

МЕЖДУНАРОДНЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Выпускается с 2004 года

ISSN 2224-168X
ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС: 00802
008022

Журнал включен в список Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Беларуси по отраслям: ветеринарные науки, биологические науки, сельскохозяйственные науки, приказ ВАК № 101 от 04.07.2005 г.

Учредители: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАН»

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Борисовец Д.С. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Насонов И.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Республика Беларусь

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

Стрельчяня И.И. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Щемелева Н.Ю. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь;

Каменская Т.Н. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь;

Андрусевич А.С. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь;

Новикова О.Н. – кандидат ветеринарных наук, доцент, Республика Беларусь;

Зуйкевич Т.А. – кандидат сельскохозяйственных наук, Республика Беларусь;

Белькевич И.А. – кандидат ветеринарных наук, Республика Беларусь;

Архипова Н.В. – кандидат ветеринарных наук, Республика Беларусь;

Василевич Ф.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, Российская Федерация;

Гулюкин А.М. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, Российская Федерация;

Забережный А.Д. – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Российская Федерация;

Карпенко Л.Ю. – доктор биологических наук, профессор, Российская Федерация;

Красочко П.А. – доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор, Республика Беларусь;

Красочко И.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, Республика Беларусь;

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор, Республика Беларусь;

Малашко В.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Республика Беларусь;

Паршин П.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, Российская Федерация;

Стекольников А.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, Российская Федерация;

Шабунин С.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, Российская Федерация;

Ятусевич А.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, Республика Беларусь;

Соляник А.В. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Республика Беларусь;

Тимошенко В.Н. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, Республика Беларусь

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Ларькова А.Е.

Лукьянова И.А.

Пуныко С.Г.

При использовании авторами материалов журнала «Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария» ссылка на журнал обязательна

Все статьи рецензируются

Редакция не несет ответственности за возможные неточности, допущенные авторами. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов

© «Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария», 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Русинович А.А., Мотузко Н.С., Кудрявцева Е.Н. ТУБЕРКУЛЕЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В БЕЛАРУСИ В ИСТОРИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ 3

Белькович А.А., Насонов И.В., Архипова Н.В., Кныш Н.В., Зинина Н.В., Гуринович О.Л. СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА СРЕДИ ДИКИХ МИГРИРУЮЩИХ ПТИЦ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ 7

Алиев Д. ОЦЕНКА СИСТЕМЫ ЭПИДНАДЗОРА БРУЦЕЛЛЕЗА В АЗЕРБАЙДЖАНЕ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОННОЙ СИСТЕМЫ ЭПИДСЛЕЖЕНИЯ EIDSS 14

Ананчиков М.А., Новикова О.Н., Zubovskaya I.V., Belush M.V., Berezhinskaya A.A. ИНФЕКЦИОННЫЙ КЕРАТОКОНЪЮНКТИВИТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ 21

Красочко И.А., Лемиш А.П., Пулиш А.В., Красочко П.А. АКТИНОБАЦИЛЛЯРНАЯ ПЛЕУРОПНЕВМОНИЯ СВИНЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ 26

Тяпша Ю.И., Дубаневич О.В., Малащенко Н.О. МОНИТОРИНГ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ С ДИФФЕРЕНЦИАЦИЕЙ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *PASTEURELLACEAE* 31

ИММУНОБИОЛОГИЯ

Би Кайсюань, Борисовец Д.С. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СВИНЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И ЕЕ ДИАГНОСТИКА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ 37

Лысенко А.П., Кучвальский М.В., Кривошеева Ж.М., Новик Т.П., Высоцкий А.Э. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ 43

Каяк Ю.А. ПОДБОР АДЪЮВАНТОВ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-CoV-2, И ПАСТЕРЕЛЛЕЗА НОРОК 53

ФАРМАКОЛОГИЯ

Щемелева Н.Ю., Василькова В.П., Леонтьева Л.В. ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ПРЕПАРАТА «ЭПРИНОВЕТ» И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ 59

САНИТАРИЯ

Кажеко О.А., Барановский М.В., Тимошенко В.Н., Портной А.И., Музыка А.А. ПУТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОЦЕССА САНИТАРНОЙ ОБРАБОТКИ ТРАНСПОРТНЫХ МОЛОКОПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ 65

CONTENTS

EPIZOOTOLOGY

Rusinovich A.A., Motuzko N.S., Kudryavtseva E.N. TUBERCULOSIS OF FARM ANIMALS IN BELARUS IN THE HISTORICAL ASPECT 3

Belkovich A.A., Nasonov I.V., Arhipova N.V., Knysh N.V., Zinina N.V., Gurinovich O.L. SEROLOGICAL AND VIROLOGICAL MONITORING OF NEWCASTLE DISEASE AMONG WILD MIGRATORY BIRDS IN THE REPUBLIC OF BELARUS 7

Aliyev D. ASSESSMENT OF THE BRUCELLOSIS SURVEILLANCE SYSTEM IN AZERBAIJAN BASED ON THE ELECTRONIC EPIDEMIC SURVEILLANCE SYSTEM EIDSS 14

Ananchikov M.A., Novicova O.N., Zubovskaya I.V., Belush M.V., Berezhinskaya A.A. INFECTIOUS KERATOCONJUNCTIVITIS OF CATTLE IN FARMS OF THE REPUBLIC OF BELARUS 21

Krasochko I.A., Lemish A.P., Pulish A.V., Krasochko P.A. ACTINOBACILLARY PLEUROPNEUMONIA OF PIGS IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL COMPLEXES OF THE REPUBLIC OF BELARUS 26

Tsiapsha Yu.I., Dubanevich A.V., Malahcenko N.O. MONITORING OF RESPIRATORY PATHOLOGY OF CATTLE IN THE REPUBLIC OF BELARUS WITH DIFFERENTIATION OF BACTERIA OF THE *PASTEURELLACEAE* FAMILY 31

IMMUNOBIOLOGY

Bi Kaixuan, Borisovets D.S. SPREAD OF PARVOVIRUS INFECTION OF PIGS IN THE REPUBLIC OF BELARUS AND ITS DIAGNOSTICS BY POLYMERASE CHAIN REACTION 37

Lysenko A.P., Kuchvalsky M.V., Krivosheeva Zh.M., Novik T.P., Vysotsky A.E. SENSITIVITY CELL WALL DEFICIENT MYCOBACTERIA TUBERCULOSIS TO ANTIBIOTICS 43

Kayak Yu.A. SELECTION OF ADJUVANTS FOR THE INACTIVATED VACCINE FOR THE PREVENTION OF CORONAVIRUS INFECTION CAUSED BY THE SARS-CoV-2 VIRUS AND MINK PASTEURELLOSIS 53

FARMACOLOGY

Shchemeleva N.Yu., Vasilkova V.P., Leontyeva L.V. THERAPEUTIC EFFICACY OF THE EXPERIMENTAL SAMPLE OF THE PREPARATION «EPRINOVET» AND ITS EFFECT ON THE ANIMAL ORGANISM 59

SANITATION

Kazheko O.A., Baranovsky M.V., Timoshenko V.N., Portnoy A.I., Muzyka A.A. WAYS TO IMPROVE THE PROCESS OF SANITARY TREATMENT OF TRANSPORT MILK ROUTES 65

Компьютерная верстка: ЛУКЬЯНОВА И.А.

Подписано в печать 30.05.2025 г.

Формат 60x84^{1/8} Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.

Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 8,37 Тираж 50 экз. Заказ №

220063, г. Минск, ул. Брикета, 28. E-mail: bievm@tut.by; office@bievm.by; knir@tut.by; knir@bievm.by

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр

Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий

№ 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014. Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

УДК 619:616.98:579.873.21

Русинович А.А., доктор ветеринарных наук, доцент¹
Мотузко Н.С., кандидат биологических наук, доцент²
Кудрявцева Е.Н., кандидат биологических наук, доцент²

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь

²УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

ТУБЕРКУЛЕЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В БЕЛАРУСИ В ИСТОРИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ

Резюме

В статье отмечается значимость проблемы туберкулеза для животных и человека, необходимость проведения комплекса организационно-хозяйственных мероприятий, в основе которых лежат плановое обследование животных на туберкулез, ветеринарно-санитарный осмотр туш и внутренних органов при убое, лабораторные исследования.

Ключевые слова: туберкулез крупного рогатого скота, туберкулинизация, эпизоотическая ситуация, противотуберкулезные мероприятия.

Summary

The article notes the significance of the problem of tuberculosis for animals and humans, the need to carry out a set of organizational and economic measures, which are based on a routine examination of animals for tuberculosis, veterinary and sanitary inspection of carcasses and internal organs at slaughter, and laboratory tests.

Keywords: bovine tuberculosis, tuberculinization, epizootic situation, anti-tuberculosis measures.

Поступила в редакцию 29.01.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез (*Tuberculosis*) – хроническая инфекционная болезнь диких и домашних животных, а также человека, вызываемая туберкулезной палочкой Коха. Проникая в организм, туберкулезные бактерии первоначально вызывают воспалительную реакцию, затем – патологические процессы, изменяющие физиологические функции, и соответствующие клинические признаки с образованием в органах специфических узелков, подвергающихся казеозному некрозу и обызвествлению.

Туберкулез был, есть и, вероятно, останется серьезной проблемой еще длительный период. Экономический ущерб, причиняемый животноводству, очень велик, поскольку болезнь имеет серьезную социальную значимость.

По информации, предоставленной доктором ветеринарных наук, профессором А.П. Лысенко (УО «ВГАВМ», декабрь 2019 г.), только в XIX веке туберкулез убил четверть населения Европы, а в XX веке – более 100 млн человек. Каждая 3–5-я смерть в начале XX века была вызвана туберкулезом. Мир был охвачен «белой чумой» –

пандемией туберкулеза. В настоящее время, несмотря на явные успехи в борьбе с болезнью, туберкулез остался глобальной проблемой инфекционной патологии человека и животных. Ежегодно туберкулезом заболевает до 9 млн человек, из них 2–3 млн умирает от болезни. В 1993 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала нарастающую эпидемию туберкулеза глобальной угрозой. Важнейшим резервуаром и источником инфекции, как известно, является крупный рогатый скот (КРС). Это обусловило в рамках национальных программ проведение мероприятий по борьбе с туберкулезом. Плановыми ежегодными диагностическими исследованиями выявляют от 1 до 3 млн голов КРС, реагирующих на туберкулин, что в 7–20 раз выше, чем заболеваемость у человека. Причем ежегодное среднегодовое выявление туберкулин-позитивных коров в странах ЕС от числа исследованных колеблется от 0,01 % (Германия) до 9,17 % (Северная Ирландия).

Существует три типа возбудителя болезни *Mycobacterium tuberculosis*: человеческий (*humanus*), бычий (*bovines*), птичий (*avium*), которые относятся к одному виду.

Туберкулезная палочка весьма устойчива во внешней среде и к воздействию обеззараживающих веществ благодаря содержанию жировосковых элементов.

Для подготовки статьи использованы и проанализированы материалы международных научно-практических конференций, литературные данные, документы ветеринарной отчетности, ветеринарного законодательства Республики Беларусь, рекомендации Санитарного кодекса наземных животных МЭБ, а также собственный научно-практический опыт [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В доступных литературных источниках отмечаются единичные случаи туберкулеза в довоенный период на территории БССР. Вместе с тем в СССР болезнь имела значительное распространение. Мероприятия по его ликвидации проводились в соответствии с принятыми на тот период «Наставлениями о мероприятиях против туберкулеза крупного рогатого скота», утвержденными Наркомземом и Наркомздравом РСФСР 04.06.1926 г. и Циркуляром Наркомзема № 219113-ВЭ от 12.06.1926 г., Инструкцией по борьбе с туберкулезом (1932 г., 1940 г., 1944 г.), утвержденной Главным управлением ветеринарии Наркомзема СССР, основанными на общих эпизоотологических принципах, применяющихся при борьбе с заразными болезнями с учетом особенностей туберкулезной инфекции.

В этот период значительное внимание уделялось проведению научных исследований по совершенствованию диагностики и разработке научно обоснованных схем противотуберкулезных мероприятий. В качестве подтверждения на Пленуме ветеринарной секции Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина было принято решение развернуть научно-исследовательскую работу по проблемам туберкулеза в возможно большем количестве научно-исследовательских учреждений. Причем эта работа должна быть направлена на создание солидной научной базы для рациональной профилактики туберкулеза и на разработку системы окончательного его искоренения [9].

В первые послевоенные годы в БССР эпизоотическая ситуация по КРС была осложнена завезенными в республику жи-

вотными (особенно из Германии), которые в значительной степени были заражены туберкулезом. При исследовании в 1945 г. 78,9 тыс. голов КРС на туберкулез было выявлено 216 неблагополучных пунктов с наличием в них 1299 положительно реагирующих на туберкулин животных, или 1,6 % от числа исследованных; в 1949 г. исследовано 428 тыс. животных, выявлен 1641 неблагополучный пункт, где содержалось 8748 реагирующих животных, или 0,7 % от числа исследованных.

В последующие годы с увеличением количества исследованных животных увеличивалось число реагирующих на туберкулин. В 1975 г. было исследовано 8898 тыс. голов КРС, выявлено 57 неблагополучных пунктов, а в них – 17427 реагирующих животных, или 0,17 % от числа исследованных. Продолжительное неблагополучие по туберкулезу и значительное выявление реагирующих на туберкулин животных было обусловлено поздним внедрением в ветеринарную практику внутрикожного метода туберкулинизации (с 1948 г.); неполным выполнением противотуберкулезных мероприятий, предусмотренных соответствующей инструкцией, особенно по своевременной изоляции и сдаче больных туберкулезом животных на убой; неполным охватом обследованиями сельскохозяйственных животных на заболеваемость туберкулезом; недостаточным уровнем проведения ветеринарно-санитарных мероприятий; недостаточной информированностью населения относительно этой заразной социально значимой патологии.

Мероприятия по борьбе с туберкулезом в эти годы проводились на основании инструкций, утвержденных Главным управлением ветеринарии СССР 24 ноября 1962 г., изменений и дополнений к ней от 9 июня 1966 г., 04 ноября 1970 г., 29 декабря 1983 г. и 10 ноября 1988 г. Кроме этого, Приказ Госагропрома СССР от 3 ноября 1986 г. № 618 «Об усилении мер борьбы с заболеваниями с/х животных бруцеллезом и туберкулезом» обязал ликвидировать в срок до 1991 г. фермы, служившие туберкулезными изоляторами. В главе 5 Приказа были предусмотрены карантинные и ветеринарно-санитарные мероприятия.

С внедрением с 1970 г. в практику сухого очищенного туберкулина для диаг-

ностики туберкулеза стало возможным выявлять зараженных животных на ранних стадиях болезни, что позволило в значительной степени приостановить процесс распространения болезни среди здоровых животных.

Выросла информированность сельского населения касательно туберкулеза. Проведены областные конференции с участием ученых ветеринарных институтов Ленинграда, Витебска, Минска. Управлением ветеринарии Минсельхозпрода БССР в 1973 г. массовым тиражом издана листовка «Туберкулез домашних животных», а в 1974 г. – плакат «Боритесь с туберкулезом животных». На заседании коллегии Министерства сельского хозяйства БССР в марте

1974 г. после заслушивания докладов начальников управлений сельского хозяйства облисполкомов был издан приказ «Об усилении мер борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота в Белорусской ССР», а июне 1975 г. на коллегии Министерства сельского хозяйства БССР рассмотрен ход выполнения приказа и принято соответствующее решение по продолжению борьбы с туберкулезом в стране.

Основные показатели, характеризующие эпизоотическую ситуацию того периода, были представлены в докладе заместителя начальника Главного управления ветеринарии МСХ БССР Д.М. Матусевича, 1978 г. [2] (таблица).

Таблица – Эпизоотическая ситуация по туберкулезу в БССР

Годы	Выявлено неблагополучных пунктов	Количество больных животных	Убито больных животных	Исследовано животных на туберкулез, тыс. голов	Процент реагирующих от числа исследованных	Оздоровлено хозяйств
1945	216	1299	нет сведений	78,9	1,6	нет сведений
1950	975	7378	8540	1547,4	0,47	435
1955	154	3399	3352	1223,4	0,27	268
1960	189	9663	6664	1712,8	0,56	104
1965	229	26497	28621	3400,0	1,71	180
1970	68	8222	8741	4200,7	0,15	63
1975	57	17471	16361	8898,0	0,19	57
Всего	1888	73920	72279	21061,2	0,71	1107

Наряду с ранее указанными причинами медленной ликвидации туберкулезной инфекции в стране, наиболее важными в распространении заболевания были несвоевременная изоляция и сдача больных туберкулезом животных на убой. Так, в 1975 г. разница между числом выявленных животных, больных туберкулезом, и животных, подвергнутых убою, составила 1641 животное, что и явилось причиной распространения туберкулезной инфекции.

Сложной была эпизоотическая ситуация по туберкулезу в хозяйствах Пинского, Светлогорского, Ивьевского, Слуцкого, Крупского, Червенского, Бобруйского и некоторых других районов республики. В начале новейшей истории Республики Беларусь (90-е годы прошлого столетия) она также оставалась напряженной. По-прежнему ежегодно выявлялось значительное количество реагирующих на внутрикожное введение туберкулина животных, при их

убое на мясокомбинатах в органах убитых животных обнаруживались изменения, характерные для туберкулеза, а при лабораторном исследовании отобранного патологического материала подтверждался лабораторный диагноз на туберкулез. Такая эпизоотическая ситуация по туберкулезу КРС требовала ужесточения мер по его ликвидации. Как следствие, в ТНПА ветеринарного законодательства относительно этой болезни были внесены более жесткие требования по проведению организационно-хозяйственных и специальных ветеринарных мероприятий вплоть до наложения карантина. Белорусской ветеринарной наукой совершенствовались методы диагностики и другие противотуберкулезные мероприятия. Важную роль в оздоровлении неблагополучных по туберкулезу ферм сыграл вывод КРС в так называемые летние лагеря с последующей санацией ферм и прилегающих территорий.

Внутрикожная проба с туберкулином является основным диагностическим тестом. Впервые в стране разработан и широко применяется для диагностики туберкулеза туберкулин очищенный для млекопитающих (ТО). Его производство начато в 2003 г. на ОАО «БелВитунифарм». ТО в 1,5 раза эффективнее туберкулина типа ППД, а его активность и специфичность соответствует международным стандартам. С 2016 г. ТО выпускается с обозначением активности в IU. За 16 лет его применения в стране число выявляемых реагирующих животных уменьшилось с 25–26 тыс. до 13–14 тыс., что свидетельствует о результативности проводимой работы.

В случаях регистрации болезни в отдельных хозяйствах вводится карантин и осуществляются соответствующие мероприятия по ее ликвидации.

В создавшейся в стране относительно стабильной эпизоотической ситуации по туберкулезу, позволяющей успешно развивать скотоводческую отрасль, большая заслуга принадлежит руководителям ветеринарной службы страны Ф.А. Косьюко, Н.Н. Швыдкову, С.Н. Шпилевскому, А.М. Аксенову; их заместителям Д.М. Матусевичу, В.Н. Капустину, Н.В. Савицкому, специалистам отдела по борьбе с туберкулезом Республиканской госветлабо-

ратории Л.Е. Бохану, А.А. Холоду, Е.П. Хачук, начальникам управлений/отделов ветеринарии облсельхозпродов и многим специалистам республиканского, областного, районного уровней госветслужбы и хозяйств страны. Научное сопровождение осуществляли ученые РУП «Институт экспериментальной ветеринарии С.Н. Вышелесского» М.К. Юсковец, Г.А. Обьедков, А.П. Лысенко и И.И. Румачик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В истории человечества туберкулез людей и животных был и остается одной из значимых проблем, в том числе и на территории Беларуси. Важнейшим резервуаром и источником инфекции является КРС. К началу новейшей истории Беларуси удалось значительно улучшить эпизоотическую ситуацию по туберкулезу КРС благодаря мероприятиям по борьбе с ним в рамках принимаемых ТНПА, разрабатываемых на основании научных изысканий и передового опыта.

Организационно-хозяйственные мероприятия по недопущению и ликвидации туберкулеза осуществляются путем планового обследования животных туберкулиновой пробой, ветеринарно-санитарного осмотра туш и внутренних органов при убое, лабораторных исследований.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ветеринарно-санитарные правила профилактики, диагностики и ликвидации туберкулеза животных: утв. постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, 23.02.2018, № 32.
2. Доклад заместителя начальника Главного управления ветеринарии МСХ БССР Д. М. Матусевича // Архив ГУВ МСХ БССР. – 1978.
3. Туберкулез: учеб.-метод. пособие / П. А. Красочко [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней животных. – Витебск : УО ВГАВМ, 2020. – 59 с.
4. Кодекс здоровья наземных животных МЭБ. – 28-е изд. – Париж, 2019. – 542 с.
5. Лысенко, А. П. Антигены *Mycobacterium bovis* и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.03 / Лысенко Александр Павлович. – Минск, 1994. – 38 с.
6. Румачик, И. И. Совершенствование диагностики и мер борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота и свиней: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.03 / Румачик Иван Иванович. – Минск, 1997. – 38 с.
7. Тузова, Р. В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы / Р. В. Тузова. – Минск : Ураджай, 1983. – 263 с.
8. Юсковец, М. К. Туберкулез домашних животных и методы борьбы с ним / М. К. Юсковец. – М. : ОГИЗ-СЕЛЬХОЗГИЗ, 1948. – 240 с.
9. Труды ВАСХНИЛ. Серия 14 «Ветеринария». – Вып. 1–6, т. XXIX. – М.-Л. : Изд-во Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, 1937.

УДК 619:578.831.11:598.2(476)

Белькович А.А., ветврач¹Насонов И.В., доктор ветеринарных наук, профессор²Архипова Н.В., кандидат ветеринарных наук²Кныш Н.В., кандидат ветеринарных наук³Зинина Н.В., кандидат биологических наук²Гуринович О.Л., магистр ветеринарных наук²¹ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», г. Минск, Республика Беларусь²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь³РУП «Опытная научная станция по птицеводству», г. Заславль, Республика Беларусь

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА СРЕДИ ДИКИХ МИГРИРУЮЩИХ ПТИЦ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Резюме

В статье приведены результаты серологического и вирусологического мониторинга болезни Ньюкасла среди дикой птицы на территории Республики Беларусь с учетом условий миграций и эколого-географических особенностей территории. Доказано наличие природного резервуара вируса болезни Ньюкасла в местах массового скопления птицы в период миграции и гнездования.

Ключевые слова: болезнь Ньюкасла, вирус болезни Ньюкасла, мониторинг, выделение вируса, сыворотка крови, дикие птицы.

Summary

The article presents the results of serological and virological monitoring of Newcastle disease among wild birds in the Republic of Belarus, taking into account the conditions of migration and the ecological and geographical features of the territory; the presence of a natural reservoir of the Newcastle disease virus in places of mass accumulation of birds during the migration and nesting period is proven.

Keywords: Newcastle disease, Newcastle disease virus, monitoring, virus isolation, blood serum, wild birds.

Поступила в редакцию 02.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Территория Республики Беларусь является благополучной в отношении остроинфекционных болезней птиц. Благополучию эпизоотической обстановки способствуют строгие меры биологической безопасности и программы вакцинаций, применяемые на крупных птицеводческих предприятиях. Однако в силу нестабильной ситуации по болезни Ньюкасла (БН) в сопредельных странах и на территории торговых партнеров сохраняется риск заноса возбудителя инфекции на территорию нашей страны.

Заболевание может возникнуть в индивидуальных хозяйствах при отсутствии плановой вакцинации и на промышленных предприятиях – в случае неэффективной вакцинации поголовья [1, 2].

Данные факты указывают на необходимость соблюдения тщательных противо-

эпизоотических мер по предотвращению возникновения и распространения заболевания. Для этого в республике организован строгий контроль всей ввозимой птицы, птицеводческой продукции, кормов и комбикормового сырья. Однако распространение вирусов происходит не только в результате торговой деятельности, но и с сезонными миграциями перелетных птиц, являющихся природным резервуаром многих инфекционных заболеваний. Миграции приводят к высокой интенсивности межпопуляционных взаимодействий птицы и резко повышают вероятность распространения инфекций, в том болезни Ньюкасла [3, 4].

