, полученной от кошек и собак, а в Китае – более 20 000 проб от этих двух видов животных. В США активно проводится серомониторинг новой коронавирусной инфекции в дикой фауне. Высокая серопреvalентность обнаружена у енотов, белок, рыжих лисиц, опоссумов, скунсов, белоногих мышей и белохвостых оленей [21, 22, 23].

Исследование распространения SARS-CoV-2 среди диких и домашних животных требует наличия соответствующих диагностических инструментов. В 2021 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработана иммуноферментная тест-система для выявления антител к SARS-CoV-2 в сыворотках крови животных [24]. В разработанном методе в качестве антигена используется инактивированный коронавирус. Однако для получения такого антигена необходимо культивировать вирус, что сопряжено с высоким биологическим риском. Более безопасной

альтернативой антигену, получаемому из нативного вируса, могут быть рекомбинантные белки SARS-CoV-2, производимые в про- или эукариотических системах экспрессии. Ранее было показано, что наиболее иммуногенным белком SARS-CoV-2 с консервативным аминокислотным составом является нуклеокапсидный протеин [25, 26].

Цель данной работы заключалась в получении рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2, который в дальнейшем может быть использован в качестве антигена в иммуноферментном анализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. Для выделения РНК SARS-CoV-2 был использован клинический материал (назальные смывы) от человека с подтвержденным диагнозом на COVID-19.

Вирусную РНК выделяли на стекловолокнистых фильтрах GF/F по методике О. Г. Грибанова и соавт. [27].

Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР). N-ген SARS-CoV-2 амплифицировали методом ОТ-ПЦР. Продукты реакции анализировали с помощью электрофореза в 1,5%-м агарозном геле, содержащем 0,001% бромистого этидия, при силе тока 50 мА.

Молекулярное клонирование продукта ОТ-ПЦР осуществляли по общепринятым методикам [28]. В работе использовали плазмиду pQE (QIAGEN, Нидерланды), штамм *Escherichia coli* JM109 (Promega, США).

Синтез рекомбинантного белка. Культивирование *E. coli* проводили в орбитальном шейкере при 150 об/мин и 37 °С. В дневную культуру клеток, достигшую логарифмической фазы роста, добавляли индуктор ИПТГ (изопропил-β-D-1-тиогаалактопиранозид). Уровень синтеза и размер рекомбинантных белков определяли с помощью электрофореза в 12%-м полиакриламидном геле.

Очистка рекомбинантного белка проводилась методом металл-хелатной хроматографии с применением Ni-NTA-агарозы (Thermo Fisher Scientific, США).

Непрямой вариант иммуноферментного анализа (ИФА) осуществляли с использованием ТБС-Т (трис-буферный раствор с добавлением Твин-20) для промывки планшетов. Для блокировки участков неспецифического связывания и для разведения сывороток и антивидового конъюгата применяли 1%-е молоко на основе ТБС-Т. В работе использовали конъюгат протеина А фирмы KPL (Италия). В качестве субстрата для пероксидазного конъюгата применяли АБТС (2,2-азинобис (3-этилбензтиоизолин-6-сульфоновая кислота).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для молекулярного клонирования N-ген SARS-CoV-2 получили методом ОТ-ПЦР. При амплификации использовали праймеры, содержащие в своей последовательности сайты рестрикции BamHI и SalI.

После рестрикции соответствующими ферментами ампликон применяли для лигирования в плазмидный вектор, который был получен после обработки плазмиды pQE соответствующими рестриктазами. Лигазную смесь, содержащую обработанный ампликон и плазмидный вектор, вносили в компетентные клетки штамма JM109 *E. coli* методом химической трансформации. Клетки *E. coli* высевали на LB-агар, содержащий 100 мкг/мл ампициллина. В результате трансформации был проведен скрининг полученных колоний и ото-

брано несколько клонов *E. coli*, синтезирующих рекомбинантный нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2, содержащий на N-конце полигистидиновый остаток. Молекулярная масса белка составила 33 кДа, что соответствовало расчетным данным.

Для увеличения концентрации синтезируемого рекомбинантного белка в отобранном клоне *E. coli* были определены оптимальная концентрация индуктора, оптимальный период экспрессии, обеспечивающие максимальное накопление белка в бактериальных клетках.

Для установления оптимальной концентрации индуктора использовали растворы 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ ИПТГ. Уровень экспрессии белка определяли по электрофореграмме визуально. Накопление рекомбинантного белка достигало пика при концентрации ИПТГ 0,5 мМ и не изменялось при двукратном увеличении концентрации индуктора. Концентрацию 0,5 мМ установили как оптимальную, и в дальнейшем все работы по экспрессии проводили при данной концентрации индуктора.

Для определения оптимального периода экспрессии рекомбинантного белка исследовали лизат клеток *E. coli* через 2, 4 и 18 ч после индукции. Анализ уровня накопления белка проводили в 12%-м полиакриламидном геле. Максимальный уровень экспрессии рекомбинантного белка наблюдали через 4 ч после внесения индуктора (рис. 1). Через 18 ч количество белка было ниже, что, возможно, связано с его разрушением при длительном культивировании *E. coli*. Таким образом, 4 ч после индукции были приняты в качестве оптимального времени для синтеза рекомбинантного белка.

Очистку рекомбинантного белка проводили методом металл-хелатной хроматографии. При приготовлении лизата клеток в нативных условиях большая часть белка оставалась в клеточном дебрисе, поэтому в дальнейшем лизис проводили в денатурирующих условиях.

Для получения очищенного препарата белка в максимальной концентрации были проведены работы по поиску оптимального состава лизирующего и элюирующего буферов.

В составе лизирующего буфера № 1 использовали 8 М мочевины, лизирующего буфера № 2 – 6 М гуанидинхлорид (Gu-HCl). В денатурирующих условиях большая часть белка уходила из клеточного дебриса в надосадок. Выход белка был примерно одинаковым как с применением 8 М мочевины, так и с применением 6 М Gu-HCl (рис. 2). В качестве денатурирующего агента было принято использовать 8 М мочевины.

Очистку клеточного лизата проводили методом металл-хелатной хроматографии с применением агарозы Ni-NTA (никель-нитрилоацетат). Для элюирования N-белка были использованы 4 варианта буферов: буфер А (8 М мочевины, 0,1 М Na₂HPO₄, 0,01 М трис-Cl, pH 4,0), буфер В (8 М мочевины, 0,1 М Na₂HPO₄, 0,01 М трис-Cl, 0,2 М имидазол, pH 8,0), буфер С (8 М мочевины, 0,1 М Na₂HPO₄, 0,01 М трис-Cl, 0,4 М имидазол, pH 8,0), буфер D (8 М мочевины, 0,1 М Na₂HPO₄, 0,01 М трис-Cl, 0,5 М имидазол, pH 8,0). Концентрацию белка в каждом элюате оценивали визуально по электрофореграмме. Наибольшая концентрация рекомбинантного белка была в элюате с использованием буфера С (рис. 3). Таким образом, максимального выхода очищенного N-белка удалось добиться при денатурации буфером с 8 М мочевиной и элюации буфером, содержащим 0,4 М имидазола.

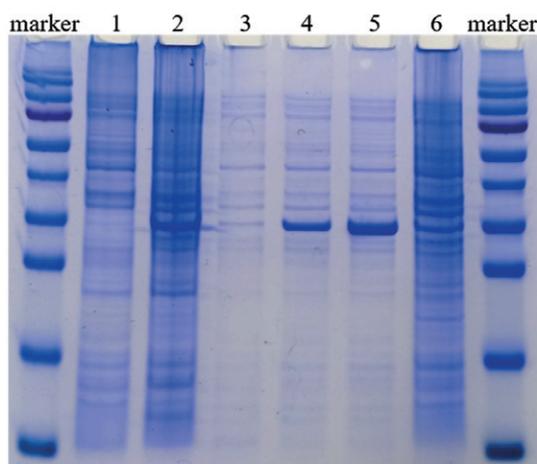


Рис. 1. Определение оптимального периода экспрессии рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2: marker – маркер молекулярного веса белков (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 кДа); 1 – лизат клеток *E. coli* JM109; 2 – лизат клеток клона *E. coli*, содержащего N-ген SARS-CoV-2, после 18 ч инкубации; 3 – лизат клеток клона *E. coli*, содержащего N-ген SARS-CoV-2, до индукции; 4 – лизат клеток клона *E. coli*, содержащего N-ген SARS-CoV-2, через 2 ч после индукции; 5 – лизат клеток клона *E. coli*, содержащего N-ген SARS-CoV-2, через 4 ч после индукции; 6 – лизат клеток клона *E. coli*, содержащего N-ген SARS-CoV-2, через 18 ч после индукции

Fig. 1. Determination of optimal period of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein expression: protein molecular weight marker (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 kDa); 1 – *E. coli* JM109 cell lysate; 2 – cell lysate of SARS-CoV-2 N-gene-containing *E. coli* clone, after 18-hour incubation; 3 – cell lysate of SARS-CoV-2 N-gene-containing *E. coli* clone, before induction; 4 – cell lysate of SARS-CoV-2 N-gene-containing *E. coli* clone, 2 hours after induction; 5 – cell lysate of SARS-CoV-2 N-gene-containing *E. coli* clone, 4 hours after induction; 6 – cell lysate of SARS-CoV-2 N-gene-containing *E. coli* clone, 18 hours after induction

При проведении экспериментов по оптимизации условий экспрессии и очистки была установлена следующая схема получения рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2. В 0,1 л среды LB с 100 мкг/мл ампициллина вносили 1 мл клеточной суспензии рекомбинантного клона *E. coli*, полученной после ночной инкубации, и инкубировали при 150 об/мин и 37 °С до достижения плотности $OD_{600} = 0,5$. Индукцию проводили внесением ИПТГ до конечной концентрации 0,5 мМ и инкубировали еще 4 ч при 150 об/мин и 37 °С. Клеточную суспензию осаждали в течение 15 мин при 5000 об/мин. Осадок ресуспендировали в 5 мл лизирующего буфера с 8 М мочевиной. Клеточный дебрис удаляли центрифугированием в течение 5 мин при 12 000 об/мин. Надосадок использовали для проведения металл-хелатной хроматографии. Осветленный лизат перемешивали с 1 мл сорбента (агароза Ni-NTA)

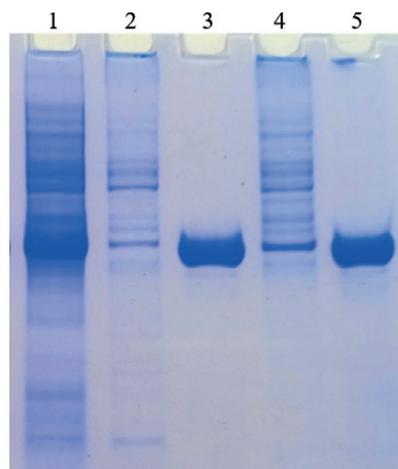


Рис. 2. Влияние состава лизирующего буфера на растворимость и выход очищенного рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2: 1 – лизат клеток рекомбинантного клона *E. coli* через 4 ч после индукции; 2 – осадок клеток, экспрессирующих рекомбинантный белок после обработки лизирующим буфером № 1, содержащим 8 М мочевины; 3 – очищенный рекомбинантный белок при использовании в составе денатурирующего буфера 8 М мочевины; 4 – осадок клеток, экспрессирующих рекомбинантный белок после обработки лизирующим буфером № 2, содержащим 6 М Gu-HCl; 5 – очищенный рекомбинантный белок при использовании в составе денатурирующего буфера 6 М Gu-HCl

Fig. 2. Effect of lysing buffer composition on purified recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein solubility and yield: 1 – cell lysate of recombinant *E. coli* clone, 4 hours after induction; 2 – sediment of recombinant protein-expressing cells after treatment with lysis buffer No. 1 containing 8 M urea; 3 – purified recombinant protein when denaturing buffer containing 8 M urea was used; 4 – sediment of recombinant protein-expressing cells after treatment with lysis buffer No. 2 containing 6 M Gu-HCl; 5 – purified recombinant protein when denaturing buffer containing 6 M Gu-HCl was used

в течение 15 мин, после чего полученную суспензию центрифугировали в течение 1 мин при 12 000 об/мин. Осадок промывали два раза лизирующим буфером. Элюирование производили добавлением к осадку 1 мл элюирующего буфера с 0,4 М имидазолом, перемешивали в течение 1 мин, после чего центрифугировали в течение 1 мин при 12 000 об/мин. Надосадок исследовали на наличие рекомбинантного белка. Для оценки степени очистки и размера полученного белка проводили электрофорез в 12%-м полиакриламидном геле (рис. 4). Концентрацию белка определяли по Бредфорд.

В результате оптимизации параметров экспрессии и очистки рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 получили препарат белка в высокой концентрации. Выход очищенного протеина с 100 мл культуры *E. coli* составил 1,5 мг.

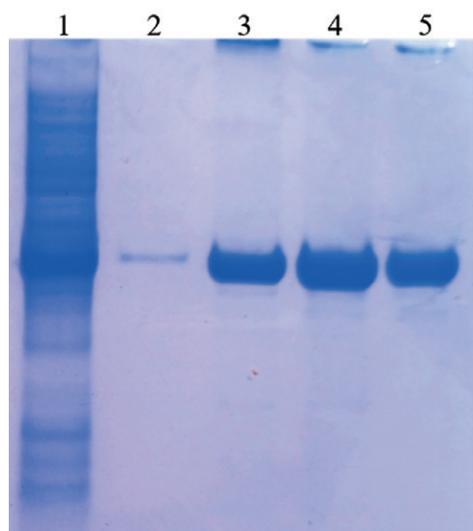


Рис. 3. Влияние состава элюирующих буферов на выход очищенного рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2:

- 1 – лизат клеток рекомбинантного клона *E. coli* после 4 ч индукции;
- 2 – очищенный рекомбинантный белок при использовании буфера А;
- 3 – очищенный рекомбинантный белок при использовании буфера В;
- 4 – очищенный рекомбинантный белок при использовании буфера С;
- 5 – очищенный рекомбинантный белок при использовании буфера D

Fig. 3. Effect of elution buffer composition on purified recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein yield:

- 1 – cell lysate of recombinant *E. coli* clone, 4 hours after induction;
- 2 – purified recombinant protein when buffer A was used;
- 3 – purified recombinant protein when buffer B was used;
- 4 – purified recombinant protein when buffer C was used;
- 5 – purified recombinant protein when buffer D was used

Антигенную активность рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 проверяли в непрямом варианте твердофазного ИФА с контрольными сыворотками крови кроликов. Для этого рекомбинантный белок, разведенный 1:800 в карбонатно-бикарбо-

Таблица

Антигенная активность рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 в непрямом варианте твердофазного ИФА

Table

Results of tests of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein for its antigenic activity with indirect ELISA

Разведение контрольных сывороток	Оптическая плотность контролей в ИФА			
	-К	+К № 1	+К № 2	+К № 3
1:20	0,094	2,552	2,839	3,102
1:40	0,092	1,170	2,712	3,054
1:80	0,083	1,911	2,628	2,995
1:160	0,081	1,261	2,240	2,803
1:320	0,078	0,753	1,717	2,420
1:640	0,078	0,466	1,181	1,899
1:1280	0,077	0,266	0,693	1,293
1:2560	0,070	0,182	0,422	0,849

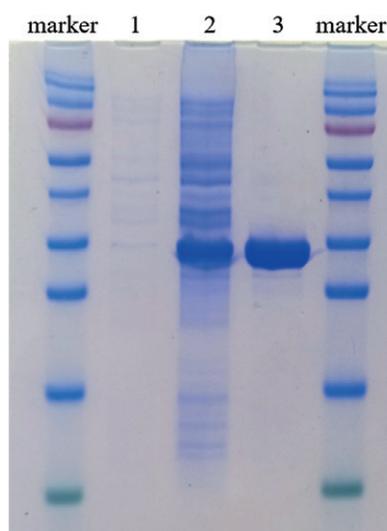


Рис. 4. Оценка размера и степени очистки рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2: marker – маркер молекулярного веса белков (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 кДа);

- 1 – лизат клеток рекомбинантного клона *E. coli* до индукции;
- 2 – лизат клеток рекомбинантного клона *E. coli* через 4 ч после индукции;
- 3 – очищенный рекомбинантный белок

Fig. 4. Assessment of recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein size and purification level:

- protein molecular weight marker (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 kDa);
- 1 – cell lysate of recombinant *E. coli* clone before induction;
- 2 – cell lysate of recombinant *E. coli* clone, 4 hours after induction;
- 3 – purified recombinant protein

натном буфере, вносили в лунки иммунологического планшета и инкубировали в течение ночи. После блокировки неспецифических участков связывания и последующей отмывки в лунки планшета вносили контрольные сыворотки крови кролика в разведении от 1:20 до 1:2560. В качестве положительного контроля использовали сыворотку крови от трех кроликов, иммунизированных антигеном SARS-CoV-2 (+К), в качестве отрицательного контроля – сыворотку крови от неиммунизированного кролика (-К). Через 1 ч сыворотки удаляли, планшет промывали и добавляли пероксидазный конъюгат протеина А. Еще через 1 ч планшеты промывали и затем проявляли реакцию добавлением субстрата АБТС. Результаты ИФА отражены в таблице.

Показано, что рекомбинантный нуклеокапсидный белок продемонстрировал высокую антигенную активность с положительными контрольными сыворотками и отсутствие неспецифического связывания с отрицательной контрольной сывороткой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено молекулярное клонирование гена, кодирующего нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2, с использованием прокариотической системы экспрессии.

Получены клоны *E. coli*, экспрессирующие рекомбинантный нуклеокапсидный белок.

Были установлены условия экспрессии и очистки, обеспечивающие высокий выход очищенного антигена.

В непрямом варианте ИФА показано, что полученный рекомбинантный белок имеет высокую антигенную активность и позволяет выявлять антитела к SARS-CoV-2 в сыворотках крови животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карта коронавируса COVID-19 онлайн. <https://coronavirus-monitor.info>
2. Mahdy M. A. A., Younis W., Ewaida Z. An overview of SARS-CoV-2 and animal infection. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:596391. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.596391>
3. Enserink M. Coronavirus rips through Dutch mink farms, triggering culls. *Science*. 2020; 368 (6496):1169. <https://doi.org/10.1126/science.368.6496.1169>
4. McAloose D., Laverac M., Wang L., Killian M. L., Caserta L. C., Yuan F., et al. From people to *Panthera*: Natural SARS-CoV-2 infection in tigers and lions at the Bronx Zoo. *mBio*. 2020; 11 (5):e02220-20. <https://doi.org/10.1128/mbio.02220-20>
5. Oreshkova N., Molenaar R. J., Vreman S., Harders F., Oude Munink B. V., Hakze-van der Honing R. W., et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Eurosurveillance*. 2020; 25 (23):2001005. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2020.25.23.2001005>
6. Sailleau C., Dumarest M., Vanhomwegen J., Delaplace M., Caro V., Kwasiborski A., et al. First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 67 (6): 2324–2328. <https://doi.org/10.1111/tbed.13659>
7. Freuling C. M., Breithaupt A., Müller T., Sehl J., Balkema-Buschmann A., Rissmann M., et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2 infection. *Emerging Infectious Diseases*. 2020; 26 (12): 2982–2985. <https://doi.org/10.3201/eid2612.203733>
8. Sit T. H. C., Brackman C. J., Ip S. M., Tam K. W. S., Law P. Y. T., To E. M. W., et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020; 586: 776–778. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2334-5>
9. Schlottau K., Rissmann M., Graaf A., Schön J., Sehl J., Wylezich C., et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *The Lancet Microbe*. 2020; 1 (5): e218–e225. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30089-6](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30089-6)
10. Hobbs E. C., Reid T. J. Animals and SARS-CoV-2: Species susceptibility and viral transmission in experimental and natural conditions, and the potential implications for community transmission. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (4): 1850–1867. <https://doi.org/10.1111/tbed.13885>
11. Макеева Ю. О выявлении SARS-CoV-2 у животных заявили в ВОЗЖ 35 стран. *Ветеринария и жизнь*. 28 декабря 2022 г. <https://vetandlife.ru/sobytiya/o-vyyavlenii-sars-cov-2-u-zhivotnyh-zayavili-v-vozh-35-stran>
12. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), Nielsen S. S., Alvarez J., Bicot D. J., Calistri P., Canali E., et al. SARS-CoV-2 in animals: susceptibility of animal species, risk for animal and public health, monitoring, prevention and control. *EFSA Journal*. 2023; 21 (2):e07822. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7822>
13. Fang R., Yang X., Guo Y., Peng B., Dong R., Li S., Xu S. SARS-CoV-2 infection in animals: Patterns, transmission routes, and drivers. *Eco-Environment & Health*. 2024; 3 (1): 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2023.09.004>
14. Mastutik G., Rohman A., I'tishom R., Ruiz-Arrendo I., de Blas I. Experimental and natural infections of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 in pets and wild and farm animals. *Veterinary World*. 2022; 15 (3): 565–589. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.565-589>
15. Cui S., Liu Y., Zhao J., Peng X., Lu G., Shi W., et al. An updated review on SARS-CoV-2 infection in animals. *Viruses*. 2022; 14 (7):1527. <https://doi.org/10.3390/v14071527>
16. Hammer A. S., Quaade M. L., Rasmussen T. B., Fonager J., Rasmussen M., Mundbjerg K., et al. SARS-CoV-2 transmission between mink (*Neovison vison*) and humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27 (2): 547–551. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203794>
17. Yen H.-L., Sit T. H. C., Brackman C. J., Chuk S. S. Y., Gu H., Tam K. W. S., et al. Transmission of SARS-CoV-2 delta variant (AY.127) from pet hamsters to humans, leading to onward human-to-human transmission: a case study. *The Lancet*. 2022; 399 (10329): 1070–1078. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)00326-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)00326-9)
18. Cui X., Wang Y., Zhai J., Xue M., Zheng C., Yu L. Future trajectory of SARS-CoV-2: Constant spillover back and forth between humans and animals. *Virus Research*. 2023; 328:199075. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199075>
19. Cheng K., Wu C., Gu S., Lu Y., Wu H., Li C. WHO declares the end of the COVID-19 global health emergency: lessons and recommendations from the perspective of ChatGPT/GPT-4. *International Journal of Surgery*. 2023; 109 (9): 2859–2862. <https://doi.org/10.1097/jis.9.0000000000000521>

20. Santini J. M., Edwards S. J. L. Host range of SARS-CoV-2 and implications for public health. *The Lancet Microbe*. 2020; 1 (4): e141–e142. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30069-0](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30069-0)
21. Fritz M., Elguero E., Becquart P., de Fonclare D. de R., Garcia D., Beurlet S., et al. A large-scale serological survey in pets from October 2020 through June 2021 in France shows significantly higher exposure to SARS-CoV-2 in cats. *bioRxiv*. December 26, 2022; preprint, Version 4. <https://doi.org/10.1101/2022.12.23.521567>
22. Wang A., Zhu X., Chen Y., Sun Y., Liu H., Ding P., et al. Serological survey of SARS-CoV-2 in companion animals in China. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:986619. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.986619>
23. Goldberg A. R., Langwig K. E., Brown K. L., Marano J. M., Rai P., King K. M., et al. Widespread exposure to SARS-CoV-2 in wildlife communities. *Nature Communications*. 2024; 15 (1):6210. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49891-w>
24. Волкова М. А., Зиняков Н. Г., Ярославцева П. С., Чвала И. А., Галкина Т. С., Андрейчук Д. Б. Разработка тест-системы для выявления антител к вирусу SARS-CoV-2 в сыворотках крови восприимчивых животных. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 97–102. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2021-2-37-97-102>
25. Burbelo P. D., Riedo F. X., Morishima C., Rawlings S., Smith D., Das S., et al. Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020; 222 (2): 206–213. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa273>
26. De Marco Verissimo C., O'Brien C., López Corrales J., Dorey A., Cwiklinski K., Lalor R., et al. Improved diagnosis of SARS-CoV-2 by using nucleoprotein and spike protein fragment 2 in quantitative dual ELISA tests. *Epidemiology and Infection*. 2021; 149:e140. <https://doi.org/10.1017/S0950268821001308>
27. Грибанов О. Г., Щербаков А. В., Перевозчикова Н. А., Гусев А. А. Использование аэросила А300 и фильтров GF/F (GF/C) для очистки фрагментов ДНК, ДНК-плазмид и РНК. *Биохимия*. 1996; 61 (6): 1064–1070. <https://biochemistry.moscow.com/ru/archive/1996/61-06-1064>
28. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984. 480 с.

REFERENCES

1. On-line coronavirus COVID-19 map. <https://coronavirus-monitor.info> (in Russ.)
2. Mahdy M. A. A., Younis W., Ewaida Z. An overview of SARS-CoV-2 and animal infection. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:596391. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.596391>
3. Enserink M. Coronavirus rips through Dutch mink farms, triggering culls. *Science*. 2020; 368 (6496):1169. <https://doi.org/10.1126/science.368.6496.1169>
4. McAloose D., Laverac M., Wang L., Killian M. L., Caserta L. C., Yuan F., et al. From people to *Panthera*: Natural SARS-CoV-2 infection in tigers and lions at the Bronx Zoo. *mBio*. 2020; 11 (5):e02220-20. <https://doi.org/10.1128/mbio.02220-20>
5. Oreshkova N., Molenaar R. J., Vreman S., Harders F., Oude Munink B. V., Hakze-van der Honing R. W., et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Eurosurveillance*. 2020; 25 (23):2001005. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2020.25.23.2001005>
6. Sailleau C., Dumarest M., Vanhomwegen J., Delaplace M., Caro V., Kwasiborski A., et al. First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 67 (6): 2324–2328. <https://doi.org/10.1111/tbed.13659>
7. Freuling C. M., Breithaupt A., Müller T., Sehl J., Balkema-Buschmann A., Rissmann M., et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2 infection. *Emerging Infectious Diseases*. 2020; 26 (12): 2982–2985. <https://doi.org/10.3201/eid2612.203733>
8. Sit T. H. C., Brackman C. J., Ip S. M., Tam K. W. S., Law P. Y. T., To E. M. W., et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020; 586: 776–778. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2334-5>
9. Schlottau K., Rissmann M., Graaf A., Schön J., Sehl J., Wylezich C., et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *The Lancet Microbe*. 2020; 1 (5): e218–e225. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30089-6](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30089-6)
10. Hobbs E. C., Reid T. J. Animals and SARS-CoV-2: Species susceptibility and viral transmission in experimental and natural conditions, and the potential implications for community transmission. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (4): 1850–1867. <https://doi.org/10.1111/tbed.13885>
11. Makeeva Yu. Thirty-five WOA member countries reported SARS-CoV-2 in animals. *Veterinary Medicine and Life*. December 28, 2022. <https://vetandlife.ru/sobytiya/o-vyyavlenii-sars-cov-2-u-zhivotnyh-zayavili-v-vozh-35-stran> (in Russ.)

12. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), Nielsen S. S., Alvarez J., Bicout D. J., Calistri P., Canali E., et al. SARS-CoV-2 in animals: susceptibility of animal species, risk for animal and public health, monitoring, prevention and control. *EFSA Journal*. 2023; 21 (2):e07822. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7822>
13. Fang R., Yang X., Guo Y., Peng B., Dong R., Li S., Xu S. SARS-CoV-2 infection in animals: Patterns, transmission routes, and drivers. *Environment & Health*. 2024; 3 (1): 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2023.09.004>
14. Mastutik G., Rohman A., Itishom R., Ruiz-Arondo I., de Blas I. Experimental and natural infections of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 in pets and wild and farm animals. *Veterinary World*. 2022; 15 (3): 565–589. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.565-589>
15. Cui S., Liu Y., Zhao J., Peng X., Lu G., Shi W., et al. An updated review on SARS-CoV-2 infection in animals. *Viruses*. 2022; 14 (7):1527. <https://doi.org/10.3390/v14071527>
16. Hammer A. S., Quaade M. L., Rasmussen T. B., Fonager J., Rasmussen M., Mundbjerg K., et al. SARS-CoV-2 transmission between mink (*Neovison vison*) and humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27 (2): 547–551. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203794>
17. Yen H.-L., Sit T. H. C., Brackman C. J., Chuk S. S. Y., Gu H., Tam K. W. S., et al. Transmission of SARS-CoV-2 delta variant (AY.127) from pet hamsters to humans, leading to onward human-to-human transmission: a case study. *The Lancet*. 2022; 399 (10329): 1070–1078. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)00326-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)00326-9)
18. Cui X., Wang Y., Zhai J., Xue M., Zheng C., Yu L. Future trajectory of SARS-CoV-2: Constant spillover back and forth between humans and animals. *Virus Research*. 2023; 328:199075. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199075>
19. Cheng K., Wu C., Gu S., Lu Y., Wu H., Li C. WHO declares the end of the COVID-19 global health emergency: lessons and recommendations from the perspective of ChatGPT/GPT-4. *International Journal of Surgery*. 2023; 109 (9): 2859–2862. <https://doi.org/10.1097/j.s9.0000000000000521>
20. Santini J. M., Edwards S. J. L. Host range of SARS-CoV-2 and implications for public health. *The Lancet Microbe*. 2020; 1 (4): e141–e142. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30069-0](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30069-0)
21. Fritz M., Elguero E., Becquart P., de Fonclare D. de R., Garcia D., Beurlet S., et al. A large-scale serological survey in pets from October 2020 through June 2021 in France shows significantly higher exposure to SARS-CoV-2 in cats. *bioRxiv*. December 26, 2022; preprint, Version 4. <https://doi.org/10.1101/2022.12.23.521567>
22. Wang A., Zhu X., Chen Y., Sun Y., Liu H., Ding P., et al. Serological survey of SARS-CoV-2 in companion animals in China. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:986619. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.986619>
23. Goldberg A. R., Langwig K. E., Brown K. L., Marano J. M., Rai P., King K. M., et al. Widespread exposure to SARS-CoV-2 in wildlife communities. *Nature Communications*. 2024; 15 (1):6210. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49891-w>
24. Volkova M. A., Zinyakov N. G., Yaroslavtseva P. S., Chvala I. A., Galkina T. S., Andreychuk D. B. Development of the test kit for detection of SARS-CoV-2 antibodies in sera of susceptible animals. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 97–102. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2021-2-37-97-102>
25. Burbelo P. D., Riedo F. X., Morishima C., Rawlings S., Smith D., Das S., et al. Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020; 222 (2): 206–213. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa273>
26. De Marco Verissimo C., O'Brien C., López Corrales J., Dorey A., Cwiklinski K., Lalor R., et al. Improved diagnosis of SARS-CoV-2 by using nucleoprotein and spike protein fragment 2 in quantitative dual ELISA tests. *Epidemiology and Infection*. 2021; 149:e140. <https://doi.org/10.1017/S0950268821001308>
27. Gribovan O. G., Shcherbakov A. V., Perevozchikova N. A., Gusev A. A. Purification of DNA fragments, plasmid DNA, and RNA using aerosol A-300 and GF/F (GF/C) filters. *Biochemistry (Moscow)*. 1996; 61 (6): 764–768. <https://elibrary.ru/ldmgwz>
28. Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory; 1982. 545 p.