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) выделен более чем у 236 видов домашних, диких и синантропных птиц в 27 из 50 отрядов. При этом считается, что дикие птицы водного и водно-болотного комплексов

относительно устойчивы к болезни Ньюкасла и являются долговременным резервуаром вируса. Больная или ослабленная дикая водоплавающая птица, подранки, оставленные охотниками, являются добычей хищных, вороньих и чайковых птиц, которые могут выносить ВБН за пределы околородных систем к местам обитания человека и на птицеводческие предприятия [5, 6].

Вирус болезни Ньюкасла передается орально-фекальным и воздушно-капельным путем и в больших количествах содержится в фекалиях инфицированных особей. Передаче вируса в популяциях способствует тесное взаимодействие птиц во временных или постоянных стаях. Данные факты объясняют широкое распространение ВБН среди диких мигрирующих птиц, образующих многочисленные скопления в период миграций [7].

На распространение вируса мигрирующими птицами влияет видовой состав мигрантов, миграционные маршруты, сроки миграции, погодные условия в период миграции, ландшафтные особенности региона, причем эколого-географические особенности территории являются важнейшим фактором в развитии эпизоотологического процесса [8].

Следует отметить, что в отношении территории Беларуси масштабные исследования инфекционных заболеваний дикой птицы ранее не проводились. Тем временем благоприятные климатические и ландшафтные условия региона, создание природных охраняемых территорий способствуют скоплению огромного количества диких птиц во время сезонных миграций.

На территории республики встречается 329 видов птиц, относящиеся к 62 семействам 20 отрядов. Многочисленные водоемы Беларуси имеют важнейшее значение как место концентрации водно-болотных видов птиц в период миграций во время их кратковременного отдыха, а также в период гнездования. Статус гнездящихся на территории страны имеют 238 видов птиц [9].

Весенняя миграция водно-болотных птиц в Беларуси в зависимости от изменений температуры воздуха начинается в разные годы с середины февраля до первой декады апреля. Во время весенней миграции дикие мигрирующие птицы через тер-

риторию Беларуси пролетают в пределах Восточно-Атлантического и Черноморско-Средиземноморского глобальных пролетных путей тремя различными маршрутами: в восточном направлении по территории Полесья вдоль поймы реки Припять, широким фронтом в северо-восточном направлении и вдоль рек Сож и Днепр, останавливаясь для отдыха и кормления. Наиболее крупные миграционные скопления образуются в долине Припяти в период паводка и на многочисленных озерах Нарочанской и Браславской групп. Во время осенней миграции птицы водно-болотного комплекса следуют через территорию Беларуси широким фронтом и не образуют значительных скоплений [9].

Данные факторы указывают на необходимость проведения серологического и вирусологического мониторинга болезни Ньюкасла среди дикой птицы на территории Республики Беларусь с учетом условий миграций и эколого-географических особенностей территории.

Целью нашей работы являлось изучение эпизоотической обстановки по болезни Ньюкасла путем проведения вирусологического и серологического мониторинга диких мигрирующих водоплавающих птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусологический и серологический мониторинг дикой мигрирующей птицы водного и водно-болотного комплексов в местах их наибольшего скопления осуществлялся с 2006 г. в период весенних и осенних миграций сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» совместно с сотрудниками ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (до 2008 г. – «Институт зоологии НАН Беларуси»). Добычу птиц осуществляли методом отстрела в соответствии с разрешением на изъятие объектов животного мира, выданным Министерством природных ресурсов РБ.

Отбор проб осуществлялся на природных охраняемых территориях в шести районах Республики Беларусь в окрестностях озер Нарочанской группы (Мядельский район), реки Припять (Добрушский, Житковичский, Лунинецкий и Хойникский районы) и Браславских озер (Браславский район).

Отбор крови для проведения серологического мониторинга, биологического материала для вирусологических исследований, а также доставку проб осуществляли в соответствии с ГОСТ 25587-83 «Методы лабораторной диагностики болезни Ньюкасла» с учетом рекомендаций МЭБ [10].

Для вирусологического исследования от птиц отбирали фрагменты трахеи, легких, печени, сердца, почек, селезенки, слепки кишечных миндалин, трахеальные и клоакальные смывы и помещали в физиологический раствор. Образцы тканей объединяли в пулы. Отдельно отбирали кишечник с содержимым и головной мозг. При патологоанатомическом вскрытии птицы обращали внимание на наличие характерных для БН патологоанатомических изменений.

Материал для исследований доставляли в день отбора или на следующий день, сохраняя при температуре $(4,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$. При отсутствии возможности проведения вирусологических исследований в течение двух суток материал сохраняли при температуре не выше минус 16°C не более 7 суток.

Подготовку материала и изоляцию вирусов осуществляли в соответствии с ГОСТ 25587-83. После проверки на стерильность подготовленные суспензии патоматериала использовали для заражения развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ). До момента заражения суспензии хранили при температуре $(4,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$.

Изоляцию вирусов осуществляли с использованием свободных от патогенной флоры (СПФ) РКЭ 9–11-суточной инкубации. Для исследования одной пробы биологического материала заражали 5 РКЭ. Контролем служили 5 незараженных эмбрионов.

Всю работу с РКЭ проводили в асептических условиях. Материал в объеме 0,2 мл вводили с помощью шприца в аллантоисную полость. Отверстие закрывали воском или парафином. Затем РКЭ инкубировали в течение 96–120 ч при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и относительной влажности 60–70 %. Просмотр зараженных эмбрионов проводили с помощью овоскопа первый раз через 24 ч после заражения, а затем ежедневно. Эмбрионы, павшие в первые 24 ч после заражения, уничтожали, считая их гибель неспецифической. Эмбрионы, погибшие в более поздние сроки, отбирали,

маркировали и хранили при температуре $(4,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$ до вскрытия. По окончании инкубации оставшиеся эмбрионы охлаждали 12–18 ч при температуре $(4,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$. Экстраэмбриональную жидкость (ЭЭЖ) отбирали от каждого эмбриона отдельно и проверяли ее в капельной реакции гемагглютинации (РГА) с 1%-ной взвесью эритроцитов кур в физиологическом растворе. В случае размножения вируса в данной биологической модели РГА должна быть положительной. При отсутствии гемагглютинирующей активности (ГАА) неразведенную ЭЭЖ в количестве 1,0 мл от каждого зараженного эмбриона объединяли и использовали для следующего слепого пассажа. Дополнительно проводили не менее двух слепых пассажей, проверяя в каждом пассаже экстраэмбриональную жидкость на наличие ГАА в капельной РГА. При отсутствии гибели эмбрионов и гемагглютинации в течение трех пассажей результат считали отрицательным.

При наличии гибели эмбрионов и гемагглютинации в РГА проводили проверку стерильности ЭЭЖ для исключения бактериальной контаминации. В стерильной вирусосодержащей жидкости определяли титр вируса. Гемагглютинирующие изоляты с титром в РГА менее 1:16 разводили стократно физиологическим раствором с антибиотиками и использовали для дополнительного пассажа на РКЭ для увеличения ГАА. Изоляты с титром не ниже 1:16 использовали для идентификации в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и для определения биологической активности.

Исследуемый вирусный изолят считали идентифицированным, если положительная контрольная моноспецифическая сыворотка крови положительно реагирует с ним в титре не ниже одного разведения, установленного с гомологичным положительным контрольным антигеном.

Для проведения серологического мониторинга с целью изучения эпизоотической обстановки по болезни Ньюкасла на природных охраняемых территориях Республики Беларусь отбирали пробы крови от диких мигрирующих птиц водного и водно-болотного комплексов.

Кровь отбирали из сердца стерильными одноразовыми шприцами методом

пункции и помещали в пластиковые пробирки с низкой адгезией. Пробирки с кровью выдерживали в течение 1–2 ч при температуре ($37 \pm 0,5$) °С до образования сгустка, а затем в течение 10–16 ч – в холодильнике при температуре ($4,0 \pm 2,0$) °С. При необходимости выполняли центрифугирование при 1500–2000 об/мин в течение 15 мин. Образовавшуюся прозрачную без гемолиза сыворотку отбирали в стерильные пробирки для микропроб и использовали для дальнейших исследований.

Полученные пробы сыворотки крови исследовали в РТГА с известным антигеном с целью выявления специфических антигеммагглютинирующих антител к вирусу БН.

Перед постановкой реакции сыворотки прогревали на водяной бане при температуре ($56 \pm 0,5$) °С в течение 30 мин для удаления термолабильных ингибиторов. При наличии изоагглютинации сывороток проводили их истощение куриными эритроцитами. Для этого к 0,5 мл сыворотки добавляли 0,025 мл осадка отмытых эритроцитов кур, тщательно встряхивали и выдерживали 30 мин при комнатной температуре. Затем эритроциты осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 2–5 мин. Сыворотку декантировали и исследовали в течение 3 суток с момента взятия. При необходимости хранения сывороток крови более трех суток их замораживали при температуре минус ($18 \pm 2,0$) °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе экспедиционных командировок в ГПУ «Национальный парк “Нарочанский”», ГПУ «Национальный парк “Припятский”», ГПУ «Заказники республиканского значения “Средняя Припять”» и «Лунинецкий», ГПУ «Национальный парк “Браславские озёра”» добыто 283 птицы 37 видов 10 отрядов. Наибольшее количество проб отобрано от птиц отрядов гусеобразных, журавлеобразных и ржанкообразных. Для вирусологических исследований было отобрано 405 проб биологического материала (органы, ткани, клоакальные смывы). Для серологических исследований отобрано 182 пробы сыворотки крови от 19 видов птиц 7 отрядов.

При патологоанатомическом вскрытии у одной из птиц – хохлатой чернети (отряд гусеобразных, семейство утиных) – были отмечены катаральное воспаление

слизистых оболочек носа, венозная гиперемия и отек легких, кровоизлияния в желудке и кишечнике. Вирусологическими исследованиями патологического материала, отобранного от той же птицы, в первом пассаже выделен гемагглютинирующий изолят с титром менее 1:16. Во втором пассаже гемагглютинирующий титр вируса составил 1:64. Данный изолят идентифицирован в РТГА как вирус болезни Ньюкасла. Циркуляция ВБН среди птиц отряда гусеобразных и хохлатых чернетей в частности подтверждена и результатами серологических исследований. Положительные титры выявлены в 62,5 % проб от данного вида птиц. При этом в местах пролета и гнездования птиц случаев заболевания и гибели гусеобразных с признаками, характерными для болезни Ньюкасла, отмечено не было.

Исследованиями проб сыворотки крови от диких птиц в РТГА установлено наличие специфических антигеммагглютинирующих антител к ВБН в 42,3 % от общего числа исследованных проб. Наиболее высокий процент положительных проб выявлен у птиц отрядов гусеобразных и журавлеобразных (45,54 % и 45,0 % соответственно). У птиц отрядов олушеобразных и пеликанообразных положительных проб не выявлено. Наиболее высокие средние геометрические титры (СГТ) к ВБН (до 9–10 $\log_2$), свидетельствующие о циркуляции вируса в популяции птиц, выявлены у лысух отряда журавлеобразных (СГТ 6,44 $\log_2$), а также у лебедей и красноголовых нырков отряда гусеобразных (СГТ 7,33 и 6,17 $\log_2$ соответственно). Результаты исследований проб сыворотки крови от диких мигрирующих птиц представлены в таблице.

Наши исследования подтверждают данные об основной роли птиц отряда гусеобразных в качестве основного резервуара ВБН.

В ходе серологического мониторинга дикой мигрирующей птицы в местах наибольшего скопления на природных охраняемых территориях Республики Беларусь отмечено различие титров антител к ВБН в зависимости от сезона.

Наиболее высокие титры выявлены у дикой птицы в периоды весенней миграции (перелётная, пролётная птица) и гнездования.

При исследовании водоплавающей птицы, включая молодь текущего года, в осенний период титры не превышали 1:8 ($3,0 \log_2$), в то время как в весенне-летний период достигали 1:512–1:1024 ($9-10 \log_2$). В период весенних миграций и гнездования

антитела у птиц отряда гусеобразных выявлены в 56,3 % исследованных проб, при этом СГТ составил $5,53 \log_2$. В осенний период антитела к ВБН были выявлены только в 26,8 % проб со средним титром $1,82 \log_2$ (рисунок 1).

Таблица – Результаты серологического мониторинга дикой птицы

Виды птицы	Кол-во проб	Кол-во положительных проб	Доля положительных проб, %	Титры к ВБН в РТГА	СГТ, $\log_2$
Лысуха	40			1:2–1:512	6,44
Отр. журавлеобразных	40	18	45,00	1:2–1:512	6,44
Большая поганка	12			1:16–1:256	6,20
Отр. поганкообразных	12	5	41,66	1:16–1:256	6,20
Ворон	2			0	0,00
Ворона серая	1			1:64	6,00
Отр. воробьинообразных	3	1	33,33	1:64	6,00
Красноголовый нырок	12			1:16–1:512	6,17
Крохаль	1			1:8	3,00
Кряква	56			1:8–1:128	4,00
Лебедь-шипун	3			1:32–1:1024	7,33
Свиязь	1			1:2	1,00
Серая утка	4			1:8	3,00
Хохлатая чернеть	8			1:4–1:128	4,60
Чирок-свистунок	9			1:1–1:8	2,00
Чирок-трескунок	16			1:32–1:256	6,22
Широконоска	2			1:16	4,00
Отр. гусеобразных	112	51	45,54	1:2–1:1024	4,73
Речная крачка	1			0	0,00
Чайка озерная	4			1:8–1:64	4,50
Чибис	1			0	0,00
Отр. ржанкообразных	6	2	33,33	1:8–1:64	4,50
Большой баклан	2			0	0,00
Отр. олушеобразных	2	0	0,00	0	0,00
Серая цапля	7			0	0,00
Отр. пеликанообразных	7	0	0,00	0	0,00

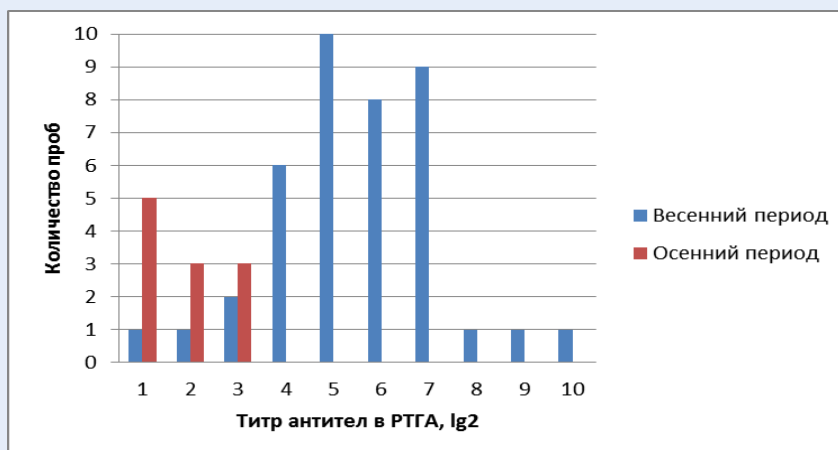


Рисунок 1 – Сезонные изменения титров антител к ВБН у гусеобразных

Аналогичные результаты получены при исследовании сывороток крови от птиц отряда журавлеобразных (рисунок 2). В весенний период антитела к ВБН выявлены в

50 % исследованных проб в высоких титрах (СГТ 7,13 $\log_2$). В осенний период антитела были выявлены в низких титрах и только в 25 % проб.

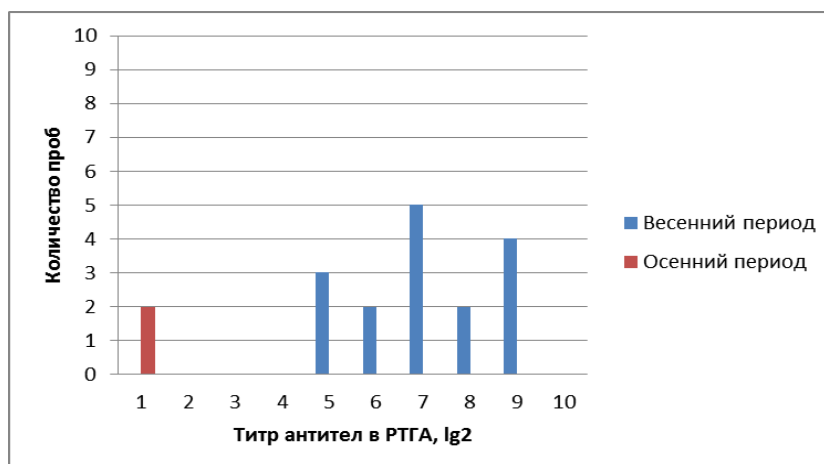


Рисунок 2 – Сезонные изменения титров антител ВБН у журавлеобразных

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что для территории Беларуси наибольшую значимость имеют мониторинговые исследования инфекционных заболеваний диких птиц в период весенней миграции и гнездования, в то время как для других регионов более эффективны исследования в осенний период [3].

Таким образом, полученные нами данные позволяют в дальнейшем планировать мониторинговые исследования с учетом особенностей миграции и географических особенностей региона. Результаты вирусологического и серологического мониторинга также являются основой для дальнейшего изучения эпизоотических особенностей ВБН на территории Беларуси, необходимых для прогнозирования и оптимизации противоэпизоотических мероприятий. Так, данные мониторинга использовались при разработке государственных программ в области ветеринарной деятельности и решении других задач.

В настоящее время, помимо научных исследований для изучения эпизоотической обстановки, осуществляется постоянный государственный мониторинг промышленной, домашней, зоопарковой, дикой и синантропной птицы во всех областях республики.

Согласно программе проведения мониторинга в области ветеринарии проводятся исследования:

- сыворотки крови и проб биологического материала от бройлеров, несушек, уток, индеек, страусов из птицеводческих предприятий;

- сыворотки крови и биоматериала от не вакцинированной против болезни Ньюкасла птицы из личных подворий граждан в 10-километровой зоне от птицеводческих предприятий и 20-километровой приграничной зоне;

- биологического материала от синантропной птицы вблизи птицефабрик;

- сыворотки крови и биоматериала от зоопарковых птиц;

- биологического материала от мигрирующей птицы, отобранного на станциях наблюдения.

Таким образом, мониторинг болезни Ньюкасла в местах обитания диких птиц весьма актуален в научном, практическом и эпизоотологическом отношении для прогнозирования и оптимизации противоэпизоотических мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты серологического и вирусологического мониторинга свидетельствуют о циркуляции ВБН среди диких птиц водного и водно-болотного комплексов и о существовании природного резервуара вируса БН в местах их массового скопления в период миграции и гнездования.

Выявленная сезонность в уровне антител к ВБН популяции диких мигрирующих птиц подтверждает возможность заноса возбудителя на территорию Республики Беларусь в период весенней миграции.

Данные мониторинга используются при разработке и оптимизации противоэпизоотических мероприятий.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Серологический мониторинг ньюкаслской болезни в России за 2017 г. / М. А. Волкова [и др.] // *Болезни птиц*. – 2018. – № 4 (27). – С. 26–30.
2. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2020 г. / М. А. Кулагина [и др.] // *Ветеринария сегодня*. – 2022. – № 11 (2). – С. 142–148.
3. Вирус болезни Ньюкасла в популяциях диких птиц на территории юга Приморского края в период осенних миграций 2001–2004 гг. / М. Ю. Щелканов [и др.] // *Вопросы вирусологии*. – 2006. – № 4. – С. 37–41.
4. Разработка базы знаний по миграционному поведению птиц с целью анализа возможных переносов возбудителей инфекционных заболеваний / А. А. Славский [и др.] // *Информационные технологии и математическое моделирование (ИТММ-2004) : материалы III Всероссийской науч.-практ. конф., Анжиро-Судженск, 11-12 декабря 2004 г. – Томск, 2004. – Т. 1. – С. 92–93.*
5. Alexander, D. J. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research / D. J. Alexander, E. W. Aldous, C. M. Fuller // *Avian Pathology*. – 2012. – Vol. 41. – P. 329–335.
6. Глуценко, А. В. Биологические свойства вирусов болезни Ньюкасла, выделенных из природных резервуаров среди диких птиц в различных регионах России в 2008–2018 гг. : дис. ... канд. биол. наук : 1.5.10 / Глуценко Александра Владимировна. – Владимир, 2022. – 124 с.
7. Изоляция вирусов гриппа А (Ortomyxoviridae, Influenza A virus), Дхори (Ortomyxoviridae, Togotovirus) и болезни Ньюкасла (paramyxoviridae, Avulavirus) на острове Малый Жемчужный в северо-западной части акватории Каспийского моря / К. Б. Яшуков [и др.] // *Вопросы вирусологии*. – 2008. – № 3. – С. 34–38.
8. Бондарев, А. Ю. Роль птиц в распространении инфекционных заболеваний / А. Ю. Бондарев // *Аграрная наука – сельскому хозяйству : материалы I Междунар. науч.-практ. конф. – Кн. 2. – Барнаул, 2006. – С. 337–340.*
9. Никифоров, М. Е. Современный состав фауны птиц Беларуси: информация Белорусской орнито-фаунистической комиссии / М. Е. Никифоров, И. Э. Самусенко // *Зоологические чтения-2015 : материалы науч.-практ. конф., Гродно, 22–24 апреля 2015 г. / О. В. Янчуревич (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГУ, 2015. – С. 191–194.*
10. Руководство по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных [Электронный ресурс] : Глава 3.3.14. Болезнь Ньюкасла (инфекция вирусом болезни Ньюкасла): Версия, принятая Всемирной ассамблеей делегатов МЭБ в мае 2012 года. – URL: <http://rr-europe.wiah.org/app/uploads/2021/08/3-3-14.pdf> (дата обращения: 20.10.2020).



**ВАКЦИНА ИНАКТИВИРОВАННАЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА У ДОМАШНИХ ПТИЦ И ГОЛУБЕЙ**

Колныювак Плюс

► **предназначена** для профилактики болезни Ньюкасла у домашних кур и голубей в личных и подсобных хозяйствах

► **содержит** вирусы болезни Ньюкасла (штаммы «КМИЭВ-V104» и «КМИЭВ-V42»), инактивированные формалином, масляный адъювант






WWW.BIEVM.BY

УДК 619:616.98:579.841.93(479.24)

Алиев Д., докторант

Азербайджанский государственный аграрный университет, г. Баку, Азербайджанская Республика

ОЦЕНКА СИСТЕМЫ ЭПИДНАДЗОРА БРУЦЕЛЛЕЗА В АЗЕРБАЙДЖАНЕ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОННОЙ СИСТЕМЫ ЭПИДСЛЕЖЕНИЯ EIDSS

Резюме

Бруцеллез – одна из важнейших проблем сельского хозяйства. Это высококонтагиозное инфекционное заболевание является причиной выкидышей у мелкого и крупного рогатого скота. Кроме того, оно легко передается людям при употреблении молока и молочных продуктов, не прошедших соответствующую обработку, а также при непосредственном контакте с биологическими жидкостями инфицированных животных. Известны случаи заражения ветеринаров от коров и овец при родовспоможении, а также лабораторных работников. Пораженность бруцеллезом сельскохозяйственных животных в некоторых регионах Азербайджана достигает 15 %. Только своевременный и эффективный эпидемический надзор и иммунопрофилактика могут обеспечить снижение заболеваемости.

Данная статья посвящена оценке системы эпиднадзора бруцеллеза среди сельскохозяйственных животных в Азербайджане на протяжении 2020–2022 гг. Оценка эпидсостояния основана на рекомендациях «Updated Guidelines for Evaluating Public Health Surveillance Systems» (US/CDC, Atlanta) и данных Электронной интегрированной системы наблюдений заболевания (EIDSS – Electronic Integrated Diseases Surveillance System) [1, 3, 4].

На основе анализа данных система эпиднадзора Азербайджана на примере заболеваемости бруцеллезом и соответствующая вакцинация признаны эффективными. По результатам исследования даны рекомендации в органы эпиднадзора республики.

Ключевые слова: эпизоотология, бруцеллез, эпиднадзор, вакцинация, чипирование, EIDSS.

Summary

Brucellosis is one of the most important problems in agriculture. This highly contagious infectious disease causes miscarriages in small and large cattle. In addition, it is easily transmitted to people through the consumption of milk and dairy products that have not been properly processed, as well as through direct contact with the biological fluids of infected animals. There are known cases of infection of veterinarians during obstetrics in cows and sheep, as well as laboratory workers. The incidence of brucellosis in farm animals in some regions of Azerbaijan is up to 15 %. Only timely and effective epidemiological surveillance of this disease and immunoprophylaxis can reduce the incidence of brucellosis.

This article is devoted to the assessment of the brucellosis surveillance system among farm animals in Azerbaijan during 2020–2022. The assessment of the epidemiological situation is based on the recommendations of the «Updated Guidelines for Evaluating Public Health Surveillance Systems» (US/CDC, Atlanta) and the data of the Electronic Integrated Diseases Surveillance System (EIDSS) [1, 3, 4].

Based on the analysis of the data, the epidemiological surveillance system of Azerbaijan, using the example of brucellosis incidence and corresponding vaccination, is recognized as effective. Based on the results of the study, recommendations are given to the epidemiological surveillance bodies of the republic.

Keywords: epizootology, brucellosis, epidemiological surveillance, vaccination, chipping, EIDSS.

Поступила в редакцию 05.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез является одним из основных опасных зоонозных инфекционных заболеваний, которые поражают животных и могут передаваться человеку. В связи с этим эффективный системный эпиднадзор бруцеллеза важен для обеспечения здоровья животных и предотвращения передачи болезни людям.

Система эпиднадзора бруцеллеза животных в Азербайджане охватывает всю популяцию восприимчивых животных, с

активным и пассивным надзором. Контроль заболеваемости осложняется тем, что программа идентификации и чипирования животных и животноводческой продукции в стране полностью не развернута. В настоящее время специализированных пунктов, осуществляющих плановый санитарный убой больных животных и переработку сырья от больных животных для дальнейшего использования, не имеется. Также государством не предусмотрена выплата компенсации владельцам за ущерб

от санитарного убой животных, больных бруцеллезом.

Ежегодно на всей территории страны среди крупного рогатого скота (КРС) и мелкого рогатого скота (МРС) проводятся диагностические серологические исследования с последующим немедленным исключением из стад больных животных и их убоем, своевременной вакцинацией против бруцеллеза остального здорового поголовья. При плановых профилактических серологических исследованиях животных на бруцеллез применяется скрининг-тест Роз-Бенгал. Положительные результаты пробы (РБП) для установления наличия комплементсвязывающих антител подтверждаются реакцией агглютинации, реакцией связывания комплемента или иммуноферментным методом, в том числе ELISA. Для контроля благополучия стад по бруцеллезу также широко применяют кольцевую реакцию (КР) с молоком. Животных, реагирующих на бруцеллез аборт, немедленно изолируют, обязательно сдают на убой независимо от их племенной или производственной ценности. С 2007 г. в Азербайджане начата ежегодная вакцинация (вакцина Rev-1) против бруцеллеза маточного поголовья овец и коз, с 2019 г. – вакцинация (вакцина S-19) крупного рогатого скота.

Цель исследования – оценка системы эпиднадзора бруцеллеза животных в Азербайджане за период 2020–2022 гг.; определение вклада системы эпиднадзора в систему общественного здравоохранения, в частности оценка масштабов и тенденций распространенности болезни; определение своевременности выявления болезни и принятия адекватных контрольных и профилактических мер по ликвидации и профилактике болезни с помощью системы EIDSS; обеспечение эффективного и результативного функционирования, разработка рекомендаций по улучшению существующей системы эпиднадзора на основе выявленных преимуществ и недостатков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка системы эпиднадзора бруцеллеза животных в Азербайджане за период 2020–2022 гг. проведена с использованием описательного эпидемиологического анализа. Система эпиднадзора была оценена в

соответствии с рекомендациями «Обновленные рекомендации по оценке систем надзора за общественным здравоохранением» (US/CDC, Atlanta) [4].

Исходя из поставленной цели система эпиднадзора была оценена по параметрам пригодности, простоты, приемлемости на основе качества и полноты данных, репрезентативности, своевременности, чувствительности, положительной прогностической ценности.

В качестве источника данных для оценки системы эпиднадзора была выбрана Электронная интегрированная система наблюдений заболевания (EIDSS), принятая для уведомления, регистрации, анализа и отчетности инфекционных заболеваний среди животных и людей: в Министерстве здравоохранения АР она была внедрена с 2010 г.; в Министерстве сельского хозяйства АР – с 2014 г. [2, 3, 4].

Для оценки системы эпиднадзора были использованы нижеследующие данные EIDSS: построчный список пассивного и активного надзора по случаю заболевания животных (в формате Excel) (бруцеллез, 2020–2022 гг.) из модуля анализа, визуализации и отчетности (AVR-Analyse, visualisation, report) системы EIDSS. Кроме того, для анализа были использованы агрегированные данные, генерируемые системой EIDSS по месяцам, кварталам и годам, отдельно по районам или по стране, сводный ветеринарный отчет (активный и пассивный надзор), статистическая отчетная форма о противоэпизоотических мероприятиях (диагностические исследования, вакцинация), статистическая отчетная форма по карантинным заболеваниям животных системы EIDSS. Кроме того, были использованы данные серомониторинга бруцеллеза в 2020 г. в рамках проекта Всемирного банка повышения конкурентоспособности сельского хозяйства.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На основе данных EIDSS был проведен анализ эффективности системы эпиднадзора Азербайджана.

Эффективность системы надзора. За период 2020–2021 гг. было выявлено более 1843 лабораторно подтвержден-

ных случаев у КРС, более 2133 случаев у овец и коз и 771 случай среди людей.

Серомониторинг среди КРС за период 2020–2022 гг. показал, что в среднем было обследовано около 52 тыс. голов КРС в

год (2 % от общего поголовья), более 600 случаев в год (1,8 %) было подтверждено лабораторно (таблица 1). В среднем ежегодно было вакцинировано более 600 тыс. (24 % от общего поголовья) голов КРС.

Таблица 1 – Данные ежегодного серомониторинга и вакцинации против бруцеллеза среди КРС в Азербайджане, 2020–2022 гг.

КРС							Вакцинировано	
Годы	популяция КРС	кол-во серотестов	% серотестов от всего поголовья	число положительных результатов	% положительных тестов	распространённость серотестов на 100000 тестов	число вакцинаций	% от всей популяции
2020	2658800	112496	4,2	836	0,74	743	391472	14,7
2021	2646600	20056	0,8	430	2,14	2144	1140412	43,1
2022	2650700	22926	0,9	577	2,52	2517	352926	13,3
Итого	7956100	155478	5,9	1843	5,4	5404	1884810	71,1
В среднем	2652033	51826	2,0	614,3	1,8	1801	628270	23,7

Серомониторинг среди МРС за период 2020–2022 гг. показал, что в год было обследовано в среднем около 52 тыс. (около 0,7 %) голов, более 700 случаев в год (2,2 %)

было подтверждено лабораторно, более 2,5 млн голов МРС в год (33 %) было вакцинировано (таблица 2).

Таблица 2 – Данные ежегодного серомониторинга и вакцинации против бруцеллеза среди МРС в Азербайджане, 2020–2022 гг.

МРС							Вакцинировано	
Годы	популяция МРС	кол-во серотестов	% серотестов от всего поголовья	число положительных результатов	% положительных тестов	распространённость серотестов на 100000 тестов	число вакцинаций	% от всей популяции
2020	7681700	19319	0,3	682	3,53	3530	1340925	17,5
2021	7575400	123172	1,6	1184	0,96	961	4809617	63,5
2022	7483800	12924	0,2	267	2,07	2066	1354012	18,1
Итого	22740900	155415	2,1	2133	6,6	6557	7504554	99
В среднем	7580300	51805	0,7	711	2,2	2186	2501518	33,0

Репрезентативность системы EIDSS. За период 2020–2022 гг. в 58 (89 %) из 65 районов страны был выявлен 1491 неблагополучный по бруцеллезу населенный пункт, в том числе 807 среди КРС и 684 среди МРС.

В 2020 г. в рамках проекта повышения конкурентоспособности сельского хозяйства агентства World Bank серомониторинг бруцеллеза среди КРС и МРС проводился со случайной выборкой:

- доверительный интервал – 95 %;
- абсолютная точность – 2 %; распространённость для КРС – 1 %, для МРС – 2 %;
- 25 (38 %) из 65 районов страны; 5 сел на район, 100 зимних пастбищ;
- исследовано 10560 голов КРС; 80 (0,76 %) положительных результатов (ИФА) (рисунок 1);
- исследовано 30929 голов МРС; 472 (1,52 %) положительных результата (ИФА) (рисунок 2).

В 2020–2021 гг. серомониторинг бруцеллеза среди КРС проводился также в хозяйствах молочного направления:

- в 2020 г. в 39 (60 %) районах из 65 (160 хозяйств) было обследовано 7197 животных; 38805 – восприимчивое поголовье;

выявлено 166 (2,3 %) положительных результатов;

- в 2021 г. в 48 (74 %) районах из 65 (703 хозяйств) было обследовано 19960 животных; 30600 – восприимчивое поголовье; выявлено 377 (1,5 %) положительных результатов.

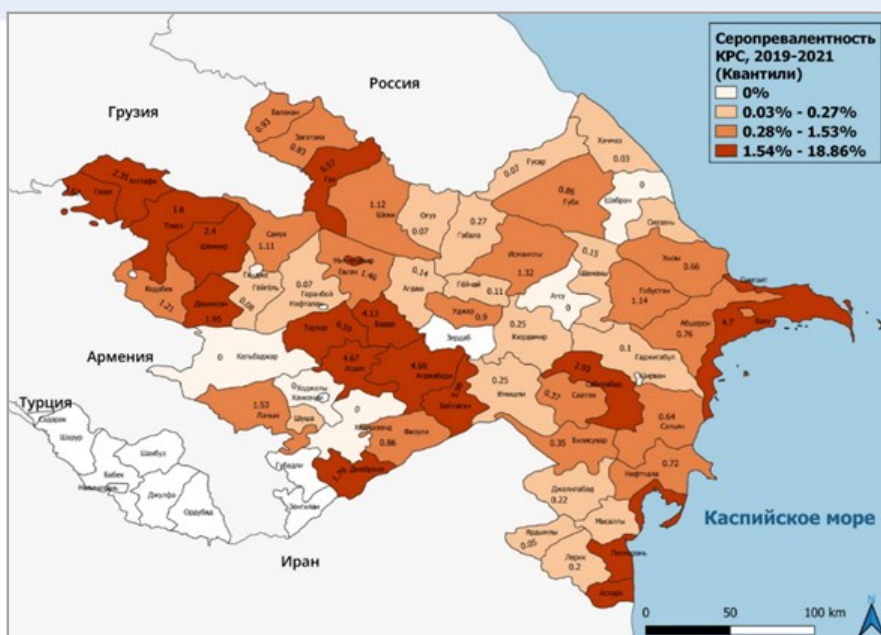


Рисунок 1 – Серопревалентность у КРС, 2020 г.

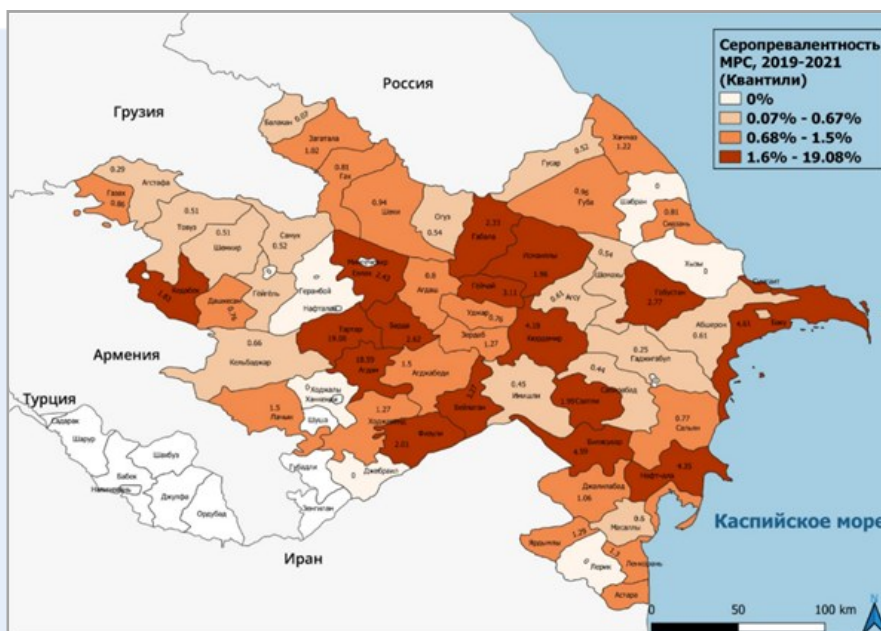


Рисунок 2 – Серопревалентность у МРС, 2020 г.

Своевременность поступления информации. Для оценки своевременности системы эпиднадзора бруцеллеза за период 2020–2022 г. было проанализировано 1482 записи случаев бруцеллеза КРС и МРС в

системе EIDSS по активному и пассивному надзору. Своевременность расследования в течение 24 ч после выявления (Initial report date) подозрительного случая составила 48 % (таблица 3).

Таблица 3 – Своевременность эпизоотологического расследования в системе EIDSS

Дней расследования с момента первоначального отчета	Частота	В процентах	Накопительный процент
0 – <2	714	48,18	48,18
2 – <3	147	9,92	58,10
3 – <HIVALUE	621	41,90	100,00
Всего	1482	100,00	100,00

Своевременность постановки окончательного диагноза, включая сбор, транспортировку, лабораторное исследование проб в течение 24 ч после начала расследования случая, составила 89 % (таблица 4).

Таблица 4 – Своевременность постановки окончательного диагноза бубцеллеза в системе EIDSS

Дней до окончательной постановки диагноза с даты исследования	Частота	В процентах	Накопительный процент
0 – <2	1325	89,41	89,41
2 – <3	40	2,70	92,11
3 – <HIVALUE	117	7,89	100,00
Всего	1482	100,00	100,00

В 62 % случаев время от выявления подозрительного случая до постановки окончательного диагноза составило 72 ч (таблица 5).

Таблица 5 – Время от момента выявления подозрительного случая на бруцеллез до постановки окончательного диагноза в системе EIDSS

Дней от первоначального отчета до окончательного диагноза	Частота	В процентах	Накопительный процент
0 – <4	921	62,15	62,15
4 – <HIVALUE	561	37,85	100,00
Всего	1482	100,00	100,00

Своевременность ввода данных в течение 24 ч в систему EIDSS после начала расследования подозрительного случая составила 6 % (таблица 6).

Таблица 6 – Своевременность ввода данных в течение 24 ч в систему EIDSS

Количество дней со дня начала исследования	Частота	В процентах	Накопительный процент
LOVALUE – <0	2	0,13	0,13
0 – <2	92	6,21	6,34
2 – <4	74	4,99	11,34
4 – <5	23	1,55	12,89
5 – <HIVALUE	1291	87,11	100,00
Всего	1482	100,00	100,00

Чувствительность метода. За период 2020–2022 гг. в системе пассивного надзора бруцеллеза было зарегистрировано 130 подтвержденных случаев болезни среди мелкого и крупного рогатого скота против 3196 случаев, выявленных в активном надзоре в ходе серомониторинга. Таким образом, чувствительность системы равна 3,3 %.

Положительная прогностическая ценность (ППЦ) надзора. За период 2020–2022 гг. в системе пассивного надзора за бруцеллезом было зарегистрировано 175 подозрительных случаев, из которых лабораторно подтверждено 72. Таким образом, ППЦ стандартного определения случая системы равен 41 %.

Приемлемость на основе качества и полноты данных. В связи с тем, что в стране отсутствует программа идентификации животных и животноводческой продукции, точные индивидуальные данные о поголовье животных, а также информация о перемещении животных (приплод, прием в хозяйство, продажа, убой, сезонная миграция) не регистрируются. В разделе «Формы случаев заболеваний животных» системы EIDSS ответственными работниками вовремя вносятся только информация по виду, полу и частично по возрасту, типу содержания и размножения животных. Но, к сожалению, разделы по клиническим признакам и эпизоотологической информации обычно не заполняются.

Система репрезентативна, т.к. охватывает всю популяцию активным и пассивным надзором всех восприимчивых животных во всех районах страны. Она проста в использовании. Система эпиднадзора бруцеллеза среди животных заполняется своевременно, т.к. в 62 % случаев время от начала выявления подозрительного случая до постановки окончательного диагноза составляет 72 ч; своевременность постановки окончательного диагноза от начала расследования – 89 %.

Чувствительность системы эпиднадзора бруцеллеза касательно обнаружения всех случаев болезни достаточно низкая (3,3 %). Это связано с тем, что на чувствительность системы влияет отсутствие программы идентификации и чипирования животных и животноводческой продукции, государственной помощи владельцам за ущерб от санитарного убоя больных бруцел-

лезом животных, а также отсутствие специализированных предприятий, осуществляющих плановый санитарный убой больных животных и переработку сырья от них для дальнейшего использования.

Выводы о приемлемости системы EIDSS по эпиднадзору за бруцеллезом можно сделать на основе качества и полноты данных, а также своевременности ввода данных по случаям болезни в единую электронную систему наблюдения инфекционных заболеваний EIDSS. Результаты оценки своевременности показывают, что в более чем 87 % случаев время ввода данных в систему эпиднадзора составляет более 5 дней. В имеющихся электронных формах случаев заболеваний животных системы EIDSS отсутствуют эпизоотологические данные (факторы риска), клинические признаки проявления болезни, соответствующие стандартному определению случая.

В Азербайджане в системе эпиднадзора животных задействованы две независимые организации: Агентство пищевой безопасности Азербайджанской Республики (AFSA), которое начало свою деятельность 1 июля 2018 г., и Агентство по оказанию аграрных услуг (ASA) при Министерстве сельского хозяйства Азербайджанской Республики, основанная на базе упраздненной Государственной службы ветеринарного контроля 14 января 2019 г. К основным функциям и полномочиям AFSA в области ветеринарии относятся государственная политика в области ветеринарии, нормативно-правовое регулирование; обеспечение учета и отчетности в области ветеринарии, статистический учет карантинных болезней животных; защита населения страны от болезней, общих для человека и животных; утверждение ежегодного плана противоэпизоотических мероприятий, организация и контроль за его выполнением; анализ данных и определение тенденций распространенности особо опасных болезней животных, расследование вспышек, определение правил проведения специальных ветеринарных мероприятий и других мер; принятие решения о введении карантинных (ограничительных) и профилактических мер на территории страны, обязательных к исполнению; создание противоэпизоотической чрезвычайной комиссии (районный и республиканский уровень)

совместно с соответствующими государственными органами по ликвидации и профилактике, включая расследование вспышек особо опасных заболеваний животных, а также болезней, отравлений и др., сопровождающихся массовой гибелью животных. Агентство пищевой безопасности Азербайджанской Республики принимает меры по соблюдению обязательств и правил международной торговли в соответствии с требованиями Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) и других международных организаций.

В связи с этим электронная интегрированная система наблюдений за заболеваниями является незаменимым инструментом для проведения эффективного эпиднадзора, быстрого реагирования на эпизоотическую ситуацию в стране и организацию соответствующих мероприятий. Кроме того, система создает автоматическую отчетность и помогает в планировании вакцинации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система эпиднадзора бруцеллеза животных в Азербайджане является эффективной и отвечает поставленным задачам – оценке масштабов заболеваемости и отсле-

живанию тенденций распространенности болезни среди всего восприимчивого поголовья животных, преимущественно КРС и МРС.

В ходе научного исследования были выявлены ключевые аспекты, требующие внимания и корректировки в ветеринарной практике и системе учета. На основе полученных данных были даны соответствующие рекомендации. Было предложено проведение тренингов по эпидемиологии для ветеринарных врачей и пользователей системы EIDSS, оптимизация системы EIDSS путем введения обязательных полей для эпизоотологических данных и клинических признаков проявления болезни, разработка и принятие программы идентификации животных и продукции животноводства для обеспечения безопасности и качества продукции, предоставление государственной материальной компенсации владельцам за потери, связанные с санитарным убоем животных, пораженных бруцеллезом.

Реализация данных рекомендаций позволит повысить эффективность и безопасность ветеринарной практики, а также укрепить доверие между специалистами и общественностью.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Aliyeva, T. *The Electronic Integrated Disease Surveillance System (EIDSS) for veterinary and public health in Azerbaijan* / T. Aliyeva, V. Salimov // 12th World Congress on Public Health World Health Organization, Istanbul, 27 April – 1 May 2009.
2. *Electronic Integrated Disease Surveillance System (EIDSS)* // NCDC. – URL: <https://test.ncdc.ge/Pages/User/LetterContent.aspx?ID=4b7761f5-6f58-4796-b4ad-69b3ce158f1b> (date of access: 25.04.2025).
3. EIDSS // 15th ICID Abstracts, *International Journal of Infectious Diseases*. – 2012. – P. 2–157. – URL: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(12\)00435-3/pdf](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(12)00435-3/pdf) (date of access: 25.04.2025).
4. *Updated Guidelines for Evaluating Public Health Surveillance Systems* // CDC. – Atlanta. – 2001. – 50(RR13). – P. 1–35. – URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5013a1.htm> (date of access: 25.04.2025).

наша продукция



УДК 619:617.711/.713-002-002.6:636.22/.28(476)

Ананчиков М.А., кандидат ветеринарных наук, доцент

Новикова О.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

Зубовская И.В., кандидат ветеринарных наук

Белуш М.В., микробиолог

Бережинская А.А., микробиолог

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

ИНФЕКЦИОННЫЙ КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Резюме

В статье приведены данные об основных возбудителях инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь, описаны характерные клинические симптомы, дана краткая характеристика таких изученных возбудителей, как *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi*.

Ключевые слова: инфекционный кератоконъюнктивит, моракселлез, *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, крупный рогатый скот, возбудители, лабораторная диагностика.

Summary

Data on the main pathogens of infectious keratoconjunctivitis in cattle in the farms of the Republic of Belarus is given in the article. The main clinical symptoms are described, a brief description of the studied pathogens, such as *Moraxella bovis* and *Moraxella bovoculi*.

Keywords: infectious keratoconjunctivitis, moraxellosis, *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, cattle, pathogens, laboratory diagnostics.

Поступила в редакцию 08.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота (КРС) получил широкое распространение в странах ближнего и дальнего зарубежья. Впервые в Беларуси описание клинического проявления и эпизоотологических особенностей инфекционного кератоконъюнктивита у КРС было сделано во время вспышки этого заболевания в 1974 г. в хозяйствах Гомельской области [1]. Многие исследователи указывают на полиэтиологичность заболевания. Так, Копенкин Е.П. [4] в хозяйствах Московской области наблюдал у КРС кератоконъюнктивит, вызываемый различными возбудителями: инфекционными (*Moraxella bovis*, *Rickettsia conjunctivae bovis*, *Herpesvirus bovis*) и инвазионными (*Theilasia gulosa*). Инфекция может проявляться в ассоциации с другими микроорганизмами (*Chlamydophila pecorum*, *Mycoplasma bovoculi*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, стрептококки, микрококки, кишечная палочка, протей). Инфекционный кератоконъюнктивит, проявляющийся однотипными клиническими признаками, может

быть вызван разными возбудителями, не являющимися близкими по фенотипическим и генотипическим свойствам [2]. Согласно исследованиям Н.П. Иванова с соавторами [6], массовому заболеванию КРС способствуют неблагоприятные факторы окружающей среды: активное ультрафиолетовое солнечное излучение, пыль, скученное содержание, плохое кормление, недостаток витаминов и минералов, стресс и острая степная трава, повреждающая слизистую оболочку глаз. Группой ученых было показано развитие кератоконъюнктивита у телят-гнотобионтов при экспериментальной моноинфекции *Moraxella bovis* в отсутствие вторичных инфекций и предрасполагающих неблагоприятных факторов окружающей среды [10], что позволяет с большой уверенностью считать основным возбудителем инфекционного кератоконъюнктивита КРС бактерии *Moraxella bovis* [3, 7, 8]. В 2005 г. калифорнийскими исследователями от молочных коров с признаками инфекционного кератоконъюнктивита изолирован новый вид – *Moraxella bovoculi* [9].