Поступила в редакцию / Received 07.09.2024

Поступила после рецензирования / Revised 04.10.2024

Принята к публикации / Accepted 06.12.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Каньшина Анжелика Владимировна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0004-2464-8183>, kanshina@arriah.ru

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

Anastasia S. Yakovleva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9211-9110>, yakovleva_as@arriah.ru

Anzhelika V. Kanshina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0004-2464-8183>, kanshina@arriah.ru

Anna M. Timina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0109-3507>, timina@arriah.ru

Вклад авторов: Яковлева А. С. – формирование идеи, формулировка ключевых целей и задач, дизайн и проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рукописи, оформление ключевых результатов исследования, утверждение окончательного варианта статьи; Каньшина А. В. – формирование идеи, развитие ключевых целей и задач, проведение экспериментов, анализ и интерпретация полученных данных; Тимина А. М. – формирование идеи, формулировка ключевых целей и задач, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных.

Contribution of the authors: Yakovleva A. S. – conceptualization, formulation of key goals and objectives, study design and conducting, obtained data analysis and interpretation, paper writing, key study result formulation, approval of final paper text; Kanshina A. V. – conceptualization, formulation of key goals and objectives, performing experiments, obtained data analysis and interpretation; Timina A. M. – conceptualization, formulation of key goals and objectives, performing tests, obtained data analysis and interpretation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>
УДК 619:618.19-002:636.22/.28:577.21



Ассоциации полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота

М. В. Бытов, Ю. А. Осипова, Ч. Р. Юсупова, В. Д. Зубарева

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Воспалительные заболевания молочной железы коров остаются наиболее распространенной проблемой молочного скотоводства, несмотря на оптимизируемые профилактические меры и схемы лечения. Одним из способов предупреждения развития мастита у коров молочного направления продуктивности является генетическая селекция наиболее устойчивых к заболеванию особей. Толл-подобный рецептор 4 (*TLR4*) играет ключевую роль во врожденном иммунитете, в литературе имеются данные о его значимом влиянии на развитие мастита, описаны ассоциации генетических полиморфизмов гена *TLR4* со значениями индекса соматических клеток.

Цель исследования. Определение генетического разнообразия и степени ассоциации с развитием клинического мастита для 3 полиморфных локусов, расположенных в гене *TLR4*.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели использованы данные анамнеза крупного рогатого скота ($n = 421$), проведена диагностика субклинического мастита при помощи экспресс-теста для определения количества соматических клеток в молоке, при генотипировании крупного рогатого скота по полиморфизмам rs8193046, rs8193060, rs29017188 применена полимеразная цепная реакция в реальном времени по технологии TaqMan.

Результаты. При проведении ассоциативных тестов установлено, что полиморфизмы rs8193046 и rs29017188 являются наиболее перспективными кандидатами для использования в селекционных программах для снижения риска заболеваемости маститом в популяциях Уральского региона. Для rs8193060 отдельно достоверных результатов ассоциативных тестов не выявлено, однако животные с гаплотипом GCG (для аллелей SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188) имеют статистически значимый более низкий риск развития мастита.

Заключение. Отмечено, что данные полиморфизмы можно использовать для маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота для профилактики риска развития мастита в популяциях Уральского региона.

Ключевые слова: *TLR4*, мастит, крупный рогатый скот, риск развития заболевания, ассоциативные тесты

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме № 0532-2022-0001 «Разработка технологии для маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота по генам, ассоциированным с устойчивостью к заболеваниям».

Для цитирования: Бытов М. В., Осипова Ю. А., Юсупова Ч. Р., Зубарева В. Д. Ассоциации полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 76–81. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Polymorphisms in *TLR4* gene associated with risks of bovine mastitis development

Maksim V. Bytov, Yulia A. Osipova, Chulpan R. Yusupova, Vladlena D. Zubareva

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

ABSTRACT

Introduction. Inflammatory mammary diseases in cows remain the most common challenge in dairy industry, notwithstanding the improved preventive measures and treatment schemes. One of the methods to prevent mastitis in dairy cows is the genetic selection of the most disease-resistant individuals. Toll-like receptor 4 (*TLR4*) plays a central role in the innate immune response. There are publications about *TLR4* significance for mastitis development, its genetic polymorphisms associated with somatic cell counts.

Objective. Determination of genetic diversity and association with the development of clinical mastitis for three polymorphic locuses of *TLR4*.

Materials and methods. To achieve the objective cattle health history ($n = 421$) was used, subclinical mastitis was diagnosed using rapid test for somatic cell counting in milk, TaqMan real-time polymerase chain reaction was used for genotyping of cattle for rs8193046, rs8193060, rs29017188 polymorphisms.

Results. Association studies established that rs8193046 and rs29017188 polymorphisms are the most promising candidates to be used in selection programs aimed at mastitis risk mitigation in the Ural populations. For rs8193060 no reliable results of association tests are obtained, though risk of mastitis in GCG haplotype-animals (for SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188 alleles) is statistically lower.

Conclusion. It is noted that the abovementioned polymorphisms can be used for marker-assisted selection of cattle to prevent risks of mastitis in the populations in the Ural.

Keywords: *TLR4*, mastitis, cattle, risk of disease development, association tests

Acknowledgements: The research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia No. 0532-2022-0001 "Development of technology for marker-assisted selection of cattle for genes associated with disease resistance".

For citation: Bytov M. V., Osipova Yu. A., Yusupova Ch. R., Zubareva V. D. Polymorphisms in *TLR4* gene associated with risks of bovine mastitis development. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 76–81. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>

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

For correspondence: Vladlena D. Zubareva, Junior Researcher, 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

Воспаление ткани молочной железы (мастит) является одним из наиболее экономически затратных заболеваний крупного рогатого скота. Активно ведется оптимизация профилактических мер и схем лечения, в том числе с целью экономии труда и финансовых средств. К таким мероприятиям можно отнести профилактику вакцинацией и применение различных антимикробных препаратов [1, 2, 3]. Альтернативой, ведущей к уменьшению количества случаев маститов в хозяйствах, является геномная селекция. Длительная селекция молочного скота, направленная исключительно на увеличение продуктивности, пригодности молочной железы к машинному доению, привела к развитию повышенной восприимчивости к маститу в результате ослабления сфинктера соскового канала – естественного защитного барьера для проникновения инфекционных патогенных агентов [4]. Восприимчивость к маститу зависит от ряда факторов – как внешних (кормление, содержание, воздействие стресса, организация процессов доения), так и внутренних (иммунные процессы в организме, механизм которых важно понимать, чтобы повысить резистентность животных) [5].

Иммунный ответ играет ключевую роль в патогенезе заболеваний. Толл-подобный рецептор 4 (*TLR4*) – внутренний иммунный рецептор – демонстрирует широко распространенную экспрессию *in vivo*, нарушение его работы способствует возникновению различных болезней, включая сердечно-сосудистые заболевания, неопластические состояния и воспалительные процессы в организме [6]. В результате поиска ассоциаций с риском развития колиэнтерита было обнаружено, что аллель *G** полиморфизма rs8193046 гена *TLR4* более распространена среди телят, страдающих диареей, по сравнению с контрольной группой животных [7]. В исследовании ассоциации однонуклеотидного полиморфизма (SNP) с риском развития паратуберкулеза, вызванного *Mycobacterium avium*, показано, что гетерозиготы *A/G* имели больший риск развития данного инфекционного заболевания [8]. В эксперименте по поиску гаплотипов полиморфизмов в гене *TLR4*, проведенном в разных популяциях крупного рогатого скота, было выявлено, что аллель *A** присутствует во всех гаплотипах, имеющих отрицательный вклад в значения индекса соматических клеток в молоке, аллель *C** также имеет негативный эффект, а *G** – положительный [9]. Стоит отметить, что в данной работе не сделаны поправки на множественное сравнение при поиске статистически значимых гаплотипов. При этом

в исследовании ассоциации отдельных SNPs с риском развития субклинического мастита показано, что особи с генотипом *G/G* имеют большие средние значения индекса соматических клеток в молоке [10].

Для полиморфизма rs8193060 продемонстрированы достоверные ассоциации с репродуктивными признаками: частота встречаемости кистозных яичников, ранние репродуктивные нарушения, легкость отела и продуктивное долголетие [11]. Существуют данные о связи полиморфизма с риском развития паратуберкулеза, причем установлено, что генотип *C/T* является неблагоприятным вариантом [12]. В исследовании по поиску гаплотипов полиморфизмов в гене *TLR4* для rs8193060 получены неоднозначные результаты: аллель *C** присутствует в гаплотипах как с положительным, так и с отрицательным эффектом [9]. При анализе ассоциаций rs8193060 с индексом соматических клеток показано, что генотип *T/T* является неблагоприятным [10].

Наибольшей плейотропией по результатам полногеномных исследований обладает полиморфизм rs29017188. Имеются данные о его влиянии на межотельный период [13], постоянство лактации [14] и состав молока [15].

К сожалению, на сегодняшний день не выявлено, как именно полиморфизмы гена *TLR4* воздействуют на иммунные функции организма. В работе R. R. Bhat et al. описан предположительный механизм влияния полиморфизмов в 5'-нетранслируемом регионе и промоторах гена *TLR4*. Исследователями обнаружен низкий уровень гетерозиготности в данных локусах у особей с предрасположенностью к развитию мастита, что, вероятнее всего, обусловлено связыванием данных участков с транскрипционными факторами, это в конечном счете снижает уровень экспрессии данного гена [16].

Исходя из вышеизложенного, целью исследований являлось изучение генетического разнообразия и поиск ассоциаций полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения генотипирования крупного рогатого скота в количестве 421 гол. использован протокол, ранее описанный A. Q. de Mesquita et al. [10], с изменением олигонуклеотидов для rs8193046 (табл. 1). При этом по rs8193060 и rs29017188 генотипированы все животные, а по rs8193046 – 387 особей. Исследованы коровы из пяти сельскохозяйственных организаций Уральского региона.

Таблица 1
Последовательности использованных олигонуклеотидов

Table 1
Oligonucleotide sequences

SNP	Последовательность олигонуклеотидов	Длина ампликона, п. н.
rs8193046	F, GAGAGGAGAGTTGCTTGGGAAGTCT	107
	R, GCTCCATGCACTGGTAACTAATGT	
	P1, [HEX]CAGGAAGACACCGCA[BHQ1]	
	P2, [ROX]CAGGAAGACACCACA[BHQ2]	
rs8193060	F, CCACTCGTCCGGATCCT	79
	R, CCTTGGCAAATCTGTAGTCTTG	
	P1, [HEX]ACTGCAGTTTCAACCGTATC[BHQ1]	
	P2, [ROX]ACTGCAGCTTCAACCGTA[BHQ2]	
rs29017188	F, CCAGCTTCTTGTGTACTTCA	150
	R, CGGGAGGAGAGGAAGTGAGA	
	P1, [HEX]TATTTATCTCTGCCACCGGA[BHQ1]	
	P2, [ROX]TTATCTCTGCCACCGGAG[BHQ2]	

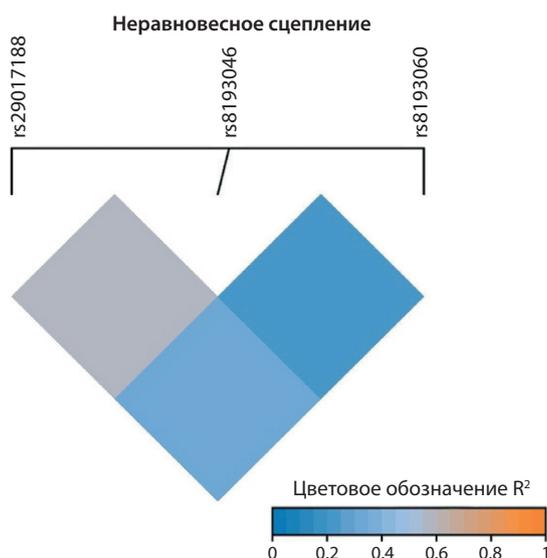


Рис. 1. График индекса R^2 для неравновесного сцепления изучаемых SNP

Fig. 1. Linkage disequilibrium (R^2) plot of the studied SNPs

Таблица 2
Оценка распределения генотипов и аллельного разнообразия. Оценка отклонения от равновесия Харди – Вайнберга

Table 2
Genotype distribution, allele frequency, and p -value of Hardy – Weinberg equilibrium

Локус	Генотип	Количество животных, гол.	Частота генотипов, %	Аллели	Абсолютная частота аллелей	χ^2 (p -value)
rs8193046 $G > A$	A/A	89	23,0	A* G*	323 451	20,397 (< 0,0001)
	A/G	145	37,5			
	G/G	153	39,5			
rs8193060 $T > C$	C/C	184	43,7	C* T*	559 283	0,116 (0,734)
	C/T	191	45,4			
	T/T	46	10,9			
rs29017188 $G > C$	C/C	75	17,8	C* G*	362 480	0,314 (0,575)
	C/G	212	50,4			
	G/G	134	31,8			

Критерием отнесения животного к группе риска являлось наличие случаев клинического и субклинического мастита в анамнезе. Для диагностики субклинического мастита использовали экспресс-тесты по определению содержания соматических клеток в молоке. Если у животного не были зарегистрированы случаи мастита в течение трех лактаций, а также экспресс-тест показал отрицательный результат, то оно считалось устойчивым к маститу. У всех животных проводился отбор крови из хвостовой вены в вакуумные пробирки с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислотой) в качестве фиксатора.

Распределение генотипов проверяли на соответствие закону Харди – Вайнберга, вычисления степени неравновесного сцепления и индекса разнообразия Шеннона выполнены с помощью пакета GenAIEx (версия 6.5) для Microsoft Excel [17]. Графики для отражения степени неравновесного сцепления построены с использованием веб-инструмента SRplot [18].

Ассоциативные тесты для каждого SNP в отдельности, поиск наиболее распространенных гаплотипов и их ассоциаций с риском развития мастита выполнены в программной среде R с помощью пакета SNPAssoc (версия 2.1.0) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аллельное разнообразие и распределение генотипов представлено в таблице 2. При расчете критерия Харди – Вайнберга число степеней свободы было принято за 1. По результатам проведенного анализа в случае полиморфизма rs8193046 выявлено статистически значимое отклонение от равновесного распределения аллелей. Подобные отклонения могут возникать по ряду причин: давление отбора, ошибки генотипирования, инбредные скрещивания. Наиболее вероятным объяснением является давление искусственного отбора.

По данным анализа неравновесного сцепления можно сделать вывод, что пары аллелей rs8193046 и rs8193060, а также rs29017188 и rs8193060 наследуются несцепленно: $R^2 = 0,2$ и $R^2 = 0,4$ соответственно (рис. 1).

Также проведена оценка генетического разнообразия исследуемых популяций крупного рогатого скота по полиморфизмам гена *TLR4*. Индекс биологического разнообразия Шеннона, приближаясь к единице, отражает высокий уровень разнообразия. В результате анализа установлено, что разнообразие между

популяциями выражено слабо ($D' = 0,015$). Однако в среднем внутри популяций можно наблюдать более высокое значение индекса разнообразия ($D' = 0,403$), из чего можно сделать вывод об их генетической стабильности (рис. 2). Поскольку различия в разнообразии по данным полиморфизмам между анализируемыми популяциями не наблюдается, дальнейшие исследования проведены совместно.

По отдельности для каждого из исследуемых полиморфизмов гена *TLR4* проведены ассоциативные тесты, направленные на выявление связи с риском развития мастита, краткое содержание результатов которых представлено в таблице 3. SNP rs29017188 показал наибольшее количество статистически значимых моделей наследования, в том числе и с учетом поправки Бонферрони, тогда как рецессивная модель наследования риска мастита была значимой для rs8193046 и rs29017188. Рецессивная модель наследования для rs8193046 также имеет наименьшее значение информационного критерия Акаике (AIC), а отношение шансов (odds ratio, OR) указывает, что у животных с генотипом A/A выше риск развития мастита. Для rs29017188 рецессивная модель также имела наименьшее значение AIC, OR для генотипа C/C было равно 2,30, то есть у особей исследованных популяций риск заболеваемости маститом предположительно выше более чем в 2 раза.

Результаты поиска гаплотипов показали, что ACC, GCG, GTG (для аллелей SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188 соответственно) являются самыми распространенными – на их долю приходится более 85% всей выборки (табл. 4).

Животные с гаплотипом GCG имеют статистически значимый более низкий риск развития мастита (для SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188). Предполагаем, что увеличение доли особей с данным гаплотипом в хо-

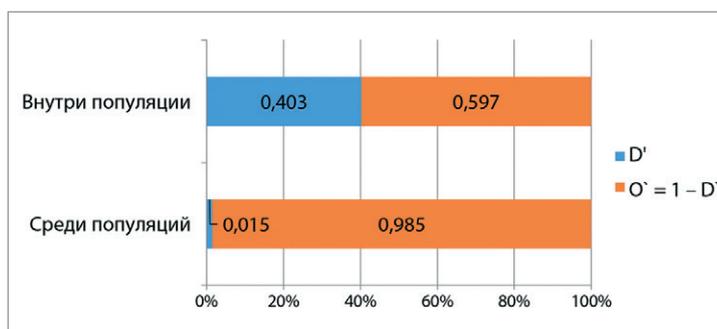


Рис. 2. Индекс биологического разнообразия Шеннона при внутри- и межпопуляционной оценке: D' – индекс разнообразия; O' – индекс идентичности

Fig. 2. Shannon diversity index for intra- and interpopulation assessment: D' – diversity index; O' – overlap index

зяйствах, где остро стоит проблема заболеваемости маститом коров молочного направления продуктивности, может оказать положительный эффект на распространение данного заболевания. Результаты поиска ассоциаций гаплотипов с фенотипами совпадают с результатами по выявлению ассоциаций отдельных полиморфизмов и в большей степени согласуются с данными, полученными X. P. Wang et al. [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы был проведен анализ генетического разнообразия уральских популяций крупного рогатого скота молочного направления продуктивности. Для полиморфизма rs8193046 гена *TLR4* обнаружено отклонение от равновесия Харди – Вайнберга, что, вероятнее всего, связано с воздействием давления искусственного отбора.

Таблица 3

Результаты ассоциативных тестов для каждого из SNP по пяти моделям наследования

Table 3

Results of association tests for each of the SNPs for five inheritance models

SNP	Кодоминантная	Доминантная	Рецессивная	Овердоминантная	log-аддитивная
rs8193046	0,04887*	0,17175	0,01478*	0,47568	0,02935*
rs8193060	0,51985	0,34612	0,73568	0,25287	0,58147
rs29017188	0,00671*	0,06545	0,00248*	0,57736	0,00368*

* p -value $\leq 0,05$; жирный шрифт (in bold) – p -value $\leq 0,016$ (поправка Бонферрони / Bonferroni correction).

Таблица 4

Результаты поиска гаплотипов и их ассоциаций с риском развития мастита

Table 4

Haplotypes and their associations with mastitis risks

rs8193046, rs8193060, rs29017188	Частота	OR	95%-й доверительный интервал	p -value
ACC	0,3491	1,00	референсный гаплотип	–
GCC	0,0643	0,86	0,45–1,64	0,6515
GCG	0,2145	0,53	0,36–0,80	0,0022*
GTG	0,3020	0,74	0,52–1,05	0,0894
Другие редкие гаплотипы	0,0701	0,60	0,33–1,12	0,1083

* p -value $\leq 0,05$; жирный шрифт (in bold) – p -value $\leq 0,016$ (поправка Бонферрони / Bonferroni correction).

На основании результатов ассоциативных тестов сделано предположение, что SNP rs8193046 и rs29017188 являются наиболее перспективными кандидатами для использования в селекционных программах для снижения риска заболеваемости маститом в исследованных популяциях. Стоит отметить низкую эффективность экстраполяции геномных оценок даже среди популяций одной породы, однако полученные в ходе исследования результаты совпадают с ранее представленными данными [9]. Установлено, что гаплотип GCG для rs8193046, rs8193060, rs29017188 является статистически значимым по результатам поиска ассоциаций. По данному гаплотипу, вероятно, можно проводить положительный отбор для снижения риска развития клинического мастита в популяциях крупного рогатого скота молочного направления продуктивности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исакова М. Н., Ряпосова М. В., Опарина О. Ю. Изменения показателей иммунного статуса коров на фоне применения противомаститной вакцины. *Ветеринарный фармакологический вестник*. 2019; (1): 91–95. <https://doi.org/10.17238/issn2541-8203.2019.1.91>
- Исакова М. Н., Лысова Я. Ю. Влияние композиции на основе бактериоциана 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>
- Дроздова Л. И., Баркова А. С., Исакова М. Н., Ларионов Л. П., Пермикин В. В., Стариков Н. М., Хонина Т. Г. Оценка ранозаживляющего эффекта кремнийцинкборсодержащего глицерогидрогеля и влияние его на молочную железу высокопродуктивных коров. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (4): 322–330. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-322-330>
- Brajnik Z., Ogorevc J. Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2023; 14:10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>
- Zemanova M., Langova L., Novotná I., Dvorakova P., Vrtkova I., Havlicek Z. Immune mechanisms, resistance genes, and their roles in the prevention of mastitis in dairy cows. *Archives Animal Breeding*. 2022; 65 (4): 371–384. <https://doi.org/10.5194/aab-65-371-2022>
- Wei J., Zhang Y., Li H., Wang F., Yao S. Toll-like receptor 4: A potential therapeutic target for multiple human diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 166:115338. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115338>
- Judi H., Judi R., Saqban A.-K. Molecular study of colibacillosis susceptibility in calves and lambs. *Nano Biomedicine and Engineering*. 2020; 12 (2): 153–159. <https://doi.org/10.5101/nbe.v12i2.p153-159>
- Gopi B., Singh R.V., Kumar S., Kumar S., Chauhan A., Kumar A., Singh S.V. Single-nucleotide polymorphisms in *CLEC7A*, *CD209* and *TLR4* gene and their association with susceptibility to paratuberculosis in Indian cattle. *Journal of Genetics*. 2020; 99:14. <https://doi.org/10.1007/s12041-019-1172-4>
- Wang X. P., Luoreng Z. M., Gao S. X., Guo D. S., Li J. Y., Gao X., et al. Haplotype analysis of *TLR4* gene and its effects on milk somatic cell score in Chinese commercial cattle. *Molecular Biology Reports*. 2014; 41 (4): 2345–2351. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3088-7>
- De Mesquita A. Q., e Rezende C. S. M., de Mesquita A. J., Jardim E. A. G., Kipnis A. P. J. Association of *TLR4* polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; 43 (2): 692–697. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200034>
- Novák K., Valčíková T., Samaké K., Bjelka M. Association of variants in innate immune genes *TLR4* and *TLR5* with reproductive and milk production traits in Czech Simmental cattle. *Genes*. 2023; 15 (1):24. <https://doi.org/10.3390/genes15010024>
- Kumar S., Kumar S., Singh R.V., Chauhan A., Kumar A., Sulabh S., et al. Genetic association of polymorphisms in bovine *TLR2* and *TLR4* genes with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Indian cattle population. *Veterinary Research Communications*. 2019; 43 (2): 105–114. <https://doi.org/10.1007/s11259-019-09750-2>
- Jecminkova K., Müller U., Kyselova J., Sztankoova Z., Zavadilova L., Stipkova M., Majzlik I. Association of leptin, toll-like receptor 4, and chemokine receptor of interleukin 8 C-X-C motif single nucleotide polymorphisms with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2018; 31 (11): 1721–1728. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0900>
- Sharma B. S., Leyva I., Schenkel F., Karrow N. A. Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation per-

- sistency in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89 (9): 3626–3635. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72402-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72402-X)
- Wang M., Song H., Zhu X., Xing S., Zhang M., Zhang H., et al. *Toll-like receptor 4* gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows. *Journal of Dairy Research*. 2018; 85 (4): 407–411. <https://doi.org/10.1017/s0022029918000535>
- Bhat R. R., Bhat N. N., Shabir A., Mir M. U. R., Ahmad S. B., Hus-sain I., et al. SNP analysis of *TLR4* promoter and its transcriptional factor binding profile in relevance to bovine subclinical mastitis. *Biochemical Genetics*. 2024; 62 (5): 3605–3623. <https://doi.org/10.1007/s10528-023-10578-4>
- Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006; 6 (1): 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Tang D., Chen M., Huang X., Zhang G., Zeng L., Zhang G., et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing. *PLoS ONE*. 2023; 18 (11):e0294236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294236>
- González J. R., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader J. M., Estivill X., Moreno V. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007; 23 (5): 644–645. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>

REFERENCES

- Isakova M. N., Ryaposova M. V., Oparina O. Yu. Changes in the indices of general resistance of the organism of cows on the background of the use of anti-mastitis vaccines. *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2019; (1): 91–95. <https://doi.org/10.17238/issn2541-8203.2019.1.91> (in Russ.)
- 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>
- Drozдова L. I., Barkova A. S., Isakova M. N., Larionov L. P., Per-mikin V. V., Starikov N. M., Khonina T. G. Evaluating wound-healing effect of silicon-zinc-boron-containing glycerohydrogel and its effect on mammary glands of high producing dairy cows. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (4): 322–330. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-322-330>
- Brajnik Z., Ogorevc J. Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2023; 14:10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>
- Zemanova M., Langova L., Novotná I., Dvorakova P., Vrtkova I., Havlicek Z. Immune mechanisms, resistance genes, and their roles in the prevention of mastitis in dairy cows. *Archives Animal Breeding*. 2022; 65 (4): 371–384. <https://doi.org/10.5194/aab-65-371-2022>
- Wei J., Zhang Y., Li H., Wang F., Yao S. Toll-like receptor 4: A potential therapeutic target for multiple human diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 166:115338. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115338>
- Judi H., Judi R., Saqban A.-K. Molecular study of colibacillosis susceptibility in calves and lambs. *Nano Biomedicine and Engineering*. 2020; 12 (2): 153–159. <https://doi.org/10.5101/nbe.v12i2.p153-159>
- Gopi B., Singh R.V., Kumar S., Kumar S., Chauhan A., Kumar A., Singh S.V. Single-nucleotide polymorphisms in *CLEC7A*, *CD209* and *TLR4* gene and their association with susceptibility to paratuberculosis in Indian cattle. *Journal of Genetics*. 2020; 99:14. <https://doi.org/10.1007/s12041-019-1172-4>
- Wang X. P., Luoreng Z. M., Gao S. X., Guo D. S., Li J. Y., Gao X., et al. Haplotype analysis of *TLR4* gene and its effects on milk somatic cell score in Chinese commercial cattle. *Molecular Biology Reports*. 2014; 41 (4): 2345–2351. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3088-7>
- De Mesquita A. Q., e Rezende C. S. M., de Mesquita A. J., Jardim E. A. G., Kipnis A. P. J. Association of *TLR4* polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; 43 (2): 692–697. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200034>
- Novák K., Valčíková T., Samaké K., Bjelka M. Association of variants in innate immune genes *TLR4* and *TLR5* with reproductive and milk production traits in Czech Simmental cattle. *Genes*. 2024; 15 (1):24. <https://doi.org/10.3390/genes15010024>
- Kumar S., Kumar S., Singh R.V., Chauhan A., Kumar A., Sulabh S., et al. Genetic association of polymorphisms in bovine *TLR2* and *TLR4* genes with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Indian cattle population. *Veterinary Research Communications*. 2019; 43 (2): 105–114. <https://doi.org/10.1007/s11259-019-09750-2>
- Jecminkova K., Müller U., Kyselova J., Sztankoova Z., Zavadilova L., Stipkova M., Majzlik I. Association of leptin, toll-like receptor 4, and chemokine receptor of interleukin 8 C-X-C motif single nucleotide polymorphisms with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2018; 31 (11): 1721–1728. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0900>
- Sharma B. S., Leyva I., Schenkel F., Karrow N. A. Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation per-

15. Wang M., Song H., Zhu X., Xing S., Zhang M., Zhang H., et al. *Toll-like receptor 4* gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows. *Journal of Dairy Research*. 2018; 85 (4): 407–411. <https://doi.org/10.1017/s0022029918000535>

16. Bhat R. R., Bhat N. N., Shabir A., Mir M. U. R., Ahmad S. B., Hussain I., et al. SNP analysis of *TLR4* promoter and its transcriptional factor binding profile in relevance to bovine subclinical mastitis. *Biochemical Genetics*. 2024; 62 (5): 3605–3623. <https://doi.org/10.1007/s10528-023-10578-4>

17. Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006; 6 (1): 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>

18. Tang D., Chen M., Huang X., Zhang G., Zeng L., Zhang G., et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing. *PLoS ONE*. 2023; 18 (11): e0294236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294236>

19. González J. R., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader J. M., Estivill X., Moreno V. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007; 23 (5): 644–645. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>

Поступила в редакцию / Received 23.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 10.12.2024

Принята к публикации / Accepted 16.01.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бытов Максим Владимирович, аспирант, 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

Осипова Юлия Алексеевна, студент, лаборант отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0009-0009-8373-6921>, osipova.j2003@gmail.com

Юсупова Чулпан Рифовна, д-р биол. наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2970-6528>, chulpan-galina@mail.ru

Зубарева Владлена Дмитриевна, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zsub97@mail.ru

Maksim V. Bytov, Postgraduate Student, 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

Yulia A. Osipova, Student, Laboratory Assistant, 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/0009-0009-8373-6921>, osipova.j2003@gmail.com

Chulpan R. Yusupova, Dr. Sci. (Biology), Senior 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/0000-0003-2970-6528>, chulpan-galina@mail.ru

Vladlena D. Zubareva, 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/0000-0003-0284-0276>, zsub97@mail.ru

Вклад авторов: Бытов М. В. – проведение ассоциативных тестов, ПЦР-исследований, работа с литературой, подготовка текста, анализ и обобщение; Осипова Ю. А. – проведение ассоциативных тестов, ПЦР-исследований; Юсупова Ч. Р. – администрирование, редактирование текста, работа с литературой; Зубарева В. Д. – проведение ПЦР-исследований, подготовка текста.