В динамике развития инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота различают 5 стадий: 1) катаральный конъюнктивит; 2) паренхиматозный кератит; 3) помутнение и язва роговицы; 4) гнойный кератоконъюнктивит, перфорация роговицы; 5) гнойный паноптальмит, слепота [2, 5, 6].

В хозяйствах Республики Беларусь среди поголовья КРС все чаще встречаются заболевания, клинически проявляющиеся кератоконъюнктивитом одного или обоих глаз, что, в свою очередь, сопровождается снижением привесов у молодняка и молочной продуктивности у коров. Работ по изучению болезней глаз животных в Беларуси недостаточно, в связи с чем **целью** наших исследований явилась изучение этиологической структуры инфекционного кератоконъюнктивита КРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по изучению клинической картины, этиологии заболевания и выделению возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита КРС проводили на молочно-товарных фермах и комплексах Республики Беларусь во время выездов в хозяйства, а также в диагностической лаборатории отдела бактериальных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Диагноз на инфекционный кератоконъюнктивит КРС ставили комплексно, с учетом эпизоотологических данных, клинических симптомов болезни и результатов бактериологических исследований. Животных обследовали клиническими методами по общепринятой схеме: использовали осмотр, пальпацию, выборочную термометрию. При этом определяли характер поражения, тяжесть течения, продолжительность болезни, возраст и число заболевших животных. Материалом для бактериологических исследований служили смывы из конъюнктивального мешка глаз клинически больных животных. Для смывов использовали стерильный физраствор и одноразовые шприцы, с помощью которых биоматериал помещали в термоящик с холодагентами и доставляли в лабораторию. Выделение предполагаемых возбудителей заболевания *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi* проводили путем первичного посева проб биоматериала на сердечно-мозговой агар с до-

бавлением 10 % дефибрированной крови здоровой коровы. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24 ч. Выросшие на агаре колонии бактерий изучали макроскопически. Для выделения чистой культуры отбирали характерные для возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита круглые, выпуклые в центре, блестящие колонии серовато-белого цвета с зоной β -гемолиза и производили их пересев на твердые и жидкие питательные среды. Выделенную культуру идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным, ферментативным (биохимическим), а также патогенным свойствам. Морфологические свойства выращенных бактерий изучали при микроскопии мазков, приготовленных из суточных культур и окрашенных по Граму. Ферментативные свойства полученных культур оценивали с помощью биохимического анализатора Vitek 2 Compact (США), что позволило определить родовую принадлежность микроорганизмов. Окончательную идентификацию выращенных культур микроорганизмов проводили с использованием масс-спектрометра Maldi Tof Microflex LRF (Германия) и программного обеспечения MALDI Biotyper 3.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Во время выездов в хозяйства нами было клинически обследовано поголовье крупного рогатого скота 7 молочно-товарных ферм и комплексов, неблагополучных по инфекционному кератоконъюнктивиту. При осмотре животных наблюдали разные стадии развития заболевания. Как правило, у больных животных отмечали поражение одного глаза. В начале заболевания наблюдали слезотечение, светобоязнь, покраснение и опухание конъюнктивы (рисунок 1). В дальнейшем серозные истечения из пораженного глаза сменялись слизистыми, регистрировали слипчивое воспаление век, блефароспазм. При пальпации отмечали местное повышение температуры, опухание век, болезненность. Температура тела на этой стадии заболевания повышалась на 0,5–1,0 °С.

Спустя несколько дней воспалительный процесс переходит на роговицу, образуя в центре очаг темно-серого помутнения (рисунок 2), а затем – зону диффузного помутнения роговицы.

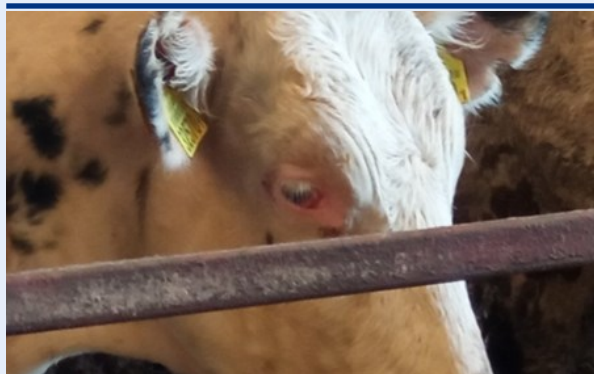


Рисунок 1 – Катаральный конъюнктивит, начальная стадия заболевания (серозное слезотечение, гиперемия периферических тканей глазного яблока)

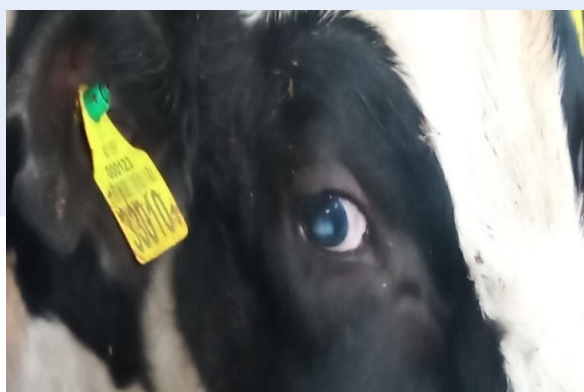


Рисунок 2 – Очаг темно-серого помутнения роговицы, начинающийся катаральный кератит

От края роговицы врастают капилляры, создающие узкую розовую полосу вокруг очага поражения, из-за которой данное заболевание за рубежом называли pink eye – розовый глаз (рисунок 3).



Рисунок 3 – Помутнение роговицы, формирование кератоглобуса

Литическое действие микробных ферментов вызывает воспалительные и деструктивные процессы в периферических

отделах роговицы, в результате чего глазные камеры переполняются экссудатом и под давлением сильно расширяются, что приводит к формированию стафиломы – выпячивания тканей глазного яблока, принимающего форму шара или глобуса (рисунок 4).



Рисунок 4 – Стафилома, деформация глазного яблока в форме шара или глобуса

С течением времени поверхность стафиломы подсыхает, роговица изъязвляется с образованием прободных отверстий (рисунок 5), через которые свободно проникает вторичная микрофлора (стрептококки, стафилококки и др.), осложняющая течение заболевания и вызывающая развитие гнойного воспаления оболочек и структур глаза (эндофтальмит), их последующее расплавление (панофтальмит) и потерю зрения. Таких животных выбраковывают.



Рисунок 5 – Стафилома, прободная язва

За период с 2024 г. по настоящее время в отделе бактериальных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» было исследовано около 80 проб биологического ма-

териала от КРС с признаками инфекционного кератоконъюнктивита из районов Минской, Гродненской и Гомельской областей.

В 90 % случаев из биологического материала от таких животных выделяли возбудителей рода *Moraxella*, из них *Moraxella bovoculi* – в 65 % случаев, а в 25 % случаев *Moraxella bovoculi* выделяли в ассоциации с *Moraxella bovis*.

В ходе изучения биологических свойств изолятов установили, что *Moraxella bovoculi* представляет собой грамотрицательные диплококки с редко встречающимися кокками: диаметр клеток составляет 0,7–1,3 мкм, смежные стороны клеток утолщены, спор не образует (рисунок 6).

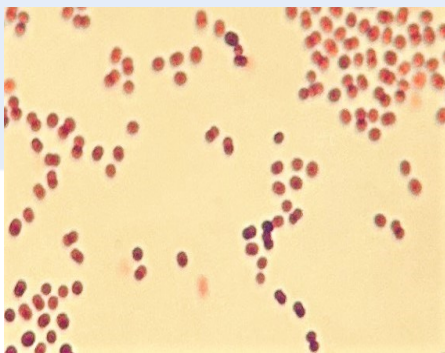


Рисунок 6 – *Moraxella bovoculi* (окраска по Граму)

На кровяном мясо-пептонном агаре при pH от 7,2 до 7,6 штамм формирует колонии S-образной формы белого цвета диаметром <1 мм, круглые, выпуклые, с ровными краями, влажной поверхностью, имеют зону β-гемолиза вокруг или под каждой колонией (рисунок 7).

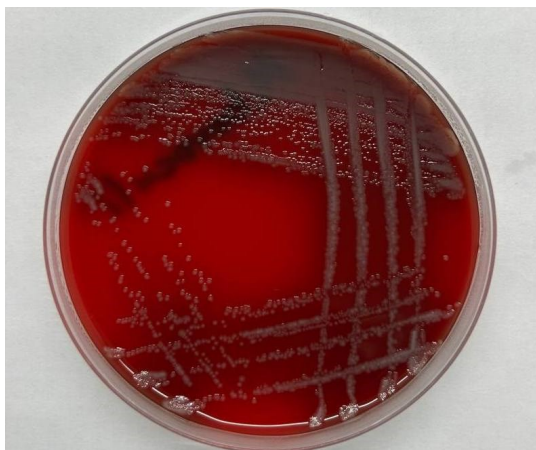


Рисунок 7 – *Moraxella bovoculi* (рост культуры на кровяном агаре)

При определении ферментативных и протеолитических свойств установлено, что *Moraxella bovoculi* не ферментирует сахаров (сахароза, глюкоза, манит, лактоза, сорбит), не образует индол, не разжижает желатин, дает положительную реакцию на оксидазу и отрицательную – на пробу с лакмусовым молоком.

Изоляты *Moraxella bovis* представляли собой неподвижные короткие толстые грамотрицательные палочки диаметром 0,5–1,0 мкм с округленными концами, обычно наблюдались парами или в виде коротких цепочек, спор не образуют (рисунок 8).



Рисунок 8 – *Moraxella bovis* (окраска по Граму)

На кровяном агаре при pH от 7,2 до 7,6 *Moraxella bovis* после 24-часовой инкубации при температуре 37 °C образует колонии диаметром от 1,0 до 3,0 мм с зоной β-гемолиза шириной 0,5–1,0 мм. Колонии круглые, выпуклые в центре, блестящие, полупрозрачные, серовато-белые, слегка ворсистые в среду.

После 48-часовой инкубации диаметр колоний увеличивается до 3–4 мм, края бывают гладкими. Зона гемолиза двукратно увеличивается при ее инкубации в течение 24 ч при температуре 37 °C и дополнительно – в течение 24 ч при температуре 25 °C (рисунок 9).

Moraxella bovis – факультативный аэроб, не ферментирует сахаров, не восстанавливает нитраты в нитриты, не образует индол, разжижает желатин, т.е. обладает протеолитической активностью; проба на оксидазу дает положительный результат, что является характерным признаком микроорганизмов семейства *Moraxellaceae* рода *Moraxella*.



Рисунок 9 – Колонии *Moraxella bovis* на кровяном агаре

Оба выделенных вида *Moraxella bovoculi* и *Moraxella bovis* имели стабильную высокую вирулентность для белых мышей массой 16–18 г.

Кроме того, при проведении лабораторных исследований конъюнктивальных смывов от больных животных в 10–15 % случаев вместе с бактериями рода *Moraxella* выделяли патогенные стафилококки и стрептококки. Методом ПЦР-анализа в биологическом материале выделяли вирус инфекционного ринотрахеита, микоплазму.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекционный кератоконъюнктивит КРС получает все более широкое распространение в хозяйствах Республики Беларусь, поражая телят старшего возраста и взрослых животных.

Основным возбудителем инфекционного кератоконъюнктивита являются бактерии видов *Moraxella bovoculi* и *Moraxella bovis*, которые могут вызывать болезнь как самостоятельно, так и в ассоциации с вирусами и другими бактериями.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бобырь, В. К. Инфекционные кератоконъюнктивиты крупного рогатого скота в хозяйствах Гомельской области / В. К. Бобырь // Сб. научн. тр. Львовского ветеринарного института. – 1974. – Вып. 39. – С. 167–179.
2. Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота / А. В. Капустин, А. И. Лашиевцев, Е. В. Иванов, Ю. Б. Феофилова // Российский журнал аграрных и социально-экономических наук (РЖСЭН). – 2020. – Вып. 12(108). – С. 187–199.
3. Карайченцев, В. Н. Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота, вызываемый *Moraxella bovis* (лабораторная диагностика, специфическая профилактика) : автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук / В. Н. Карайченцев. – М., 2005. – 44 с.
4. Копенкин, Е. П. Диагностика, лечение и профилактика инфекционного и инвазионного кератоконъюнктивитов крупного рогатого скота : дисс. ... д-ра ветеринар. наук / Е. П. Копенкин. – М., 2000. – 289 с.
5. Кошляк, В. В. Течение и клиническая картина, возрастная и сезонная динамика инфекционного кератоконъюнктивита у крупного рогатого скота / В. В. Кошляк, А. С. Захаров // Международный научн.-исслед. журнал. – 2021. – № 8 (110). – Ч. 2. – С. 36–42.
6. Моракселлез у КРС в Казахстане / Н. П. Иванов, А. А. Султанов, Ф. А. Бакиева [и др.] // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия аграрных наук. – 2016. – Вып. 5, № 35. – С. 20–29.
7. Arora, A. K. Studies on *Moraxella bovis* isolated from cattle affected with or convalescing from infectious bovine keratoconjunctivitis / A. K. Arora // Vet. Arhiv. – 1989. – V. 59. – 1. – P. 17–23.
8. Infectious Bovine Keratoconjunctivitis: A Review / M. H. Brown, A. H. Brightman, B. W. Fenwick, M. A. Rider // Journal of Veterinary Internal Medicine. – 1998. – Vol. 12. – 4. – P. 259–266.
9. *Moraxella bovoculi* sp. nov., isolated from calves with infectious bovine keratoconjunctivitis / J. A. Angelos, P. Q. Spinks, L. M. Ball, L. W. George // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2007. – Vol. 57. – P. 789–795.
10. Rogers, D. G. Pathogenesis of corneal lesions caused by *Moraxella bovis* in gnotobiotic calves / D. G. Rogers, N. F. Cheville, G. W. Pugh // Veterinary pathology. – 1987. – T. 24. – 4. – С. 287–295.

УДК 619:579.843.95:636.4(476)

Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, профессор¹**Лемиш А.П.**, кандидат ветеринарных наук, доцент²**Пулиш А.В.**, магистр, аспирант¹**Красочко П.А.**, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор^{1,3}¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь²ЗАО «Консул», г. Брест, Республика Беларусь³РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского», г. Минск, Республика Беларусь

АКТИНОБАЦИЛЛЯРНАЯ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЯ СВИНЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Резюме

Целью настоящих исследований явилось изучение распространения актинобациллярной плевропневмонии в свиноводческих предприятиях Беларуси, анализ различных форм клинического проявления, профилактика и лечение данной инфекции.

При проведении диагностических исследований в ИФА установлен высокий процент антителоносительства – от 50 до 85 %, а наличие генома возбудителя в ПЦР – не более 70 %. При специфической профилактике наиболее высокий эффект дает аутовакцина, а коммерческие токсидные моновакцины варьируют по эффективности от 40 до 60 %, в зависимости от комплектности антигенов вводимой вакцины и циркулирующих возбудителей в конкретном стаде. Для лечения больных животных применяют схему терапии с использованием различных антибиотиков.

Ключевые слова: актинобациллярная плевропневмония, свиньи, заболеваемость, клиническое проявление, профилактика, лечение.

Summary

The aim of this research was to study the spread of actinobacillary pleuropneumonia in pig-breeding enterprises in Belarus, analyze various forms of clinical manifestations, prevention and treatment of this infection.

When conducting diagnostic tests in ELISA, a high percentage of antibody carriage was established – from 50 to 85 %, and the presence of the pathogen genome in PCR is no more than 70 %. In specific prevention, the highest effect is given by an autovaccine, and commercial toxoid monovaccines vary in effectiveness from 40 to 60 %, depending on the completeness of the antigens of the administered vaccine and the circulating pathogens in a particular herd. To treat sick animals, a therapy regimen using various antibiotics is used.

Keywords: actinobacillary pleuropneumonia, pigs, morbidity, clinical manifestation, prevention, treatment.

Поступила в редакцию 14.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Из отраслей животноводства в Республике Беларусь свиноводству уделяется особое внимание. Это наиболее рентабельная отрасль, обусловленная высокой скоростью роста и конверсией корма, быстрой окупаемостью и получением высококачественной продукции.

В Республике Беларусь насчитывается более 100 крупных свиноводческих комплексов, где содержится более 2 млн голов свиней и производится 93 % от общего объема свинины. С 2014 г. до начала 2025 г. в эксплуатацию введено 29 современных свиноводческих комплексов мощ-

ностью более 145 тыс. т свинины в год. На период 2024–2026 гг. в Республике Беларусь запланировано строительство 14 новых и реконструкция ряда действующих свинокомплексов [3, 6].

При современном промышленном ведении свиноводства основной ущерб наносят инфекционные болезни, в частности болезни органов дыхания и пищеварения, которые занимают ведущее место.

В этиологической структуре этих болезней важную роль играют вирусы трансмиссивного гастроэнтерита, ротавирусной и цирковирусной инфекций, репродуктивно-респираторного синдрома, клас-

сической чумы свиней, а также бактерии – эшерихии, актинобациллы, гемофилы, пастереллы, сальмонеллы и т.д. [1, 3, 5].

На респираторную патологию свиней наряду с желудочно-кишечной в удельном весе приходится до 90 % их непроизводительного выбытия. Хотелось бы отметить, что респираторные патологии имеют весьма разнообразное клиническое проявление. Анализ заболеваемости свиней в Республике Беларусь, Российской Федерации, странах Европы и Америки за последние годы показывает, что на долю болезней органов дыхания приходится в среднем 35–50 %. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению пневмонии значительно разнятся. Одной из разновидностей является актинобациллярная плевропневмония (АПП) свиней, которая регистрируется во всех странах с интенсивным ведением свиноводства. Эта болезнь характеризуется высокой контагиозностью, острым, подострым, хроническим течением, лихорадкой, септициемией, геморрагической некротической пневмонией и серозно-фибринозным плевритом. Возбудителем инфекции является *Actinobacillus pleuropneumoniae* (раньше *Haemophilus pleuropneumoniae*). Инкубационный период составляет от нескольких часов до 3 дней. Заболеваемость может составлять 60–80 %, а при остром течении – до 90 %, летальность – от 10 до 90 %, что отражается на снижении привесов, влечет за собой дополнительные затраты на корма и лечение, а в итоге приводит к значительному экономическому ущербу [1, 2, 3, 5, 6, 8].

Взрослые свиньи являются носителями заболевания и поддерживают стационарность в стаде. АПП подвержены свиньи основного стада (свиноматки, ремонтный молодняк и хряки), а также групп доращивания и откорма. К возбудителю АПП восприимчивы свиньи всех возрастных групп, особенно поросята в возрасте 2–6 месяцев. Источником и резервуаром возбудителя инфекции являются больные свиньи, а также бактерионосители (до 3–4 месяцев), выделяющие возбудителя во внешнюю среду при кашле и чихании. В основном заражение происходит аэрогенным путем. Хряки могут играть существенную роль в передаче возбудителя при случке. Болезнь протекает в виде энзоотий (могут быть вспышки) и зависит от сезона года. Предраспола-

гающими факторами являются скученность, транспортировка, запыленность воздуха, скармливание животным сухих кормов мелкого помола, плохие условия содержания (при выгульном содержании свиней болезнь не возникает) и кормления. Более тяжелому проявлению болезни способствуют усиление вирулентности бактериальных инфекции от увеличения производственных циклов (соблюдение цикла пусто-занято), сопутствующие инфекции, а также ввод в стадо инфицированных АПП племенных хряков и ремонтных свинок [3, 6, 7, 8].

Целью настоящих исследований являлось изучение распространения, анализ различных форм клинического проявления, профилактики и лечения актинобациллярной плевропневмонии в свиноводческих предприятиях Беларуси.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на кафедре микробиологии и вирусологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», ЗАО «Консул» и в свиноводческих хозяйствах Брестской и Гродненской областей Республики Беларусь.

В работе использован комплекс общепринятых клинико-эпизоотологических и лабораторных методов исследований.

Диагностические исследования актинобациллярной плевропневмонии проводились в диагностической лаборатории ЗАО «Консул». Для выявления генома возбудителя использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР), антител к возбудителю – иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием коммерческих диагностических тест-систем. Постановку ИФА и ПЦР проводили в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов [1, 7, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований показали, что АПП наиболее часто встречается на старых, давно эксплуатируемых свиноводческих предприятиях Республики Беларусь, порой не реконструированных. Поголовье свиней на них подвержено сопутствующим заболеваниям, которые являются триггерами, т.е. провоцирующими факторами, запускающими неблагоприятные изменения в организме и провоцирующи-

ми обострение имеющихся хронических заболеваний.

При постановке ИФА установлен высокий процент антителоносительства – от 50 до 85 %, а наличие генома возбудителя актинобациллярной плевропневмонии в ПЦР у больных с клиническим проявлением – не более 70 %.

Следующим этапом проведения исследований послужил анализ и установление факторов, влияющих на течение АПП на свиноводческих комплексах, на основании литературных данных и собственных исследований [3, 4, 8].

Для оценки иммунного статуса свиного поголовья, качества дезинфекции и контроля течения вирусных инфекций использованы результаты исследований, полученные нами в диагностической лаборатории ЗАО «Консул». Условия содержания, кормления, возникновение стрессов, качество проведенной вакцинопрофилактики, сезонность возникновения болезни и другие факторы оценивали путем личного клинико-эпизоотологического обследования животных на комплексах, анализа первичной документации на предприятиях.

Было установлено, что на течение АПП влияют следующие факторы:

- иммунный статус свиного поголовья (слабый иммунитет способствует более тяжелым формам течения АПП);
- сезонность (чаще в осенне-зимний и зимне-весенний периоды);
- качество проведенной вакцинопрофилактики;
- неконтролируемое течение вирусных инфекций (репродуктивно-респираторный синдром, цирковирусная инфекция) и бактериальных инфекций (микоплазмоз и гемофилез);
- неудовлетворительные условия содержания (скученность поголовья, недостаточность вентиляции), что повышает риск заражения и приводит к тяжелому течению болезни;
- часто возникающий стрессовый фактор (изменения рациона кормления, длительная транспортировка, особенно при низких температурах);
- некачественная дезинфекция и недостаточный биологический отдых в производственных зданиях.

Нами проведены клинико-эпизоотические исследования по оценке клиниче-

ского проявления АПП на свиноводческих комплексах. Установлено, что при первом инфицировании стада АПП (при завозе новых животных) регистрируют сверхострую и острую формы. В дальнейшем наблюдают хроническую и подострую формы, которые, как правило, протекают при неэффективной антибиотикотерапии и отсутствии вакцинопрофилактики. На свином комплексе с АПП и даже в пределах одного и того же сектора, где содержатся свиньи одной половозрастной группы, можно регистрировать абсолютно все формы актинобациллярной плевропневмонии.

В Беларуси АПП свиней клинически проявляется респираторным синдромом и протекает в сверхострой, острой, подострой и хронической формах, каждая из которых имеет свои особенности.

Сверхострая форма АПП, как правило, наблюдается у свиней 35–120-дневного возраста при первичном заносе. Отмечается повышение температуры тела до 41,5–42,0 °С; в начале заболевания регистрируются единичные случаи отказа от корма, а далее – массовый отказ; животные угнетены, малоподвижны, дыхание затрудненное, с хрипами; наблюдается цианоз кожи ушных раковин, пяточка, грудной и брюшной стенок. В единичных случаях появляется рвота и диарея. У заболевших свиней на откорме при измерении температуры тела или проведении клинического осмотра появляются одышка, шаткость походки, парез тазовых конечностей. Примерно за 2 ч до смерти наблюдаются выделения из носовых отверстий и ротовой полости пенистой кровянистой жидкости. По нашим наблюдениям, гибель свиней наступает в течение 2 ч после появления первых клинических признаков (рисунок 1).