Contribution of the authors: Bytov M. V. – association tests and PCR, literature searches, text preparation, literature analysis and synthesis; Osipova Yu. A. – association tests and PCR; Yusupova Ch. R. – administration, editing, literature searches; Zubareva V. D. – PCR, text preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-82-89>
УДК 619:616.98:579.882.11:616-078



Отработка режима лиофилизации гипериммунной хламидийной сыворотки

В. В. Евстифеев^{1, 2}, С. И. Яковлев¹, Ф. М. Хусаинов¹, И. Р. Акбашев¹, С. В. Садыкова¹

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

² ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана» (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ), ул. Сибирский Тракт, 35, г. Казань, 420029, Республика Татарстан, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Современный ареал хламидийной инфекции сельскохозяйственных и диких животных охватывает почти все континенты. В настоящее время для постановки первичного диагноза, проведения скрининговых исследований и отдельных этапов эпизоотологических обследований с целью выявления хламидионосителей в нашей стране применяют «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных». При производстве средств диагностики важной задачей является обеспечение стабильности различных компонентов тест-систем в процессе их хранения и транспортировки. Одним из путей решения этой проблемы является стабилизация различных компонентов диагностических препаратов посредством лиофилизации.

Цель исследования. Отработка режима лиофилизации специфической хламидийной сыворотки, оценка ее соответствия характеристикам, заявленным в технических условиях на контроль тест-системы, и испытание стабильности этого компонента.

Материалы и методы. Сыворотку получали из крови овец, иммунизированных эмульсионным вакцинным препаратом штамма «АМК-16» *Chlamydia psittaci*. До проведения процедуры сублимации гипериммунные сыворотки замораживали до температуры минус 60 °С. Лيوфилизацию сывороток проводили на аппарате Scientz 30F (Китай) двумя способами, различающимися температурными режимами и давлением в камере. Готовые препараты сывороток крови оценивали на соответствие техническим условиям диагностического набора. Полученные сублиматы закладывали на хранение на срок 24 мес. и исследовали в реакции связывания компонента на протяжении этого периода.

Результаты. В ходе проведенных исследований было установлено, что наиболее эффективным оказался способ лиофилизации специфических сывороток, при котором процесс сублимации проходил при более низком давлении и наиболее высокой температуре нагрева. Оценка соответствия полученного препарата характеристикам, заявленным в технических условиях на тест-систему, показала, что качество сыворотки отвечало всем требованиям. Результаты изучения стабильности гипериммунной сыворотки продемонстрировали, что высушенный усовершенствованным способом препарат не теряет своей специфичности на протяжении 24 мес.

Заключение. В результате проведенной работы был отработан оптимальный режим лиофилизации специфической хламидийной сыворотки для диагностической тест-системы. Полученный препарат полностью соответствует характеристикам, заявленным в технических условиях на диагностикум. Установлено, что длительность хранения лиофилизованной сыворотки составляет не менее двух лет, в течение данного периода ее активность и физико-химические свойства не снижаются.

Ключевые слова: хламидиоз, *Chlamydia psittaci*, сублимация, лиофилизация, сыворотка крови, тест-система

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательской работы по теме «Разработка диагностических наборов для диагностики вирусных и бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных».

Для цитирования: Евстифеев В. В., Яковлев С. И., Хусаинов Ф. М., Акбашев И. Р., Садыкова С. В. Отработка режима лиофилизации гипериммунной хламидийной сыворотки. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 82–89. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-82-89>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Яковлев Сергей Игоревич, канд. вет. наук, научный сотрудник лаборатории вирусных антропоонозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Научный городок-2, г. Казань, 420075, Республика Татарстан, Россия, arena176@rambler.ru

Optimization of freeze-drying process for anti-*Chlamydia* hyperimmune serum

Vitaliy V. Evstifeev^{1, 2}, Sergey I. Yakovlev¹, Fidail M. Khusainov¹, Ilgizar R. Akbashev¹, Svetlana V. Sadykova¹

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

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

ABSTRACT

Introduction. The distribution area of *Chlamydia* infection in livestock and wild animals currently extends across almost all continents. At present, initial diagnosis, screening tests and certain stages of epizootiological investigations aimed at *Chlamydia* carrier detection are conducted in the Russian Federation using the “Antigen and Serum Kit for Serological Diagnosis of Chlamydiosis in Livestock”. It is important in the production of diagnostics to ensure stability of different test kit components during their storage and transportation. One way of addressing this issue is to stabilize diagnosticum components by freeze-drying.

© Евстифеев В. В., Яковлев С. И., Хусаинов Ф. М., Акбашев И. Р., Садыкова С. В., 2025

Objective. The study was aimed at optimization of freeze-drying process for specific anti-*Chlamydia* serum, the serum assessment for compliance with characteristics laid down in the technical specifications for the test kit control and testing of the serum for its stability.

Materials and methods. The serum was prepared using blood from sheep immunized with emulsion vaccine based on *Chlamydia psittaci* AMK-16 strain. Prior to freeze-drying, the hyperimmune sera were subjected to freezing to a temperature of minus 60 °C. The sera were freeze-dried using a Scientz 30F freeze-dryer (China). Two freeze-drying procedures with different temperature conditions and chamber pressures were applied. The resulting sera were tested for compliance with the technical specifications for the diagnostic test kit. The freeze-dried sera were put into storage for 24 months and tested with complement fixation test during this period.

Results. Based on the test results, the freeze-drying procedure employing a lower pressure and the highest heating temperature was found to be the most effective for the specific sera. The serum tests for compliance with characteristics laid down in the technical specifications for the test kit showed that the serum quality met all relevant requirements. The stability test results demonstrated that the hyperimmune serum freeze-dried using the improved procedure remains specific during 24 months.

Conclusion. The work performed allowed for optimization of freeze-drying process for specific anti-*Chlamydia* serum intended for the diagnostic test kit. The resulting serum is fully compliant with characteristics laid down in the technical specifications for the diagnosticum. It was established that the freeze-dried serum shelf life is at least two years, during this period the serum retains its activity and physico-chemical properties.

Keywords: chlamydiosis, *Chlamydia psittaci*, sublimation, freeze-drying (lyophilization), serum, test kit

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety within research activities on the topic "Development of test kits for diagnosis of viral and bacterial infections in livestock".

For citation: Evstifeev V. V., Yakovlev S. I., Khusainov F. M., Akbashev I. R., Sadykova S. V. Optimization of freeze-drying process for anti-*Chlamydia* hyperimmune serum. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 82–89. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-82-89>

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

For correspondence: Sergey I. Yakovlev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Researcher, Laboratory for Viral Anthrozooses of Animals, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Nauchnyi gorodok-2, Kazan 420075, Republic of Tatarstan, Russia, arena176@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Хламидиоз – зооантропонозная инфекционная болезнь, этиологическим фактором которой являются грамотрицательные бактерии семейства *Chlamydiaceae* рода *Chlamydia* [1, 2, 3, 4]. Попадая в организм животного (крупный рогатый скот, овцы, свиньи, лошади, грызуны, птицы, кошки, собаки и многие другие), хламидии поражают различные его системы [5], в том числе и иммунную, что, в свою очередь, способствует последующему заражению этих животных возбудителями инфекционных заболеваний, сопутствующих хламидиозу [1]. Наложение различных клинических признаков у животных с хламидиозом и сопутствующей инфекцией на практике мешает правильной и своевременной постановке диагноза [6]. Инфекционный процесс при хламидиозе чаще протекает в хронической форме, что также препятствует своевременному выявлению инфицированных животных после заноса возбудителя в стадо [7].

Современный ареал хламидийной инфекции сельскохозяйственных и диких животных охватывает все континенты, в связи с этим проблема ее диагностики на сегодняшний день является актуальной [8, 9].

В настоящее время для постановки первичного диагноза, проведения скрининговых исследований и отдельных этапов эпизоотологических обследований с целью выявления хламидионосителей в нашей стране применяют «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» (РОСС RU Д-РУ.РА01.В.19342/23) [10, 11].

При производстве средств диагностики важной задачей является обеспечение стабильности биологических свойств различных компонентов тест-систем в процессе изготовления, хранения и транспортировки [12, 13]. Одним из путей решения этой проблемы

является стабилизация белковых молекул различных компонентов диагностических препаратов посредством лиофилизации [14, 15, 16].

«Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (Россия) укомплектован двумя антигенами (специфическим и контрольным) и двумя видами сывороток крови животных (положительной и отрицательной к хламидийному антигену). Все компоненты набора выпускаются в лиофилизированном состоянии [10].

В процессе разработки тест-системы для каждого компонента набора подобраны специальные режимы лиофилизации, причем режим лиофилизации отработывается для каждого сушильного аппарата в зависимости от модели и характеристик, параметры процесса лиофильной сушки каждого компонента могут варьироваться.

В ходе обновления технической базы производственной площадки для изготовления диагностических тест-систем была закуплена камерная лиофильная сушилка Scientz 30F (Китай). Данная модель обладает более мощным вакуумным насосом и холодильным агрегатом. В результате появилась возможность сократить время сушки препаратов, сохраняя загружаемый объем серии. К тому же благодаря наличию в конструкции аппарата электронного блока управления параметрами сушки регулировка температурного режима и силы вакуума стала более точной, что позволило выставить больше контрольных точек процесса. Поэтому прежний режим сушки, используемый на устаревшем оборудовании меньшей мощности при отсутствии точного контроля параметров процесса, стал неприемлем – следовало отработать новые параметры и критерии контроля процесса лиофилизации. Научная новизна работы заключается в разработке новых

параметров лиофилизации специфической хламидийной сыворотки на новом оборудовании с сохранением заявленных в технических условиях (ТУ) характеристик.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась отработка режима лиофилизации специфической хламидийной сыворотки, оценка ее соответствия характеристикам, заявленным в ТУ на контроль тест-системы, и испытание стабильности этого компонента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась в условиях лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Штамм. Для получения инактивированного антигена использовали штамм «АМК-16» *Chlamydia psittaci* с инфекционным титром $10^{5-5.4}$ ЛД₅₀/0,3 мл, депонированный в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (рег. № 11 от 5 сентября 2017 г.).

Биологические модели. Культивирование хламидий для изготовления антигена осуществляли на 6–7-суточных куриных эмбрионах. Для получения гипериммунных сывороток использовали овец романовской породы в возрасте 1,5 года, живой массой 45–50 кг.

В ходе проведения экспериментальных манипуляций с животными были соблюдены требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Тест-системы. При постановке реакции связывания комплемента (РСК) использовали «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань).

Оборудование. Сублимацию гипериммунных сывороток проводили в камерной лиофильной сушилке Scientz 30F (Китай).

Методы. Антиген для иммунизации овец готовили из инфицированных желточных оболочек эмбрионов кур, павших на 4–7-е сут после заражения, путем их гомогенизирования в фосфатно-солевом буфере (pH 7,2) в соотношении 1:9 с последующим дифференциальным центрифугированием для удаления балластных веществ, инактивации формалином и концентрации [17].

Сыворотку получали из крови овец, которых иммунизировали специфическим хламидийным антигеном, эмульгированным в оригинальном маслोलанолиновом адьюванте. Антигенную активность сывороток устанавливали в РСК со специфическим хламидийным антигеном согласно ТУ 9388-020-00492374-2007.

Обескровливание овец проводили под анестезией. Взятие крови производили из яремной вены. Кровь собирали в стерильные стеклянные флаконы, внутренняя поверхность которых была смочена физиологическим раствором. Для отделения сыворотки крови флаконы с кровью помещали в термостат на 40–60 мин, после чего сгустки отделяли от стенок посуды и помещали флаконы в холодильную камеру при температуре 4 °С на 24 ч. Отделившуюся сыворотку крови декантировали от сгустков, центрифугировали при 3,5 тыс. об/мин в течение 20 мин для удаления эритроцитов и консервировали борной кислотой.

Полученные сыворотки разливали в спаренные стеклянные ампулы ОСТ 64-2-485-85 (Россия) в объеме 1,0 см³ с использованием одноканального диспенсера BioHit (Финляндия). Всего для исследования было получено три серии гипериммунных сывороток крови овец.

Все серии сыворотки были разделены на две равные части и высушены (сублимированы) при двух разных технологических режимах лиофилизации.

До проведения процедуры лиофилизации сыворотку в ампулах замораживали в камере лиофильной сушилки при температуре минус 60 °С с экспозицией 14 ч.

Лиофилизированный препарат закладывали на хранение на срок 24 мес. при температуре 18–22 °С. Каждый месяц проводили исследования высушенной гипериммунной сыворотки в РСК с целью оценки ее активности и определения срока хранения.

Антигенную активность сывороток крови до и после лиофилизации (сублимации) определяли в РСК в соответствии с «Инструкцией по применению набора антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных», утвержденной директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 19.05.2016 (РОСС RU Д-РУ.РА01.В.19342/23).

Реакцию ставили в объеме 1,0 см³ в пробирках Флоринского. Антиген при постановке реакции применяли в рабочей дозе, сыворотки инактивировали 30 мин и титровали путем двукратных разведений начиная с 1:5. Перед постановкой реакции проводили титрование комплемента в гемолитической системе, используя его удвоенную дозу, с целью контроля специфичности реакции применяли иммунную хламидийную и заведомо отрицательную сыворотку, а также контрольный антиген. Гемолитическую систему готовили из 2,5%-й смеси отмытых эритроцитов барана и стандартной гемолитической сыворотки в двойном титре. Реакцию проводили на водяной бане при 37 °С. За диагностический титр принимали разведение сыворотки 1:10, разведение 1:5 считали сомнительным результатом [18].

Готовый препарат должен был соответствовать характеристикам, описанным в ТУ 9388-020-00492374-2007.

Полученную сыворотку оценивали по следующим показателям: внешний вид, цвет, наличие посторонних примесей и плесени, массовая доля влаги, растворимость, активность и специфичность в РСК и длительность хранения.

Внешний вид, цвет и наличие посторонних примесей и плесени определяли визуально.

Для определения растворимости полученных лиофилизированных препаратов в ампулы вносили по 1,0 см³ физиологического раствора, после чего ампулы встряхивали и замеряли время полного растворения сублимированных сывороток.

Определение массовой доли влаги в лиофилизированном препарате проводили в соответствии с правилами, описанными в ГОСТ 24061-2012. Сублимированные сыворотки крови массой 0,1 г измельчали до порошкообразного состояния. Полученные пробы равномерно распределяли по дну заранее взвешенной бюксы. После взвешивания бюксы с препаратом помещали в сушильный шкаф и выдерживали при температуре 105 °С при экспозиции 60 мин. Далее препарат охлаждали и взвешивали.

Массовую долю влаги вычисляли по формуле [19]:

$$X = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100,$$

где X – массовая доля влаги, %;

M_1 – масса бюксы с пробой до высушивания, г;

M_2 – масса бюксы с пробой после высушивания, г;

M_0 – масса бюксы без пробы, г.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследований определяли антигенную активность полученных сывороток крови овец. Все три серии сывороток реагировали в РСК с хламидийным антигеном в титре 1:160.

Далее сыворотки, разлитые в ампулы по 1,0 см³ и замороженные до температуры минус 60 °С, лиофилизировали двумя разными способами.

Показатели температурных режимов и вакуума при лиофилизации гипериммунных сывороток крови овец первым способом представлены на рисунке 1.

Данный способ лиофилизации включал в себя выдерживание сывороток крови под вакуумом в течение 26 ч при плавном понижении давления с 148 до 100 Па в первые 25 ч и до 40 Па в следующий час. Охлаждение полок осуществляли в течение первых 7 ч. Далее в течение последующих 6 ч (с 8 до 13 ч после начала сублимации) полки нагревали до температуры 0,2–0,8 °С и с 14-го по 21-й ч от начала сушки температура полок находилась в этих пределах. Полки аппарата переводили в режим нагрева (до температуры 35 °С) на 22-й ч лиофилизации. Сыворотку в таком режиме сушили еще 4 ч, пока ее температура в ампулах не достигла 25 °С.

Показатели температурных режимов и вакуума при лиофилизации гипериммунных сывороток крови овец вторым способом представлены на рисунке 2.

Отличие второго способа заключалось в том, что в 1-й ч после загрузки препарата в аппарат вакуум поддерживался на уровне 11 Па. На протяжении следующих 3 ч давление в камере аппарата плавно повышалось до 43 Па и находилось на этом уровне в течение дальнейших 5 ч. С 9-го по 11-й ч после начала сушки давление в камере повышалось до 47 Па. Начиная с 13-го и по 20-й ч процесса лиофилизации давление в камере понижалось до 2,2 Па. Охлаждение полок лиофильного аппарата длилось 1 ч. С 2-го по 9-й ч полки плавно нагревали до температуры 0,6 °С. На этом уровне температура полок находилась в течение последующих 10 ч (начиная с 10-го ч и заканчивая 20-м ч после начала сушки). В последние 2 ч сушки сыворотки полки аппарата нагревали до температуры от 1 до 54 °С, пока температура продукта в ампулах не поднималась до 25 °С.

На рисунке 3 представлены фотографии гипериммунных сывороток крови, лиофилизированных двумя вышеописанными способами.

В таблице отражены результаты оценки соответствия лиофилизированных сывороток заявленным характеристикам.

Установлено, что сублимированная первым способом сыворотка не соответствовала заявленным характеристикам. В ампуле не образовалась гомогенная

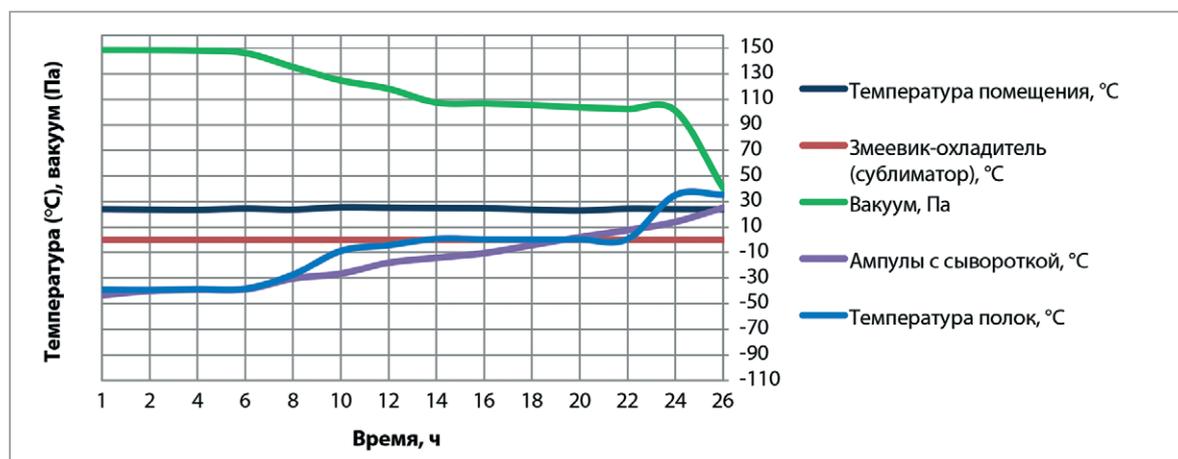


Рис. 1. Температурный режим и вакуум при лиофилизации гипериммунной сыворотки первым способом

Fig. 1. Temperature conditions and vacuum pressure during hyperimmune serum freeze-drying using procedure 1

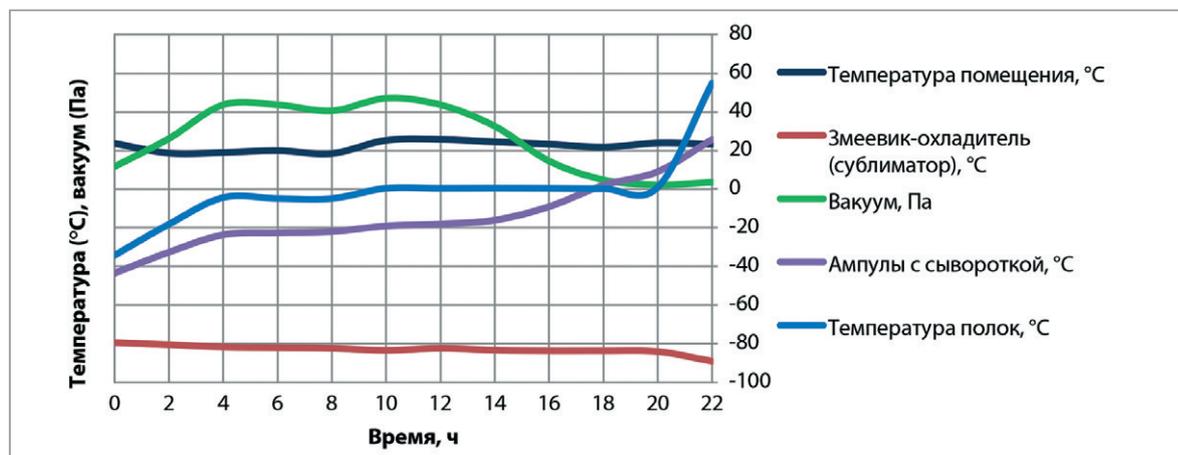


Рис. 2. Температурный режим и вакуум при лиофилизации гипериммунной сыворотки вторым способом

Fig. 2. Temperature conditions and vacuum pressure during hyperimmune serum freeze-drying using procedure 2

Таблица
Физико-химические и биологические показатели лиофилизированных хламидийных гипериммунных сывороток и их соответствие характеристикам, описанным в технических условиях

Table
Physico-chemical and biological parameters of freeze-dried anti-*Chlamydia* hyperimmune sera and their compliance with characteristics laid down in technical specifications

Наименование показателя	Требуемая характеристика сыворотки согласно ТУ 9388-020-00492374-2007	Сыворотка, сублимированная первым способом	Сыворотка, сублимированная вторым способом
Внешний вид	Сухая гомогенная аморфная масса в виде таблетки	–	+
Цвет	Светло-кремовый	+	+
Наличие посторонних примесей, плесени	Не допускается	+	+
Массовая доля влаги, % не более	4	+	+
Растворимость	Содержимое ампул должно растворяться в течение 2–5 мин в физиологическом растворе и представлять собой гомогенную взвесь	– (по истечении 10 мин остаются нерастворенные фрагменты)	+
Активность: титр в РСК не ниже	1:80	+	+
Специфичность в РСК	Должна реагировать только со специфическим хламидийным антигеном	+	+

масса в виде таблетки, и полученный препарат плохо растворялся в воде. Сыворотка, высушенная по второму способу, полностью соответствовала заявленным характеристикам.

Далее для оценки активности гипериммунной сыворотки в процессе длительного хранения использовали образец, сублимированный по второму способу.



Рис. 3. Внешний вид лиофилизированных двумя разными способами сывороток крови одной серии

Fig. 3. Appearance of sera from the same batch freeze-dried using two different procedures

Результаты оценки антигенной активности лиофилизированной хламидийной гипериммунной сыворотки в течение 24 мес. после сублимирования представлены на рисунке 4.

Выявлено, что на протяжении двух лет после лиофилизации активность гипериммунных сывороток крови овец не опускалась ниже заявленного в ТУ титра антител (1:40). На 4, 12 и 21-й мес. хранения по одной сыворотке из трех прореагировали в титре 1:80, в связи с этим средний титр на данном сроке исследования был равен 1:133. В последующие месяцы все сыворотки реагировали в титре 1:160. Предположительно, снижение титра хламидийных антител на один титр, выявляемое на некоторых сроках исследования, связано с погрешностями в постановке РСК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как показывает практика, наиболее оптимальным способом консервации для длительного хранения сывороток крови является лиофилизация [20]. Ранее для сублимации специфической хламидийной сыворотки, которая является одним из компонентов

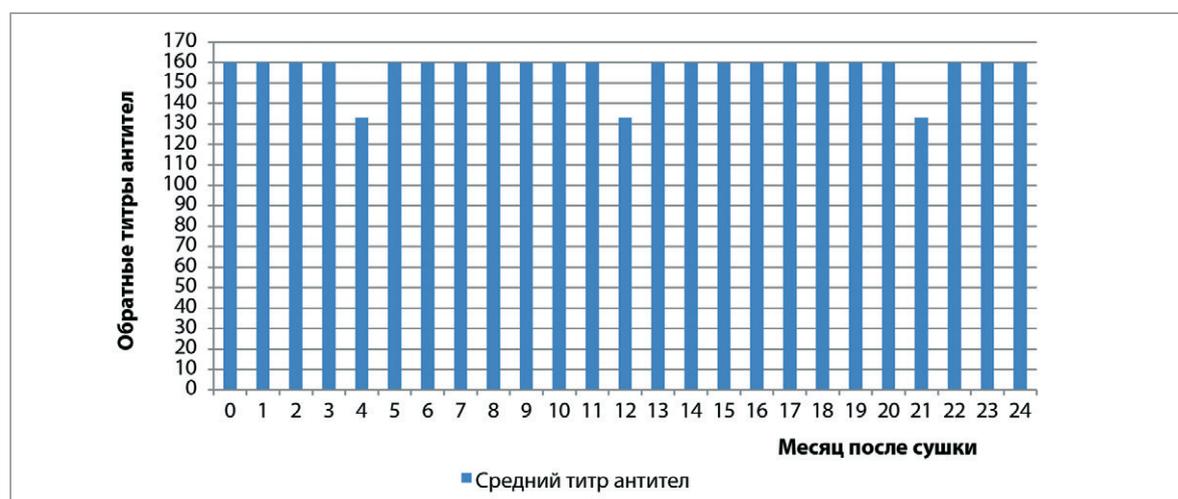


Рис. 4. Активность хламидийной гипериммунной сыворотки крови овец в процессе длительного хранения (24 мес.)

Fig. 4. Anti-*Chlamydia* hyperimmune ovine serum activity during its long-term storage (24 months)

производимого диагностического набора, нами был отработан оптимальный режим сушки для имеющегося на тот момент оборудования. Препараты, сублимированные согласно этому технологическому режиму, соответствовали характеристикам ТУ для производимой тест-системы. В ходе обновления технической базы производственной площадки была закуплена новая современная лиофильная сушилка, обладающая более мощными характеристиками, большим объемом сушильной камеры и имеющая электронный блок управления, позволяющий отслеживать и регулировать температурный режим и силу вакуума.

В настоящей работе представлены два технологических режима лиофилизации специфической хламидийной сыворотки. Первый был максимально приближен к режиму, применяемому для сушки на старом оборудовании. Данный способ сублимации оказался не подходящим для нового оборудования. В связи с этим был разработан новый технологический режим (второй способ сублимации).

В научной литературе представлены сведения о разработке режимов сублимирования специфических сывороток и иммуноглобулинов для диагностических тест-систем. Продолжительность сушки этих препаратов находится в пределах от 24 до 30 ч [14, 16, 21, 22]. Первый способ сублимации, применяемый в работе, по времени занимал 26 ч. Технологический режим, разработанный для нового оборудования (второй способ сублимации), позволил сократить срок сушки до 22 ч, что явилось первым отличием между двумя способами.

Другое отличие – температурные режимы нагрева полок аппарата. При первом способе сублимации специфической сыворотки первые 6 ч температура полок аппарата колебалась в пределах от минус 39 до минус 38 °С. Тогда как при втором способе лиофилизации сыворотки загружали в охлажденную до температуры минус 35 °С камеру аппарата и с первого часа начинали нагрев полок сначала до температуры минус 4 °С (первые 8 ч), потом до плюс 0,5 °С (следующие 10 ч). Процесс возгонки при заданных параметрах в первом случае протекал в течение 22 ч, во втором случае – в течение 20 ч. В первом случае процесс возгонки в течение первых 6 ч после начала лиофилизации протекал слишком медленно в связи с очень низкой температурой и относительно низким вакуумом. Далее при нагреве полок вакуум на протяжении всего процесса сушки также имел достаточно низкие значения (от 135 до 101 Па на этапе сублимации), что в совокупности не позволило всей влаге испариться из препарата за заданный промежуток времени. Остаточная влага в процессе досушивания конденсировалась и растворила часть таблетки сублимированной сыворотки в ампуле (рис. 3). При сублимации вторым способом были подобраны оптимальный температурный режим и вакуум, которые позволили получать лиофилизированную специфическую сыворотку надлежащего качества.

В работе А. В. Комиссарова и соавт. представлены данные о корреляции времени лиофилизации сывороток крови с объемом сублимируемого препарата, которые указывают на сокращение продолжительности сушки при уменьшении объема загружаемой в аппарат сыворотки [14]. В нашем исследовании было установлено, что первый способ сублимации не позволял всей влаге возгнаться и конденсироваться на змеевике-

охладителе в установленный временной промежуток, хотя для предыдущего аппарата этот технологический режим лиофилизации являлся оптимальным. Это связано с увеличением объема сублимируемого препарата на новом оборудовании, имеющем больший объем сушильной камеры. Исходя из этого, для оптимизации процесса лиофилизации можно увеличить продолжительность охлаждения полок аппарата, что позволило бы усовершенствовать процесс сушки, но значительно увеличило бы время сублимации. Однако существует способ сокращения длительности лиофилизации различных препаратов путем подбора оптимального режима ускоренного нагревания полок аппарата в пределах минусовых температур на этапе возгонки [23]. Данный принцип был использован при втором способе лиофилизации специфической хламидийной сыворотки. Новый технологический режим сублимационного высушивания сыворотки позволил получить качественный компонент для диагностического набора в больших объемах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы был отработан оптимальный режим сублимационной сушки специфической хламидийной сыворотки для диагностической тест-системы. Полученный данным способом препарат полностью соответствует характеристикам, заявленным в ТУ 9388-020-00492374-2007 «Набора антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных».

Отличием оптимизированного технологического режима от используемого ранее явилось уменьшение времени нагрева полок аппарата в пределах минусовых температур и увеличение вакуума, что, в свою очередь, позволило сократить срок сублимации препарата и получить качественный компонент для изготовления тест-системы.

Установлено, что длительность хранения лиофилизированной сыворотки составляет не менее двух лет, а ее активность и физико-химические свойства за указанный период не снижаются.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федорова В. А., Ляпина А. М., Хижнякова М. А., Зайцев С. С., Салтыков Ю. В., Субботина И. А. и др. Хламидиозы животных и человека. М.: Наука; 2019. 135 с. <https://doi.org/10.7868/9785020402492>
2. Равилов Р. Х. Клинико-эпизоотологические особенности хламидиоза у сельскохозяйственных животных. *Труды ВИЭВ*. 2021; 82 (1): 174–177. <https://elibrary.ru/qmaazo>
3. Красочко П. А., Максимович В. В., Синица Н. В., Красочко П. П., Конотоп Д. С., Яромчик Я. П. и др. Хламидиоз сельскохозяйственных животных: учебно-методическое пособие. Витебск: ВГАВМ; 2020. 44 с. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/14804>
4. Cheong H. C., Lee C. Y. Q., Cheok Y. Y., Tan G. M. Y., Looi C. Y., Wong W. F. *Chlamydiaceae: diseases in primary hosts and zoonosis. Microorganisms*. 2019; 7 (5):146. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050146>
5. Мустафаева Н. А., Сафарова С. А., Джумшудова Ф. А., Бабанлы Л. Т., Мамедова М. А. Хламидиоз сельскохозяйственных животных. *Прикаспийский вестник ветеринарии*. 2023; (1): 24–28. <https://elibrary.ru/lvvhshy>
6. Borel N., Sachse K. Zoonotic transmission of *Chlamydia* spp.: Known for 140 years, but still underestimated. In: *Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals*. Ed. by A. Sing. Cham: Springer; 2023; 1–28. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_53-1
7. Caspe S. G., Hill H. Chlamydiosis in animals. *Animals*. 2024; 14 (21):3130. <https://doi.org/10.3390/ani14213130>
8. Равилов А. З., Гаффаров Х. З., Равилов Р. Х. Хламидиоз животных. Казань: Фэн АН РТ; 2004. 368 с.
9. Marti H., Jelocnik M. Animal *Chlamydiae*: A concern for human and veterinary medicine. *Pathogens*. 2022; 11 (3):364. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030364>

10. Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Хусаинова Г. И., Акбашев И. Р., Яковлев С. И. Оценка эффективности различных специфических хламидийных антигенов для серологической диагностики. *Инновационные решения актуальных вопросов безопасности: сборник материалов международной научно-практической конференции (Казань, 11–12 ноября 2021 г.)*. Казань: ФЦТРБ-ВНИВИ; 2021; 47–51. <https://elibrary.ru/cbsurg>
11. Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Хусаинова Г. И., Акбашев И. Р., Яковлев С. И., Хамидулина Р. З. Изучение активности компонентов набора для диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных после лиофилизации и длительного хранения. *Молодежная наука – развитию агропромышленного комплекса: материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Курск, 3–4 декабря 2020 г.)*. Часть 2. Курск: Курская ГСА имени И. И. Иванова; 2020; 476–480. <https://elibrary.ru/psgqhb>
12. Жданова Е. В., Русанова Д. В., Семирчева А. А., Геогджаян А. С., Жарникова И. В. Контроль стабильности диагностикума эритроциттарного бруцеллезного антигенного жидкого в процессе хранения. *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: материалы XIII Ежегодного всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, 24–26 мая 2021 г.)*. М.: Медицинское маркетинговое агентство; 2021; 189. <https://elibrary.ru/kkxkaj>
13. Комиссаров А. В., Бибииков Д. Н., Бадарин С. А., Сеницына Н. В., Костылева Н. И., Овчинникова М. В. и др. Разработка расчетной зависимости для оценки величины потери массы при лиофилизации диагностических препаратов. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020; 10 (3): 506–514. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-3-506-514>
14. Комиссаров А. В., Бадарин С. А., Бибииков Д. Н., Сеницына Н. В., Костылева Н. И., Глазкова Е. А. и др. Совершенствование сублимационной сушки холерных диагностических сывороток в ампулах. *Бактериология*. 2023; 8 (2): 34–41. <https://elibrary.ru/hzodwc>
15. Невская Л. В., Воропаев А. А., Фадейкина О. В., Петрова Н. Э., Капитанова В. К., Трегубова В. Е. и др. Способ получения лиофилизированной формы стандартного образца сыворотки, содержащего аллергически-специфический иммуноглобулин Е (варианты). Патент № 2802333 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/395 (2006.01), А61К 9/19 (2006.01), А61К 38/00 (2006.01). ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». № 2022132754. Заявл. 14.12.2022. Опубл. 24.08.2023. Бюл. № 24.
16. Иванова С. В., Мельникова Л. А., Родионов А. П., Евстифеев В. В. Способ получения и хранения гипериммунной сибиреязвенной сыворотки. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (3): 215–221. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-3-215-221>
17. Яковлев С. И. Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных: дис. ... канд. вет. наук. М.; 2022; 87–88.
18. Евстифеев В. В. Разработка и усовершенствование биологических препаратов для диагностики и специфической профилактики хламидиоза животных: дис. ... д-ра биол. наук. Казань; 2015. 417 с.
19. ГОСТ 24061–2012 Средства лекарственные биологические лиофилизированные для ветеринарного применения. Метод определения массовой доли влаги. <https://docs.cntd.ru/document/1200103299>
20. Fissore D., McCoy T. Editorial: Freeze-drying and process analytical technology for pharmaceuticals. *Frontiers in Chemistry*. 2018; 6:622. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00622>
21. Комиссаров А. В., Овчинникова М. В., Бадарин С. А., Бибииков Д. Н., Сеницына Н. В., Костылева Н. И., Плотников И. А. Экспериментальное обоснование новой формы выпуска холерных диагностических сывороток. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; (4): 38–40. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-38-40>
22. Кочкалова Н. Н., Абрамова Е. Г., Никифоров А. К., Киреев М. Н., Лобовикова О. А., Савицкая Л. В. и др. Оптимизация формы выпуска и потребительской тары иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади. *Бюллетень ВШЦ СО РАМН*. 2012; (5-1): 236–238. <https://elibrary.ru/piwdvz>
23. Алексеев К. В., Блынская Е. В., Тишков С. В. Теоретические и практические основы лиофилизации лекарственных препаратов: монография. М.: Типография «Миттель пресс»; 2019. 219 с.
3. Krasochko P. A., Maksimovich V. V., Sinita N. V., Krasochko P. P., Konotop D. S., Yaromchik Ya. P., et al. Chlamydiae in livestock: a study guide. Vitebsk: Vitebsk the Order of “the Badge of Honor” State Academy of Veterinary Medicine; 2020. 44 p. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/14804> (in Russ.)
4. Cheong H. C., Lee C. Y. Q., Cheok Y. Y., Tan G. M. Y., Looi C. Y., Wong W. F. *Chlamydiae: diseases in primary hosts and zoonosis*. *Microorganisms*. 2019; 7 (5):146. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050146>
5. Mustafayeva N. A., Safarova S. A., Dzhumshudova F. A., Babanly L. T., Mammadova M. A. Chlamydiae of agricultural animals. *Prikspijskij vestnik veterinarii*. 2023; (1): 24–28. <https://elibrary.ru/lvvhys> (in Russ.)
6. Borel N., Sachse K. Zoonotic transmission of *Chlamydia* spp.: Known for 140 years, but still underestimated. In: *Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals*. Ed. by A. Sing. Cham: Springer; 2023; 1–28. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_53-1
7. Caspe S. G., Hill H. Chlamydiae in animals. *Animals*. 2024; 14 (21):3130. <https://doi.org/10.3390/ani14213130>
8. Ravilov A. Z., Gaffarov H. Z., Ravilov R. H. Chlamydiae in animals. Kazan: Feng Publishing House of the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan; 2004. 368 p. (in Russ.)
9. Marti H., Jelocnik M. Animal *Chlamydiae*: A concern for human and veterinary medicine. *Pathogens*. 2022; 11 (3):364. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030364>
10. Evstifeev V. V., Khusainov F. M., Khusainova G. I., Akbashev I. R., Yakovlev S. I. Otsenka effektivnosti razlichnykh spetsificheskikh khlamidinykh antigenov dlya serologicheskoi diagnostiki = Evaluation of various specific *Chlamydia* antigens intended for serological diagnosis for their effectiveness. *Innovatsionnye resheniya aktual'nykh voprosov bezopasnosti: sbornik materialov mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Kazan, 11–12 noyabrya 2021 g.) = Innovative solutions to topical safety issues: proceedings of the International Research-to-Practice Conference (Kazan, 11–12 November 2021)*. Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety; 2021; 47–51. <https://elibrary.ru/ikekgw> (in Russ.)
11. Evstifeev V. V., Khusainov F. M., Khusainova G. I., Akbashev I. R., Yakovlev S. I., Khamidullina R. Z. Activity and specificity of lyophilized antigens and sera for serological diagnosis of *Chlamydia*. *Molodezhnaya nauka – razvitiyu agropromyshlennogo kompleksa: materialy Vserossiiskoi (natsional'noi) nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov, aspirantov i molodykh uchenykh (Kursk, 3–4 dekabr 2020 g.)*. Chast' 2 = Early career researchers – for the development of agroindustry: proceedings of the All-Russia (National) Research-to-Practice Conference of Students, Postgraduate Students and Early Career Researchers (Kursk, 3–4 December 2020). Part 2. Kursk: Kursk State Agricultural Academy; 2020; 476–480. <https://elibrary.ru/psgqhb> (in Russ.)
12. Zhdanova E. V., Rusanova D. V., Semircheva A. A., Geogdjayan A. S., Zharnikova I. V. Kontrol' stabil'nosti diagnostikuma eritrotsitarnogo brutselleznogo antigennogo zhidkogo v protsesse khraneniya = Storage stability tests of liquid erythrocyte brucellosis diagnosticum. *Infektsionnye bolezni v sovremennom mire: evolyutsiya, tekushchie i budushchie ugrozy: materialy XIII Ezhгодного vserossiiskogo kongressa po infektsionnym boleznyam imeni akademika V. I. Pokrovskogo (Moskva, 24–26 maya 2021 g.) = Infectious diseases in the world today: evolution, current and future threats: proceedings of the XIII Annual All-Russia Congress on Infectious Diseases named after Academician V. I. Pokrovsky (Moscow, 24–26 May 2021)*. Moscow: Meditsinskoe marketingovoe agentstvo; 2021; 189. <https://elibrary.ru/kkxkaj> (in Russ.)
13. Komissarov A. V., Bibikov D. N., Badarin S. A., Sinityna N. V., Kostyleva N. I., Ovchinnikova M. V., et al. Calculation of dependences for estimating the amount of weight loss during lyophilization of diagnostic preparations. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020; 10 (3): 506–514. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-3-506-514> (in Russ.)
14. Komissarov A. V., Badarin S. A., Bibikov D. N., Sinityna N. V., Kostyleva N. I., Glazkova E. A., et al. Improvement freeze-drying of diagnostic cholera sera in ampoules. *Bacteriology*. 2023; 8 (2): 34–41. <https://elibrary.ru/hzodwc> (in Russ.)
15. Nevskaya L. V., Voropaev A. A., Fadeikina O. V., Petrova N. E., Kapitanova V. K., Tregubova V. E., et al. Method of obtaining lyophilized form of serum reference sample containing allergen-specific immunoglobulin E (versions). Patent No. 2802333 C1 Russian Federation, Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01), A61K 9/19 (2006.01), A61K 38/00 (2006.01). Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products' of the Ministry of Health of the Russian Federation. No. 2022132754. Date of filing: 14.12.2022. Date of publication: 24.08.2023. Bull. No. 24. (in Russ.)
16. Ivanova S. V., Melnikova L. A., Rodionov A. P., Evstifeev V. V. Method of obtaining and storing hyperimmune anthrax serum. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (3): 215–221. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-3-215-221>

REFERENCES

1. Feodorova V. A., Lyapina A. M., Khizhnyakova M. A., Zaitsev S. S., Saitykov Yu. V., Subbotina I. A., et al. Chlamydiae in animals and humans. Moscow: Nauka; 2019. 135 p. <https://doi.org/10.7868/9785020402492> (in Russ.)
2. Ravilov R. Kh. Kliniko-ehpizootologicheskie osobennosti khlamidioza u sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh = Clinical and epizootiological features of chlamydiae in livestock. *Proceedings of the VIEV*. 2021; 82 (1): 174–177. <https://elibrary.ru/qmaazo> (in Russ.)

17. Yakovlev S. I. Improvement of tools for specific prevention of chlamydia in animals: Author's thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Moscow; 2022; 87–88. (in Russ.)

18. Evstifeev V. V. Development and improvement of biologicals for diagnosis and specific prevention of chlamydia in animals: Author's thesis for degree of Dr. Sci. (Biology). Kazan; 2015. 417 p. (in Russ.)

19. GOST 24061-2012 Medicine remedies biological lyophilized for veterinary use. Method for determination mass moisture. <https://docs.cntd.ru/document/1200103299> (in Russ.)

20. Fissore D., McCoy T. Editorial: Freeze-drying and process analytical technology for pharmaceuticals. *Frontiers in Chemistry*. 2018; 6:622. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00622>

21. Komissarov A. V., Ovchinnikova M. V., Badarin S. A., Bibikov D. N., Sinitsyna N. V., Kostyleva N. I., Plotnikov I. A. Experimental substantiation

of new presentation form of cholera diagnostic sera. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; (4): 38–40. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-38-40> (in Russ.)

22. Kochkalova N. N., Abramova E. G., Nikiforov A. K., Kireyev M. N., Lobovikova O. A., Savitskaya L. V., et al. Optimization of presentation and consumer container of anti-rabies immunoglobulin obtained from horse serum. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Academy of Medical Sciences*. 2012; (5-1): 236–238. <https://elibrary.ru/piwdvz> (in Russ.)

23. Alekseev K. V., Blynskaya E. V., Tishkov S. V. Theory and practice of medicinal product freeze-drying: a monograph. Moscow: Printing House "Mittel Press"; 2019. 219 p.

Поступила в редакцию / Received 22.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 15.01.2025

Принята к публикации / Accepted 10.02.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Евстифеев Виталий Валерьевич, д-р биол. наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории вирусных антропозоонозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9882-3475>, vit.evstifeev@yandex.ru

Яковлев Сергей Игоревич, канд. вет. наук, научный сотрудник лаборатории вирусных антропозоонозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4944-6559>, arena176@rambler.ru

Хусаинов Фидайль Миннигалеевич, д-р вет. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных антропозоонозов животных, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3101-7740>, fidail63@mail.ru

Акбашев Ильгизар Расилович, канд. вет. наук, научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8587-3713>, akbashev92@mail.ru

Садыкова Светлана Васильевна, младший научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0009-0004-8301-851X>, ssadykova51@gmail.com

Vitaliy V. Evstifeev, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Chief Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9882-3475>, vit.evstifeev@yandex.ru

Sergey I. Yakovlev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4944-6559>, arena176@rambler.ru

Fidail M. Khusainov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3101-7740>, fidail63@mail.ru

Ilgizar R. Akbashev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Researcher, Laboratory for Animal Viral Diseases, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8587-3713>, akbashev92@mail.ru

Svetlana V. Sadykova, Junior Researcher, Laboratory for Animal Viral Diseases, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0009-0004-8301-851X>, ssadykova51@gmail.com

Вклад авторов: Евстифеев В. В. – подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта; Яковлев С. И. – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста; Хусаинов Ф. М. – формулировка ключевых целей и задач; Акбашев И. Р. – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных; Садыкова С. В. – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных.

Contribution of the authors: Evstifeev V. V. – text preparation and editing, approval of the final version; Yakovlev S. I. – conducting tests, data analysis and interpretation, text preparation and editing; Khusainov F. M. – formulation of overarching goals and aims; Akbashev I. R. – conducting tests, data analysis and interpretation; Sadykova S. V. – conducting tests, data analysis and interpretation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-90-100>
УДК 619:615.276/.28:546.57



Наночастицы металлов, наночастицы серебра и их влияние на организм человека и животных (обзор литературы)

А. Д. Сумарокова, Л. Н. Стацевич

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ), ул. Добролюбова, 160, г. Новосибирск, 630039, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. В связи с ростом числа заболеваний различной этиологии и развитием антибиотикорезистентности в последние несколько лет возросла значимость такого достижения человечества, как наноматериалы. Сравнительно небольшое количество данных (недостаток данных) о биораспределении, фармакокинетике, а также потенциальной токсичности нанометаллов для организма замедляет разработку более безопасных и эффективных лекарственных средств.

Цель исследования. Анализ и обобщение данных современной научной литературы, посвященной изучению наночастиц металлов и наночастиц серебра, их распределения и влияния на организм человека и животных, а также по применению в сфере биомедицины и ветеринарии.

Материалы и методы. Поиск источников производился в системах eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, scholar.google.ru, www.mdpi.com, www.researchgate.net, www.sciencedirect.com, базе данных PubMed. Использовалась литература, опубликованная за последние 6 лет, и более ранние исследования.

Результаты. Наноэлементы делят на органические, неорганические и гибридные. Одной из наиболее изученных неорганических наноструктур являются наночастицы металлов. Они находят широкое применение как в инженерии, так и в биомедицине (ветеринарии) в качестве бактерицидного и вирулицидного агента, средств для борьбы с раком, а также в сфере диагностики. На территории СНГ популярными нанометаллами являются наночастицы серебра. Известно, что на антибактериальную активность наночастиц влияют их форма, размер и поверхностный заряд. Сейчас на фармацевтическом рынке существует несколько видов препаратов серебра, представленные в различных формах: коллоидное (катионное), кластерное и нульвалентное (металлическое) серебро. Препараты нульвалентного серебра наименее токсичны по сравнению с остальными. Лекарства на основе наноразмерных частиц можно вводить оральным, ингаляционным и дермальным способами, а также непосредственно в системный кровоток посредством внутривенной или внутривенной инъекции. Биораспределение металлических наноструктур зависит от типа частиц, их размера, поверхностного заряда, поверхностного покрытия, связи с белками, а также от путей воздействия, дозы и гидрофобности. Фармакокинетика наночастиц серебра не отличается от распределения наночастиц металлов, при этом наноразмерное серебро способно накапливаться в селезенке, печени, почках и легких, что может вызывать потенциальный токсический эффект.

Заключение. Необходимы дальнейшие углубленные исследования биораспределения, совместимости и потенциальной токсичности наночастиц, которые помогут разработать более эффективные и безопасные лекарственные препараты.

Ключевые слова: обзор, виды наночастиц, наночастицы металлов, наносеребро, биораспределение, препараты наносеребра, антибактериальная активность, токсичность

Для цитирования: Сумарокова А. Д., Стацевич Л. Н. Наночастицы металлов, наночастицы серебра и их влияние на организм человека и животных (обзор литературы). *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 90–100. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-90-100>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Сумарокова Анастасия Дмитриевна, аспирант, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, ул. Добролюбова, 160, г. Новосибирск, 630039, Россия, stasaan@gmail.com

Metal nanoparticles, silver nanoparticles and their impact on human and animal health (review)

Anastasia D. Sumarokova, Lyudmila N. Statsevich

Novosibirsk State Agricultural University, 160 Dobrolyubova str., Novosibirsk 630039, Russia

ABSTRACT

Introduction. Due to increased prevalence of different diseases and antimicrobial resistance development in recent year, such advancements of the humankind as nanomaterials have gained the significance. A relatively small amount of data (lack of data) on biological distribution, pharmacokinetics and potential toxicity of nanometals for the organism hinders the development of safer and more effective drugs.

Objective. Analysis and summary of data published in modern scientific literature on studies of metal nanoparticles and silver nanoparticles, their distribution and impact on human and animal health, as well as their use in biomedicine and veterinary medicine.

Materials and methods Publications were searched for in eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, scholar.google.ru, www.mdpi.com, www.researchgate.net, www.sciencedirect.com, PubMed database. The literature published during last six years and more recent publications have been used.

Results. Nanostructures can be organic, inorganic and hybrid. One of the most studied inorganic materials are metal nanoparticles. They are widely used both in engineering and biomedicine, in particular in veterinary medicine, as bactericidal and virucidal agents, anti-cancer drugs and diagnostic tools. In the CIS members, silver nanoparticles are most commonly used. It is known that shape, size and surface electric charge affect the antibacterial activity of nanostructures. Several types

of silver-based drugs are available at the market now: colloidal, silver cluster and zerovalent silver. Zerovalent silver-based drugs are least toxic. Nanoparticle-based drugs can reach target tissues through local administration such as oral, inhalation, subcutaneous administration, and directly into blood flow by intraperitoneal or intravenous injection. Biodistribution of metal nanostructures depends on particle type, their size, surface, interaction with proteins as well as routes of exposure, doses and hydrophobic properties. Pharmacokinetics of silver nanoparticles does not differ from that of metal nanoparticles, furthermore nanosilver does not accumulate in spleen, liver, kidneys and lungs which is potentially toxic.

Conclusions. Further in-depth studies of nanoparticle biodistribution, compatibility and potential toxicity are needed to facilitate the development of more effective and safe therapeutic drugs.

Keywords: review, nanoparticle types, metal nanoparticles, nanosilver, biodistribution, nanosilver drugs, bactericidal activity, toxicity

For citation: Sumarokova A. D., Statsevich L. N. Metal nanoparticles, silver nanoparticles and their impact on human and animal health (review). *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 90–100. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-90-100>

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

For correspondence: Anastasia D. Sumarokova, Postgraduate Student, Novosibirsk State Agrarian University, 160 Dobrolyubova str., Novosibirsk 630039, Russia, stasaan@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Длительное использование антимикробных препаратов угнетает симбиотическую микрофлору организма, патогенные микроорганизмы развивают устойчивость к антибиотикам, и лекарственные препараты прекращают оказывать терапевтическое действие, вызывая при этом побочные эффекты и осложнения. Новые механизмы устойчивости различных патогенов, увеличивающие их резистентность, снижают эффективность лечения инфекционных заболеваний. Даже распространенные инфекции, такие как пневмония, сепсис и заболевания пищевого происхождения, становятся все труднее лечить, а в некоторых случаях это сделать вообще невозможно из-за снижения эффективности антибактериальных препаратов¹. Растущая глобальная проблема устойчивости к антибиотикам возбудителей инфекций создала острую необходимость снижения использования противомикробных средств и поиска наиболее действенных препаратов, их заменяющих [1].

Область применения наноматериалов быстро расширяется. Использование их для решения биомедицинских и ветеринарных задач, таких как диагностика и лечение различных заболеваний, на сегодняшний день является одним из приоритетных научных направлений. Особый интерес в широком спектре наночастиц (НЧ), предлагаемых для использования в сфере медицины и ветеринарии, представляют наночастицы металлов (НЧМ), что обусловлено их уникальными химическими и биологическими характеристиками, обеспечивающими их многофункциональность [2].

В настоящее время выделяют три основные группы действия наноструктур на биологические объекты:

- 1) модификация (НЧ железа, меди);
- 2) токсичность (НЧ меди, оксида алюминия, серебра, железа, гидроксида железа);
- 3) мутагенность (НЧ кремния, гидроксида никеля, оксида железа, диоксида титана, золота, оксида цинка, оксида меди и серебра) [2].

Наиболее часто используемые металлические НЧ – это серебро, золото, оксид железа, медь и цинк [3]. В ветеринарии данные наноматериалы в основном ис-

пользуются в качестве противовирусных и противомикробных средств [4].

Из наноструктур металлов особый интерес вызывают наночастицы серебра (НЧС). Они известны своим широким спектром антимикробного действия и противораковым эффектом: помогают в заживлении ран и костей, могут повышать иммуногенность вакцин и обладают антидиабетическими свойствами [5].

Хотя нанотехнология считается одной из наиболее передовых, применяемых в различных областях, ее использование в ветеринарии все еще находится на начальной стадии по сравнению с другими родственными дисциплинами. При этом она уже открывает новые возможности в молекулярной биологии, биотехнологии, производит революцию почти во всех дисциплинах ветеринарии и зоотехнии, предоставляя полезные инструменты и материалы, обеспечивающие защиту здоровья животных [6]. Наночастицы все чаще находят применение в ветеринарной практике и диагностике, при производстве вакцин, сельскохозяйственных дезинфицирующих средств, разведении животных, их воспроизводстве и даже в сфере их питания. Замена НЧ широко используемых антибактериальных препаратов напрямую отражается на здоровье населения, так как это сводит к минимуму проблему антибиотикорезистентности как в медицине, так и в ветеринарии, а также проблему остаточного содержания лекарственных средств в молоке и мясе [7].

Препараты на основе нанометаллов, и в частности наносеребра, активно изучаются и применяются в качестве противомикробных, противовирусных, противогрибковых [8] и противоопухолевых средств, а также как анальгетики [9] и биологически активные добавки, направленные на повышение продуктивности, иммунного статуса животных, и даже в качестве синергетиков для антибиотиков [10, 11, 12, 13].

Несмотря на то что нанообъекты уже используются для решения различных биомедицинских и ветеринарных задач, в настоящее время недостаточно данных о биораспределении нанозлементов в организме. При этом понимание закономерностей распределения в организме НЧ с учетом их различного состава и строения имеет первостепенное значение для определения перспектив их дальнейшего биологического и медицинского применения [14].

¹ Всемирная организация здравоохранения. Устойчивость к антибиотикам. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

В работе рассматриваются достижения в области использования наноматериалов за последние 20 лет. Этот обзор призван предоставить ценную информацию для исследователей, интересующихся медицинским и ветеринарным применением НЧМ, а именно НЧС.

Цель работы – проанализировать и обобщить данные современной научной литературы, посвященной изучению НЧМ и НЧС в сфере биомедицины и ветеринарии, а также изучению их распределения и влияния на организм человека и животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При составлении обзора использовали материалы научных исследований, затрагивающих изучение НЧМ, и в частности НЧС, за последние 20 лет. Были проанализированы опубликованные данные о свойствах НЧМ и НЧС, их влиянии на организм человека и животных, применении в сфере ветеринарии и биомедицины.

Поиск и анализ литературы проводился с использованием интернет-ресурсов: eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, scholar.google.ru, www.mdpi.com, www.researchgate.net, www.sciencedirect.com, базы данных PubMed.

Для анализа выбирались иностранные и отечественные обзорные статьи (57%), сообщающие о НЧ, их видах, синтезе, распределении и воздействии на организм, применении в различных сферах; научно-исследовательские работы (43%), в которых представлены результаты экспериментов по применению НЧМ и НЧС в качестве диагностических, лекарственных средств, биологически активных добавок (БАД) и др. При этом 66% составила литература, опубликованная за последние 6 лет (из них 11,5% – статьи за 2023 г., 7,7% – за 2024 г.), 34% – более ранние исследования.

ВИДЫ НАНОЧАСТИЦ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В МЕДИЦИНЕ И ДИАГНОСТИКЕ

На сегодняшний день разработано множество модификаций НЧ, которые используются в биомедицинской и ветеринарной сферах, их делят на органические, неорганические и гибридные. Большинство органических наноструктур биосовместимы, биоразлагаемы и нетоксичны, в то время как большинство неорганических наноэлементов имеют меньший размер, улучшенную стабильность, контролируемую перестраиваемость, повышенную проницаемость, высокую емкость лекарств и профиль запуска высвобождения лекарственного средства [15, 16, 17, 18, 19].