Острая форма, по нашим наблюдениям, может протекать от 2 до 24 ч, что зависит от общей резистентности организма и возраста свиней. Температура тела повышается до 41,0 °С и выше, появляется удушливый кашель, дыхание, как правило, становится учащенным, с хрипами, свинья принимает позу сидячей собаки. Наблюдаются серозно-слизистые истечения из носа, а за сутки до смерти – кровянистые истечения. Кожа ушей, подгрудка, нижней стенки живота принимает синюшный окрас (рисунок 2).



Рисунок 1 – Сверхострая форма АПП у свиней



Рисунок 2 – Острая форма АПП у свиней

При подострой форме клиническая картина менее выражена, заболевание длится от 6 до 15 дней и характеризуется лихорадочным состоянием, снижением аппетита, потребление корма – на уровне 50 % от суточной нормы, а потребление воды возрастает. В период заболевания животные существенно отстают в росте.

Хроническая форма течения АПП характеризуется кратковременным повышением температуры тела, кашлем.

По нашим наблюдениям, при проведении лечебных мероприятий (использование антибиотиков) острая и подострая формы течения болезни переходят в хроническую. Количество отстающих в росте свиней постоянно увеличивается. При осложнении болезни секундарной микрофлорой животные гибнут. Выздоровевшие свиньи остаются бактерионосителями, что должно подтверждаться лабораторными исследованиями.

При проведении профилактических мероприятий в хозяйствах, где диагностируют АПП, следует учитывать этиологическую структуру инфекционных болезней.

Наилучший профилактический и экономический эффект имеет аутовакцина. Нами установлено, что эффективность токсоидной моновакцины против АПП производства ЗАО «Консул» составляет около 60 %. Она содержит в своем составе возбудителей, циркулирующих на свиномкомплексах Республики Беларусь. В коммерческих вакцинах импортного производства нет той комплектности антигенов. Их эффективность достигает 40 % [5]. Это обусловлено различным набором и концентрацией основных антигенов коммерческих вакцин – гемолизинов АРХ 1, 2, 3 в единице дозы вакцины и составом гемолизинов в циркулирующих бактериях.

Важным звеном в борьбе с АПП на свиноводческих комплексах является антибиотикотерапия, проводимая ветеринарной службой хозяйств. Однако при данном заболевании она может только сдерживать развитие болезни, но не ликвидировать ее, т.е. лечение АПП ввиду бактерионосительства групповым методом через воду или корм сдерживает развитие инфекции в острой форме и переводит ее в подострую и хроническую.

Высокий эффект дала разработанная нами по результатам оценки чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам схема их применения в различных группах:

- пороссятам-сосунам – цефтиофур в день кастрации, далее – по показаниям энрофлоксацин;

- пороссятам до 40-дневного возраста в первой половине выращивания – оральное выпаивание амоксициллина тригидрата, с 70-дневного возраста с кормом применяют доксициклина гиклат + тиамулина гидроген фумарат, для купирования острой формы – внутримышечно азитромицин;

- пороссятам до 105-го дня жизни в первой половине откорма лечение проводить комплексно, путем использования марбофлоксацина / флорфеникола / тилмикозина / тилдипирозина, далее с кормом – хлортетрациклина гидрохлорид + тиамулина гидроген фумарат;

- санацию маток, хряков и ремонтного молодняка проводить один раз в 3 месяца через корм с обязательной ротацией доксициклина гиклата / хлортетрациклина гидрохлорида / амоксициллина тригидрата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные диагностические исследования АПП показали, что в ИФА отмечен высокий процент антителоносительства – от 50 до 85 %, а наличие генома возбудителя в ПЦР – не более 70 %.

К факторам, влияющим на течение АПП на свиноводческих комплексах, относятся иммунный статус свиноголовья, наличие сопутствующих вирусных и бактериальных инфекций, неудовлетворительные условия содержания, стресс, некачественная дезинфекция.

АПП свиней клинически проявляется респираторным синдромом и протекает в сверхострой, острой, подострой и хронической формах.

При специфической профилактике наиболее высокий эффект дает аутовакцина, а коммерческие токсоидные моновакцины варьируют по эффективности от 40 % до 60 %, в зависимости от комплектности антигенов вводимой вакцины и циркулирующих возбудителей в конкретном стаде.

Для лечения больных животных применяют схему терапии с использованием антибиотиков.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: бактериальные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 701 с.
2. Дифференциальная диагностика болезней сельскохозяйственных животных : справочник / А. И. Ятусевич [и др.] / УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2021. – 500 с.
3. Корочкин, Р. Актинобациллярная плевропневмония свиней / Р. Корочкин // Ветеринарное дело. – 2021. – № 9. – С. 3–8. – EDN NOZAQZ.
4. Красочко, И. А. Анализ эффективности средств специфичности актинобациллярной пневмонии у свиней / И. А. Красочко, А. В. Пулиш // Молодые ученые – науке и практике АПК : материалы Междунар. науч.-практ. конф. аспирантов и молодых ученых, Витебск, 25–26 апреля 2024 г. – Витебск : УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2024. – С. 254–259. – EDN PMFHSG.
5. Красочко, И. А. Клиническое проявление и патологоанатомические изменения при актинобациллярной плевропневмонии при промышленном ведении свиноводства в Республике Беларусь / И. А. Красочко, А. В. Пулиш // Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и болезней пчел в современных условиях : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 95-летию со дня рождения доктора ветеринарных наук, профессора Смирновой Нины Ивановны и Дню белорусской науки, Витебск, 07–08 декабря 2023 г. – Витебск : УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2024. – С. 111–114. – EDN CAHORT.
6. Мацукова, А. С. Актинобациллярная плевропневмония свиней / А. С. Мацукова, О. С. Мехова // Наше сельское хозяйство. – 2017. – № 2. – С. 9–14. – EDN ZXDPDZ.
7. Методические подходы к бактериологической диагностики актинобациллярной плевропневмонии свиней / Е. Е. Айшпур, И. Ю. Муштук, В. В. Гуменюк [и др.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2021. – № 38 (38). – С. 9–20. – DOI 10.31073/vet_biotech38-01. – EDN EQKFGI.
8. Сычев, М. И. Актинобациллярная плевропневмония: без антибиотикотерапии не обойтись / М. И. Сычев // Свиноводство. – 2019. – № 1. – С. 71–72. – EDN YTOWRF.

УДК 619:616.24-002:578.082.2(476)

Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук, доцент
Дубаневич О.В., старший научный сотрудник
Малашенко Н.О., магистрант

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск,
Республика Беларусь

МОНИТОРИНГ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ С ДИФФЕРЕНЦИАЦИЕЙ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *PASTEURELLACEAE*

Резюме

Статья посвящена комплексному изучению бактериальных и вирусных патогенов, являющихся возбудителями респираторных заболеваний крупного рогатого скота в Беларуси. Основное внимание уделено представителям семейства *Pasteurellaceae* (*Pasteurella*, *Mannheimia*) и молекулярно-генетическим методам диагностики.

Ключевые слова: ПЦР, мониторинг, респираторная патология, крупный рогатый скот, *Pasteurellaceae*.

Summary

The article is devoted to a comprehensive study of bacterial and viral pathogens that cause respiratory diseases in cattle in Belarus. The main attention is paid to representatives of the *Pasteurellaceae* family (*Pasteurella*, *Mannheimia*) and molecular genetic diagnostic methods

Keywords: PCR, monitoring, respiratory pathology, cattle, *Pasteurellaceae*.

Поступила в редакцию 16.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные заболевания крупного рогатого скота (КРС) продолжают оставаться одной из наиболее значимых проблем современного животноводства, нанося существенный экономический ущерб хозяйствам во всем мире. Среди возбудителей этой патологии особое место занимают бактерии семейства *Pasteurellaceae*, в частности представители родов *Pasteurella* и *Mannheimia*. Эти микроорганизмы способны вызывать тяжелые бронхопневмонии, часто приводящие к летальным исходам, особенно при смешанных инфекциях с вирусными патогенами [1, 7].

Актуальность данного исследования обусловлена тем, что традиционные методы диагностики (бактериологический посев, серологические тесты) часто оказываются недостаточно эффективными для точной идентификации видов и серотипов этих микроорганизмов, а данные о генетическом разнообразии *Pasteurellaceae* в Республике Беларусь крайне ограничены.

Особую сложность представляет дифференциальная диагностика пастереллеза и манхеймиоза, поскольку эти заболе-

вания имеют схожую клиническую картину, но требуют разных подходов к лечению и профилактике. Кроме того, представители *Pasteurellaceae* часто выступают в качестве секундарных патогенов на фоне вирусных инфекций (вирусной диареи КРС, парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита и др.), что значительно осложняет течение болезни.

В последние годы все большее значение приобретают молекулярно-генетические методы исследования, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и HRM-анализ (High Resolution Melting). Эти методы позволяют не только точно идентифицировать возбудителей, но и изучать их генетическое разнообразие, что крайне важно для понимания эпидемиологии заболеваний и разработки эффективных мер контроля.

В настоящее время насчитывается 16 сероваров *Pasteurella multocida*. Данное деление основано на различиях структуры антигена липополисахарида (ЛПС), входящего в их состав. ЛПС формирует значимую часть наружной оболочки, образует гидрофобный барьер клетки. ЛПС может

быть условно разделен на три области (домена): гидрофобный липид А, наружное и внутреннее ядро олигосахарида и О-антиген, состоящий из повторяющихся олигосахаридов. ЛПС имеет прямое значение в защите микроорганизма от врожденного иммунитета носителя. Потеря даже небольшого фрагмента ЛПС, например фосфохолина, существенно повышает чувствительность клетки к противомикробным препаратам, таким как кателицидин [1].

Как и многие другие бактериальные токсины, токсин *Pasteurella multocida* (PTM) – многофункциональная белковая структура со множеством специфических функций, содержащих транслокационный и биологически активный домены в своей структуре. PTM содержит 1285 аминокислот, имеет массу около 145 кДа [1]. N-конец PTM на 20 % гомологичен другому бактериальному токсину – цитотоксическому некротизирующему фактору (CNF), обнаруживаемому у *E. coli* (CNF1, CNF2, CNF3) и *Yersinia pseudotuberculosis* (CNFY) (Lemichez et al., 1997; Pullinger et al., 2001) [1].

Птичья холера – системное заболевание, которое вызывается преимущественно *Pasteurella multocida* типа А, хотя отмечаются случаи, когда возбудителем послужил другой тип, например тип F [1]. Птичья холера поражает все виды птиц, но отдельные виды более чувствительны к данному заболеванию, в частности индейки.

Атрофический ринит – синдром, который включает в себя деформацию морды, разрушение костей носовых раковин и задержку роста у молодняка свиней. Данный синдром длительное время считался обычным состоянием для одомашненных свиней во всех странах. С некоторой частотой данный синдром наблюдается у кроликов. Также имеются случаи заболевания диких кабанов, коз, КРС [1]. Клинические проявления обусловлены так называемым дермонекротоксином, токсином PMT (*Pasteurella multocida* toxin), который отмечается у некоторых серотипов *P. multocida* [1].

Геморрагическая септицемия – системное заболевание, к которому восприимчивы все копытные. Заболевание, как правило, поражает КРС, свиней, бизонов, верблюдов. Его причиной являются серотипы В и Е, однако отмечались случаи заболеваний, похожие по клинической картине на вызванные типом А [1].

Histophilus somni является причиной sporadической заболеваемости КРС по всему миру, а также вызывает заболевания у мелких жвачных, снежных баранов и северо-американских бизонов [6].

Pasteurella trehalosi является важным патогеном в популяции овец. Данный микроорганизм преимущественно ассоциирован с серьезными системными инфекциями у ягнят, однако связан также с развитием пневмонии у овец (Gilmour & Gilmour, 1989) [2].

Вид *Mannheimia haemolytica* представлен 12 серотипами: А1, А2, А5–А9, А12–А14, А16 и А17 [4]. Наиболее значимым является серотип А1, т.к. составляет около 60 % всех штаммов, выделенных из дыхательной системы КРС. При этом серотипы А2 и А6 составляют 7 % и 26 % соответственно [8].

Целью настоящего исследования было выявление и молекулярно-генетическая характеристика бактерий семейства *Pasteurellaceae* в биологическом материале от КРС с признаками респираторной патологии с использованием современных методов диагностики и выявление ассоциаций бактериальных и вирусных патогенов. Для достижения этой цели решались следующие задачи: изучение генетической вариативности бактерий с помощью специально подобранных праймеров; анализ отдельных локусов генома методом HRM; оценка распространенности бактерий семейства *Pasteurellaceae* в сочетании с вирусными патогенами в хозяйствах Беларуси.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнялись в период с 2024 г. по начало 2025 г. в отделе молекулярно-генетической диагностики и генной инженерии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеславского» в рамках задания 3.15 «Изучение бактерий, вызывающих респираторную патологию крупного рогатого скота в Республике Беларусь, молекулярно-биологическими методами и создание банка идентифицированных изолятов инфекционных биологических агентов» ГПНИ «Сельскохозяйственные технологии и продовольственная безопасность», подпрограмма «Животноводство и племенное дело».

Проведенное исследование охватило 414 биологических образцов биоматериала

крупного рогатого скота из 93 сельскохозяйственных предприятий Республики Беларусь. В работе использовались патологический материал, носовая слизь и сыворотка крови от животных с клиническими признаками респираторных заболеваний, а также эталонные штаммы из коллекции КМИЭВ.

На первом этапе анализировали праймеры (прямой 1P-911 и обратный 2P-962), специфичные к гену 16S рРНК бактерий семейства *Pasteurellaceae*. Праймеры были выбраны таким образом, чтобы захватывали (фланкировали) участок гена 16S рРНК, содержащий изменчивые (вариабельные) области. На втором этапе готови-

лись пробы биологического материала, которые отбирались у КРС с признаками респираторной патологии прижизненно и посмертно. Посмертно отбирался патологический материал (внутренние органы), прижизненно – как правило, носовая слизь и фекалии, сыворотка крови и др. На третьем этапе выделялась ДНК/РНК российским набором «АмплиПрайм РИБО-сорб» согласно инструкции по его применению. Четвертый этап – постановка ПЦР согласно протоколу (рисунок 1), пятый – фореуз в 2%-ном геле (агароза растворялась в ТАЭ буфере) при 120 В, 60 мА и 7 W, время проведения фореуза – 40 минут.

1	95.0 C for 3:00
2	95.0 C for 0:10
3	55.0 C for 0:35
4	60.0 C for 0:50
	+ Plate Read
5	GOTO 2, 27 more times
6	95.0 C for 0:30
7	Melt Curve 82.0 to 95.0 C, increment 0.2 C, for 0:05 + Plate Read
	END

Рисунок 1 – Протокол амплификации

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Чтобы убедиться, что используемые праймеры специфично связываются с ДНК различных видов семейства *Pasteurellaceae* и что между участками связывания праймеров находятся участки ДНК, отличающиеся между видами (вариабельные области), мы

провели анализ с помощью программного обеспечения BLAST (в базе данных NCBI) и BioEdit к некоторым из бактерий сем. *Pasteurellaceae* и подтвердили специфичность в ПЦР с различными штаммами микроорганизмов (рисунок 2).

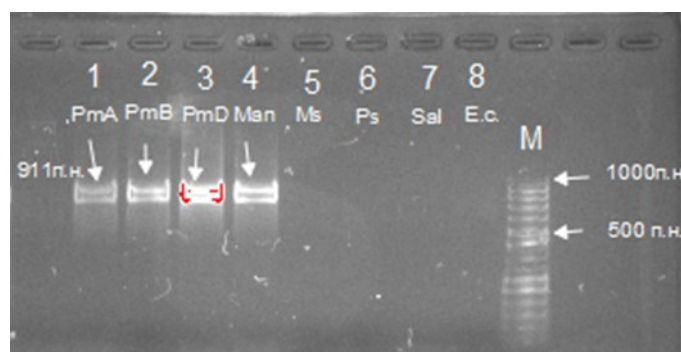


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов амплификации праймеров 1P-911 и 2P-962 с ДНК штаммов *Pasteurella multocida* типов A, B, D, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma species*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin* и *E. coli*

С использованием праймеров 1P-911 и 2P-962 в ПЦР был проведен HRM-анализ (анализ по кривым температур плавления) 414 образцов биологического материала

(рисунок 3), из них в 64 (69 %) выявили генетические маркеры сем. *Pasteurellaceae*, при этом положительный результат получен в 169 исследуемых пробах (41 %).

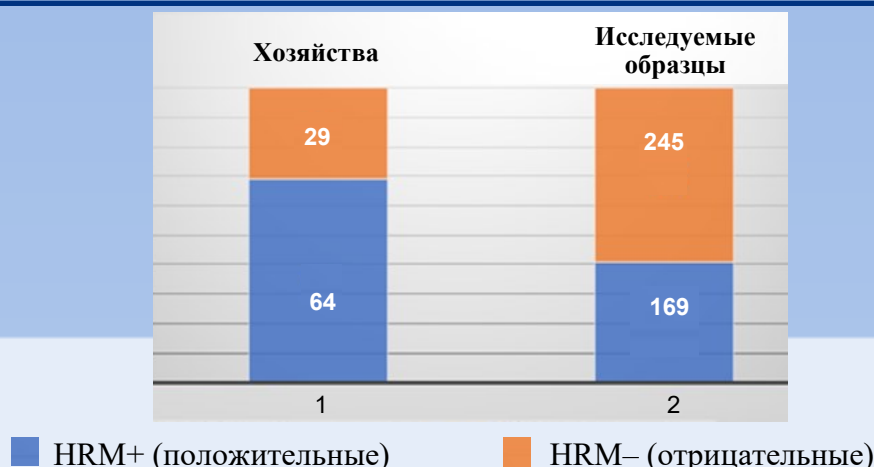


Рисунок 3 – Соотношение HRM+ и HRM– результатов по температурам кривых плавления в хозяйствах Республики Беларусь в исследованных образцах

В результате HRM-анализа 169 положительных проб (41 %), где были выявлены генетические маркеры сем. *Pasteurellaceae*, результаты распределились по температурам плавления от 87,4 °C до 92,4 °C (температурный диапазон – 5 °C). Получено 18 значений по температурным кривым плавления: 87,4 °C, 88,6 °C, 88,8 °C, 89 °C, 89,2 °C, 89,4 °C, 89,6 °C, 89,8 °C, 90 °C, 90,2 °C, 90,4 °C, 90,6 °C, 90,8 °C, 91 °C, 91,2 °C, 91,4 °C, 91,6 °C и 92,4 °C (рисунки 4, 5).

В рамках скрининга методом ПЦР с анализом Tm-кривых была подтверждена циркуляция нескольких генетических вариантов *Pasteurellaceae*, что согласуется с ожидаемым разнообразием. Распределение секторов демонстрирует распространен-

ность различных групп: доминирующие (наиболее значимые) маркеры занимают наибольшую площадь в секторах, что обеспечивает наглядность интерпретации данных и отражает гетерогенность бактерий семейства *Pasteurellaceae* в пробах, косвенно указывая на присутствие генетически различных видов.

Выявление генетического материала, принадлежащего сем. *Pasteurellaceae* в 41 % проб с распределением по кластерам с различными температурами плавления при HRM-анализе, подтверждает эпидемиологическую значимость полученных данных и необходимость дальнейшего углубленного исследования, включая видовую типизацию возбудителей, что запланировано в рамках продолжения исследований.

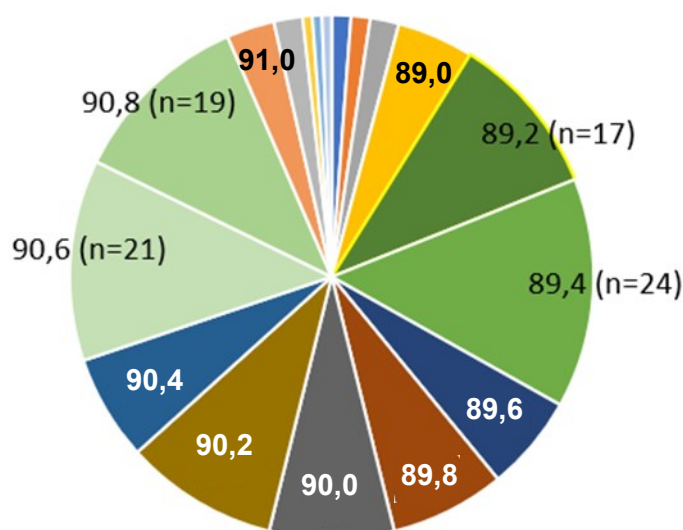


Рисунок 4 – Анализ исследуемых образцов по кривым температур плавления (n=169)

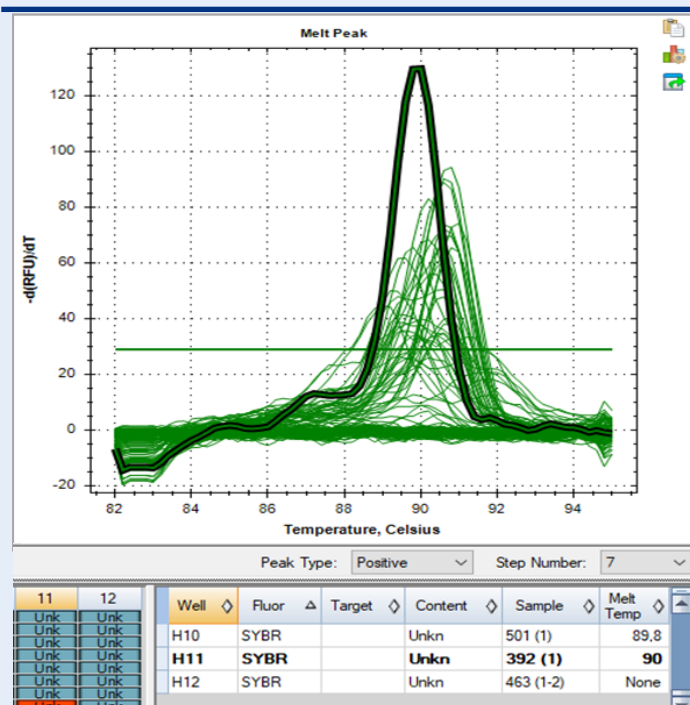


Рисунок 5 – Пример результатов HRM-анализа исследуемых образцов (96 исследуемых образцов, положительные образцы в виде сигмоидных кривых)

Результаты HRM-анализа исследуемых образцов представлены также в виде электрофореграммы (рисунок 6).

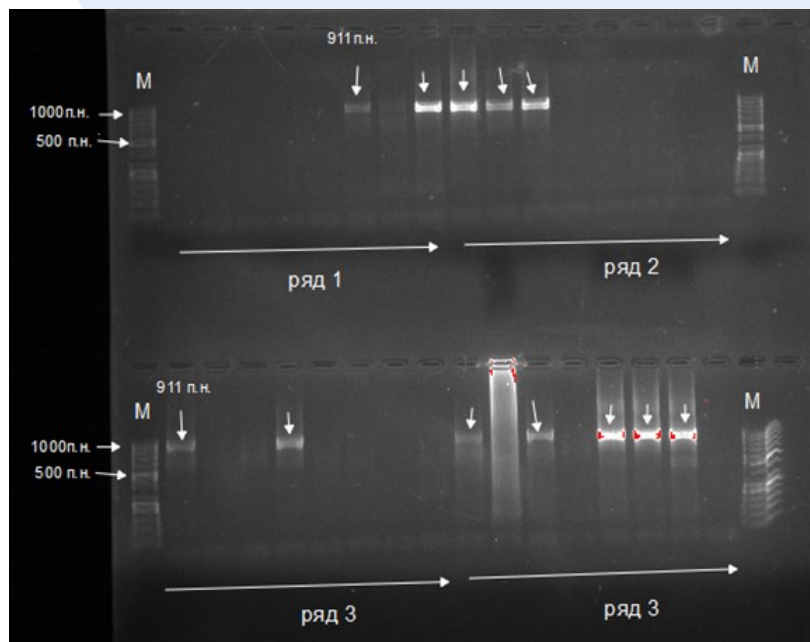


Рисунок 6 – Электрофореграмма исследуемых положительных проб (обозначены короткими стрелками)

Из 169 положительных проб HRM+ (41 %), где выявили генетические маркеры сем. *Pasteurellaceae*, в 114 случаях (68 %) получен положительный результат из патматериала, в 22 (13 %) – из носовой слизи, в 16 (10 %) – из фекалий, 3 % – из сыворотки, 11 % – из других образцов. В 245 отрицательных пробах HRM– (59,2 %), где не были выявлены генетические маркеры сем. *Pasteurellaceae*, биологический материал был представлен в следующем соотноше-

нии: 160 проб (65 %) – из сыворотки, 36 (15 %) – из фекалий, 25 (10 %) – из патматериала, 8 (3 %) – из носовой слизи и 16 (7 %) – из других образцов.