Неорганические наноразмерные частицы включают в себя частицы металлов или их оксидов, полупроводниковые НЧ (оксид кремния), к которым относятся квантовые точки, а также производные углерода (графен, фуллерены, углеродные нанотрубки). Органические же нанообъекты представлены структурами на основе липидов и их производных (липосомы, липидные НЧ, мицеллы), а также синтетическими соединениями полимерной природы: линейными (классическими) и ветвящимися (дендримеры, дендроны) [15].

В данном обзоре рассмотрены неорганические наноэлементы, а именно НЧМ. Они представляют собой НЧ в форме сфер, нанокапсул, стержней и прочих разнообразных конфигураций, которые имеют высокую устойчивость и эффективность в различных условиях, а также обладают легко контролируруемыми физико-химическими свойствами. К сожалению, НЧМ имеют и недостатки: сложность изготовления (получение

однородных частиц по размеру и заряду) и трудность выведения их из организма [20].

Наиболее часто встречаемыми металлическими наноматериалами, используемыми в биомедицине, являются НЧ золота, серебра, оксида меди, оксида цинка, оксида магния, оксида железа, диоксида титана и алюминия [21, 22, 23, 24, 25].

Наночастицы серебра давно и широко изучаются для применения в различных областях биомедицинской сферы и ветеринарии из-за их антимикробных свойств и антиоксидантной активности [26]. Они активны в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий и используются в перевязочных материалах [27].

Наночастицы золота – еще одна группа металлических НЧ, которые масштабно исследуются и уже нашли широкое применение в медицине и диагностике, например: антибактериальное, при терапии онкологических заболеваний для адресной доставки лекарств и снижения скорости роста опухолей. Кроме того, НЧ золота применяются в спектроскопии и для ряда оптических методов визуализации [28, 29].

И последняя часто изучаемая группа НЧМ – их оксиды. Достаточно давно исследуют применение оксида цинка, ZnO; оксида меди (II), CuO; оксида магния, MgO; оксида титана (IV), TiO₂; оксида алюминия, Al₂O₃; оксида железа (II, III), Fe₃O₄ [30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37].

Активное изучение оксида железа связано с его магнитными свойствами. Наночастицы оксида железа применяют для доставки лекарств, при проведении магнитно-резонансной томографии, для диагностики рака и в тканевой инженерии [30]. Оксид олова обладает уникальными электрическими свойствами, которые зависят от размера его НЧ [31]. Триоксид вольфрама используют в качестве сенсора газа [32]. Диоксид титана обладает электропроводностью, поэтому нашел применение в оптической и солнечной энергетике, а также в медицинской, пищевой и микробиологической промышленности в качестве материала для фотокаталитической стерилизации [33, 34]. Наночастицы оксида магния используются для уменьшения загрязнения воздуха и в качестве катализаторов органических реакций [35]. Наночастицы оксида меди нашли применение в различных каталитических областях, включая окисление и фототермию [36]. Также оксиды магния, меди, алюминия и цинка зарекомендовали себя как потенциальные антибактериальные и противогрибковые агенты [37].

НАУЧНЫЙ ИНТЕРЕС К НАНОЧАСТИЦАМ СЕРЕБРА И ЗОЛОТА, ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

В течение последних 20 лет на электронном ресурсе Google Scholar² ежегодно менялся объем выдачи по поисковому запросу “gold nanoparticles in medicine”: с 1360 ссылок в 2003 г. до 61 900 – в 2023 г., при этом наибольшее их количество приходилось на 2022 г. (67 800). По поисковому запросу “silver nanoparticles in medicine” в 2003 г. насчитывалось 904 источника, а в 2023 г. их количество достигло 51 500, наибольшее количество (56 600) было также в 2022 г. (рис. 1).

Количество источников по поисковым запросам “gold nanoparticles in veterinary medicine” и “silver nanoparticles in veterinary medicine” почти в 9 раз меньше (рис. 2). Наименьшее количество англоязычных

² <https://scholar.google.com>

ссылок по данным темам было в 2003 г. (127 и 103 соответственно). Наибольшее же количество источников по запросу “gold nanoparticles in veterinary medicine” приходится на 2023 г. (7570), количество ссылок на тему “silver nanoparticles in veterinary medicine” в этот же год было самым большим за последние 20 лет (7910).

На этом же электронном ресурсе по поисковому запросу «наночастицы золота в медицине» насчитывалось всего 12 русскоязычных источников в 2003 г. и 225 – в 2023 г. (рис. 3). По запросу «наночастицы серебра в медицине» в 2023 г. было обнаружено 395 источников, тогда как в 2003 г. их было всего 20. Самое большое количество источников на тему «наночастицы золота в медицине» приходится на 2018 г. (438), а на тему «наночастицы серебра в медицине» – на 2016 г. (636).

Количество русскоязычных источников по запросам «наночастицы золота в ветеринарии» и «наночастицы серебра в ветеринарии» было в 5–8 раз меньше результатов поисковых запросов относительно НЧ в сфере медицины. При этом в 2005 г. совсем не было обнаружено ссылок для каждого из поисковых запросов (рис. 4).

Наибольшее же количество источников на тему «наночастицы серебра в ветеринарии» было в 2020 г. (136), а на тему «наночастицы золота в ветеринарии» – в 2018 г. (57).

В период с января 2018 г. по декабрь 2023 г. в поисковой системе «Яндекс» было зафиксировано 569 запросов по теме «наночастицы золота в медицине» (рис. 5). Наибольшее количество запросов было в 2022 г. (140). Число обращений по вопросу «наночастицы серебра в медицине» на yandex.ru³ за этот же период равнялось 749. Пик популярности поисковых запросов на данную тему пришелся на 2023 г. (202 запроса).

При этом запросов на темы «наночастицы золота в ветеринарии» и «наночастицы серебра в ветеринарии» на данном ресурсе за последние 5 лет совсем не отмечалось.

На графиках видно (рис. 1–4), что англоязычные ссылки по теме наноструктур в медицине и ветеринарии превышают количество русскоязычных более чем в 100 раз. Также по числу появляющихся за год источников понятно, что интерес к металлическим НЧ в сфере медицины у иностранных коллег снизился только год назад, в отличие от интереса наших коллег, который имеет тенденцию к снижению на протяжении последних пяти лет. При этом данные «Яндекс Вордстата» говорят о ежегодном увеличении интереса ученых России и стран СНГ к НЧС в сфере биомедицины. Наночастицы золота же за последние шесть лет не вызвали стабильного интереса у исследователей (рис. 5).

Установлено, что с каждым годом увеличивается количество зарубежных исследований в области ветеринарии, посвященных металлическим НЧ (рис. 2). Русскоязычные ученые в этой же области не имеют стабильной заинтересованности в изучении НЧ золота и серебра с 2015–2016 гг. (рис. 4).

Разница в 8–9 раз между количеством англоязычных и русскоязычных ссылок на тему использования НЧ в медицине и в ветеринарии может быть связана с тем, что НЧ в ветеринарной практике пока не нашли столь широкого применения, как в медицине. Тем не менее в данной области также проводятся исследования по использованию НЧ для лечения и диагностики заболе-

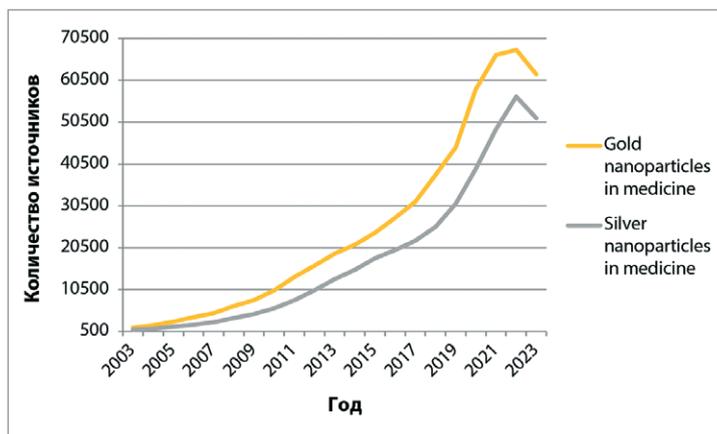


Рис. 1. Количество англоязычных источников по поисковым запросам “gold nanoparticles in medicine” и “silver nanoparticles in medicine” на электронном ресурсе Google Scholar с 2003 по 2023 г.

Fig. 1. Publications in English for “gold nanoparticles in medicine” and “silver nanoparticles in medicine” search queries in Google Scholar from 2003 to 2023

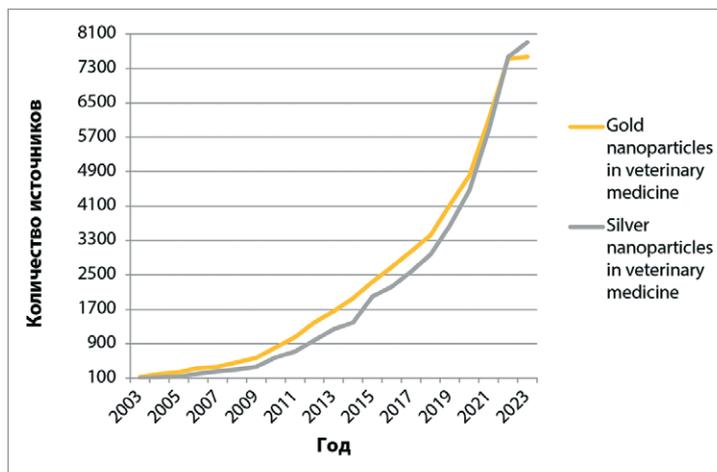


Рис. 2. Количество англоязычных источников по поисковым запросам “gold nanoparticles in veterinary medicine” и “silver nanoparticles in veterinary medicine” на электронном ресурсе Google Scholar с 2003 по 2023 г.

Fig. 2. Publications in English for “gold nanoparticles in veterinary medicine” and “silver nanoparticles in veterinary medicine” search queries in Google Scholar from 2003 to 2023

ваний домашних и сельскохозяйственных животных, птиц. Создаются вакцинные препараты против ряда значимых бактериальных и вирусных болезней, таких как грипп лошадей, вирусная диарея крупного рогатого скота, ньюкаслская болезнь, а также разрабатываются носители на основе НЧ для доставки средств визуализации, антибиотиков, витаминов и лекарственных препаратов, в том числе направленных против опухолевых заболеваний [38].

Таким образом, несмотря на спад интереса российских ученых к изучению применения наноматериалов в медицине и ветеринарии, судя по количеству источников на эту тему, наших соотечественников больше интересуют НЧС и их использование в качестве базы для лекарственных препаратов. И это неудивительно, ведь НЧС давно являются наиболее широко применяемым антибактериальным наноагентом из-за широкого

³ <https://wordstat.yandex.ru>

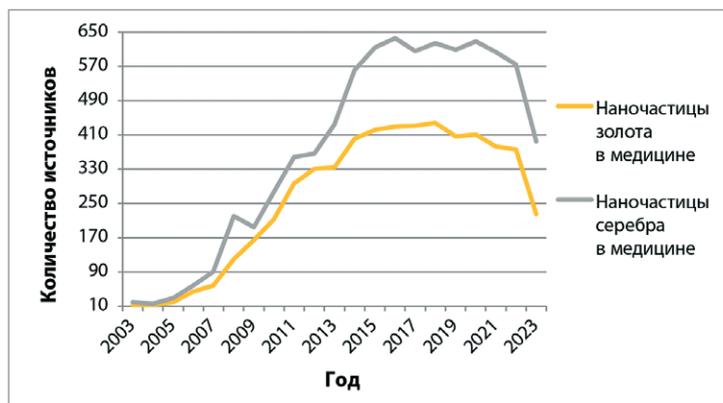


Рис. 3. Количество русскоязычных источников по поисковым запросам «наночастицы золота в медицине» и «наночастицы серебра в медицине» на электронном ресурсе Google Scholar с 2003 по 2023 г.

Fig. 3. Publications in Russian for “gold nanoparticles in medicine” and “silver nanoparticles in medicine” search queries in Google Scholar from 2003 to 2023

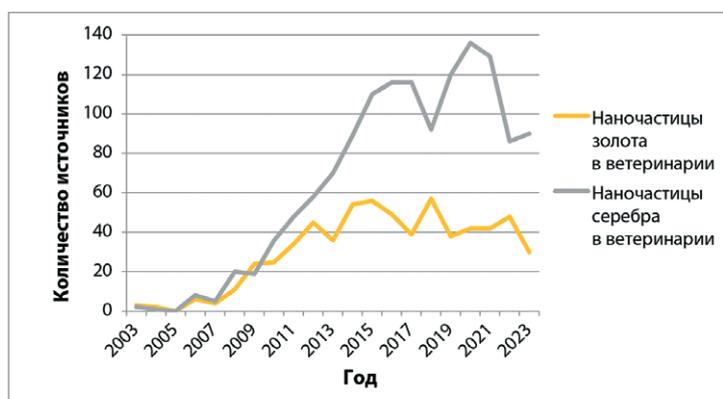


Рис. 4. Количество русскоязычных источников по поисковым запросам «наночастицы золота в ветеринарии» и «наночастицы серебра в ветеринарии» на электронном ресурсе Google Scholar с 2003 по 2023 г.

Fig. 4. Publications in Russian for “gold nanoparticles in veterinary medicine” and “silver nanoparticles in veterinary medicine” search queries in Google Scholar from 2003 to 2023

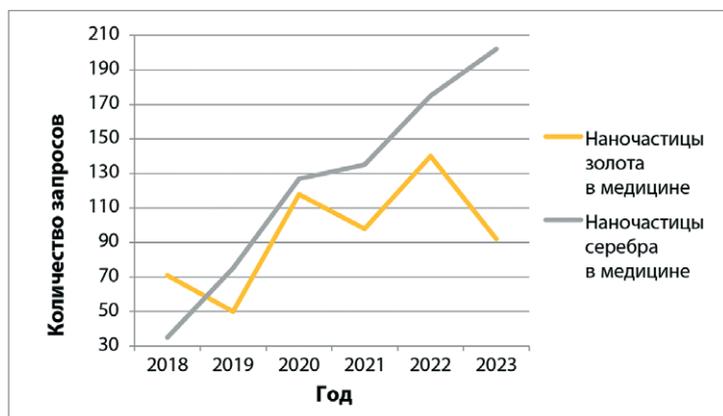


Рис. 5. Количество запросов «наночастицы золота в медицине» и «наночастицы серебра в медицине» на электронном поисковом ресурсе «Яндекс» с 2018 по 2023 г.

Fig. 5. Publications for “gold nanoparticles in medicine” and “silver nanoparticles in medicine” search queries in Yandex from 2003 to 2023

спектра действия против множества бактерий, вирусов и грибов [39].

Первые же сведения об использовании серебра в медицине относятся к XIX веку, когда его применяли для профилактики гонококкового неонатального конъюнктивита у новорожденных, а позднее, в XX веке, серебро использовалось хирургами для местного лечения ожоговых ран и в качестве антисептиков [40, 41, 42].

Уже более ста лет известно серебро в форме коллоидов. В настоящее же время существует множество способов получения более эффективных его форм – наночастиц.

Методы получения НЧС условно можно разделить на две группы: восстановление ионов серебра (Ag^+) и диспергирование макрообъектов до наноразмеров. К первой группе относятся химические методы, ко второй – физические. При этом серебро наноразмерного состояния может иметь различные геометрические формы: сферические, пирамиды, стержни, кубы и др. [43]. Доказано, что форма, а также размер и поверхностный заряд НЧ влияют на их антибактериальную активность [39].

Форма наночастиц. Как показали результаты проведенных в 2016 и 2019 гг. исследований по изучению влияния формы и граней нанобъектов на антибактериальную активность, кристаллические частицы с высокой атомной плотностью и большим количеством граней обладают более высокой активностью против бактерий. Например, треугольные нанопризмы серебра со 111 гранями имеют более высокую атомную плотность и, соответственно, обладают более высокой реакционной способностью по сравнению с НЧ сферической и стержнеобразной форм, имеющими 100 и 110 граней [44, 45]. Pal S. et al. в 2007 г. синтезировали НЧ трех форм: сферической, стержнеобразной и усеченной треугольной, а также изучили их эффективность против кишечной палочки в чашках с раствором и агаром. Исследователи пришли к выводу, что по биоцидной активности усеченные треугольные частицы наносеребра занимают первое место, за ними следуют сферы и, наконец, стержни. Наблюдение с помощью просвечивающей электронной микроскопии за целостностью бактериальной мембраны привело ученых к выводу, что НЧС всех форм способны связываться с поверхностью мембраны и в конечном итоге повреждать ее. Однако нанопластина усеченной треугольной формы имеет наибольшее количество граней, что способствует усилению взаимодействия с основными компонентами клеточной мембраны, увеличивает поверхностное связывание и поглощение бактериальными клетками, приводя к их гибели [39].

Helmlinger J. et al. исследовали влияние формы наноструктур на *Staphylococcus aureus*. Они пришли к выводу, что нанотромбоциты обладают самой высокой токсичностью, за ними следуют наносферы, наностержни и нанокубы [46].

Размер наночастиц. Экспериментальными исследованиями установлено, что антибактериальные свойства НЧ обратно пропорционально зависят от их размера: они увеличиваются с уменьшением размера поверхности частиц. Так, НЧС размером от 1 до 10 нм эффективнее ингибируют развитие бактерий [46, 47, 48]. Это, вероятно, связано с большим накоплением НЧ внутри клеточной мембраны и цитоплазмы микроорганизмов [49, 50]. Также предполагают, что повышенная

антибактериальная активность может быть связана с тем, что более мелкие нанозлементы высвобождают свои токсичные компоненты с более высокой скоростью из-за увеличения поверхностно-объемного отношения при уменьшении размера частиц [47, 51]. Кроме того, недавние исследования показывают, что функционализированные НЧС малого и среднего размера сильно влияют на транспорт электронов в митохондриях, фагоцитоз, аутофагию, целостность и организацию органелл [52].

Поверхностный заряд наночастиц. Противомикробную активность НЧС можно изменять, контролируя их поверхностный заряд. Ни С. et al. было показано, что НЧС с положительным поверхностным зарядом обладают повышенной антибактериальной активностью [53]. Также на антимикробную активность влияет высвобождение ионов Ag^+ с поверхности НЧС. Это происходит в результате окислительного растворения: сначала металлическое серебро окисляется под действием растворенного в среде кислорода, затем образовавшийся основной оксид растворяется в кислой среде. Ионы серебра также обладают высоким сродством к электронодонорным группам, которые можно обнаружить в мембранах и белках. Ионы Ag^+ способны взаимодействовать с ДНК, РНК и пептидами, образуя комплексы, что останавливает деление и размножение бактериальных клеток [39].

ПРЕПАРАТЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Можно сказать, что на фоне быстрорастущей резистентности бактерий к антибиотикам серебросодержащие препараты в данный момент переживают свое второе рождение.

В настоящее время на рынке лекарственных средств существует несколько видов препаратов серебра, представленных в разных формах.

Наиболее известны препараты на основе коллоидного (катионного) серебра (Ag^+): это оксид серебра, соли серебра (нитраты, сульфаты, фосфаты), комплексы серебра (цитраты или лактаты), а также свободные аквакатионы серебра. Препараты коллоидного серебра, представленные на рынке: Tinosan SDC (BASF, Германия), «Арголайф» (ООО «Арт Лайф», Россия), сульфат серебра (ОАО «Аурат», Россия) [54].

Также существуют препараты металлического высокодисперсного, или нанодисперсного, серебра – кластерного серебра, основное количество которого находится в малотоксичной металлической форме Ag^0 . Препараты кластерного серебра обладают высокой эффективностью и более низкой токсичностью, чем препараты, в составе которых большее количество катионного серебра [55]. К таким препаратам относятся: «АгБион-2» (ЗАО «Концерн «Наноиндустрия», Россия), «Арговит» (ООО НПЦ «Вектор-Вита», Россия), «Повиаргол» (ИВС РАН, Россия), «Аргоника» (ООО НПЦ «ВекторПро», Россия).

Отдельно выделяют нульвалентное (металлическое) серебро, а именно коллоидное безионное очищенное серебро (Ag^0), например, торговой марки «КНД» (ООО «НПП «Сентоза Факторинг НП», Россия): концентрат коллоидного серебра «КНД-С», концентрат коллоидного серебра и меди «КНД-СМ», концентрат коллоидного серебра «КНД-С-К», косметическое сырье и биологически активная добавка «АРЕГОНА» (КНД-СП) [54].

Как отмечалось выше, препараты с содержанием серебра в высокодисперсной форме обладают суще-

ственно более низкой токсичностью, чем препараты солей серебра. Препараты нульвалентного серебра гораздо менее токсичны, чем средства на основе кластерного серебра. Это связано с практически полным отсутствием катионного Ag в субстанциях нульвалентного серебра.

Также катионное серебро имеет ограниченный состав среды и несовместимость со многими компонентами практических систем (например, с физиологическими растворами), в отличие от кластерного и нульвалентного серебра, которые более совместимы и стабильны [55].

Препараты на основе наносеребра очень перспективны для использования в сферах ветеринарии и зоотехнии. НЧС можно применять в целях биобезопасности на фермах, для фумигации инкубаторов, стерилизации выводковых птичников и клеток. Обнаружено, что НЧС могут улучшить адаптивную иммунную систему птиц [56] и выводимость яиц [57]. В 2023 г. были получены физиологически стабильные, биосовместимые НЧС, которые можно использовать для адресной доставки лекарств в ветеринарной медицине, что может обеспечить повышенную терапевтическую эффективность с минимальными побочными эффектами [58]. В том же году было установлено, что добавление наносеребра в молочный рацион телят положительно влияет на их метаболические показатели. Поэтому возможно его использование с целью профилактики инфекционных заболеваний телят в первый месяц после рождения, что позволит исключить развитие устойчивости к антибиотикам и увеличить производство продукции животноводства [59].

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ В ОРГАНИЗМЕ

Распределение в органах и тканях лекарственного вещества, имеющего в составе нанозлементы, существенным образом изменяется, влияя и на фармакодинамические свойства препарата. В связи с этим изучение биораспределения НЧС является важнейшим этапом в исследованиях [60]. Но на сегодняшний день большинство наноматериалов все еще находится на стадии доклинической оценки, и лишь немногие из них одобрены для клинического использования. Преобладающее количество работ посвящено изучению наноматериалов *in vitro*, а публикаций о поведении различных видов нанообъектов на уровне организма сравнительно немного. При этом отсутствие конкретных данных по распределению и накоплению НЧС в органах и тканях организма во многом определяет границы их применения [61].

Для оценки распределения НЧС и их токсичности необходимы фармакокинетические исследования. Всасывание, распределение, метаболизм и выведение – это четыре процесса, составляющие фармакокинетику [63]. Фармакокинетических исследований наночастиц проведено мало, также контроль осуществляется только за наноматериалами^{4,5}, но нет норм и рекомендаций

⁴ О надзоре за продукцией, полученной с использованием нанотехнологий и содержащей наноматериалы: постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 23.07.2007 № 54. <https://docs.cntd.ru/document/902056894>

⁵ Порядок и организация контроля за наноматериалами: методические указания от 17.10.2011 МУ 1.2.2966-11. <https://docs.cntd.ru/document/1200095623>

относительно биораспределения НЧ, что затрудняет оценку этого параметра.

Биораспределение металлических НЧ зависит от типа частиц, их размера, поверхностного заряда, поверхностного покрытия, связи с белками, а также от путей воздействия, дозы и гидрофобности [62, 63].

На скорость и степень всасывания влияют физиологическая среда и характеристики НЧ. Наноставы преодолевают физиологические и физические барьеры, которые выборочно блокируют транспорт молекул, снижая биодоступность наноматериалов. На клеточное поглощение значительное влияние оказывают размер, поверхностный заряд и форма [64, 65], а способ введения и характеристики НЧ влияют на их всасывание [62].

Наночастицы металлов с отрицательным поверхностным зарядом имеют более высокую скорость абсорбции через желудочно-кишечную мембрану при пероральном введении, скорость также зависит от размера тонкого кишечника. Легочный путь имеет большую площадь контакта, что облегчает всасывание препарата [62].

Основные способы введения лекарств на основе НЧМ – оральный, ингаляционный, дермальный (кожный) и непосредственно в системный кровоток посредством внутрибрюшинной или внутривенной инъекции [63].

Известно, что период полувыведения наноразмерных частиц из крови у грызунов короче, чем у крупных лабораторных животных (кролики, обезьяны), и различается при внутривенном и пероральном воздействии. При пероральном, ингаляционном и дермальном применении абсорбция низкая (< 5%), но она может увеличиваться при меньших размерах, отрицательном заряде и определенном поверхностном покрытии НЧ [63].

Металлические наноматериалы распределяются по всему организму, накапливаясь преимущественно в печени, селезенке и лимфатических узлах вследствие неспецифического поглощения ретикулоэндотелиальными клетками, и могут оставаться в организме в течение ≥ 6 мес. Известно, что наноземельные металлы (≤ 100 нм) способны преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) благодаря покрытию нейропептидами, проницаемыми для ГЭБ. Плацентарный перенос зависит от стадии эмбрионального/плацентарного созревания плода и состава поверхности НЧ и может быть усилен путем покрытия наноматериалов биосовместимыми молекулами (ферритин или полиэтиленгликоль). Почечная и желчевыводящая экскреция наночастиц обычно низкая из-за постоянного накопления в тканях, но выведение почками может быть увеличено при использовании НЧ меньших размеров и специфических поверхностных покрытий (глутатион) [66].

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Абсорбированные НЧС распределяются во многих органах и системах организма: в коже, легких, селезенке, пищеварительной, мочевой, нервной, иммунной и репродуктивной системах. При этом наноразмерное серебро в основном накапливается в селезенке, печени, почках и легких. Незначительное отложение наноземельных также наблюдается в зубах и костях [63].

Помимо тканей, подвергающихся непосредственному воздействию, НЧС также транспортируются в различные органы посредством кровообращения.

Частицы наносеребра легко проникают в организм и преодолевают биологические барьеры (ГЭБ и гематотестикулярный) и впоследствии могут оказывать потенциальное цитотоксическое действие. Таким образом, неспецифическое распределение наноматериалов серебра может вызывать кожную, глазную, респираторную, гепатобилиарную, репродуктивную токсичности и нейротоксичность, что ограничивает применение НЧС. Потенциальная цитотоксичность наносеребра зависит от путей введения препарата и свойств/характеристик самих наночастиц, таких как размер, форма и концентрация (рис. 6) [63].

Однако до сих пор недостаточно изучены специфические механизмы распределения и накопления НЧМ и НЧС в различных тканях и органах, а также их потенциальная токсичность [5, 62].

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ

Наночастицы серебра могут по-разному влиять на физиологические показатели животных в зависимости от длительности применения и доз препаратов наноразмерного серебра. При этом как у здоровых, так и у больных животных всегда наблюдаются изменения в биохимических и морфологических показателях крови. В основном наносеребро оказывает влияние на эритроциты и тромбоциты, в меньшей степени влияя на моноциты и лейкоциты. Ранее О. А. Зейналовым и соавт. было отмечено умеренное увеличение количества тромбоцитов и снижение уровня лейкоцитов у здоровых мышей, получавших высокие дозы препаратов металлического высокодисперсного серебра [67]. Также Е. М. Цыганковым и соавт. было обнаружено повышение эритроцитарных и тромбоцитарных показателей у ремонтного молодняка птицы при использовании препарата кластерного серебра [68]. В исследовании 2021 г. отмечено достоверное снижение уровня лейкоцитов при применении нанодисперсного серебра для лечения коров с серозной формой мастита, также наблюдали незначительное снижение количества моноцитов и повышение уровня гемоглобина [11]. При использовании же высокодисперсного наносеребра на фоне ньюкаслской болезни у мышей количество моноцитов снижается, среднее содержание гемоглобина в эритроците уменьшается, уровень эритроцитов, гемоглобина и гематокрита увеличивается [69].

Препараты наносеребра особенно привлекательны для ветеринарии в качестве биологически активных добавок с целью повышения продуктивности и иммунного статуса животных [10, 11, 12, 13]. Имеются сообщения о перспективном применении вирицидных средств на основе наносеребра и органического серебра для фармакопрофилактики ньюкаслской болезни и болезни Ауески [69, 70, 71]. Также достоверно известно, что НЧ в составе питьевой воды или диетических добавок оказывают на организм анаболические эффекты – увеличивают прирост массы тела и мышечной массы [72, 73, 74, 75].

Однако, как говорилось выше, НЧС в основном накапливаются в «органах-фильтрах» организма, а также способны проникать через биологические барьеры. При длительном применении серебросодержащих препаратов у животных отмечаются токсические эффекты и снижение когнитивных функций, предположительно, из-за накопления НЧС в головном мозге;

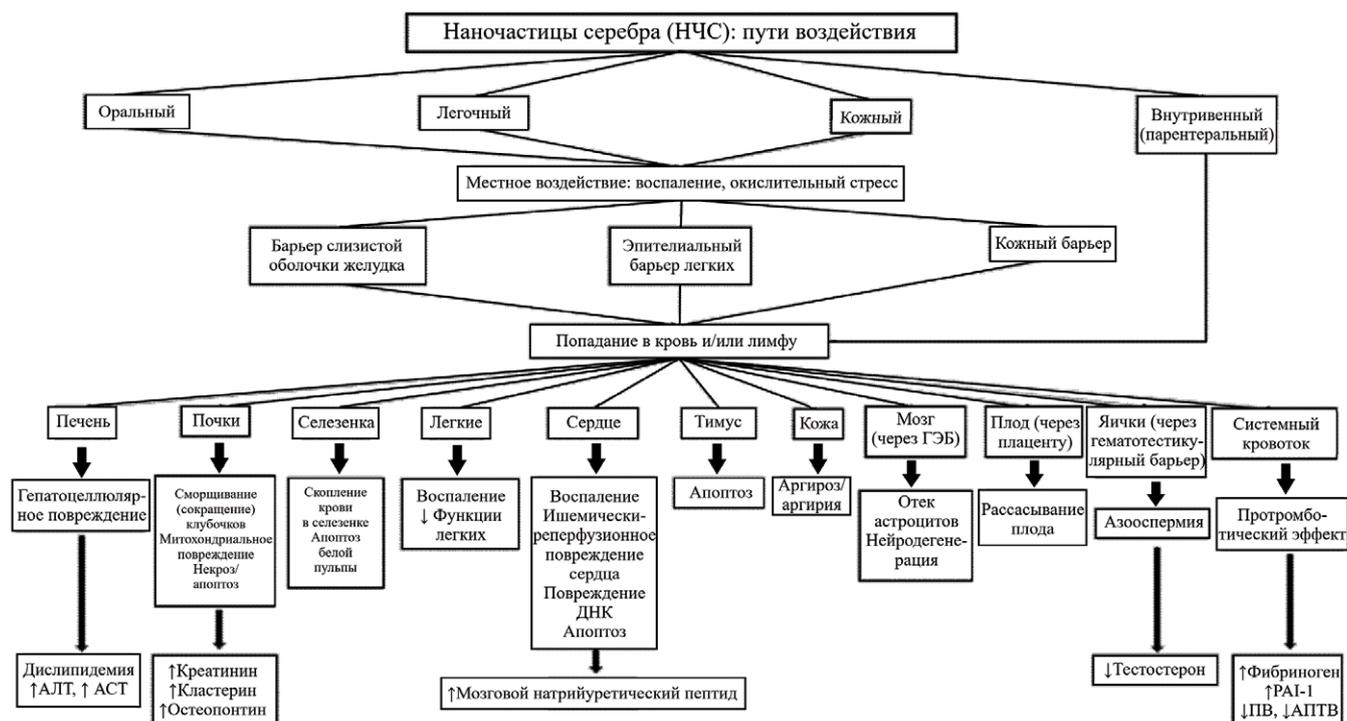


Рис. 6. Схема биораспределения и токсичности наночастиц серебра при различных путях воздействия [63]

Fig. 6. Biodistribution and toxicity of silver nanoparticles for different exposure routes [63]

а использование препаратов серебра в период спаривания, беременности и лактации животных приводит к существенному накоплению НЧС в тканях и органах не только у родителей, но и у потомства [76, 77].

Таким образом, НЧС в дозах, не превышающих 10 мг на 1 кг живой массы в сутки, обладают биотическими эффектами: стимулируют дыхательную функцию крови; увеличивая количество эритроцитов и гемоглобина; повышают защитные силы организма, увеличивая в кровеносном русле число лейкоцитов [67, 68, 78]. Низкие дозы и прием наносеребра в течение не более 30 дней не оказывают существенного влияния на микробиоту пищеварительного тракта, а также повышают продуктивность животных [72, 73, 74, 75]. Использование же серебросодержащих препаратов в высоких концентрациях, а также длительное применение негативно влияет на организм млекопитающих, вплоть до летальных исходов [76, 77, 79].

Поэтому все еще необходимы дальнейшие углубленные исследования биораспределения, совместимости и потенциальной токсичности наночастиц, которые помогут разработать более эффективные БАДы и безопасные лекарственные препараты [5, 60, 62, 63, 66, 79].

ВЫВОДЫ

Согласно проведенному анализу литературных источников, можно сделать выводы.

1. За последние 20 лет в сфере биомедицины, ветеринарии и диагностики стали использовать наноматериалы. Их делят на органические и неорганические НЧ. Последние включают в себя НЧ золота, серебра, оксида меди, оксида цинка, оксида магния, оксида железа, диоксида титана и алюминия.

2. Применение НЧ в ветеринарной практике пока не нашло столь широкого распространения, как в медицине, но с каждым годом продолжает расти.

3. Наибольший интерес у русскоязычных ученых вызывают НЧС, так как они давно зарекомендовали себя в качестве антибактериального наноагента.

4. Существуют физические и химические методы получения НЧС – диспергирование макрообъектов до наноразмеров и восстановление ионов серебра Ag^+ .

5. На антибактериальную активность НЧС влияют их форма, размер и поверхностный заряд.

6. В настоящее время существует три вида препаратов серебра: коллоидное (катионное), кластерное и нульвалентное (металлическое).

7. На биораспределение НЧМ влияет тип частиц, их размер, поверхностные заряд и покрытие, связь с белками, а также путь воздействия и доза.

8. Распределение НЧС не отличается от фармакокинетики НЧМ, при этом наноразмерное серебро чаще всего накапливается в селезенке, печени, почках и легких, что может вызывать потенциальный цитотоксический эффект.

9. Применение наносеребра в низких дозах и сроком менее 30 дней повышает иммунный статус и продуктивность животных, а использование препаратов с содержанием НЧС при длительном применении и/или в высоких концентрациях способствует накоплению серебра в органах и тканях млекопитающих, оказывая токсическое действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Akdoğan D., Güzel M., Genç Bahçe Y., Aksoy A., Akpınar O. Comparative antimicrobial susceptibility profiles of uropathogenic extended-spectrum β -lactamase producing strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* by the CLSI and EUCAST methodologies. *Gazi Medical Journal*. 2021; 32 (1): 88–93. <http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2021.16>
- Чернявская Я. В., Денисова Т. П. Механизмы действия наночастиц на организмы. *Проблемы теоретической и экспериментальной химии: тезисы докладов XXXI Российской молодежной научной конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения*

- профессора В. М. Жуковского (Екатеринбург, 20–23 апреля 2021 г.). Екатеринбург: Издательство Уральского университета; 2021; 120. <https://elar.urfu.ru/handle/10995/100016>
- Chernyavskaya Ya. V., Denisova T. P. Mekhanizmy deistviya nanochastits na organizmy = Mechanisms of nanoparticle action on the organism. *Problemy teoreticheskoi i eksperimental'noi khimii: tezisy dokladov XXXI Rossiiskoi molodezhnoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 90-letiyu so dnya rozhdeniya professora V. M. Zhukovskogo (Ekaterynburg, 20–23 aprelya 2021 g.) = Challenges of theoretical and experimental chemistry: abstracts of XXXI Russian scientific conference for early-career scientists devoted to 90th anniversary of the birth of professor V. M. Zhukovsky (Ekaterinburg, 20–23 April, 2021)*. Ekaterinburg: Ural University Press; 2021; 120. <https://elar.urfu.ru/handle/10995/100016> (in Russ.)
3. Sadr S., Poorjafari Jafroodi P., Haratizadeh M. J., Ghasemi Z., Borji H., Hajjafari A. Current status of nano-vaccinology in veterinary medicine science. *Veterinary Medicine and Science*. 2023; 9 (5): 2294–2308. <https://doi.org/10.1002/vms3.1221>
4. Liew K. B., Janakiraman A. K., Sundarapandian R., Khalid S. H., Razaq F. A., Ming L. C., et al. A review and revisit of nanoparticles for antimicrobial drug delivery. *Journal of Medicine and Life*. 2022; 15 (3): 328–335. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35449993>
5. Xu L., Wang Y. Y., Huang J., Chen C. Y., Wang Z. X., Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*. 2020; 10 (20): 8996–9031. <https://doi.org/10.7150/thno.45413>
6. Woldeamanuel K. M., Kurra F. A., Roba Y. T. A review on nanotechnology and its application in modern veterinary science. *International Journal of Nanomaterials, Nanotechnology and Nanomedicine*. 2021; 7 (1): 026–031. <http://doi.org/10.17352/2455-3492.000041>
7. El-Sayed A., Kamel M. Advanced applications of nanotechnology in veterinary medicine. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27 (16): 19073–19086. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3913-y>
8. Alghuthaymi M. A., Hassan A. A., Kalia A., Sayed El Ahl R. M. H., El Hamaky A. A. M., Oleksak P., et al. Antifungal nano-therapy in veterinary medicine: current status and future prospects. *Journal of Fungi*. 2021; 7 (7):494. <https://doi.org/10.3390/jof7070494>
9. Kovalenko A. M., Tkachev A. V., Tkacheva O. L., Gutyj B. V., Prystupa O. I., Kukhtyn M. D., et al. Analgesic effectiveness of new nanosilver drug. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020; 10 (1): 300–306. <https://elibrary.ru/kfuixg>
10. More P. R., Pandit S., Filippis A., Franci G., Mijakovic I., Galdiero M. Silver nanoparticles: bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. *Microorganisms*. 2023; 11 (2):369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>
11. Нефедова Е. В., Шкиль Н. Н. Влияние наночастиц серебра на морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров, больных серозной формой мастита. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2021; (6): 56–59. <https://doi.org/10.31857/S2500262721060107>
- Nefedova E. V., Shkil N. N. Effect of silver nanoparticles on morphological, biochemical, and immunological parameters of cow blood with a serous form of mastitis. *Russian Agricultural Sciences*. 2021; 47 (Suppl. 1): S97–S100. <https://doi.org/10.3103/S1068367422010128>
12. Shkil N. N., Nefyodova E. V., Shkil N. A., Nozdrin G. A., Lazareva M. V., Rasputina O. V., Ryumkina I. N. Adjuvant properties of silver and dimethyl sulfoxide nanoparticles in studying antibacterial activity of antibiotics against *E. coli*. *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 2020; 4 (5): 119–126. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4286955>
13. Luceri A., Fracesse R., Lembo D., Ferraris M., Balagna C. Silver nanoparticles: Review of antiviral properties, mechanism of action and applications. *Microorganisms*. 2023; 11 (3):629. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030629>
14. Королев Д. В., Захарова Е. В., Евреинова Н. В., Торопова Я. Г., Печникова Н. А., Сергиенко Е. С., Гареев К. Г. Динамика естественного биораспределения магнитных наночастиц, полученных различными способами, при их однократном введении крысам стока Wistar. *Трансляционная медицина*. 2016; 3 (4): 56–65. <https://elibrary.ru/ymjggt>
- Korolev D. V., Zakharova E. V., Evreinova N. V., Toropova Y. G., Pechnikova N. A., Sergienko E. S., Gareev K. G. The dynamics of the natural biodistribution of magnetic nanoparticles synthesized in various ways, when a single infusion to Wistar rats. *Translational Medicine*. 2016; 3 (4): 56–65. <https://elibrary.ru/ymjggt> (in Russ.)
15. Shafiq M., Anjum S., Hano C., Anjum I., Abbasi B. H. An overview of the applications of nanomaterials and nanodevices in the food industry. *Foods*. 2020; 9 (2):148. <https://doi.org/10.3390/foods9020148>
16. Hassan S., Prakash G., Bal Öztürk A., Saghadzadeh S., Sohail M. F., Seo J., et al. Evolution and clinical translation of drug delivery nanomaterials. *Nano Today*. 2017; 15: 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2017.06.008>
17. Turner C. T., McInnes S. J. P., Voelcker N. H., Cowin A. J. Therapeutic potential of inorganic nanoparticles for the delivery of monoclonal antibodies. *Journal of Nanomaterials*. 2015; 2015 (1):309602. <https://doi.org/10.1155/2015/309602>
18. Dizaj S. M., Jafari S., Khosroushahi A. Y. A sight on the current nanoparticle-based gene delivery vectors. *Nanoscale Research Letters*. 2014; 9 (1):252. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-9-252>
19. Poon C., Gallo J., Joo J., Chang T., Bañobre-López M., Chung E. J. Hybrid, metal oxide-peptide amphiphile micelles for molecular magnetic resonance imaging of atherosclerosis. *Journal of Nanobiotechnology*. 2018; 16 (1):92. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0420-8>
20. Становая А., Терехова М., Абашкин В., Одабаши М., Щербин Д. Наночастицы в биологии и медицине. *Наука и инновации*. 2022; (11): 78–83. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-11-78-83>
- Stanovaya A., Terekhova M., Abashkin V., Odabashi M., Shcherbin D. Nanoparticles in biology and medicine. *Science and Innovations*. 2022; (11): 78–83. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-11-78-83> (in Russ.)
21. Mughal B., Zaidi S. Z. J., Zhang X., Hassan S. U. Biogenic nanoparticles: synthesis, characterisation and applications. *Applied Sciences*. 2021; 11 (6):2598. <https://doi.org/10.3390/app11062598>
22. Игонин А. С. Применение наночастиц металлов в медицине. *Химия и химическое образование XXI века: сборник материалов VI Всероссийской студенческой конференции с международным участием, посвященной 310-летию со дня рождения М. В. Ломоносова (Санкт-Петербург, 22–26 марта 2021 г.) = Chemistry and education in chemistry in XXI century: proceedings of VI All-Russian Student Conference with international participation devoted to 310th anniversary of the birth of M. V. Lomonosov (Saint Petersburg, 22–26 March, 2021)*. Saint Petersburg: Herzen University; 2021; 70–71. <https://elibrary.ru/ckyhst>
- Igonin A. S. Primenenie nanochastits metallov v meditsine = Use of metal nanoparticles in medicine. *Khimiya i khimicheskoe obrazovanie XXI veka: sbornik materialov VI Vserossiiskoi studencheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 310-letiyu so dnya rozhdeniya M. V. Lomonosova (Sankt-Peterburg, 22–26 marta 2021 g.) = Chemistry and education in chemistry in XXI century: proceedings of VI All-Russian Student Conference with international participation devoted to 310th anniversary of the birth of M. V. Lomonosov (Saint Petersburg, 22–26 March, 2021)*. Saint Petersburg: Herzen University; 2021; 70–71. <https://elibrary.ru/ckyhst> (in Russ.)
23. Капранова К. А. Применение наночастиц металлов в медицине. *Инновационные технологии, экономика и менеджмент в промышленности: сборник научных статей III международной научной конференции (Волгоград, 31 октября 2022 г.)*. Волгоград: ООО «Актуальность.РФ»; 2022; 4–7. <https://elibrary.ru/gkrurh>
- Kapranova K. A. Primenenie nanochastits metallov v meditsine = Application of metal nanoparticles in medicine. *Innovatsionnye tekhnologii, ekonomika i menedzhment v promyshlennosti: sbornik nauchnykh statei III mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Volgograd, 31 oktyabrya 2022 g.) = Innovation technologies, economics and management in industry: proceedings of III International Scientific Conference (Volgograd, 31 October, 2022)*. Volgograd: LLC "Aktualnost.RF"; 2022; 4–7. <https://elibrary.ru/gkrurh> (in Russ.)
24. Агафонов Д. А. Наночастицы серебра и золота как лекарственные средства. *Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук: сборник статей Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием (Иркутск, 21–26 сентября 2020 г.)*. Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет; 2020; 162–164. <https://elibrary.ru/jcjbzr>
- Agafonov D. A. Nanochastitsy srebra i zolota kak lekarstvennye sredstva = Silver and gold nanoparticles as therapeutic drugs. *Aktual'nye voprosy farmatsevticheskikh i estestvennykh nauk: sbornik statei Vserossiiskoi studencheskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Irkutsk, 21–26 sentyabrya 2020 g.) = Topical issues of pharmaceutical and natural sciences: proceedings of All-Russian student scientific and practical conference with international participation (Irkutsk, 21–26 September, 2020)*. Irkutsk: Irkutsk State Medical University; 2020; 162–164. <https://elibrary.ru/jcjbzr> (in Russ.)
25. Dadfar S. M., Roemhild K., Drude N. I., von Stillfried S., Knüchel R., Kiessling F., Lammers T. Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2019; 138: 302–325. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.01.005>
26. Ameen F., AlYahya S., Govarathanan M., AlJahdali N., Al-Enazi N., Al-samhary K., et al. Soil bacteria *Cupriavidus* sp. mediates the extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*. 2020; 1202:127233. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127233>
27. Hooda H., Singh P., Bajpai S. Effect of quercetin impregnated silver nanoparticle on growth of some clinical pathogens. *Materials Today: Proceedings*. 2020; 31 (Pt. 4): 625–630. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.530>
28. Kalimuthu K., Cha B. S., Kim S., Park K. S. Eco-friendly synthesis and biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Microchemical Journal*. 2020; 152:104296. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104296>
29. Siddiqi K. S., Husen A. Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system.

- Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2017; 40: 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.11.012>
30. Liu S., Yu B., Wang S., Shen Y., Cong H. Preparation, surface functionalization and application of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2020; 281:102165. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102165>
31. Suman P. H. Electrical properties of tin oxide materials. In: *Tin Oxide Materials: Synthesis, Properties, and Applications*. Ed. by M. O. Orlandi. Elsevier; 2020; 41–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815924-8.00003-7>
32. Nunes D., Pimentel A., Gonçalves A., Pereira S., Branquinho R., Barquinha P., et al. Metal oxide nanostructures for sensor applications. *Semiconductor Science and Technology*. 2019; 34 (4):043001. <https://doi.org/10.1088/1361-6641/ab011e>
33. Сафина Л. А., Зифирова Ю. С. Анализ применения наноматериалов в медицине. *Новые технологии и материалы легкой промышленности: сборник статей XVI Всероссийской научно-практической конференции с элементами научной школы для студентов и молодых ученых (Казань, 19–23 мая 2020 г.)*. Казань: Казанский национальный исследовательский технологический университет; 2020; 120–124. <https://elibrary.ru/rnanhb>
- Safina L. A., Zifirova Yu. S. Analiz primeneniya nanomaterialov v meditsine = Analysis of nanomaterial application in medicine. *Novye tekhnologii i materialy legkoi promyshlennosti: sbornik statei XVI Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s elementami nauchnoi shkoly dlya studentov i molodykh uchenykh (Kazan', 19–23 maya 2020 g.)* = *New technologies and materials of light industry: Proceedings of XVI All-Russian Scientific and Practical Conference with elements of scientific school for students and early career scientists (Kazan, 19–23 May, 2020)*. Kazan: Kazan National Research Technological University; 2020; 120–124. <https://elibrary.ru/rnanhb> (in Russ.)
34. Духова Ю. С., Евдокимова А. В. Органо-неорганические наноматериалы на основе оксидов металлов и наноцеллюлозы: получение и свойства. *Молодые ученые – развитию Национальной технологической инициативы (ПОИСК)*. 2021; (1): 301–302. <https://elibrary.ru/peorvpx>
- Dukhova Yu. S., Evdokimova A. V. Organo-neorganicheskie nanomaterialy na osnove oksidov metallov i nanotsellyulozy: poluchenie i svoystva = Organic/inorganic nanomaterials based on metal oxides and nanocellulose: production and properties. *Molodye uchenye – razvitiyu Natsionalnoi tekhnologicheskoi initsiativy (POISK)*. 2021; (1): 301–302. <https://elibrary.ru/peorvpx> (in Russ.)
35. Javadi S. M. Applications of ZnO and MgO nanoparticles in reducing Zinc pollution level in rubber manufacturing processes: A review. *Current Biochemical Engineering*. 2020; 6 (2): 103–107. <https://doi.org/10.2174/2212711906666200224105931>
36. Poredry R., Engelbrekt C., Riisager A. Copper oxide as efficient catalyst for oxidative dehydrogenation of alcohols with air. *Catalysis Science & Technology*. 2015; 5 (4): 2467–2477. <https://doi.org/10.1039/c4cy01622j>
37. Мацакова Е. Г., Симакова Д. И. Наночастицы, проявляющие антибактериальные эффекты: свойства, получение, механизм действия, применение. *Российские нанотехнологии*. 2020; 15 (2): 238–243. <https://doi.org/10.1134/S1992722320020156>
- Matsakova E. G., Simakova D. I. Nanoparticles manifesting antibacterial effects: properties, production, mechanism of action, and applications. *Nanotechnologies in Russia*. 2020; 15 (2): 236–240. <https://doi.org/10.1134/S1995078020020159>
38. Мартынова Е. У., Козлов Е. Н., Муха Д. В. Наночастицы: перспективы использования в медицине и ветеринарии. *Успехи современной биологии*. 2012; 132 (5): 435–447. <https://elibrary.ru/pgxdwz>
- Martynova E. U., Kozlov E. N., Mukha D. V. Nanoparticles: potentialities of their use in medicine and veterinary. *Uspehi sovremennoj biologii*. 2012; 132 (5): 435–447. <https://elibrary.ru/pgxdwz> (in Russ.)
39. Tang S., Zheng J. Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Advanced Healthcare Materials*. 2018; 7 (13):e1701503. <https://doi.org/10.1002/adhm.201701503>
40. Doitsh G., Galloway N. L., Geng X., Yang Z., Monroe K. M., Zepe-da O., et al. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature*. 2014; 505 (7484): 509–514. <https://doi.org/10.1038/nature12940>
41. Rai M., Deshmukh S. D., Ingle A. P., Gupta I. R., Galdiero M., Galdiero S. Metal nanoparticles: The protective nanoshield against virus infection. *Critical Reviews in Microbiology*. 2016; 42 (1): 46–56. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2013.879849>
42. Lin Q., Lim J. Y. C., Xue K., Yew P. Y. M., Owh C., Chee P. L., Loh X. J. Sanitizing agents for virus inactivation and disinfection. *View*. 2020; 1 (2):e16. <https://doi.org/10.1002/viw2.16>
43. Khodashenas B., Ghorbani H. R. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019; 12 (8): 1823–1838. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.12.014>
44. Rai M., Kon K., Gade A., Ingle A., Nagaonkar D., Paralikar P., da Silva S. S. Antibiotic resistance: Can nanoparticles tackle the problem? In: *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*. Eds. K. Kon, M. Rai. Academic Press; 2016; Chapter 6: 121–143. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00006-X>
45. Jan T., Azmat S., Mansoor Q., Waqas H. M., Adil M., Ilyas S. Z., et al. Superior antibacterial activity of ZnO-CuO nanocomposite synthesized by a chemical Co-precipitation approach. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 134:103579. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103579>
46. Helmlinger J., Sengstock C., Groß-Heitfeld C., Mayer C., Schildhauer T. A., Köller M., Epple M. Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. *RSC Advances*. 2016; 6 (22): 18490–18501. <https://doi.org/10.1039/c5ra27836h>
47. Dong Y., Zhu H., Shen Y., Zhang W., Zhang L. Antibacterial activity of silver nanoparticles of different particle size against *Vibrio natriegens*. *PLoS ONE*. 2019; 14 (9):e0223222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223222>
48. Pal S., Tak Y. K., Song J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73 (6): 1712–1720. <https://doi.org/10.1128/aem.02218-06>
49. Jones N., Ray B., Ranjit K. T., Manna A. C. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. 2008; 279 (1): 71–76. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.01012.x>
50. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A., Kaus N. H. M., Ann L. C., Bak-hori S. K. M., et al. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*. 2015; 7 (3): 219–242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
51. Liu J., Wang Y., Ma J., Peng Y., Wang A. A review on bidirectional analogies between the photocatalysis and antibacterial properties of ZnO. *Journal of Alloys and Compounds*. 2019; 783: 898–918. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.12.330>
52. Roelofs D., Makama S., de Boer T. E., Vooijs R., van Gestel C. A. M., van den Brink N. W. Surface coating and particle size are main factors explaining the transcriptome-wide responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to silver nanoparticles. *Environmental Science: Nano*. 2020; 7 (4): 1179–1193. <https://doi.org/10.1039/c9en01144g>
53. Hu C., Wang L.-L., Lin Y.-Q., Liang H.-M., Zhou S.-Y., Zheng F., et al. Nanoparticles for the treatment of oral biofilms: current state, mechanisms, influencing factors, and prospects. *Advanced Healthcare Materials*. 2019; 8 (24):e1901301. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901301>
54. Кошелев К. К. Серебросодержащие препараты: анализ преимуществ и недостатков. *Сырье и упаковка*. 2012; (8). <https://cosmetic-industry.com/serebrosoderzhashhie-preparaty-analiz-preimushhestv-i-nedostatkov.html>
- Koshelev K. K. Silver-containing preparation: analysis of advantages and disadvantages. *Raw Materials & Packaging*. 2012; (8). <https://cosmetic-industry.com/serebrosoderzhashhie-preparaty-analiz-preimushhestv-i-nedostatkov.html> (in Russ.)
55. Шумакова А. А., Смирнова В. В., Тананова О. Н., Трушина Э. Н., Кравченко Л. В., Аксенов И. В. и др. Токсиколого-гигиеническая характеристика наночастиц серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс. *Вопросы питания*. 2011; 80 (6): 9–18. https://www.voprosy-pitaniya.ru/ru/articles_diet/68.html?SSr=300134b42314ffffff27c_07e70c030e1e35-3b9d
- Shumakova A. A., Smirnova V. V., Tananova O. N., Trushina E. N., Kravchenko L. V., Aksenov I. V., et al. Toxicological sanitary characterization of silver nanoparticles introduced in gastrointestinal tract of rats. *Problems of Nutrition*. 2011; 80 (6): 9–18. https://www.voprosy-pitaniya.ru/ru/articles_diet/68.html?SSr=300134b42314ffffff27c_07e70c030e1e35-3b9d (in Russ.)
56. Adegbeye M. J., Elghandour M. M. Y., Reddy P. R. K., Alqaisi O., Oloketuyi S., Salem A. Z. M., Asaniyan E. K. Potential of silver nanoparticles for veterinary applications in livestock performance and health. In: *Silver Nanomaterials for Agri-Food Applications*. Ed. by K. A. Abb-Elsalam. Elsevier; 2021; Chapter 27: 657–683. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823528-7.00022-6>
57. Murugan K., Wang L., Anitha J., Dinesh D., Amuthavalli P., Vasanthakumaran M., et al. Insecticidal effect of chitosan reduced silver nanocrystals against filarial vector, *Culex quinquefasciatus* and cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. In: *Advances in Nano-Fertilizers and Nano-Pesticides in Agriculture*. Woodhead Publishing; 2021; Chapter 19: 469–486. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820092-6.00019-7>
58. Prasad R. D., Prasad S. R., Shrivastav O. P., Kanthe A. R., Waghmare S. R., Shaikh V. S., et al. Biogenic synthesis of nano-silver and their anti-microbial efficacy. *ES Food & Agroforestry*. 2023; 11:836. <https://doi.org/10.30919/esfaf836>
59. Shevchenko L., Mitsevsky M., Slobodyanyuk N., Kondratiuk V., Ustyenko I., Ivaniuta A., et al. Metabolic status of calves using nanosilver with milk diet. *Journal of Hygienic Engineering & Design*. 2023; 43:245. <https://keypublishing.org/jhed/wp-content/uploads/2023/08/17.-Abstract-Larya-sa-Shevchenko.pdf>