В 155 пробах материала дополнительно выявляли генетические маркеры респираторных патогенов, вызывающих инфекционный ринотрахеит (ИРТ), парагрипп-3 (ПГ-3), вирусную диарею (ВД), респираторно-синцитиальную инфекцию (РСИ), коронавирусную инфекцию (Коро-

на) и микоплазмоз (*Mycoplasma species*). В 76 пробах выявлены генетические маркеры сем. *Pasteurellaceae*, 43 пробы (56 %) содержали маркеры других патогенов: *Mycoplasma species* – 14 случаев (наиболее часто), ИРТ – 9, ВД и Корона – по 6, РСИ – 5, ПГ-3 – 3. В 79 пробах генетические маркеры *Pasteurellaceae* отсутствовали, при этом 39 проб (49 %) содержали маркеры следующих патогенов: ПГ-3 – 17 случаев (максимальная частота), *Mycoplasma species* – 11 (второе место), ИРТ – 6, Корона – 3, ВД – 2, РСИ – 1. Таким образом, при выявлении генетических маркеров сем. *Pasteurellaceae* чаще всего выявлялись микоплазмы и ИРТ, также значимо присутствовали ВД и коронавирус. Там, где маркеры сем. *Pasteurellaceae* не выявили, преобладал ПГ-3. Его доминирование на фоне отсутствия бактериальных патогенов объясняется тем, что вирус менее патогенен и реже ассоциируется с тяжелыми бактериальными осложнениями на фоне ИРТ, ВД и РСИ, которые вызывают еще и иммуносупрессию, достаточную для развития вторичной бактериальной колонизации [3, 5].

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что нуклеотидные участки, которые фланкируют используемые праймеры, пригодны для выявления внутри- и межвидовой вариабельности бактерий сем. *Pasteurellaceae*.

2. В результате ПЦР-исследования 414 образцов из 93 сельскохозяйственных комплексов Республики Беларусь выявлено 169 генетических маркеров, принадлежащих бактериям сем. *Pasteurellaceae*.

3. По кривым температур плавления выявлено 18 групп с диапазоном температур 5 °С – от 87,4 °С до 92,4 °С, что свидетельствует о генетической вариабельности бактерий. Полученные данные о температурных профилях позволяют выделить перспективные образцы для углубленного филогенетического анализа. Анализ этих вариабельных областей с помощью секвенирования ДНК позволит в дальнейшем выявить видовое и внутривидовое разнообразие бактерий семейства *Pasteurellaceae*. Филогенетический анализ может помочь идентифицировать новые, ранее неизвестные штаммы или виды сем. *Pasteurellaceae*, которые могут обладать высоким потенциалом патогенности.

4. Совместное выявление *Pasteurellaceae* и вирусов (ИРТ, ВД) в 56 % случаев подтверждает значимость комплексного подхода при диагностике респираторных заболеваний КРС.

5. Результаты исследования свидетельствуют о сложном характере респираторных инфекций КРС в Беларуси и необходимости учета возможных микс-инфекций при диагностике, лечении и специфической профилактике.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Aktories, K. *Pasteurella multocida Molecular Biology, Toxins and Infection* / K. Aktories, J. H. C. Orth, B. Adler // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2012. – Vol. 361. – P. 140.
2. Blackall, P. J. *Reclassification of Pasteurella trehalosi as Bibersteinia trehalosi gen. nov., comb. nov.* / P. J. Blackall, A. M. Bojesen, H. Christensen. – 2007. – P. 1–8.
3. Caswell, J. L. *Mycoplasma bovis in Respiratory Disease of Feedlot Cattle* / J. L. Caswell, K. G. Bateman, H. Y. Cai // *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. – 2010. – Vol. 26, № 2. – P. 365–379.
4. Christensen, H. *Prediction of Mannheimia haemolytica serotypes based on whole genomic sequences* / H. Christensen // *Veterinary Microbiology*. – 2021. – Vol. 262. – P. 10–32.
5. Ellis, J. A. *Update on viral pathogenesis in BRD* / J. A. Ellis // *Animal Health Research Reviews*. – 2009. – Vol. 10, № 2. – P. 149–153.
6. Inzana, T. J. *Histophilus somni. Biology, Molecular Basis of Pathogenesis, and Host Immunity* / T. J. Inzana // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2016. – Vol. 396. – P. 158.
7. Kaoud, H. A. E.-S. *Bovine Respiratory Disease in Feedlot Cattle: Antimicrobial Resistance in Bovine Respiratory Bacterial Pathogens and Alternative Antimicrobial Approaches* / H. A. E.-S. Kaoud // *Bacterial Cattle Diseases*. – 2019. – P. 16. – DOI: 10.5772/intechopen.81718.
8. Капустин, А. В. *Пастереллез крупного рогатого скота, вызванный Mannheimia haemolytica* / А. В. Капустин, А. И. Лайшевцев // *Российский журнал сельского хозяйства и социально-экономических наук*. – 2016. – Т. 52, № 4. – С. 3–12.

УДК 619:578.822.2:636.4(476)

Би Кайсюань, аспирант¹Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент²¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СВИНЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И ЕЕ ДИАГНОСТИКА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Резюме

Проведенные исследования показали серопозитивность стад в Республике Беларусь на уровне 96,2 %, при этом было выявлено 21,8 % положительных проб патологического материала на наличие генома парвовируса свиней. Подобранные олигонуклеотиды для выявления генома парвовируса свиней в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени обладают высокой специфичностью и чувствительностью на уровне 43 пг/мл вирусной ДНК.

Ключевые слова: парвовирус свиней, диагностика, полимеразная цепная реакция, распространение, серопозитивность.

Summary

The conducted studies showed seropositivity of herds in the Republic of Belarus at the level of 96,2 %, while 21,8 % of positive samples of pathological material for the presence of the porcine parvovirus genome were detected. The designed oligonucleotides for detection of the porcine parvovirus genome in the real time polymerase chain reaction have high specificity and sensitivity at the level of 43 pg/ml of viral DNA.

Keywords: swine parvovirus, diagnostics, polymerase chain reaction, spread, seropositeness.

Поступила в редакцию 14.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Свиной парвовирус (PPV), представитель семейства *Parvoviridae*, остается одной из ключевых причин репродуктивных потерь в промышленном свиноводстве. Статистические данные показывают, что в эндемичных регионах, таких как Азия и Восточная Европа, до 80 % свиноматок имеют серопозитивный статус по отношению к PPV [1]. Это напрямую связано с клиническими проявлениями, включая мумификацию плодов (15–30 % случаев) и спорадические аборт [3]. Высокая устойчивость вируса во внешней среде способствует его передаче через контаминированные корма, оборудование и транспортные средства, что осложняет меры контроля [1].

Экономический ущерб от PPV усугубляется его способностью к синергетическим взаимодействиям с другими патогенами, например с вирусом репродуктивно-респираторного синдрома (PRRSV) и

цирковирусом свиней типа 2 (PCV2). Исследования демонстрируют, что коинфекция PPV и PRRSV на 40 % повышает риск антенатальной гибели плодов по сравнению с изолированной инфекцией, что подчеркивает необходимость комплексных диагностических подходов [2, 4].

На современном этапе ведения промышленного свиноводства профилактика болезней, наносящих существенный экономический ущерб, стала неотъемлемой частью ветеринарных мероприятий. Парвовирусная инфекция свиней не является исключением, и ее профилактика обязательна для всех свинокомплексов Республики Беларусь.

Целью настоящей работы явилась разработка метода диагностики парвовирусной болезни свиней методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ и на кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ.

Для оценки распространенности парвовирусной инфекции свиней использовали результаты диагностических исследований, выполненных в УО ВГАВМ в период 2018–2022 гг.

Для анализа генома использовались полногеномные последовательности штаммов парвовируса свиней (ПВС) из банка нуклеотидных последовательностей Национального центра биотехнологической информации (GenBank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Для подбора и анализа праймеров и олигонуклеотидных зондов использовали программное обеспечение PCR design tool Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) и SnapGene.

В качестве положительного контроля использовали штамм парвовируса свиней «КМИЭВ-48» (РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»).

Для оценки специфичности метода в качестве положительных образцов использовали ДНК, выделенную из патологического материала (кровь, сыворотка, кусочки паренхиматозных органов от свиней и поросят) с подтвержденным наличием ДНК парвовируса с помощью коммерческих тест-систем, а также гетерогенные штаммы вирусов и бактерий, потенциально инфицирующие свиней: цирковирс 2-го типа (изолят РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»), вирус классической чумы свиней (штамм «КМИЭВ-V113»), вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (штамм «Lena»), вирус болезни Ауески (штамм «ГНКИ»), *Escherichia coli* (штамм «АТСС 25922»), *Salmonella enterica* (штамм «АТСС ВАА-2162»), *Streptococcus suis* (изолят УО ВГАВМ), *Streptococcus pneumoniae* (штамм «АТСС 49619»).

Для выделения ДНК использовали коммерческие наборы для выделения нуклеиновых кислот: «Рибо-Преп», «Рибо-Сорб» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ), «АртДНК» (ООО «АртБиоТех», РБ).

Для оценки чувствительности разработанного метода проводили предварительную очистку парвовируса свиней из культуральной жидкости с помощью полиэтиленгликоля, а после выделения ДНК ее концентрацию определяли флуориметрически с использованием прибора Qubit.

Перевод весовой концентрации в копийную проводили с помощью онлайн-сервиса <https://nebiocalculator.neb.com/>.

Для выявления генома парвовируса свиней использовали коммерческие наборы: «Тест-система для обнаружения парвовируса свиней методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» (ООО «Ветбиохим», РФ) и «ГенТест Парвовирус» (ООО «ПЦР технологии», РБ) в соответствии с инструкциями по их применению. ПЦР ставили в режиме реального времени с использованием амплификатора «RotorGene 3000» в соответствии с инструкцией.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенные серологические исследования показали высокий уровень напряженности иммунитета. Так, при исследовании 238 сывороток крови из 7 свинок-плексов в период 2020–2022 гг. 229 были положительны на наличие специфических антител к ПВС. ПЦР-исследование патологического материала из этих хозяйств (аборт-плоды поросят, сыворотки крови свиней), поступавшего в период 2018–2022 гг., не показывало наличие генома ПВС.

Однако всегда возможны погрешности при вакцинации и снижение эффективности вакцинации на фоне стрессовых факторов, инфекционных болезней, погрешностей кормления и содержания. Подтверждением этому является наличие аборт-плодов и выявление генома ПВС не только в аборт-плодах, но и в сыворотках крови свиноматок. При исследовании нами 156 проб патологического материала от свиней с подозрением на парвовирусную инфекцию (наличие аборт-плодов) из 16 свинок-плексов было выявлено 34 положительные пробы, а также один положительный случай в частном подсобном хозяйстве, где не проводилась вакцинация. Таким образом, несмотря на низкий процент (21,8 %) выявления генома ПВС при абортивной патологии свиней, данный возбудитель сохраняет свою актуальность, в связи с чем требуются эф-

фективные и быстрые методы диагностики. Одним из таких методов является полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), позволяющая в течение 2-3 ч определить наличие генетического материала возбудителя в исследуемых пробах.

Для разработки метода выявления генома ПВС был проведен его анализ, который показал, что генетический материал вируса состоит из одноцепочечной ДНК длиной около 5 тыс. нуклеотидов. Геном ПВС организован из двух основных открытых рамок считывания (ORF):

- ORF1 – кодирует неструктурные белки NS1 и NS2, ответственные за репликацию ДНК и модуляцию клеточного цикла;
- ORF2 – кодирует структурные белки VP1 и VP2, формирующие капсид. VP2, составляющий 90 % капсида, содержит иммунодоминантные эпитопы, что делает его мишенью для диагностических антител.

С помощью программного обеспечения были подобраны праймеры и олигонуклеотидный зонд к гену VP2, ограничивающие фрагмент длиной 89 п.н. Их последовательности отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Последовательности олигонуклеотидов к парвовирусу свиней

Шифр олигонуклеотида	Последовательность	Длина	Температура плавления, °C	GC состав, %
PPVR	AGTGTTCCTTTCCACCAAAAGT	22	63,9	41
PPVF	GCACCAACCTAACAGATGATTTC	24	64,2	42
PPVZ	TGCTGACTCTCCTCAACAACCT	22	67,3	50

Как видно из свойств праймеров, температура их отжига находится примерно на одинаковом уровне, а температура отжига олигонуклеотидного зонда несколько выше, чем у праймеров, что обеспечит достоверный отжиг.

Для оценки специфичности праймеров и подбора оптимальных условий реакции провели постановку ПЦР с заведомо положительным образцом (ДНК из штамма парвовируса свиней) при различных температурно-временных циклах.

Состав реакционной смеси следующий: ArtMix ДНК-полимераза – 12,5 мкл (ООО «АртБиоТех», РБ), праймеры и олигонуклеотидный зонд – по 10 пмоль, деионизированная вода – до 20 мкл, ДНК-матрица – 5 мкл.

В качестве базового температурно-временного цикла использовали следующий: 1 цикл – денатурация при 95 °C – 2 мин;

40 циклов, состоящих из денатурации при температуре 95 °C – 10 с, отжига при температуре 60 °C – 15 с, элонгации при температуре 67 °C – 15 с. Учет флуоресценции проводили после стадии отжига.

В результате постановки реакции было определено, что подобранные пары праймеров и олигонуклеотидный зонд выявляют геном ПВС.

На следующем этапе подбирали оптимальные условия реакции. Для этого провели постановку ПЦР с различными концентрациями праймеров и олигонуклеотидного зонда: по 15 пмоль праймеров и зонда, по 10 пмоль праймеров и 5 пмоль зонда, по 5 пмоль праймеров и зонда. Для каждого условия положительную пробу ставили в 3 повторностях, результат оценивали по пороговому циклу и относительному уровню флуоресценции в конце реакции. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты подбора оптимальной концентрации олигонуклеотидов

Концентрация олигонуклеотидов	Среднее значение порогового цикла	Среднее значение уровня флуоресценции
15 пмоль праймеров и зонда	16,60	0,48
10 пмоль праймеров и зонда	17,52	0,58
10 пмоль праймеров и 5 пмоль зонда	15,83	0,63
5 пмоль праймеров и зонда	15,85	0,49

Полученные результаты показали, что при всех концентрациях удается получить положительный результат. Изменение концентрации олигонуклеотидов несущественно влияет на значение порогового цикла – для всех условий он находится на уровне 15–17 циклов. Уровень флуоресценции при этом подвержен большей вариабельности: от 0,48 до 0,63 относительных единиц флуоресценции (ОЕФ).

Таким образом, оптимальной была выбрана концентрация олигонуклеотидов 10 пмоль праймеров и 5 пмоль зонда, при

которой отмечается наименьший пороговый цикл и наиболее высокий уровень флуоресценции.

Оптимизацию температурно-временных циклов проводили путем постановки ПЦР при различных температурах отжига праймеров и длительности отдельных этапов цикла. Концентрацию олигонуклеотидов использовали из результатов подбора оптимальной концентрации. Условия отработки и результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты подбора оптимальных температурно-временных циклов

Условия реакции	Среднее значение порогового цикла	Среднее значение уровня флуоресценции	Время реакции, мин
95 °C – 10 с 58 °C – 15 с 67 °C – 15 с	16,39	0,64	73
95 °C – 10 с 59 °C – 15 с 67 °C – 15 с	16,57	0,62	72
95 °C – 10 с 61 °C – 15 с 67 °C – 15 с	16,46	0,58	70
95 °C – 10 с 62 °C – 15 с 67 °C – 15 с	16,56	0,55	69
95 °C – 10 с 60 °C – 15 с	17,52	0,58	60

Примечание – реакция включала 40 циклов с 1 циклом предварительной денатурации при температуре 95 °C – 2 мин

Как видно из таблицы 3, уровень флуоресценции практически при всех условиях проведения реакции находится на одинаковом уровне – 0,55–0,64. Несколько хуже реакция идет при температуре 62 °C, но даже этот уровень приемлем для достоверной оценки результатов.

Что касается значения порогового цикла, то все трехстадийные ПЦР имеют практически одинаковое значение, а двухстадийная отстает от них примерно на 1 цикл.

Таким образом, проведенный опыт показал, что оптимальными условиями проведения реакции является трехстадийная ПЦР с отжигом в диапазоне 58–62 °C.

Для оценки чувствительности метода была поставлена ПЦР с десятикратными

разведениями двух образцов выделенной ДНК парвовируса (таблица 4). Исходя из представленных данных, чувствительность разработанного метода составляет в среднем 43 пг/мл.

Для перевода пг/мл в копии на мл использовали последовательность генома парвовируса свиней и полученную чувствительность. В результате получили соответствие 43 пг/мл 8×10^3 копий/мл.

Для оценки специфичности разработанного метода была проведена ПЦР с использованием ДНК из положительного и отрицательного на наличие парвовируса свиней патологического материала, гетерогенных штаммов вирусов и бактерий, потенциально инфицирующих свиней. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 4 – Оценка чувствительности метода выявления парвовируса свиней

Концентрация ПВС в исходном образце № 1, г/мл	Результат реакции	Концентрация ПВС в исходном образце № 2, г/мл	Результат реакции
$3,0 \times 10^{-8}$	положительно	$5,6 \times 10^{-7}$	положительно
$3,0 \times 10^{-9}$	положительно	$5,6 \times 10^{-8}$	положительно
$3,0 \times 10^{-10}$	положительно	$5,6 \times 10^{-9}$	положительно
$3,0 \times 10^{-11}$	положительно	$5,6 \times 10^{-10}$	положительно
$3,0 \times 10^{-12}$	положительно	$5,6 \times 10^{-11}$	положительно
$3,0 \times 10^{-13}$	положительно	$5,6 \times 10^{-12}$	положительно
$3,0 \times 10^{-14}$	сомнительно	$5,6 \times 10^{-13}$	положительно
$3,0 \times 10^{-15}$	отрицательно	$5,6 \times 10^{-14}$	сомнительно
		$5,6 \times 10^{-15}$	отрицательно

Таблица 5 – Выявление генома парвовируса свиней разработанным методом

Наименование образца	Количество	Количество положительных результатов (собственный метод)	Количество положительных результатов (коммерческие тест-системы)
Сыворотка крови	20	8	8
Патологический материал	23	17	17
Штамм парвовируса	1	1	1
Цирковирс 2 типа	1	0	0
Вирус классической чумы свиней	1	0	0
Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней	1	0	0
Вирус болезни Ауески	1	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0
<i>Salmonella enterica</i>	1	0	0
<i>Streptococcus suis</i>	1	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0	0

Как видно из таблицы, разработанный метод выявления генома ПВС позволяет подтверждать наличие генома искомого вируса не только в штаммах данного вируса, но и в патологическом материале, на

уровне специфичности, не уступающем коммерческим тест-системам. При этом выявления гетерогенных вирусов и бактерий, потенциально инфицирующих свиней, не происходит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проводимая в Республике Беларусь обязательная вакцинация против парвовирусной инфекции свиней обеспечила, по результатам наших исследований, серопозитивность стад на уровне 96,2 %. Однако ПЦР-исследования в период 2018–2022 гг. показали наличие 21,8 % положительных проб, что свидетельствует о циркуляции в свинокомплексах Республики Беларусь патогенных штаммов, вызывающих репродуктивную патологию свиней. Разработанный метод выявления генома парвовируса

свиней обладает чувствительностью на уровне 8×10^3 копий/мл (43 пг/мл) вирусной ДНК и позволяет подтверждать наличие генома искомого вируса не только в штаммах данного вируса, но в патологическом материале, не выявляя при этом гетерогенных вирусов и бактерий. Широкий диапазон температуры отжига праймеров, без потери основных качественных показателей реакции (пороговый цикл, уровень флуоресценции) позволит использовать его для разработки мультиплексного метода ПЦР-диагностики.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Максимович, В. В. *Инфекционные болезни свиней* / В. В. Максимович ; Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2 изд., перераб. и доп. – Витебск : Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2011. – 340 с.
2. Мальцева, Б. М. *Смешанное течение репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции свиней* / Б. М. Мальцева // *Ветеринария. Реферативный журнал*. – 2001. – № 1. – С. 230.
3. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals : Porcine Parvovirus*. – Paris : OIE Press, 2020.
4. *Co-infection dynamics of porcine parvovirus and PRRSV in European swine herds* / I. Mészáros [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2019. – 231. – P. 87–94.

ВАКЦИНА ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬГИРОВАННАЯ С АДГЕЗИВНЫМИ АНТИГЕНАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛИБАКТЕРИОЗА ПОРОСЯТ



**ДЛЯ ИММУНИЗАЦИИ
ГЛУБОКО СУПОРОСНЫХ
СВИНОМАТОК И,
ПРИ ПОКАЗАНИЯХ,
ПОРОСЯТ-СОСУНОВ
С 20–30-ДНЕВНОГО
ВОЗРАСТА**

**Штаммы бактерий
ESCHERICHIA COLI
с адгезивными антигенами
F41, K88 (F4), K99 (F5),
987 P (F6), LT-токсоид**

**Защитный титр
колостральных антител
сохраняется у новорожденных
поросят до 30-дневного возраста**



WWW.BIEVM.BY

УДК 619:616-076:079.4:579.873.21

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор¹**Кучвальский М.В.**, кандидат биологических наук^{2,3}**Кривошеева Ж.М.**, кандидат медицинских наук, доцент⁴**Новик Т.П.**, кандидат биологических наук, доцент⁴**Высоцкий А.Э.**, кандидат ветеринарных наук, доцент¹¹Филиал УП «Научно-исследовательский институт “БиоФарм”», г. Минск, Республика Беларусь²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь³Национальная академия наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь⁴УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ

Резюме

В диффузионном тесте исследовали лекарственную чувствительность 34 штаммов микобактерий туберкулеза с дефектной клеточной стенкой (CWD), полученных экспериментально и выделенных из клинического материала с применением специальных стимуляторов роста и питательной среды.

CWD микобактерии туберкулеза были устойчивы к пенициллину, в 92,9–100 % случаев – к стрептомицину, 66,7–100 % – к канамицину, неомицину, ванкомицину и цефалоспорином, но чувствительны к тетрациклину, доксициклину, линезолиду, фторхинолонам, рифампицину, хотя резистентность к ним появлялась уже после 1-2 контактов с препаратами, что необходимо учитывать при разработке новых лекарственных средств, лечении туберкулеза и профилактике латентной туберкулезной инфекции.

Ключевые слова: фенотипическая изменчивость, микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой, лекарственная чувствительность, резистентность, антибиотики.

Summary

The drug sensitivity of 34 strains cell wall deficient mycobacteria tuberculosis obtained experimentally and isolated from clinical samples in a diffusion test with antibiotic discs was studied.

CWD mycobacteria tuberculosis was resistant to penicillin, in 92,9–100 % of cases to streptomycin, 66,7–100 % to kanamycin, neomycin, vancomycin and cephalosporins, but sensitive to tetracycline, doxycycline, linezolid, fluoroquinolones, rifampicin, but resistance to them appeared after 1-2 contacts with drugs, which it should be taken into account when developing new preparations, treating tuberculosis and preventing latent tuberculosis infection.

Keywords: phenotypic variability, mycobacterium tuberculosis with defective cell wall, drug sensitivity, resistance, antibiotics.

Поступила в редакцию 14.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Знание мишеней ингибирования размножения микобактерий туберкулеза и механизмов возникновения у них лекарственной устойчивости необходимы для разработки противотуберкулезных препаратов и эффективной химиотерапии [12, 17]. Одна из причин появления резистентности – фенотипическая изменчивость [1], которую чаще ограничивают образованием персистентов – жизнеспособных, но некультивируемых клеток [21, 23]. Вместе с тем мико-

бактерии туберкулеза могут трансформироваться в осмозависимые L-формы без клеточной стенки [4, 19, 20] и ригидные формы с выраженной, но из-за изменения структуры и состава считающейся дефектной (cell wall deficient, CWD) клеточной стенкой, не способной демонстрировать кислотоустойчивость клеток при окраске по методу Циля-Нильсена и его модификаций [2, 5, 6, 19].