60. Гельперина С. Э., Швец В. И. Системы доставки лекарственных веществ на основе полимерных наночастиц. *Биотехнология*. 2009; (3): 8–23. <https://elibrary.ru/ocdqgb>
- Gelperina S. E., Shvets V. I. Drug delivery systems based on polymeric nanoparticles. *Biotechnology in Russia*. 2009; (3): 1–21. <https://elibrary.ru/miegxy>
61. Zhu D., Long Q., Xu Y., Xing J. Evaluating nanoparticles in preclinical research using microfluidic systems. *Micromachines*. 2019; 10 (6):414. <https://doi.org/10.3390/mi10060414>
62. Joseph T. M., Kar Mahapatra D., Esmaili A., Piszczyk L., Hasanin M. S., Kattali M., et al. Nanoparticles: Taking a unique position in medicine. *Nanomaterials*. 2023; 13 (3):574. <https://doi.org/10.3390/nano13030574>
63. Ferdous Z., Nemmar A. Health impact of silver nanoparticles: a review of the biodistribution and toxicity following various routes of exposure. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21 (7):2375. <https://doi.org/10.3390/ijms21072375>
64. Cho E. C., Zhang Q., Xia Y. The effect of sedimentation and diffusion on cellular uptake of gold nanoparticles. *Nature Nanotechnology*. 2011; 6 (6): 385–391. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.58>
65. Wang H., Chen B., He M., Li X., Chen P., Hu B. Study on uptake of gold nanoparticles by single cells using droplet microfluidic chip-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*. 2019; 200: 398–407. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.075>
66. Kozics K., Sramkova M., Kopecka K., Begerova P., Manova A., Krivosikova Z., et al. Pharmacokinetics, biodistribution, and biosafety of PEGylated gold nanoparticles *in vivo*. *Nanomaterials*. 2021; 11 (7):1702. <https://doi.org/10.3390/nano11071702>
67. Зейналов О. А., Комбарова С. П., Багров Д. В., Петросян М. А., Толибова Г. Х., Фефанов А. В., Шайтан К. В. О влиянии наночастиц серебра на физиологию живых организмов. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2016; 14 (4): 42–51. <https://doi.org/10.17816/RCF14442-51>
- Zeinalov O. A., Kombarova S. P., Bagrov D. V., Petrosyan M. A., Tolibova G. H., Feofanov A. V., Shaitan K. V. About the influence of silver nanoparticles on living organisms physiology. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016; 14 (4): 42–51. <https://doi.org/10.17816/RCF14442-51> (in Russ.)
68. Цыганков Е. М., Менькова А. А., Андреев А. И. Гематологические показатели крови ремонтного молодняка птицы под влиянием препарата Аргодез. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2017; 232 (4): 150–154. <https://elibrary.ru/zvrhxl>
- Tsyganov E. M., Men'kova A. A., Andreev A. I. Hematologic parameters of the blood of the reconstructor young bird of the bird under the influence of drug Argodez. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2017; 232 (4): 150–154. <https://elibrary.ru/zvrhxl> (in Russ.)
69. Сумарокова А. Д., Стацевич Л. Н., Афонюшкин В. Н., Коптев В. Ю., Черепушкина В. С. Изменение гематологических показателей при использовании препаратов серебра у лабораторных ICR мышей, зараженных вирусом болезни Ньюкасла. *Международный вестник ветеринарии*. 2024; (2): 31–41. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.2.31>
- Sumarokova A. D., Statsevich L. N., Afonyushkin V. N., Koptev V. Y., Cherepushkina V. S. Changes in hematological parameters when using nanosilver preparations in laboratory ICR mice infected with the Newcastle disease virus. *International Journal of Veterinary Medicine*. 2024; (2): 31–41. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.2.31> (in Russ.)
70. Сумарокова А. Д., Афонюшкин В. Н., Миронова Т. Е., Черепушкина В. С., Афонюшкин А. В., Стацевич Л. Н., Сильников В. Н. Изучение биологической активности препаратов серебра на организменной модели инфекции болезни Ньюкасла. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2024; 54 (7): 96–105. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2024-7-10>
- Sumarokova A. D., Afonyushkin V. N., Mironova T. E., Cherepushkina V. S., Afonyushkin A. V., Stastevich L. N., Silnikov V. N. Study of the biological activity of silver preparations on an organismal model of Newcastle disease infection. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2024; 54 (7): 96–105. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2024-7-10> (in Russ.)
71. Красочко П. А., Борисовец Д. С., Станкуть А. Э., Красочко И. А., Зуйкевич Т. А. Оценка противовирусных свойств наночастиц серебра в системе *in vitro* и *in vivo*. *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2024; (1): 36–40. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/24356>
- Krasochko P. A., Borisovets D. S., Stankut A. E., Krasochko I. A., Zukevich T. A. Evaluation of antiviral properties of silver nanoparticles in *in vitro* and *in vivo* systems. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi*. 2024; (1): 36–40. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/24356> (in Russ.)
72. Шамсутдинова И. Р., Дерхо М. А. Особенности биологического действия наночастиц серебра в организме животных. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2016; (1): 202–205. <https://elibrary.ru/vpfdrd>
- Shamsutdinova I. R., Derkho M. A. Peculiarities of biological impact of silver nanoparticles on the animals' body. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2016; (1): 202–205. <https://elibrary.ru/vpfdrd> (in Russ.)
73. Saleh A. A., El-Magd M. A. Beneficial effects of dietary silver nanoparticles and silver nitrate on broiler nutrition. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018; 25 (27): 27031–27038. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2730-7>
74. Zou Y., Belanche A., Ben-Jeddou K., Jiménez M. S., Fondevila G., Fondevila M. Effect of the dietary administration pattern of silver nanoparticles on growth performance, biodiversity of digestive microbiota and tissue retention in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 2024; 309:115888. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2024.115888>
75. Elkloub K., Moustafa M. El., Ghazalah A. A., Rehan A. A. A. Effect of dietary nanosilver on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*. 2015; 14 (3): 177–182. <https://doi.org/10.3923/ijps.2015.177.182>
76. Antsiferova A. A., Kashkarov P. K., Koval'chuk M. V. Effect of different forms of silver on biological objects. *Nanotechnology Reports*. 2022; 17 (2): 155–164. <https://doi.org/10.1134/S2635167622020021>
77. Зиньковская И., Ивлиева А. Л., Петрицкая Е. Н., Рогаткин Д. А. Неожиданный эффект длительного перорального приема наночастиц серебра на рождаемость у мышей. *Экология человека*. 2020; 27 (10): 23–30. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2020-10-23-30>
- Zincovskaia I., Ivlieva A. L., Petritskaya E. N., Rogatkin D. A. Unexpected reproductive effect of prolonged oral administration of silver nanoparticles in laboratory mice. *Human Ecology*. 2020; 27 (10): 23–30. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2020-10-23-30> (in Russ.)
78. Шамсутдинова И. Р., Дерхо М. А. Изменения морфологических показателей крови лабораторных животных при введении наночастиц серебра *per os*. *АПК России*. 2015; 73: 166–170. <https://elibrary.ru/ulfojk>
- Shamsutdinova I. R., Derkho M. A. Changes of blood morphological parameters of laboratory animals when introducing silver nanoparticles *per os*. *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2015; 73: 166–170. <https://elibrary.ru/ulfojk> (in Russ.)
79. Bakowski M., Kiczorowska B., Samolińska W., Klebaniuk R., Lipiec A. Silver and zinc nanoparticles in animal nutrition – A review. *Annals of Animal Science*. 2018; 18 (4): 879–898. <https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0029>

Поступила в редакцию / Received 30.07.2024

Поступила после рецензирования / Revised 01.10.2024

Принята к публикации / Accepted 25.11.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сумарокова Анастасия Дмитриевна, аспирант ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0009-0003-5219-728X>, stasaaan@gmail.com

Стацевич Людмила Николаевна, канд. биол. наук, доцент ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-0276-3960>, lydmilastas0@gmail.com

Anastasia D. Sumarokova, Postgraduate Student, Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0003-5219-728X>, stasaaan@gmail.com

Lyudmila N. Statsevich, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-0276-3960>, lydmilastas0@gmail.com

Вклад авторов: Сумарокова А. Д. – работа с литературой, подготовка текста, анализ и обобщение, оформление ключевых результатов исследования в статье; Стацевич Л. Н. – администрирование, редактирование текста, оформление ключевых результатов исследования в статье.

Contribution of the authors: Sumarokova A. D. – literature processing, text preparation, analysis and summarizing, formulation of the study conclusions; Statsevich L. N. – text administration, editing, formulation of the study conclusions.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-101-108>
УДК 619:595.773.4:632.95.025.8:616-076:577.2

Анализ инсектицидной устойчивости к пиретроидам, фосфорорганическим соединениям и карбаматам у *Musca domestica* L. методом ПЦР-ПДРФ

А. Д. Мельничук, К. С. Крестношина, А. Г. Кинарейкина, К. Ю. Маслакова, Л. Я. Янгирова, Е. А. Силиванова

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал ФГБУН Федерального исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН), ул. Институтская, 2, г. Тюмень, 625041, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Значимым фактором в распространении заболеваний животных являются зоофильные мухи, контроль численности которых осложняется проблемой инсектицидной резистентности, актуальной для ветеринарии и медицины во всем мире. Для мониторинга и диагностики устойчивости к инсектицидам в популяциях насекомых все большее применение находят молекулярные методы.

Цель исследования. Оценка распространения основных мутаций, ассоциированных с резистентностью к пиретроидам, фосфорорганическим соединениям и карбаматам, в трех природных популяциях *Musca domestica* L., собранных в 2021–2023 гг. в животноводческих помещениях Тюменской области.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов выполнено генотипирование генов *CYP*, *vssc* и *ace-2*.

Результаты. Выявлена одна мутация в гене *vssc* (L1014F), связанная с устойчивостью к пиретроидам, и две мутации в гене *ace-2* (G342A, G342V), обеспечивающие резистентность к фосфорорганическим соединениям и карбаматам. Резистентный аллель L1014F присутствовал у 40–70% исследованных особей всех трех популяций с частотой 30–55%. Аллель G342A обнаружен у 10 и 60% особей двух популяций с частотой 5 и 30% соответственно. Аллель G342V выявлен у 40% особей только одной популяции с частотой 25%.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о потенциале формирования устойчивости к пиретроидам, фосфорорганическим соединениям и карбаматам в исследованных популяциях *Musca domestica*, что необходимо учитывать при выборе средств для дезинсекции животноводческих помещений и защиты животных от насекомых. Дальнейшие молекулярные исследования *Musca domestica* из граничащих с Тюменской областью регионов будут полезны для выработки стратегии по сдерживанию распространения резистентных аллелей в локальных популяциях.

Ключевые слова: комнатная муха, инсектициды, инсектицидная резистентность, маркеры устойчивости, молекулярная диагностика

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2022-0022).

Для цитирования: Мельничук А. Д., Крестношина К. С., Кинарейкина А. Г., Маслакова К. Ю., Янгирова Л. Я., Силиванова Е. А. Анализ инсектицидной устойчивости к пиретроидам, фосфорорганическим соединениям и карбаматам у *Musca domestica* L. методом ПЦР-ПДРФ. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 101–108. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-101-108>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Силиванова Елена Анатольевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, ул. Институтская, 2, г. Тюмень, 625041, Россия, silyanova@mail.ru

PCR-RFLP analysis of insecticide resistance to pyrethroids, organophosphates and carbamates in *Musca domestica* L.

Anastasia D. Melnichuk, Kseniya S. Krestonoshina, Anna G. Kinareikina, Kseniya Yu. Maslakova, Liana Ya. Yangirova, Elena A. Silivanova

All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Federal State Institution Federal Research Centre Tyumen Scientific Centre of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2 Institutskaya str., Tyumen 625041, Russia

ABSTRACT

Introduction. Zoophilic flies play a significant role in animal disease transmission, and insecticide resistance being a relevant veterinary issue globally is an obstacle to effective fly population control. Molecular methods are more commonly used to monitor and diagnose insecticide resistance in insect populations.

Objective. The study aims to assess distribution of the main mutations associated with resistance to pyrethroids, organophosphorus compounds and carbamates in three natural populations of *Musca domestica* L. collected in 2021–2023 in livestock facilities of the Tyumen Oblast.

Materials and methods. Genotyping of *CYP*, *vssc* and *ace-2* genes was performed using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis.

© Мельничук А. Д., Крестношина К. С., Кинарейкина А. Г., Маслакова К. Ю., Янгирова Л. Я., Силиванова Е. А., 2025

Results. One mutation in the *vssc* gene (L1014F) associated with resistance to pyrethroids and two mutations in the *ace-2* gene (G342A, G342V) conferring resistance to organophosphorus compounds and carbamates were found. The resistant allele L1014F was present in 40–70% of the tested insects of all three populations with 30–55% frequency. The G342A allele was found in 10 and 60% of insects from two populations with frequencies of 5 and 30%, respectively. The G342V allele was detected in 40% insects of only one population with a frequency of 25%.

Conclusion. The results obtained indicate the potential for conferring resistance to pyrethroids, organophosphorus compounds and carbamates in the studied populations of *Musca domestica*, which should be taken into account when selecting disinsectants for livestock-keeping facilities and protecting animals from insects. Further molecular tests of *Musca domestica* flies from the regions bordering the Tyumen Oblast will be useful for developing a strategy to contain spread of resistant alleles in local populations.

Keywords: house flies, insecticides, insecticide resistance, resistance markers, molecular diagnosis

Acknowledgements: The study was conducted within the Federal Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Topic No. FWRZ-2022-0022).

For citation: Melnichuk A. D., Krestonoshina K. S., Kinareikina A. G., Maslakova K. Yu., Yangirova L. Ya., Silivanova E. A. PCR-RFLP analysis of insecticide resistance to pyrethroids, organophosphates and carbamates in *Musca domestica* L. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 101–108. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-101-108>

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

For correspondence: Elena A. Silivanova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, 2 Institutskaya str., Tyumen 625041, Russia, silivanovaea@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Значимым фактором в распространении различных заболеваний человека и животных являются насекомые [1, 2], включая синантропных и зоофильных мух, к числу которых относится комнатная муха *Musca domestica* L. (*Diptera: Muscidae*) [3, 4]. Способность взрослых особей *M. domestica* быть механическим переносчиком таких патогенов, как яйца гельминтов, простейшие, вирусы и бактерии, в том числе антибиотикорезистентные штаммы, продемонстрирована рядом исследований [4, 5, 6, 7]. Так, бактерии *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, вызывающие респираторные заболевания крупного рогатого скота, были выделены из особей *M. domestica*, собранных на откормочных площадках, где находились животные с симптомами данных заболеваний [5]. При исследовании гомогенатов, приготовленных из комнатных мух, населявших молочные и мясные фермы США, у выделенных бактерий идентифицировали гены устойчивости к тетрациклинам и флорфениколам с распространенностью от 5 до 95,8% [6]. В лабораторных условиях была показана способность вируса ньюкаслской болезни сохраняться в инфицирующей дозе в кишечнике мух в течение четырех дней после питания зараженным молоком и одного дня – куриным пометом [7], что повышает риск распространения данного заболевания при наличии мух в птицеводческих хозяйствах. Учитывая ветеринарное значение зоофильных мух, необходимо контролировать их численность.

Несмотря на большой интерес к биологическим методам борьбы с вредными насекомыми, химический метод, основанный на использовании синтетических инсектицидных средств, остается повсеместно применяемым. Для защиты животных от насекомых и дезинсекции животноводческих помещений как в России, так и за рубежом наиболее часто используют синтетические пиретроиды, неоникотиноиды, фосфорорганические соединения (ФОС), карбаматы [4, 8].

Для *M. domestica* характерно достаточно быстрое развитие резистентности к инсектицидам при интенсивном их применении: например, в лабораторных условиях за 10–20 поколений выявлено более чем 20-кратное возрастание устойчивости к перметрину [9] и альфа-циперметрину [10]. Согласно ряду исследований, устойчивость к пиретроидам (дельтаметрин, перметрин, бета-цифлутрин, циперметрин) наблюдалась у природных популяций комнатной мухи в Китае [11, 12], Пакистане [9], Иране [13], США [14], Саудовской Аравии [10, 15], в Московской и Калужской областях нашей страны [8]. В Тюменской области также были зафиксированы толерантные и исключительно высокорезистентные к пиретроидам природные популяции [16, 17]. Устойчивые к ФОС популяции комнатной мухи были обнаружены, например, в Китае [12], Иране [18], Саудовской Аравии [15, 19]. Инсектицидная резистентность природных популяций *M. domestica* осложняет контроль их численности.

Молекулярной мишенью пиретроидов являются потенциалзависимые натриевые каналы (voltage-sensitive sodium channel, *vssc*), а маркером устойчивости к ним признано наличие мутаций в кодирующих данный белок генах – но́кдаун-резистентность (knockdown resistant, *kdr*) [14, 20]. Из пяти известных аллелей, связанных с нечувствительностью мишени и, следовательно, с устойчивостью насекомых к пиретроидам, наиболее часто исследуют наличие *kdr* (L1014F) и *kdr-his* (L1014H) [13, 14, 20]. Нечувствительность мишени нередко сочетается с другим основным механизмом устойчивости к пиретроидам – усиленной детоксикацией инсектицидов посредством цитохром P450-зависимых монооксигеназ (*CYP*). Подтвержденным молекулярным маркером данного типа резистентности является наличие вставки из 15 пар нуклеотидов (п. н.) в гене *CYP6D1* [21, 22]. Ацетилхолинэстераза (АХЭ), кодируемая геном *ace*, является ключевым ферментом холинергической системы и основной мишенью ФОС и карбаматных инсектицидов, которые блокируют

передачу нервных импульсов в холинергических сигналах. Устойчивость к ФОС и карбаматам может быть обусловлена нечувствительностью АХЭ вследствие мутаций в гене *ace* либо вследствие мутаций в генах карбоксилэстеразы, приводящих к повышению гидролитической активности фермента по отношению к ФОС [20, 23]. Известно, что у *M. domestica* присутствует только один ген, кодирующий АХЭ, – *ace-2* [24] и подробно описаны шесть основных мутаций, связанных с устойчивостью к ФОС и карбаматам: V260L, A316S, G342A, G342V, F407Y и G445A [25, 26, 27].

Анализ резистентности к инсектицидам у природных популяций *M. domestica* в России традиционно проводится с помощью токсикологических методов [8, 17, 28], которые позволяют установить наличие устойчивого фенотипа и уровень резистентности и не дают представления о механизмах, лежащих в основе инсектицидной устойчивости [29]. Установление механизмов, обеспечивающих резистентность, и оценка потенциала ее формирования выполняются с помощью биохимических и молекулярных методов [30] и имеют критическое значение для обоснованного выбора инсектицидных средств и разработки схемы их применения. По сравнению с традиционными токсикологическими методами молекулярные исследования дают более полную информацию о структуре популяции, а сочетание токсикологических и молекулярных методов позволяет объективно оценить уровень адаптации популяции к инсектицидной нагрузке [31]. Среди молекулярных методов выявления мутаций, ассоциированных с инсектицидной устойчивостью, находит применение ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция с детекцией мутаций с помощью анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов) [32]. Метод ПЦР-ПДРФ является экономичным, простым в реализации и требует только базового молекулярно-генетического оборудования, он широко доступен и является достойной альтернативой секвенированию.

Цель исследования заключалась в тестировании методом ПЦР-ПДРФ особей *Musca domestica* трех природных популяций Тюменской области на наличие мутаций в генах *CYP*, *vssc* и *ace-2*, ассоциированных с устойчивостью к пиретроидам, ФОС и карбаматам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили мухи *M. domestica* трех природных популяций, собранных в 2021–2023 гг. в животноводческих помещениях Тюменской области: Nov (56.53700°, 65.24238°), Cha (56.781583°, 65.96014°), Nik (55.55352°, 70.62864°). В условиях инсектария от собранных насекомых каждой популяции было получено первое поколение (F1), взрослые особи которого в возрасте 3–5 сут были заморожены и до исследования хранились при температуре –80 °С.

Из имаго мух (по 5 самок и самцов каждой популяции) ДНК выделяли методом щелочного лизиса [33]. Процесс амплификации выполняли на приборе Gene-Explorer GE-96G (Bioer, Китай) с использованием индивидуальной пары праймеров для каждого гена. Для генотипирования мутаций в гене *vssc* были использованы праймеры P1, P2, P3, P4, а для гена *ace-2* – праймеры AceF и AceR, заимствованные из исследования X. Qiu et al. [32]. Для генотипирования мутации в гене *CYP6D1* были использованы праймеры (S35 и AS2) и рестриктаза в соответствии с исследованием F. D. Rinkevich et al. [34]. Условия амплификации были идентичными, за исключением температуры отжига праймеров (табл. 1): 95 °С – 5 мин, затем 95 °С – 20 с, 62–53 °С – 30 с, 72 °С – 30 с (5 циклов), 95 °С – 20 с, 60–51 °С – 30 с, 72 °С – 30 с (35 циклов), 72 °С – 10 мин. Реакционная смесь для ПЦР включала: 1 µL тотальной ДНК; 4 µL готовой смеси для ПЦР 5X ScreenMix-HS (Евроген, Россия); 0,3 µL каждого праймера (25 мкМ); 14,4 µL очищенной стерильной воды (18,2 мкСм/см). Ферменты рестрикции с условиями реакции указаны в таблице 1. Визуализацию результатов рестрикции осуществляли при помощи 2%-го агарозного гель-электрофореза с добавлением красителя этидиум бромид.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Степень распространения и частота мутаций, ассоциированных с устойчивостью к пиретроидам и ФОС, были исследованы у природных популяций *M. domestica* в Дании [35], Турции [36], Иране [26, 37], США [14, 34], Казахстане [22], Объединенных Арабских Эмиратах (ОАЭ) [38] и других странах. В отношении российских популяций *M. domestica* оценка устойчивости к пиретроидам и другим инсектицидам

Таблица 1
Условия проведения ПЦР-ПДРФ-анализа

Table 1
PCR-RFLP assay conditions

Ген	Праймеры 5'–3'	Температура отжига, °С	Длина ампликона, п. н.	Рестриктаза	Мутация	Условия рестрикции
<i>vssc</i>	P1. GTGCTGTGCGGAGAGTGG P2. GAAGCCTCCATCCTGGGAG	60	156	Sse9I	L1014F	3 ч – 55 °С; 20 мин – 65 °С
	P3. AGCTGTATACCCCTCTCT P4. CGAAGTTGGACAAAGCAAA	51	220	Fat I	L1014H	
<i>CYP6D1</i>	S35. AGCTGACGAAATTGATCAATCAGT AS2. CATTGGATCATTTTCTCATC	59	732–711	Hpy 188III	CYP6D1v	1 ч – 37 °С; 20 мин – 65 °С
<i>ace-2</i>	AceF. CGGTGCATTTGGGTTTCTAC AceR. CGTAACGCTAAGATCTGCTG	57	609	Mh1 I	G342	3 ч – 37 °С; 20 мин – 80 °С
				Aco I	G342A	3 ч – 37 °С; 20 мин – 65 °С

Таблица 2

Распределение обнаруженных мутаций, связанных с инсектицидной резистентностью, в трех популяциях *M. domestica* Тюменской области

Table 2

Distribution of detected mutations associated with insecticide resistance in three populations of *M. domestica* in the Tyumen Oblast

Популяция	Количество особей	Доля особей с мутацией L1014F, %	Число особей с генотипом			Частота аллеля, %	Доля особей с мутацией, %			Число особей с генотипом			Частота аллеля, %	
			L/L	L/F	F/F		F	G342A	G342V	G/G	G/A	G/V	A	V
Nov	10	70	3	3	4	55	0	0	10	0	0	0	0	
Cha	10	70	3	4	3	50	60	0	4	6	0	30	0	
Nik	10	40	6	2	2	30	10	40	5	1	4	5	25	

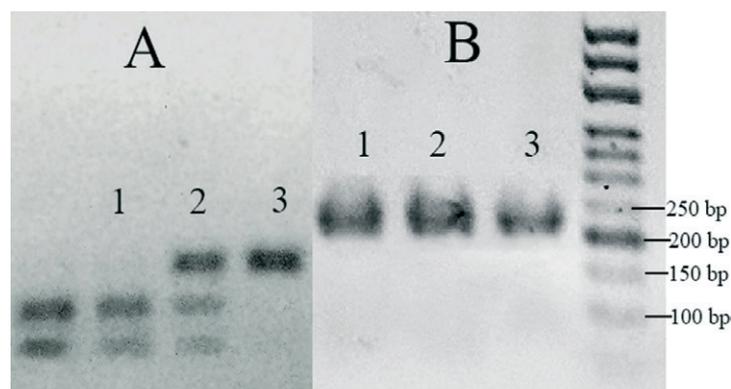


Рис. 1. Фрагмент электрофореграммы ПЦР-ПДРФ-анализа продуктов амплификации участка гена *vssc*:

А – с использованием рестриктазы *Sse9I*;
В – с использованием рестриктазы *Fat I*;
1 – 1014 (F/F), 2 – 1014 (L/F), 3 – 1014 (L/L)

Fig. 1. Electrophoregram for PCR-RFLP amplification products of the *vssc* gene region: A – using *Sse9I* restrictase;
B – using *Fat I* restrictase; 1 – 1014 (F/F), 2 – 1014 (L/F), 3 – 1014 (L/L)

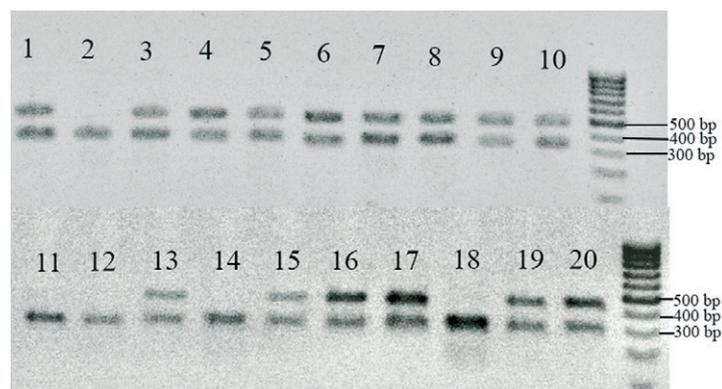


Рис. 2. Фрагмент электрофореграммы ПЦР-ПДРФ-анализа продуктов амплификации участка гена *CYP6D1* с использованием рестриктазы *Hpy 188III*: 1–20 – различные особи *M. domestica*

Fig. 2. Electrophoregram for PCR-RFLP amplification products of *CYP6D1* gene region using *Hpy 188III* restrictase: 1–20 – different *M. domestica* species

ранее проводилась в основном с помощью токсикологических методов [8, 17, 28]. Данные о результатах молекулярных исследований природных популяций комнатной мухи и генетическом потенциале форми-

рования инсектицидной устойчивости в локальных популяциях Российской Федерации в открытой печати не представлены.

Для генотипирования *vssc* методом ПЦР-ПДРФ используются рестриктазы *Sse9I* и *Fat I*. Рестриктаза *Sse9I* в случае наличия мутации L1014F разрезает ампликон размером 156 п. н. на 2 фрагмента с длинами 96 и 60 п. н. соответственно. Мутация L1014H выявляется с помощью фермента *Fat I*, который при наличии мутации разрезает ампликон 220 п. н. на фрагменты размерами 170 и 50 п. н. соответственно [22]. Объединив результаты двух анализов, нами были получены следующие генотипы (рис. 1): 1014 (L/L), 1014 (L/F), 1014 (F/F). Мутация L1014F была обнаружена у 70% исследованных особей популяции Nov и Cha и у 40% особей популяции Nik (табл. 2).

Для генотипирования *CYP* методом ПЦР-ПДРФ применяют рестриктазу *Hpy 188III*. Для резистентного аллеля *CYP6D1v1* характерна вставка в 15 п. н., которая нарушает последовательность распознавания фермента *Hpy 188III*. В результате после рестрикции фрагменты с длинами 432 и 279 п. н. будут характерны для генотипа дикого типа, а 732 п. н. – для несущего мутацию генотипа [34]. При исследовании не выявлен резистентный аллель *CYP6D1v1*, однако на рисунке 2 видно, что у некоторых особей бэнд в 432 п. н. дополнительно разрезается ферментом *Hpy 188III*.

ПЦР-ПДРФ-анализ гена *ace-2* был выполнен с использованием ферментов *Mh1 I* и *Aco I*. Рестриктаза *Mh1 I* имеет сайт рестрикции (GGC), который характерен для генотипа дикого типа – 342G. После рестрикции обнаружение двух фрагментов 361 и 248 п. н. на электрофореграмме свидетельствует о присутствии дикого типа, а фрагмент 609 п. н. – о наличии мутации G342A или G342V. Рестриктаза *Aco I* распознает наличие мутации G342A и разрезает ампликон на 2 фрагмента длиной 361 и 248 п. н. Таким образом, объединение двух анализов позволяет выявить 6 различных генотипов [32]. В нашем исследовании удалось обнаружить 3 различных генотипа (рис. 3). В популяции Nov мутации G342A или G342V не выявлены. В популяции Nik доля особей с мутациями G342A и G342V составила 10 и 40% соответственно. В популяции Cha обнаружена только мутация G342A у 60% особей (табл. 2).

В совокупности при проведении исследования методом ПЦР-ПДРФ было выявлено 3 мутации из 5 исследованных – L1014F, G342A, G342V. Частоты распределения резистентных аллелей по трем популяциям

представлены в таблице 2. Мутация *kdr* (L1014F) обнаружена в гетеро- и гомозиготном состоянии у 7 из 10 особей популяций Nov и Cha, у 4 из 10 особей популяции Nik. Мутация *kdr-his* (L1014H) не была выявлена ни в одной из трех популяций. По результатам исследования особей природных популяций *M. domestica* в Турции частота аллелей *kdr* и *kdr-his* составила 8 и 20% соответственно [36]. Обследование шести природных популяций комнатной мухи Казахстана показало наличие аллеля *kdr* в одной из популяций с частотой 5% и аллеля *kdr-his* в другой популяции с частотой 14,3% в гетерозиготном состоянии [22]. Интересно, что в иранской популяции *M. domestica* мутация L1014F не была зафиксирована, а процент полиморфизма *kdr-his* (L1014H) был невелик и составил 4,7% [37]. Напротив, в США мутация *kdr* (L1014F) присутствовала во всех шести исследованных популяциях комнатной мухи, обитающих на птицеводческих и животноводческих фермах, а *kdr-his* (L1014H) – в пяти. При этом частота аллелей *kdr-his* и *kdr* в популяциях варьировалась в широком диапазоне: 12,5–28,1% и 7,1–76,6% соответственно [14]. В недавно опубликованной работе сообщается об обнаружении *kdr*-аллеля у особей *M. domestica* из Объединенных Арабских Эмиратов с частотой от 9,4 до 46,9% [38]. По частоте резистентного аллеля *kdr* (30–55%) популяции комнатной мухи Тюменской области сопоставимы с популяциями из США и ОАЭ.

Согласно литературным данным, нокадаун-резистентность впервые была зарегистрирована у комнатной мухи в 1950-х гг. как нечувствительность натриевых каналов к действию дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ). Позднее было установлено, что такая устойчивость связана с нуклеотидной заменой (цитозина на тимин) в гене *vssc*, приводящей к замене лейцина на фенилаланин в позиции 1014 (L1014F) альфа-субъединицы натриевого канала [39]. В результате происходят структурные изменения белковой молекулы, влияющие на взаимодействие инсектицида с мишенью. Данная мутация приводит также к формированию устойчивости к пиретроидам, поскольку они имеют схожий с ДДТ механизм действия. Мутация L1014F, помимо *M. domestica*, была обнаружена у других двукрылых насекомых (например, комаров родов *Culex* и *Anopheles*, жигалок рода *Haematobia*), рыжего таракана (*Blattella germanica*), кошачьей блохи (*Ctenocephalides felis*), крысиной блохи (*Xenopsylla cheopis*), триатомовых клопов (например, *Tritatoma infestans*) и других членистоногих [39, 40].

Одним из в достаточной мере описанных механизмов резистентности к пиретроидам у насекомых является усиление детоксикации, опосредованной *CYP* [41]. Такой тип инсектицидной устойчивости *M. domestica* связан с повышенной экспрессией гена *CYP6D1* при наличии вставки в 15 п. н. (аллель *CYP6D1v1*) [34]. В США резистентный аллель *CYP6D1v1* обнаруживали с частотой > 75% в 5 исследованных популяциях *M. domestica* [14]. По данным V. Taşkın et al., в турецкой популяции комнатной мухи частота *CYP6D1v1* составила 39% [36]. В Казахстане данный аллель присутствовал в 3 из 6 популяций *M. domestica* с гораздо меньшей частотой: 4,4–6,3% [22]. В нашем исследовании ПЦР-ПДФ-анализ не выявил характерной для резистентного аллеля *CYP6D1v1* вставки в 15 п. н., однако у особей популяций Nov и Cha была обнаружена мутация, описанная ранее для лабораторной культуры *M. domestica* [42].

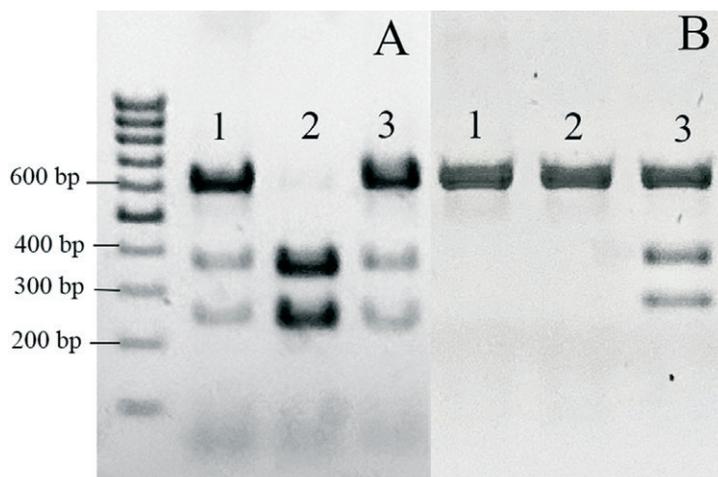


Рис. 3. Фрагмент электрофореграммы ПЦР-ПДФ-анализа продуктов амплификации участка гена *ace-2*:

A – с использованием рестриктазы *Mh1 I*;

B – с использованием рестриктазы *Aco I*;

1 – 342 (G/V), 2 – 342 (G/G), 3 – 342 (G/A)

Fig. 3. Electrophoregram for PCR-RFLP amplification products of *ace-2* gene region: A – using *Mh1 I* restrictase;

B – using *Aco I* restrictase;

1 – 342 (G/V), 2 – 342 (G/G), 3 – 342 (G/A)

В работе J. C. Freeman et al. справедливо отмечено, что *CYP6D1v1* только частично ответственен за увеличение уровня экспрессии *CYP6D1* [14]. В силу высокой эволюционной пластичности *CYPs* другие их представители или другие еще не описанные мутации могут быть вовлечены в формирование устойчивости к инсектицидам в целом и пиретроидам в частности в локальных популяциях *M. domestica*.

Выявление достаточно большого процента особей с мутацией *kdr* среди *M. domestica* трех исследованных нами природных популяций не удивительно, поскольку, согласно проведенным опросам, в животноводческих хозяйствах, где были собраны насекомые, на протяжении нескольких сезонов для дезинсекции помещений и защиты животных от назойливых насекомых использовали пиретроиды (в основном дельтаметрин и цифлутрин). Применение этих инсектицидов в данном случае послужило фактором отбора, который, по-видимому, позволил мутации *kdr* (L1014F) закрепиться в исследованных популяциях. Считается, что в случае наличия мутации *kdr* (L1014F) формируется более высокий уровень резистентности к пиретроидам, чем при наличии мутации *kdr-his* (L1014H) [36, 37]. Для того чтобы замедлить появление высокорезистентных к пиретроидам популяций, в исследованных животноводческих хозяйствах целесообразно заменить пиретроиды на инсектициды с отличающимся механизмом действия (например, пирролы, оксадиазины, регуляторы развития насекомых и др.).

Высшие двукрылые имеют только один ген, кодирующий АХЭ, и, соответственно, у данной группы насекомых мутации, обеспечивающие устойчивость к ФОС и карбаматам, обнаружены только в гене *ace-2*. Такие мутации по отдельности или в комбинации приводят к аминокислотным заменам близко к каталитической триаде активного центра фермента, влияя на ориентацию аминокислот триады и ограничивая доступ и/или связывание объемных инсектицидов (ингибиторов

фермента) в субстратном центре белка [25]. Для *M. domestica* подробно описаны шесть таких мутаций: V260L, A316S, G342A, G342V, F407Y и G445A [25, 28]. Известно, что, помимо *M. domestica*, устойчивость к ФОС и карбаматам по сходному механизму формируется у других видов насекомых, например, зеленой мясной мухи *Lucilia cuprina* [43], *Drosophila melanogaster* [44, 45] и мух из семейства пестрокрылок *Bactrocera oleae* [46] и *Bactrocera dorsalis* [47]. В работе S. Başkurt et al. [48] указаны эквивалентные замены аминокислотных остатков в молекуле АХЭ для *M. domestica* и *D. melanogaster*. Литературные данные свидетельствуют о широкой распространенности по всему миру мутаций, лежащих в основе устойчивости комнатной мухи к ФОС и карбаматам. Так, резистентные аллели G342A и G342V были обнаружены у особей природных популяций *M. domestica* США, Китая, Ирана, Казахстана [14, 22, 26, 49]. У казахстанских популяций комнатной мухи резистентные аллели G342A и G342V встречались с частотой 27–48 и 0–20% соответственно [22]. Мутации G342A и G342V были выявлены у 30 и 40% иранских особей *M. domestica* соответственно [26]. В нашем исследовании резистентный аллель G342V был представлен только в популяции Nik (мутация присутствовала у 40% особей) с частотой 25%, аллель G342A в популяциях Nik (у 10% особей) и Cha (у 60% особей) с частотой 5 и 30% соответственно, а в популяции Nov данные мутации не обнаружены. Предполагается, что аллель с мутацией G342V играет более значимую роль в нечувствительности АХЭ и формировании высокого уровня устойчивости к отдельным инсектицидам в сравнении с G342A [14, 25, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании анализ ПЦР-ПДРФ позволил выявить присутствие аллеля *kdr* (L1014F), ответственного за формирование устойчивости к пиретроидам, с частотой 30–55% и аллелей G342A/V, связанных с устойчивостью к ФОС и карбаматам, с частотой 5–30% у особей соответственно трех и двух природных популяций *M. domestica* Тюменской области. Представленные данные свидетельствуют о потенциале формирования устойчивости к пиретроидам, ФОС и карбаматам в исследованных популяциях. На основании полученных результатов можно рекомендовать замену данных инсектицидов при проведении дезинсекции животноводческих помещений препаратами из других групп с целью сдерживания распространения резистентных аллелей в локальных популяциях *M. domestica*. Для более полной оценки ситуации по резистентности к пиретроидам, ФОС и карбаматам и потенциале ее формирования у *M. domestica* в России необходимы дальнейшие молекулярные исследования насекомых из разных регионов страны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Домацкий В. Н., Федорова О. А., Сибен А. Н. Эпизоотологическое и эпидемиологическое значение кровососущих двукрылых насекомых в условиях Крайнего Севера (обзор). *Российский паразитологический журнал*. 2018; 12 (4): 73–76. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-4-73-76>
2. Domatskiy V. N., Fedorova O. A., Siben A. N. Epizootological and epidemiological place of sanguivorous dipterans in a climate of the Arctic (review). *Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (4): 73–76. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-4-73-76> (in Russ.)
3. Давлианидзе Т. А., Еремина О. Ю. Санитарно-эпидемиологическое значение и резистентность к инсектицидам природных популяций

- комнатной мухи *Musca domestica*. *Вестник защиты растений*. 2021; 104 (2): 72–86. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-2-14984>
4. Davlianiidze T. A., Eremina O. Yu. Sanitary and epidemiological significance and resistance to insecticides in the housefly *Musca domestica*. *Plant Protection News*. 2021; 104 (2): 72–86. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-2-14984> (in Russ.)
5. Новак М. Д., Енгашев С. В., Мироненко А. В., Белова Л. М., Енгашева Е. С., Филимонов Д. Н. Динамика численности слепней и зоофильных мух в Центральном районе Российской Федерации. *Ветеринария*. 2020; (6): 28–32. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.6.28-32>
6. Novak M. D., Engashev S. V., Mironenko A. V., Belova L. M., Engasheva E. S., Filimonov D. N. Dynamics of population size of blinds and zoophilic flies in the Central area of the Russian Federation. *Veterinariya*. 2020; (6): 28–32. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2020.23.6.28-32> (in Russ.)
7. Geden C. J., Nayduch D., Scott J. G., Burgess E. R. IV, Gerry A. C., Kaufman P. E., et al. House fly (*Diptera: Muscidae*): biology, pest status, current management prospects, and research needs. *Journal of Integrated Pest Management*. 2021; 12 (1):39. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa021>
8. Neupane S., Nayduch D., Zurek L. House flies (*Musca domestica*) pose a risk of carriage and transmission of bacterial pathogens associated with bovine respiratory disease (BRD). *Insects*. 2019; 10 (10):358. <https://doi.org/10.3390/insects10100358>
9. Neupane S., Talley J. L., Taylor D. B., Nayduch D. Bacterial communities and prevalence of antibiotic resistance genes carried within house flies (*Diptera: Muscidae*) associated with beef and dairy cattle farms. *Journal of Medical Entomology*. 2023; 60 (6): 1388–1397. <https://doi.org/10.1093/jme/tjad112>
10. Chakrabarti S., King D. J., Cardona C. J., Gerry A. C. Persistence of exotic Newcastle disease virus (ENDV) in laboratory infected *Musca domestica* and *Fannia canicularis*. *Avian Diseases*. 2008; 52 (3): 375–379. <https://doi.org/10.1637/8173-111407-Reg>
11. Давлианидзе Т. А., Еремина О. Ю., Олифер В. В. Резистентность к инсектицидам комнатной мухи *Musca domestica* в центре Европейской части России. *Вестник защиты растений*. 2022; 105 (3): 114–121. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15346>
12. Davlianiidze T. A., Eremina O. Yu., Olfir V. V. Resistance to insecticides of housefly *Musca domestica* in the center of the European part of Russia. *Plant Protection News*. 2022; 105 (3): 114–121. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15346> (in Russ.)
13. Khan H. A. A. Characterization of permethrin resistance in a *Musca domestica* strain: resistance development, cross-resistance potential and realized heritability. *Pest Management Science*. 2019; 75 (11): 2969–2974. <https://doi.org/10.1002/ps.5409>
14. Abbas N., Hafez A. M. Alpha-cypermethrin resistance in *Musca domestica*: Resistance instability, realized heritability, risk assessment, and insecticide cross-resistance. *Insects*. 2023; 14 (3):233. <https://doi.org/10.3390/insects14030233>
15. Li Q., Huang J., Yuan J. Status and preliminary mechanism of resistance to insecticides in a field strain of housefly (*Musca domestica*, L.). *Revista Brasileira de Entomologia*. 2018; 62 (4): 311–314. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.09.003>
16. Wang J.-N., Hou J., Wu Y.-Y., Guo S., Liu Q.-M., Li T.-Q., Gong Z.-Y. Resistance of house fly, *Musca domestica* L. (*Diptera: Muscidae*), to five insecticides in Zhejiang Province, China: The situation in 2017. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2019; 2019 (1):4851914. <https://doi.org/10.1155/2019/4851914>
17. Ahmadi E., Khajehali J., Rameshgar F. Evaluation of resistance to permethrin, cypermethrin and deltamethrin in different populations of *Musca domestica* (L.), collected from the Iranian dairy cattle farms. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2020; 23 (2): 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.01.014>
18. Freeman J. C., Ross D. H., Scott J. G. Insecticide resistance monitoring of house fly populations from the United States. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2019; 158: 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.006>
19. Hafez A. M. First evaluation of field evolved resistance to commonly used insecticides in house fly populations from Saudi Arabian dairy farms. *Insects*. 2021; 12 (12):1120. <https://doi.org/10.3390/insects12121120>
20. Павлов С. Д., Павлова П. П., Мавлютов С. М. О резистентности насекомых комплекса гнус и комнатной мухи к действию современных инсектицидов. *Энтомологические исследования в Северной Азии: материалы VII Межрегионального совещания энтомологов Сибири и Дальнего Востока в рамках Сибирской зоологической конференции (Новосибирск, 20–24 сентября 2006 г.)*. Новосибирск: Институт систематики и экологии животных СО РАН; 2006; 416–418. <https://elibrary.ru/ttwhrz>
21. Pavlov S. D., Pavlova P. P., Mavlyutov S. M. O rezistentnosti nasekomykh kompleksa gnus i komnatnoi mukhi k deistviyu sovremennykh insektitsidov = On resistance of gnat and housefly complex against modern insecticides. *Entomologicheskie issledovaniya v Severnoi Azii: materialy VII Mezhregional'nogo soveshchaniya entomologov Sibiri i Dal'nego Vostoka v ramkakh*

- Sibirskoi zoologicheskoi konferentsii (Novosibirsk, 20–24 sentyabrya 2006 g.) = Entomological studies in Northern Asia: Proceedings of the VII Interregional Meeting of Entomologists of Siberia and the Far East within the framework of the Siberian Zoological Conference (Novosibirsk, September 20–24, 2006).* Novosibirsk: Institute of Systematics and Ecology of Animals of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; 2006; 416–418. <https://elibrary.ru/ttwhrz> (in Russ.)
17. Левченко М. А., Силиванова Е. А., Хлызова Т. А., Бикинueva P. X., Метеллица И. А. Чувствительность природной популяции *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) к пиретроидным инсектицидам. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2017; (4): 71–75. <https://elibrary.ru/yমেয়া5>
- Levchenko M. A., Silivanova E. A., Hlyzova T. A., Bikinjeva R. H., Metelitsa I. A. Susceptibility of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) field population to pyrethroid insecticides. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2017; (4): 71–75. <https://elibrary.ru/yমেয়া5> (in Russ.)
18. Ahmadi E., Khajehali J. Dichlorvos resistance in the house fly populations, *Musca domestica*, of Iranian cattle farms. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*. 2020; 14 (4): 344–352. <https://doi.org/10.18502/jad.v14i4.5271>
19. Abobakr Y., Al-Hussein F. I., Bayoumi A. E., Alzabib A. A., Al-Sarar A. S. Organophosphate insecticides resistance in field populations of house flies, *Musca domestica* L.: Levels of resistance and acetylcholinesterase activity. *Insects*. 2022; 13 (2):192. <https://doi.org/10.3390/insects13020192>
20. Еремина О. Ю., Лопатина Ю. В. Молекулярно-генетические механизмы резистентности к инсектицидам у насекомых. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2017; (4): 44–53. <https://elibrary.ru/yurkfg>
- Eremina O. Yu., Lopatina Yu. V. Molecular genetic mechanisms of insecticide resistance in insects. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2017; (4): 44–53. <https://elibrary.ru/yurkfg> (in Russ.)
21. Pan Y., Yang C., Liu Y., Gao Q., Li M., Qiu X. Novel cytochrome P450 (CYP6D1) and voltage sensitive sodium channel (Vssc) alleles of the house fly (*Musca domestica*) and their roles in pyrethroid resistance. *Pest Management Science*. 2018; 74 (4): 978–986. <https://doi.org/10.1002/ps.4798>
22. Qu R., Zhu J., Li M., Jashenko R., Qiu X. Multiple genetic mutations related to insecticide resistance are detected in field Kazakhstani house flies (*Musca domestica*). *Journal of Medical Entomology*. 2021; 58 (6): 2338–2348. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab110>
23. Li Y., Farnsworth C. A., Coppin C. W., Teese M. G., Liu J.-W., Scott C., et al. Organophosphate and pyrethroid hydrolase activities of mutant Esterases from the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*. 2013; 8 (10):e77685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077685>
24. Kim Y. H., Lee S. H. Which acetylcholinesterase functions as the main catalytic enzyme in the Class Insecta? *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2013; 43 (1): 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.11.004>
25. Walsh S. B., Dolden T. A., Moores G. D., Kristensen M., Lewis T., Devonshire A. L., Williamson M. S. Identification and characterization of mutations in housefly (*Musca domestica*) acetylcholinesterase involved in insecticide resistance. *Biochemical Journal*. 2001; 359 (1): 175–181. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3590175>
26. Adib D., Jafari A., Silivanova E., Basseri H., Gholizadeh S. Molecular analysis of acetylcholinesterase gene in field-collected populations of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Northwestern Iran. *Journal of Insect Science*. 2023; 23 (4):9. <https://doi.org/10.1093/jisesa/lead054>
27. Alzabib A. A., Al-Sarar A. S., Abobakr Y., Saleh A. A. Single and combined mutations of acetylcholinesterase gene giving resistance to pirimiphos-methyl in *Musca domestica* slaughterhouse populations. *Insects*. 2023; 14 (3):218. <https://doi.org/10.3390/insects14030218>
28. Левченко М. А., Силиванова Е. А., Шумилова П. А., Сенникова Н. А. Инсектицидная чувствительность и ферментативная активность у *Musca domestica* L. природных популяций. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2021; (4): 428–435. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202104008>
- Levchenko M. A., Silivanova E. A., Shumilova P. A., Sennikova N. A. Insecticidal susceptibility and detoxification enzyme activities in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) of field populations. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2021; (4): 428–435. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202104008> (in Russ.)
29. Р 4.2.3676-20 Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: руководство. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2020. <https://docs.cntd.ru/document/573820733>
- Р 4.2.3676-20 Laboratory methods of disinfected tests and trials to assess their effectiveness and safety: a study guide. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare; 2020. <https://docs.cntd.ru/document/573820733> (in Russ.)
30. World Health Organization. Manual for monitoring insecticide resistance in mosquito vectors and selecting appropriate interventions. Geneva: World Health Organization; 2022. 65 p. <https://www.who.int/publications/item/9789240051089>
31. Удалов М. Б., Беньковская Г. В. Популяционная генетика колорадского жука: от генотипа до фенотипа. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2011; 15 (1): 156–172. <https://elibrary.ru/nypugv>
- Udalov M. B., Benkovskaya G. V. Population genetics of the Colorado potato beetle: from genotype to phenotype. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2011; 15 (1): 156–172. <https://elibrary.ru/nypugv> (in Russ.)
32. Qiu X., Pan J., Li M., Li Y. PCR-RFLP methods for detection of insecticide resistance-associated mutations in the house fly (*Musca domestica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2012; 104 (3): 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.08.002>
33. Bender W., Spierer P., Hogness D. S., Chambon P. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from the *Ace* and *rosy* loci and the bithorax complex in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Molecular Biology*. 1983; 168 (1): 17–33. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(83\)80320-9](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(83)80320-9)
34. Rinkevich F. D., Zhang L., Hamm R. L., Brady S. G., Lazzaro B. P., Scott J. G. Frequencies of the pyrethroid resistance alleles of *Vssc1* and *CYP6D1* in house flies from the eastern United States. *Insect Molecular Biology*. 2006; 15 (2): 157–167. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00620.x>
35. Huang J., Kristensen M., Qiao C. L., Jespersen J. B. Frequency of *kdr* gene in house fly field populations: correlation of pyrethroid resistance and *kdr* frequency. *Journal of Economic Entomology*. 2004; 97 (3): 1036–1041. <https://doi.org/10.1093/jee/97.3.1036>
36. Taşkın V., Başkurt S., Doğaç E., Taşkın B. G. Frequencies of pyrethroid resistance-associated mutations of *Vssc1* and *CYP6D1* in field populations of *Musca domestica* L. in Turkey. *Journal of Vector Ecology*. 2011; 36 (2): 239–247. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00164.x>
37. Kamdar S., Farmani M., Akbarzadeh K., Jafari A., Gholizadeh S. Low frequency of knockdown resistance mutations in *Musca domestica* (Diptera: Diptera) collected from Northwestern Iran. *Journal of Medical Entomology*. 2019; 56 (2): 501–505. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy177>
38. Hamdan M., Kamalanathan T., Iqbal A., Gnanaprakasam A. R., Shajahan S., Alsaadeq M. H., et al. *kdr* mutations and deltamethrin resistance in house flies in Abu Dhabi, UAE. *Parasites & Vectors*. 2024; 17 (1):47. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06128-5>
39. Rinkevich F. D., Du Y., Dong K. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2013; 106 (3): 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.02.007>
40. Hutton S. M., Miarinjara A., Stone N. E., Raharimalala F. N., Raveloson A. O., Rakotobe Harimanana R., et al. Knockdown resistance mutations are common and widely distributed in *Xenopsylla cheopis* fleas that transmit plague in Madagascar. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2023; 17 (8):e0011401. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011401>
41. Liu N., Li M., Gong Y., Liu F., Li T. Cytochrome P450s – Their expression, regulation, and role in insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2015; 120: 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.01.006>
42. Krestonoshina K., Melnichuk A., Kinareikina A., Maslakova K., Yangirova L., Silivanova E. The P450-monoxygenase activity and CYP6D1 expression in the chlorfenapyr-resistant strain of *Musca domestica* L. *Insects*. 2024; 15 (6):461. <https://doi.org/10.3390/insects15060461>
43. Chen Z., Newcomb R., Forbes E., McKenzie J., Batterham P. The acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2001; 31 (8): 805–816. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(00\)00186-7](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(00)00186-7)
44. Mutero A., Pralavorio M., Bride J. M., Fournier D. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994; 91 (13): 5922–5926. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.13.5922>
45. Menozzi P., Shi M. A., Lougarre A., Tang Z. H., Fournier D. Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* populations. *BMC Evolutionary Biology*. 2004; 4:4. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-4-4>
46. Pereira-Castro I., van Asch B., Trindade Rei F., Teixeira Da Costa L. *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) organophosphate resistance alleles in Iberia: Recent expansion and variable frequencies. *European Journal of Entomology*. 2015; 112 (1): 20–26. <https://doi.org/10.14411/eje.2015.019>
47. Hsu J.-C., Haymer D. S., Wu W.-J., Feng H.-T. Mutations in the acetylcholinesterase gene of *Bactrocera dorsalis* associated with resistance to organophosphorus insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2006; 36 (5): 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.02.002>
48. Başkurt S., Taşkın B. G., Doğaç E., Taşkın V. Polymorphism in the acetylcholinesterase gene of *Musca domestica* L. field populations in Turkey.

Journal of Vector Ecology. 2011; 36 (2): 248–257. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00165.x>

49. Yang X., Mou R., Liang Q., Cheng J., Wu Y., Tan W., Wu J. Frequency and polymorphism of acetylcholinesterase gene involved in the organophosphate resistance of *Musca domestica* in Guizhou Province, China.

Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 2023; 114 (3):e22045. <https://doi.org/10.1002/arch.22045>

Поступила в редакцию / Received 20.08.2024

Поступила после рецензирования / Revised 14.10.2024

Принята к публикации / Accepted 06.11.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мельничук Анастасия Дмитриевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3926-4754>, melnichukad1999@gmail.com

Крестношина Ксения Сергеевна, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3607-3706>, krutko.k.s@hotmail.com

Кинарейкина Анна Григорьевна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3194-873X>, kinareickina@yandex.ru

Маслакова Ксения Юрьевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9688-5207>, k.y.maslakova@gmail.com

Янгирова Лиана Януровна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7546-485X>, lianayangirova137@gmail.com

Силиванова Елена Анатольевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, г. Тюмень, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0872-8509>, sylvanovaea@mail.ru

Anastasia D. Melnichuk, Junior Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3926-4754>, melnichukad1999@gmail.com

Kseniya S. Krestonoshina, Head of Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3607-3706>, krutko.k.s@hotmail.com

Anna G. Kinareikina, Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3194-873X>, kinareickina@yandex.ru

Kseniya Yu. Maslakova, Junior Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9688-5207>, k.y.maslakova@gmail.com

Liana Ya. Yangirova, Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7546-485X>, lianayangirova137@gmail.com

Elena A. Silivanova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Insect Molecular Biology and Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0872-8509>, sylvanovaea@mail.ru

Вклад авторов: Мельничук А. Д. – проведение исследований, подготовка текста, визуализация данных; Крестношина К. С. – проведение исследований, разработка методологии, ресурсное обеспечение исследования; Кинарейкина А. Г. – подготовка и редактирование текста; Маслакова К. Ю. – подготовка и редактирование текста; Янгирова Л. Я. – подготовка и редактирование текста; Силиванова Е. А. – разработка концепции, утверждение окончательного варианта, ресурсное обеспечение исследования.

Contribution of the authors: Melnichuk A. D. – conducting a research, text preparation, data visualization; Krestonoshina K. S. – conducting a research, development of methodology, provision of research resources; Kinareikina A. G. – text preparation and editing; Maslakova K. Yu. – text preparation and editing; Yangirova L. Ya. – text preparation and editing; Silivanova E. A. – conceptualization, approval of the final draft, provision of research resources.

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

**«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. Для оригинальных статей резюме должно быть обязательно структурировано и включать разделы, отражающие порядок проведения исследования: *введение, цель исследования, материалы и методы, результаты, заключение*. Для обзоров и других типов публикаций структурирование резюме рекомендовано.

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. **Вклад авторов** (необходимо указать вклад авторов в подготовку статьи).

17. 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 статьи, 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 умещаться 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»
FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH (ARRIAH)

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ЯЩУРУ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ГРИППУ ПТИЦ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR AVIAN INFLUENZA

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR NEWCASTLE DISEASE

ЦЕНТР ВОЗЖ ПО СОТРУДНИЧЕСТВУ В ОБЛАСТИ
ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ЖИВОТНЫХ ДЛЯ СТРАН ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ,
ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ И ЗАКАВКАЗЬЯ
WOAH COLLABORATING CENTRE FOR DIAGNOSIS AND CONTROL OF VIRAL
ANIMAL DISEASES IN EASTERN EUROPE, CENTRAL ASIA AND TRANSCAUCASIA

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЯЩУРУ
FAO REFERENCE CENTRE FOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЗООНОЗНЫМ
КОРОНАВИРУСАМ
FAO REFERENCE CENTRE FOR ZOO NOTIC CORONAVIRUSES

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») ОБЪЯВЛЯЕТ НАБОР В АСПИРАНТУРУ В 2025 ГОДУ

ФГБУ «ВНИИЗЖ» является ведущим научным учреждением России в области ветеринарной вирусологии, микробиологии, эпизоотологии, молекулярной биологии. Учреждение выполняет ответственные задачи, направленные на обеспечение биологической безопасности и ветеринарного благополучия по особо опасным и экономически значимым болезням животных на территории Российской Федерации.

Учреждение ведет активную работу по подготовке научных кадров на основании лицензии Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки № Л035-00115-77/00097027 от 20.07.2022 по программам подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по двум научным специальностям:

– 4.2.3 «Инфекционные болезни и иммунология животных». Форма обучения очная, срок обучения – 3 года;

– 1.5.10 «Вирусология». Форма обучения очная, срок обучения – 4 года.

В настоящее время в аспирантуре обучается 36 специалистов, многие из них являются штатными сотрудниками учреждения.

Подготовкой аспирантов занимаются опытные преподаватели и высококвалифицированные сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ». Материально-техническая база создает важнейшую основу для выполнения исследовательских работ. Аспиранты участвуют в научных конференциях, проходят стажировки в ведущих научных центрах России и за рубежом.

На базе учреждения действует диссертационный совет по защите кандидатских и докторских диссертаций.

Прием документов для поступления в аспирантуру на очную форму обучения будет проводиться с 2 июня по 29 августа 2025 г.

Поступающие в аспирантуру сдают вступительные экзамены по специальной дисциплине, соответствующей профилю направления подготовки, философии и иностранному языку.

На время проведения вступительных испытаний иностранным гражданам предоставляется общежитие.

Аспиранты трудоустраиваются в ФГБУ «ВНИИЗЖ», обеспечиваются стипендией в установленном размере, иностранным предоставляется общежитие.

Подробную информацию об условиях конкурсного приема в аспирантуру можно получить по телефону 8 (4922) 52-99-62 или по электронной почте nikeshina@arriah.ru, zhbanova@arriah.ru

Информация для поступающих в аспирантуру размещена на официальном сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» www.arriah.ru

Адрес приемной комиссии:
600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

ВАКЦИНА ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ (G7 и Ла-Сота) И ГРИППА ПТИЦ H9N2 (Y280 и G1) АССОЦИИРОВАННАЯ ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬСИОННАЯ «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти»

Вакцина произведена из экстраэмбриональной жидкости эмбрионов кур, инфицированных вирусами ньюкаслской болезни (штаммы «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота») и гриппа птиц (штаммы A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 и «Челябинск-20»), инактивированными димером аминоксилэтиленимина, с добавлением тимеросала в качестве консерванта и масляного адьюванта, состоящего из медицинского белого масла и фармакопейных эмульгаторов на основе сложных эфиров карбоновых кислот в соотношении 30:70.

Препарат вызывает формирование иммунного ответа у кур к возбудителям гриппа птиц подтипа H9N2 и ньюкасл-

ской болезни через 28 сут после однократного применения продолжительностью не менее 9 мес.

Вакцина предназначена для профилактики гриппа птиц подтипа H9N2 и ньюкаслской болезни у кур, содержащихся на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах граждан в зонах высокого риска. Обладает высокой профилактической эффективностью против ньюкаслской болезни, вызванной вирусом генотипа 7L (7.1.1).

Срок годности вакцины – 18 мес. от даты выпуска при соблюдении условий хранения и транспортирования.