L-формы микобактерий туберкулеза хорошо изучены [4, 13, 19, 20], но к CWD-

формам из-за свойств, по которым их трудно отнести к роду *Mycobacterium* (некислотоустойчивые, слабопатогенные, полиморфные палочки, кокки, коккоиды, дающие рост через 20–24 ч) [2, 5, 6, 16] сложилось скептическое отношение. В то же время их образование – это способ адаптации и сохранения жизнеспособности [5, 6, 7, 8, 20]. Под действием неблагоприятных факторов и летальных стрессов микобактерии туберкулеза могут образовывать защитные спороподобные [15] ультрамелкие формы [5, 6, 7, 8], которые в определенных условиях восстанавливаются в некислотоустойчивые CWD-формы. При химиотерапии микобактерии «исчезают» из тканей, образуя дормантные, защитные и CWD-формы [17, 23], которые не выявляются общепринятыми бактериологическими методами, но, персистируя, могут индуцировать неспецифические альвеолиты, васкулиты, гломерулонефрит [4, 13], легочные осложнения, аутоиммунные процессы, метаболические синдромы [11] и рецидивы болезни [4, 19]. Особый интерес вызывает ассоциация туберкулезной инфекции и персистенции CWD-форм микобактерий с развитием онкологических заболеваний [9, 14, 16, 18, 22, 26, 27]. Замечено, что ряд противоопухолевых препаратов (рапамицин, тамоксифен, блеомицин, доксорубицин, даунорубицин, идарубицин, 6-меркаптопурин, антрациклин, цисплатин) действует и на микобактерии туберкулеза [10], а некоторые антибиотики обладают противоопухолевой активностью и влияют на микобактерии туберкулеза. В частности, азитромицин ингибирует Estrogen Receptor Negative опухоли и в концентрации 32 мкг/мл задерживает рост микобактерий [24]. Противоопухолевая активность доксициклина зависит от типа опухоли, но в концентрации 50–100 мМ он подавляет микобактерии [25]. В связи с этим интерес представляет лекарственная чувствительность CWD-форм микобактерий туберкулеза. Ранее было установлено, что они устойчивы к пенициллину (1000 ЕД/мл), но чувствительны к тетрациклину, канамицину, ампициллину [14, 26]. В последующем из-за отсутствия стабильных методов выделения и культивирования CWD микобактерий исследований их лекарственной чувствительности не проводилось. Лишь с разработкой специальных стимуляторов роста и питательных

сред [2, 3, 6], позволяющих их выделять и культивировать, появилась такая возможность.

Цель исследований – изучение лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза с дефектной клеточной стенкой и развития резистентности к эффективным препаратам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовано 34 культуры некислотоустойчивых CWD микобактерий туберкулезного комплекса:

- экспериментально полученные CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv и CWD *M. bovis* 8;

- 12 изолятов, выделенных из мокроты людей (10 – от лиц с латентной туберкулезной инфекцией, 1 – от больного туберкулезом, 1 – от больного онкологическим заболеванием);

- 10 выделенных из крови людей (6 – от лиц с латентной туберкулезной инфекцией, 2 – от больных туберкулезом и 2 – с онкологическими заболеваниями);

- 4 – из опухолей животных (2 – из лимфосаркоматозного лимфатического узла и селезенки козы, 2 – из аденокарциномы хомяка и крысы) [5];

- 2 – из крови лейкозных коров [18];

- 1 – от мыши, зараженной изолятом из мокроты человека;

- 2 – из культур опухолевых клеток «Jurkat» и «HeLa» [5];

- 1 – из культуры клеток «HeLa», восстановившей жизнеспособность после инактивации фенолом, ультразвуковой дезинтеграции и ультрафильтрации через Amicon Ultracel® 3 K [5];

- 2 – восстановивших жизнеспособность после инактивации *M. bovis* 8 глутаровым альдегидом [8].

CWD *M. bovis* 8 и *M. tuberculosis* H₃₇Rv получали инкубацией родительских штаммов в стимуляторе роста ВКГ (48 ч, 37 °C) [2, 3] и посева на питательную среду MucCel DW [5, 6, 7].

Пробы мокроты деконтаминировали с использованием BBL® MucPrep™ SDDK, гомогенаты опухолевых тканей – 6%-ной щавелевой кислотой. Лизаты культур клеток и гемолизированную кровь получали с соблюдением стерильности и дополнительно фильтровали через Millex GP 0.22 мкм. Подготовленные про-

бы смешивали со стимулятором роста МусСел DW (1:3) [5, 7], выдерживали 24–48 ч при температуре 37 °С, высевали по 0,3 мл на пробирки со средой МусСел DW и до 10 дней инкубировали при температуре 37 °С. При отсутствии видимого роста делали «слепые» пересевы на среде МусСел DW. Препараты для микроскопии изолятов окрашивали по Kinyoun, микроскопию проводили на Olimpus B51X (10×100). Принадлежность изолятов к микобактериям туберкулезного комплекса была установлена в полимеразной цепной реакции с праймерами MPB 64, MPB 70, IS 6110 [5, 6, 7, 8].

Лекарственную чувствительность CWD микобактерий определяли в диффузионном тесте на среде МусСел DW с дисками с антибиотиками для выявления чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) и с растворами рифампицина лиофилизата 150.

Для диффузионного теста в горизонтально установленные одноразовые чашки Петри диаметром 90 мм вносили по 20 мл расплавленной среды МусСел DW. После застывания среды проводили посев, перенося на ее поверхность бактериальную массу изолятов, выращенных на среде МусСел DW, распределяя ее тонким слоем. На засеянную поверхность помещали по

2–3 диска с антибиотиками. Для растворов рифампицина в слое среды вырезали по 2 лунки, в которые вносили разведения 42,5 мкг/85 мкл и 8,5 мкг/85 мкл.

Через 20–22 ч инкубирования посевов при температуре 37 °С измеряли зоны задержки роста. Результатом, указывающим на отсутствие чувствительности к препарату, считали зону подавления роста культуры 18 мм и меньше – среднеарифметический показатель значений для штаммов микроорганизмов с обычными питательными потребностями [28] (в таблицах выделены жирным шрифтом).

Для определения изменения чувствительности к эффективно действующим препаратам проводили повторные тесты (пассажи) с использованием для посева бактериальной массы с границы зон подавления роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv и CWD *M. bovis* 8 оказались устойчивыми к пенициллину и ванкомицину. Кроме того, CWD *M. bovis* 8 был устойчив к стрептомицину и неомоцину, а CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv – к цефалоспорином. К остальным группам антибиотиков, за исключением фторхинолонов и линезолида, их чувствительность также была относительно низкой (таблица 1).

Таблица 1 – Зоны задержки роста (в мм) CWD *M. tuberculosis* и CWD *M. bovis* в диффузионном тесте

Виды	Пенициллин	Стрептомицин	Канамицин	Неомицин	Азитромицин	Тетрациклин	Доксициклин	Линезолид
CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	0	22	21	24	22	23	23	29
CWD <i>M. bovis</i> 8	14	14	20	16	23	19	21	28
Виды	Левифлоксацин	Норфлоксацин	Ципрофлоксацин	Офлоксацин	Цефалотин	Цефазолин	Цефепим	Ванкомицин
CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	37	28	35	29	12	12	16	16
CWD <i>M. bovis</i> 8	31	29	37	28	19	20	19	16

Спектр устойчивости изолятов CWD микобактерий туберкулеза, выделенных от людей и животных (таблица 2), был шире, чем у экспериментально полученных CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv и CWD *M. bovis* 8. Изоляты были резистентны к пенициллину (100 %), 92,9–100 % – к стрептомицину, 66,7–100 % – к канамицину и неомицину, а

также к ванкомицину и цефалоспорином. Вместе с тем у всех изолятов (100 %), так же, как и у CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv и CWD *M. bovis* 8, не отмечено устойчивости к тетрациклину, доксициклину, линезолиду, у большей части изолятов не было устойчивости к фторхинолонам (таблица 2).

Таблица 2 – Устойчивость к антибиотикам CWD микобактерий, выделенных при латентной туберкулезной инфекции, туберкулезе и онкологических заболеваниях (% резистентных изолятов)

Исследовано изолятов	Пени- циллин	Стреп- томицин	Канами- цин	Неоми- цин	Азитро- мицин	Тетра- циклин	Докси- циклин	Лине- золид
от людей с латентной туберкулезной инфекцией								
14	100	92,9	92,9	92,9	35,7	0	0	0
от людей, больных туберкулезом								
3	100	100	66,7	66,7	33,3	0	0	0
от людей с онкологическими заболеваниями								
3	100	100	100	100	100	0	0	0
от животных с онкологическими заболеваниями								
6	100	100	100	100	0	0	0	0
Исследовано изолятов	Левो- флокса- цин	Нор- флокса- цин	Ципро- флокса- цин	Офлок- сацин	Цефа- лотин	Цефа- золин	Цефе- пим	Ванко- мицин
от людей с латентной туберкулезной инфекцией								
14	7,1	0	0	0	92,9	92,9	92,9	100
от людей, больных туберкулезом								
3	33,3	33,3	33,3	0	100	100	100	66,7
от людей с онкологическими заболеваниями								
3	0	0	0	0	66,7	100	100	100
от животных с онкологическими заболеваниями								
6	0	0	0	0	100	100	100	100

Возможно, более высокая устойчивость изолятов от людей и животных связана с воздействием неблагоприятных факторов при персистенции в организме. Это подтверждает то, что если родительские культуры подвергались действию летального фактора, а затем после инкубации в стимуляторе роста и посева восстанавливали жизнеспособность в виде CWD-форм, то проявления устойчивости были более выраженными. Так, CWD *M. bovis* 8, восстановившие жизнеспособность после ле-

тального действия глутарового альдегида, а также после инактивации и нахождения в почве, были устойчивее к действию антибиотиков в сравнении с CWD *M. bovis* 8. Это касалось и изолята, пассированного через организм мыши (таблица 3).

В целом профили чувствительности к антибиотикам изолятов от человека и животных, а также выделенных при разных заболеваниях были похожи (таблица 2, выделенные зоны).

Таблица 3 – Зоны задержки роста в диффузионном тесте (в мм) исходного изолята CWD *M. bovis* 8, восстановивших жизнеспособность CWD *M. bovis* 8, изолятов из мокроты человека («Is sp Ju») и из органов мыши, зараженной этим изолятом («Is Ju Mouse»)

CWD-формы	Пенициллин	Стрептомицин	Канамицин	Неомицин	Азитромицин	Тетрациклин	Доксициклин	Линезолид
<i>M. bovis</i> 8	14	14	20	16	23	19	21	28
<i>M. bovis</i> 8ga	0	17	21	15	19	21	20	20
<i>M. bovis</i> 8gah	0	14	16	18	27	29	19	31
«Is sp Ju»	10	9	17	16	23	23	32	32
«Is Ju Mouse»	0	8	12	13	16	21	27	31
CWD-формы	Левифлоксацин	Норфлоксацин	Ципрофлоксацин	Офлоксацин	Цефалотин	Цефазолин	Цефепим	Ванкомицин
<i>M. bovis</i> 8	31	29	37	28	19	20	19	16
<i>M. bovis</i> 8ga	26	27	36	27	0	12	0	12
<i>M. bovis</i> 8gah	36	27	37	27	0	0	0	10
«Is sp Ju»	27	25	30	32	8	8	8	13
«Is Ju Mouse»	25	26	32	26	11	0	0	11

Лекарственная чувствительность изолятов из культур опухолевых клеток, от людей с онкологическими заболеваниями и лимфосаркоматозных тканей козы была примерно такая же, как и у CWD микобактерий из других источников (таблица 2). Они были устойчивы к пенициллину, стрептомицину, цефалоспорином и ванкомицину, за единичными исключениями – к

канамицину и неомицину, а их рост подавляли доксициклин, линезолид и фторхинолоны (таблица 4). Изоляты из культур опухолевых клеток и опухолевых тканей, в отличие от изолятов людей с онкологическими заболеваниями, были чувствительны к азитромицину, а изоляты от людей и опухолей были чувствительны к тетрациклину (таблица 4).

Таблица 4 – Диаметры зон задержки роста (в мм) изолятов из опухолевых тканей и крови больных онкологическими заболеваниями

CWD-изоляты	Пенициллин	Стрептомицин	Канамицин	Неомицин	Азитромицин	Тетрациклин	Доксициклин	Линезолид
1	2	3	4	5	6	7	8	9
из культур опухолевых клеток								
«Is Jurkat»	8	11	22	16	22	21	23	29
«Is HeLa»	12	14	15	19	22	16	20	30
«Is HeLa 3kDa»	0	8	18	14	22	16	19	26
от людей с онкологическими заболеваниями								
«Is sp Li мокрота»	0	0	0	14	9	20	33	33
«Is D кровь»	16	17	0	10	0	28	21	31
«Is M кровь»	0	0	0	12	13	19	21	28
от козы, павшей от лимфосаркомы								
Из лимфатического узла	10	16	15	12	19	19	19	25
Из селезенки	8	16	15	11	27	20	33	33

Продолжение таблицы 4

CWD-изоляты	Левифлоксацин	Норфлоксацин	Ципрофлоксацин	Офлоксацин	Цефалотин	Цефазолин	Цефепим	Ванкомицин
1	2	3	4	5	6	7	8	9
из культур опухолевых клеток								
«Is Jurkat»	28	23	40	28	0	0	9	15
«Is HeLa»	36	21	36	27	0	0	12	14
«Is HeLa 3kDa»	32	25	34	25	0	0	11	15
от людей с онкологическими заболеваниями								
«Is sp Li мокрота»	35	30	30	33	0	0	8	7
«Is D кровь»	20	29	25	23	20	0	11	12
«Is M кровь»	23	22	30	25	13	15	9	9
от козы, павшей от лимфосаркомы								
Из лимфатического узла	32	28	31	32	12	12	15	15
Из селезенки	33	29	30	31	12	12	16	14

Несмотря на то, что CWD микобактерии туберкулеза были чувствительны к ряду антибиотиков, резистентность к ним развивалась очень быстро и проявлялась после 2 контактов с препаратом (в III пассаже в диффузионном тесте, таблица 5). Это касалось и рифампицина, широко применяемого при лечении туберкулеза. У исследованных изолятов из крови онкобольного («Is D») и из культуры Т-лимфоцитов боль-

ного Т-лимфобластной лейкемией («Is Jurkat») устойчивая к рифампицину популяция клеток появлялась уже после первого контакта (таблица 5, рисунок – черные стрелки, указывающие на рост колоний в зоне задержки роста), а после второго контакта уже все клетки были резистентны (таблица 5, рисунок, III пассаж, отсутствие зоны задержки роста).

Таблица 5 – Зоны задержки роста (в мм) CWD *M. bovis* 8gah (восстановившего жизнеспособность после инактивации глутаровым альдегидом), изолятов из крови больного онкологическим заболеванием («Is D») и культуры Т-лимфоцитов больного Т-лимфобластной лейкемией («Is Jurkat») в I, II, III пассаже в диффузионном тесте

CWD изолят	Тетрациклин			Линезолид			Марбофлоксацин			Рифампицин*		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
<i>M. bovis</i> 8gah	29	22	12	31	26	16	37	20	13	-	-	-
«Is D»	28	19	0	31	20	0	40	21	14	31/21	15/8	0/0
«Is Jurkat»	21	0	-	29	23	8	35	22	15	22/15	14/10	0/0

Примечание – *числитель – концентрация 42,5 мкг/85 мкл, знаменатель – 8,5 мкг/85 мкл

Контакт с антибиотиками усиливал проявления характерного для CWD микобактерий полиморфизма [5, 7] (таблица 6).

Исходя из того, что на границе зоны задержки роста находятся наиболее устойчивые формы, можно предположить, какие механизмы действия антибиотиков у них блокируются. Полученный в эксперименте штамм CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv был представлен округлыми «пустыми» формами, короткими палочками с 1 зерном и колбовидными формами, слабоокрашен-

ными толстоватыми палочками (таблица 6). Пенициллин и цефаклор существенно не влияли на форму клеток и их соотношение. Под действием цефалотина исчезали «пустые» колбовидные формы и слабоокрашенные толстоватые палочки. Т.е. оставались формы, противостоявшие нарушению синтеза пептидогликанового слоя клеточной стенки, которые вызывают бета-лактамы антибиотиков. Наиболее устойчивыми были короткие палочки с 1-2 вставками и пустые с 1 зерном.

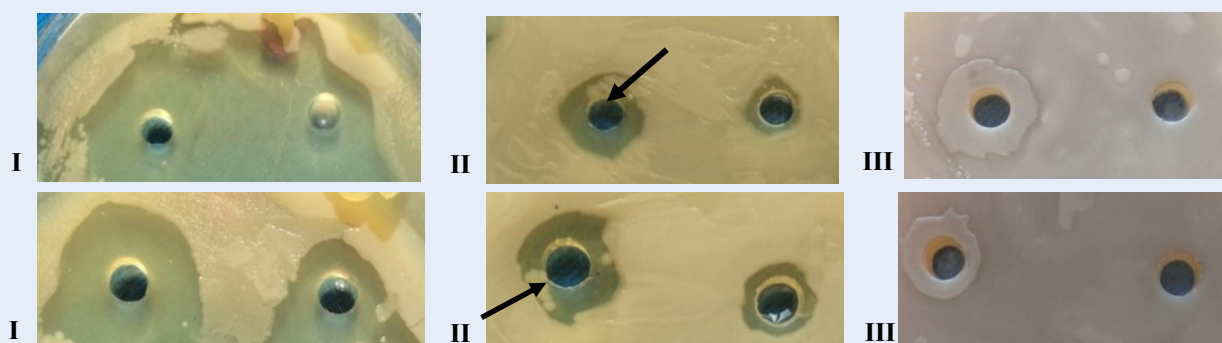
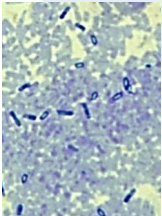
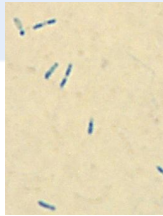
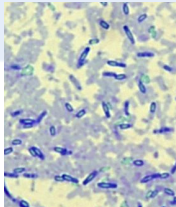
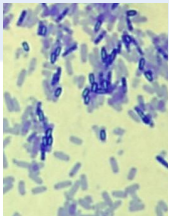
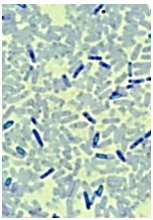
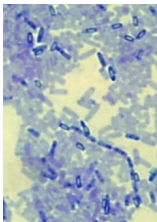
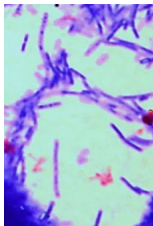
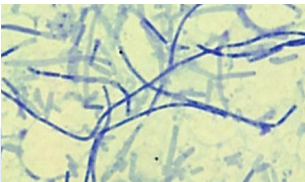
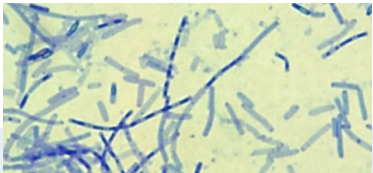


Рисунок – Действие рифампицина (42,5 мкг/85 мкл и 8,5 мкг/85 мкл) на CWD микобактерии туберкулеза из крови больного онкологическим заболеванием («Is D») и из культуры Т-лимфоцитов больного Т-лимфобластной лейкемией («Is Jurkat») в I, II, III пассажах в диффузионном тесте

Существенно не влияли на клеточный состав амоксициллин, также нарушающий синтез пептидогликанов, и стрептомицин, связывающийся с 30S-субъединицей

рибосом и угнетающий синтез белка. В последнем случае дополнительно появлялись цепочки клеток.

Таблица 6 – Морфология CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv при воздействии антибиотиков (10×100)

Исходный штамм	Морфология резистентных форм (задержка роста 0–12 мм)			
	цефалотин	цефаклор	пенициллин	
				
Морфология при умеренной чувствительности (задержка роста 17–23 мм)				
амоксициллин	стрептомицин	азитромицин	канамицин	тетрациклин
				
Формы при эффективном действии (задержка роста 35–37 мм)				
левофлоксацин		ципрофлоксацин		
				

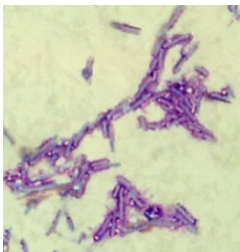
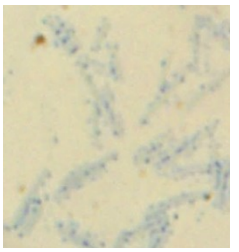
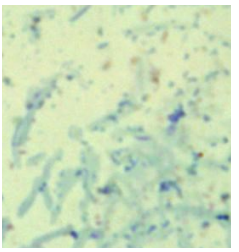
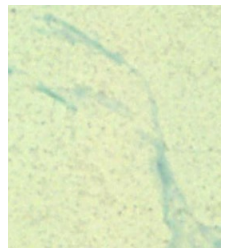
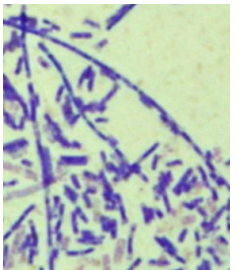
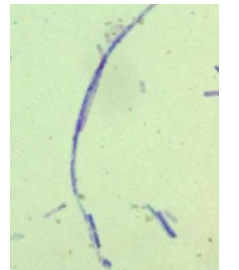
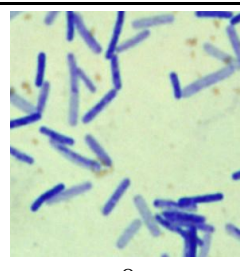
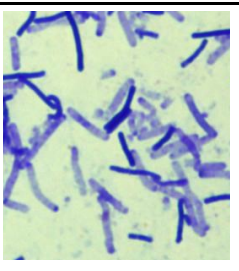
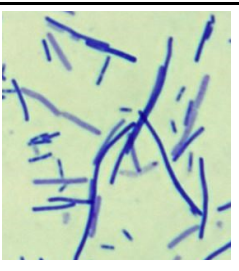
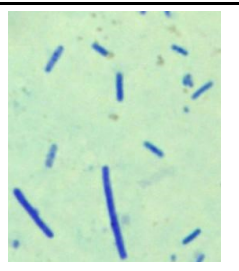
Более выраженное действие на клеточный состав оказывали азитромицин, канамицин, тетрациклин, подавлявшие синтез белка за счет связывания с 50S- и 30S-субъ-

единицами рибосом и нарушавшие образование комплекса между транспортной РНК и рибосомой. Под их действием исчезали короткие слабоокрашенные палочки и по-

являлись длинные слабоокрашенные и длинные зернистые палочки, в том числе образующие длинные «пустые» формы, но оставались короткие палочки с 1-2 «вставками» и «пустые» с 1 зерном, а также возрастала кислотоустойчивость клеток (появлялся красноватый оттенок, таблица 6). Под действием фторхинолонов преимущественно росли длинные слабоокрашенные и с выраженной окраской палочковидные формы, частично сохранялись и короткие палочки со вставками, и короткие слабоокрашенные формы. Фторхинолоны ингибируют ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, что нарушает репликацию ДНК и, соответственно, деление клеток. При контакте с ними часть популяции CWD микобактерий не размножалась или погибала, так как образовывались большие зоны задержки роста, но выживавшие клетки становились

очень длинными, т.е. росли, но не делились из-за нарушения репликации ДНК. Однако при пересеве они распадались на короткие резистентные полиморфные палочковидные формы, которые росли на среде с фторхинолонами, у них уже появлялся механизм противодействия, похоже, не связанный с определенной формой клеток. Так, на изоляты из опухолей при первом контакте антибиотика оказывали сильное действие, вызывая деградацию клеток, появление зернистости и нитевидных форм (таблица 7, I ряд). Но во II пассаже с ростом резистентности контактировавшие с антибиотиком клетки имели незначительные признаки деградации (таблица 7, II ряд). В III пассаже (таблица 7, III ряд) наблюдался типичный для CWD микобактерий туберкулеза полиморфизм и клетки не имели признаков деградации.

Таблица 7 – Изменение морфологии изолята из лимфогранулематозного лимфатического узла козы при пассажах в диффузионном тесте и зоны задержки роста (в мм), 10×100

Пассаж	Азитромицин	Доксициклин	Ципрофлоксацин	Левифлоксацин
I	 19	 19	 35	 32
II	 12	 11	 23	 20
III	 8	 7	 15	 12

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансформация микобактерий туберкулеза в формы с дефектной клеточной стенкой (CWD-, L-) – способ выживания возбудителя при воздействии неблагоприятных и летальных факторов, включая химиотерапию.

Большинство изученных культур CWD микобактерий туберкулеза были устойчивы к действию пенициллина, стрептомицина, канамицина, неомицина, ванкомицина и цефалоспоринов. В их популяциях присутствовали клетки, имеющие механизмы, предотвращающие действие антибиотиков, нарушающих синтез пептидогликанов, подавляющих синтез протеинов, влияющих на проницаемость цитоплазматической мембраны и синтез РНК.

На CWD микобактерии туберкулеза действуют тетрациклин, доксициклин, линезолид, азитромицин (не на все штаммы), фторхинолоны и рифампицин, подавляю-

щие синтез белка за счет связывания с 30S-, 50S-, 70S-субъединицами рибосом и нарушающие образование комплекса между транспортной РНК и рибосомами, влияющие на конформацию и репликацию ДНК.

Резистентные популяции клеток CWD микобактерий туберкулеза к эффективно действующим антибиотикам появляются уже после первого контакта с препаратами, а после второго контакта большинство клеток становится резистентными, что делает проблематичной эффективную химиопрофилактику латентной туберкулезной инфекции и осложнений, связанных с персистенцией CWD микобактерий туберкулеза.

При разработке новых противотуберкулезных препаратов необходимо изучать эффективность их действия на CWD-формы микобактерий туберкулеза и риск быстрого развития резистентности.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Фенотипическая пластичность бактерий как стратегия резистентности и объект современных антимикробных технологий (обзор) / Б. Г. Андрюков [и др.] // *Современные технологии в медицине*. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 164–182.
2. Власенко, В. В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности / В. В. Власенко. – Винница : Гипанис, 1998. – 240 с.
3. Живильне середовище «Влаконт» для експрес-діагностики туберкульозу / В. В. Власенко [и др.] // *Науковий вісник Львівської Національної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького*. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 56–60.
4. Дорожкова, И. Р. Скрыто протекающая туберкулезная инфекция / И. Р. Дорожкова, З. С. Земскова. – М. : Медицина, 1984. – 222 с.
5. Кучвальский, М. В. Микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой: выделение из различных источников, биологические свойства : дисс. ... канд. биол. наук: 06.02.02 / Максим Владимирович Кучвальский. – Минск : РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», 2024. – 148 л.
6. Лысенко, А. П. Изучение термической устойчивости микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко, А. П. Лемши, Е. Л. Красникова // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. – 2007. – № 2. – С. 42–46.
7. Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез – глобальная катастрофа человечества : материалы I Междунар. заочной науч.-практ. конф., 24 марта 2014 г. / Ростов н/Д : РостГМУ, 2014. – С. 176–198.*
8. Инактивированные микобактерии туберкулеза могут восстанавливать жизнеспособность в почве в виде некислотоустойчивых форм / А. П. Лысенко [и др.] // *Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария*. – 2024. – № 1. – С. 57–66.
9. Association of Mycobacterium tuberculosis L-form mpb64 gene and lung cancer / M. Abudurehman [et al.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2019. – Vol. 23, № 1. – P. 113–120.
10. Broxmeyer, L. Cancer and the Science of Denial – with Breast Cancer/Long Island Breast Cancer / L. Broxmeyer // *Journal of Tumor Medicine and Prevention*. – 2017. – Vol. 1, № 3. – P. 1–25.
11. Chai, Q. Mycobacterium tuberculosis: An Adaptable Pathogen Associated With Multiple Human Diseases / Q. Chai, Y. Zhang, C.H. Liu // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2018. – Vol. 8. – P. 158.

12. Cole, S. T. New tuberculosis drugs on the horizon / S. T. Cole, G. Riccardi // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2011. – Vol. 14, № 5. – P. 570–576.
13. Dienes, L. Further Observations on the L Organism of Klieneberger / L. Dienes, H. J. Weinberger // *Bacteriological Review.* – 1951. – Vol. 15. – P. 245–288.
14. Diller, I. Experiments with mammalian tumor isolates / I. Diller // *Ann NY Acad Sci.* – 1970. – № 174. – P. 655–674.
15. Sporulation in mycobacteria / J. Ghosh [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2009. – Vol. 106, № 26. – P. 10781–10786.
16. Tefu, H. G. Lin. Mycobacterium tuberculosis L-forms / H. G. Tefu Lin // *Microbial Ecology in Health and Disease.* – 1999. – Vol. 10, № 3–4. – P. 129–133.
17. Kim, J.-H. A genetic strategy to identify targets for the development of drugs that prevent bacterial persistence / J.-H. Kim, K. M. O'Brien, R. Sharma // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110. – P. 19095–19100.
18. Further evidence for cancer as cell-wall-deficient mycobacterial disease / A. P. Lysenko [et al.] // *Journal of Molecular Pathological Epidemiology.* – 2016. – Vol. 1, № 1. – P. 1–12.
19. Mattman, L. H. Cell wall deficient forms: stealth pathogens / L. H. Mattman. – 3rd ed. – Boca Raton : CRC Press, 2001. – 416 p.
20. Markova, N. Unique biological properties of Mycobacterium tuberculosis L-form variants : impact for survival under stress / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // *International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology.* – 2012. – Vol. 15, № 2. – P. 61–68.
21. Salina, E. G. Mycobacterium tuberculosis Dormancy: How to Fight a Hidden Danger / E. G. Salina, V. Makarov // *Microorganisms.* – 2022. – № 10 (12). – P. 2334.
22. Clinical end-points associated with Mycobacterium tuberculosis and lung cancer: implications into host-pathogen interaction and coevolution / Y. Tian [et al.] // *BioMed Research International.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9.
23. Tuberculosis: The success tale of less explored dormant Mycobacterium tuberculosis / A. Verma [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 1–15.
24. Doxycycline and HIV infection suppress tuberculosis-induced matrix metalloproteinases / N. F. Walker [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2012. – Vol. 185 (9). – P. 989–997.
25. Watt, B. Comparative activity of azithromycin against clinical isolates of mycobacteria / B. Watt, A. Rayner, G. Harris // *J. Antimicrob. Chemother.* – 1996. – Vol. 38 (3). – P. 539–542.
26. Wuerthele-Caspe, V. Mycobacterial forms observed in tumor / V. Wuerthele-Caspe // *Am. Med. Women Assoc.* – 1949. – Vol. 4. – P. 135–141.
27. Tian, Y. Detection of Mycobacterium tuberculosis L-forms and mpb64 gene in breast cancer tissues / Y. Tian, X. K. Cui, T. Hao // *J. of Practical Medicine.* – 2013. – № 15. – P. 45–46.
28. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания МУК 4.2.1890-04: введены 4 марта 2004 г. – М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

Пероксисорбофит

СУХОЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ
СРЕДСТВО

НОВИНКА!

ОБЛАДАЕТ ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ
БАКТЕРИАЛЬНОЙ, ВИРУСНОЙ И ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

ПРИМЕНЯЕТСЯ:

- ▶ в родильных помещениях, при отъеме молодняка от маток, а также в период перевода молодняка в другие помещения
- ▶ в качестве подстилки в репродукторах, маточниках на свиноводческих и птицеводческих объектах



WWW.BIEVM.BY



УДК 619:[578.834.1+579.843.95]:636.934.57

Каяк Ю.А., аспирант

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь

ПОДБОР АДЬЮВАНТОВ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-CoV-2, И ПАСТЕРЕЛЛЕЗА НОРОК

Резюме

В статье приведены результаты испытаний лабораторных образцов вакцины «Ковпаст» на лабораторных животных в процессе подбора оптимальных адъювантов при конструировании биопрепарата. Установлено, что при разработке вакцины для профилактики коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, и пастереллеза норок более высокие показатели иммуногенности были получены при применении геля гидрата окиси алюминия в 15%-ной концентрации и при соотношении пастереллезного и коронавирусного компонентов 1:2.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, пастереллез, адъюванты, образцы вакцин, кролики, антигены, антитела, иммуногенная активность.

Summary

The article presents the results of testing laboratory samples of the «Kovpaste» vaccine on laboratory animals in the process of selecting optimal adjuvants when constructing a biopreparation. It was found that when developing a vaccine for the prevention of coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus and mink pasteurellosis, higher immunogenicity rates were obtained when using aluminum hydroxide gel at a 15 % concentration and a ratio of pasteurellosis and coronavirus components of 1:2.

Keywords: coronavirus infection, SARS-CoV-2, pasteurella, adjuvants, vaccine samples, rabbits, immunogenic activity.

Поступила в редакцию 14.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ заболеваемости пушных зверей в последние годы выявил, что наибольший урон отрасли наносят так называемые факторные инфекции, преимущественно поражающие молодых особей и проявляющиеся диареей и респираторными симптомами. Большинство специалистов сходятся во мнении, что ключевым элементом борьбы с этой группой заболеваний является специфическая профилактика. Вакцинация позволяет достичь определенного уровня стадного иммунитета, что снижает циркуляцию возбудителя и защищает отдельных животных [1].

Стандартная технология производства противовирусных вакцин предусматривает использование вирусов, культивированных на клеточной культуре, с последующей инактивацией. Некоторые вирусы обладают низкой активностью и накапливаются в культуре клеток в небольших количествах. В этом случае для концентрации и очистки от примесей применяют центрифугирование.

Для повышения эффективности вакцины в инактивированную вирусную суспензию добавляют адъюванты, что позволяет получить высокоактивный препарат. В зависимости от вида животных, их возраста, пола и технологии содержания, как правило, предполагается иммунитет 6–12 месяцев и более [1].

Для усиления антигенной активности биопрепаратов также используются рекомбинантные антигены. При одновременном введении антигена с адъювантами наблюдается существенное увеличение иммунного ответа как по количеству антителообразующих клеток, так и по титру антител. Однако такая вакцинация не гарантирует продолжительной иммунной защиты.

В медицинской и ветеринарной практике широкое распространение получили соли алюминия (гидроокись алюминия, фосфат алюминия, алюмокалиевые квасцы) в качестве адъювантов. Наиболее часто антиген смешивают с заранее сформированными гелями $Al(OH)_3$ или Al

РО4. Вакцины, приготовленные с использованием таких адъювантов, именуются сорбированными или адсорбированными. Многие адсорбированные вакцины демонстрируют достаточную антигенность у людей при первичной иммунизации. Ввиду их умеренной эффективности и безопасности данные вакцины пользуются предпочтением в медицинской практике.

В последнее время в практику введен новый тип адъюванта – на основе минеральных и неминеральных масел и их смесей. При его использовании предварительно растворенный или суспендированный в воде антиген тонко диспергируют в масле, образуя эмульсию типа «вода в масле», где капельки воды с антигеном находятся в масляной фазе.

Несмотря на свою эффективность, вакцины на основе масляных адъювантов обладают рядом недостатков, таких как токсичность, высокая вязкость и недостаточная стабильность. Для преодоления этих проблем в состав вакцин был включен гидрофильный эмульгатор твин-80, используемый в концентрации 1–5 % (об./об.).

Введение животным эмульсии «антиген-адъювант» приводит к образованию гранулемы в месте инъекции. Гранулема стимулирует активность макрофагов и лимфоцитов, что усиливает иммунный ответ. Однако в связи с длительным сохранением гранул подобные адъюванты противопоказаны для применения у человека.

Использование некоторых масляных адъювантов, содержащих арласел А, было прекращено из-за выявления его канцерогенных свойств. Вакцины на основе водно-масляной эмульсии обычно вводят животным внутримышечно. Метаболические особенности минерального масла обуславливают длительное удержание капель эмульсии с антигеном в месте инъекции.

В целях компенсации ограничений минеральных адъювантов в качестве альтернативы были исследованы растительные масла. Адъювант на основе высокоочищенного арахисового масла с добавлением глицерина и лецитина в качестве эмульгатора продемонстрировал низкую реактогенность и достаточную эффективность в вакцинах для животных.

Существуют данные о потенциальной эффективности двойных эмульсий

(вода-масло-вода), полученных путем повторного эмульгирования простых эмульсий (вода в масле) в растворах детергента твин-80. Установлено, что по своим адъювантным свойствам они превосходят традиционные гидроокиси алюминия (ГОА). Это было подтверждено при оценке иммуногенных свойств инаktivированных эмульгированных вакцин против ящура, везикулярной болезни, болезни Тешена и Ауески в сравнении с вакцинами, содержащими ГОА.

Однако основной недостаток водно-масляных эмульсий – их нестабильность, высокая реактогенность и склонность к образованию абсцессов в месте инъекции – значительно ограничивают их практическое применение.

В особенности это относится к высокореактогенному препарату «Маркол». Аналогичная ситуация наблюдается с монтанидами (например, ISA 70 и др.), созданными на основе минеральных масел. К сожалению, в Республике Беларусь пока отсутствуют монтаниды на основе синтетических масел, несмотря на многочисленные запросы на их поставку со стороны компании «Seppic» и ее российских представителей. В звероводстве масляные вакцины не получили широкого распространения.

Формирование стойкого и длительного иммунитета у плотоядных животных, в том числе норок, при вакцинации против вирусных заболеваний зависит от множества факторов: состояния здоровья животного, количества и качества антигена в препарате, метода вакцинации (дозировка, место введения и др.), а также от правильного выбора и использования неспецифических стимуляторов иммуногенеза – адъювантов.

Эффективность адъювантов определяется исходным иммунным статусом организма до вакцинации. Адъюванты модифицируют кинетику развития иммунного ответа, ускоряя его наступление, повышая интенсивность и продлевая продолжительность [2, 3].

Подбор адъюванта для конкретной вакцины должен основываться на тщательном анализе соотношения потенциальной пользы от усиления иммуногенности вакцины с риском возникновения местных и

системных реакций [4]. Необходимо учитывать, что применение повышенных доз адъювантов может привести к иммуносупрессии. При использовании низких доз наблюдается кратковременный пик концентрации иммуноглобулинов, не превышающий 2-3 месяцев [5].

Отметим, что в ветеринарной и медицинской практике дозировки гидрата окиси алюминия в анти-COVID-19 вакцинах существенно различаются (от 0,5 % до 1,5 % по массе).

Целью исследования являлся подбор оптимальных адъювантов при конструировании инактивированной вакцины для профилактики коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, и пастереллеза норок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по подбору оптимального адъюванта для вакцины «Ков-паст», предназначенной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, и пастереллеза норок, проводились в отделе вирусных инфекций и виварии РВП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселесского» и РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

При конструировании лабораторных образцов вакцины с различными адъювантами вначале готовили коронавирусный и пастереллезный компоненты.

Культивирование коронавируса (изолят SARS-CoV-2 № 1/3947) осуществлялось на культуре клеток Vero E6 в питательной среде ДЕМ с добавлением антибиотика гентамицина в концентрации 50 мкг/мл. Удаление клеточного детрита производилось посредством капсульного мембранного фильтра из полиэфирсульфона с размером пор 0,65 мкм. Инактивация вируса осуществлялась химическим методом с использованием β -Propiolactone в конечной концентрации 0,05 %.

Процедуры концентрирования и очистки проводились с применением системы тангенциальной фильтрации Sartoflow Smart Cross Flow System («Sartorius», Германия) с использованием фильтрующей кассеты Sartocoon Slice 200 ECO с размером пор 300 кДа.

Получение биомассы *P. multocida* (серовары А и В) осуществлялось путем

культивирования в жидкой питательной среде Хаймеда с добавлением 5 % стерильной сыворотки в реакторе.

Полученные 10-часовые культуры пастерелл были очищены методом центрифугирования с использованием высокоскоростной проточной центрифуги. После инактивации штаммов *P. multocida* (серовары А и В) формалином в концентрации 0,5 %, была определена концентрация взвесей, которая впоследствии была доведена до необходимых 6,0 ед. с помощью денситометра по МакФарленду, что соответствовало концентрации около 2 млрд/см³. Инактивированные культуры *P. multocida* обоих сероваров были смешаны в стерильном флаконе в соотношении 1:1.

Лабораторные образцы вакцины были получены путем смешивания культуры коронавируса SARS-CoV-2 и смеси бульонных культур *Pasteurella multocida* (серовары А и В) в соотношении вирусного и бактериального антигенов 2:1 в одном стерильном флаконе. Затем эту смесь разделили на три равные части и поместили их в три стерильных флакона, в которые асептически добавили три разных адъюванта.

В первом лабораторном образце в качестве адъюванта использовался 10%-ный стерильный раствор алюмокалиевых квасцов в качестве адъюванта. Его добавляли в количестве 5 % от общего объема препарата.

Во втором образце биологического препарата в качестве адъюванта был использован гель гидроокиси алюминия. В антигенную составляющую препарата был добавлен стерильный гель ГОА в объемной концентрации 15 %.

В третьем лабораторном образце вакцины использовался «Montanide ISA 15A VG» в соотношении 15 % к антигенной части (по объему). Соединение компонентов проводилось при комнатной температуре 18–24 °С. При этом адъювант добавлялся в антигенную часть постепенно, с перемешиванием со скоростью 100 об/мин в течение 5–7 мин. Все манипуляции проводились в стерильном боксе с использованием стерильной посуды. В результате была получена эмульсия антигена типа «масло в воде».

Было получено 120,0 мл (доз) лабораторного образца вакцины в трех вариан-

тах (3 флакона по 40,0 см³ препарата в каждом). Флаконы были герметично закрыты резиновыми пробками и обжаты алюминиевыми колпачками. На флаконы наклеивались этикетки с соответствующими обозначениями.

Биопрепараты хранились при температуре от 2 °С до 8 °С.

Оценку безвредности изготовленных лабораторных образцов вакцины проводили путем однократного подкожного введения в дозе 0,5 см³ 30 белым мышам массой 18–20 г. Для каждого образца использовали по 10 животных. Наблюдение за ними осуществлялось в течение 10 дней.

Реактогенность вакцины оценивалась на 9 кроликах массой 2,5–3 кг после однократного внутримышечного введения в дозе 1,0 см³. Каждый образец вакцины применяли 3 кроликам. Наблюдали за животными в течение 10 дней, при этом изучалось как общее состояние животных, так и реакция на месте инъекции. В случае отсутствия каких-либо клинических признаков заболевания и местных реакций на введение препарата по истечении срока наблюдения образец считался неактогенным.

Стерильность вакцины проверялась методом посева на питательные среды в соответствии с требованиями ст. 2.6.1 [6]. Отсутствие роста микрофлоры в посевах вакцины подтверждало ее стерильность.

Для исключения ложноположительного результата из-за помутнения среды (опалесценция) на 3-й день культивирования дополнительно по образцу с монтанидом проводился пересев в количестве 0,1 см³ из бульонной среды предыдущего посева на аналогичную бульонную среду.

Культивирование посевов проводилось в течение 10 суток, дополнительного посева – в течение 7 суток. В этот же период осуществлялся мониторинг роста или его отсутствия.

После подтверждения стерильности, безвредности и ареактогенности трех лабораторных образцов вакцины с различными адьювантами были проведены дальнейшие исследования.

Для оценки иммуногенной активности трех образцов вакцины были созданы 3 опытные группы по 3 кролика в каждой. Еще 3 кролика служили контролем. Образцы вакцины вводили кроликам опытных

групп однократно внутримышечно в область бедра в объеме 1,0 см³. Животным контрольной группы вводили стерильный изотонический раствор (СИР) – 0,85%-ный раствор натрия хлорида с добавлением 15 % по объему геля ГОА внутримышечно в область бедра в этой же дозе.

До вакцинации и на 21-е сутки после нее у опытных животных отбирали пробы крови для получения сывороток. Пробы сывороток всех опытных кроликов до иммунизации и после исследовали в реакции агглютинации с антигенами штаммов *Pasteurella multocida* сероваров А и В.

Коронавирусные титры специфических антител выявляли в реакции нейтрализации.

Уровень специфических антител в опытных группах кроликов к *P. multocida* сероваров А и В в реакции агглютинации 1:16 и выше считался защитным по отношению к возбудителю пастереллеза.

Титры вируснейтрализующих антител 3 log₂ и более рассматривались как достаточный уровень для обеспечения защиты от коронавирусной инфекции.

На основании проведенных исследований определились с составом антигенных компонентов вакцины, выбором адьюванта и дозировок при иммунизации лабораторных животных.

Для оценки оптимального соотношения вирусного и бактериального компонентов изготовили два образца вакцины следующего состава: антиген штамма коронавируса SARS-CoV-2 + антиген *Pasteurella multocida* (серовар А) в соотношении 2:1 и 1:1 с добавлением в качестве адьюванта геля гидроокиси алюминия.

Испытания по оптимальному соотношению антигенов проводили на кроликах живой массой 2,5–3,0 кг. Было сформировано 3 группы – 2 опытные и 1 контрольная по 3 головы в каждой. Животным опытных групп вводили образцы вакцины однократно внутримышечно в область бедра в объеме 1,0 см³. Контрольным животным вводили стерильный изотонический раствор (0,85%-ный раствор натрия хлорида) с добавлением геля гидроокиси алюминия (15 % по объему) внутримышечно в область бедра в такой же дозе.

До вакцинации и на 21-е сутки после нее у привитых животных отбирали

кровь для получения сывороток. Пробы сывороток крови всех опытных кроликов после иммунизации исследовали в реакции агглютинации с пастереллезным антигеном (штамм *Pasteurella multocida* серовара А). Анतिकоронавирусные титры иммуноглобулинов выявляли в реакции нейтрализации. Оценку проводили по уровню специфических антител через 21 день после иммунизации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании 3 лабораторных образцов вакцины «Ковпаст» с разными адъювантами после посева проб вакцины на питательные среды роста микроорганизмов обнаружено не было.

Таблица 1 – Иммуногенная активность лабораторных образцов вакцины с разными адъювантами

Группы	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная	Контроль
№ образца (адъювант)	образец № 1 (алюмокалиевые квасцы)	образец № 2 (ГОА)	образец № 3 (масляный)	СИР + ГОА
Титры антибактериальных антител, $\log_2$	5,3±0,2	6,0±0	6,0±0	2,0±0
Титры противовирусных антител, $\log_2$	3,67±0,2	4,0±0	3,0±0	0

В результате проведенных исследований установлено, что у 80 % вакцинированных животных в реакции агглютинации титр специфических антител к *P. multocida* серовара А составлял не менее 1:16. Фоновые титры антител при этом не превышали 1:4 у контрольных и опытных кроликов до иммунизации.

При постановке реакции агглютинации с антигеном *P. multocida* серовара В наблюдалась частичная самоагглютинация приготовленного антигена, что в значительной степени затрудняло учет реакции. В связи с этим данный штамм в последующих экспериментах был исключен из состава вакцины.

У опытных кроликов до вакцинации и у контрольных животных антитела к ан-

Во время опыта после введения биопрепаратов признаки заболевания у животных отсутствовали. Изменений в их клиническом состоянии не наблюдалось: животные сохраняли активность и аппетит. На месте введения отеков, некрозов, припуханий тканей, очагов флюктуации не обнаружено.

Вначале при конструировании вакцины использовалось соотношение коронавирусных и пастереллезных антигенов 2:1.

Данные результатов исследований оценки иммуногенных свойств лабораторных образцов вакцины представлены в таблице 1.

тигену вируса SARS-CoV-2 в реакции нейтрализации не выявлялись. У иммунизированных животных титры противовирусных антител на 21-й день исследований были на уровне от 1:8 до 1:16, что свидетельствовало о значительной иммуногенной активности штамма SARS-CoV-2.

Более высокий показатель иммуногенности был у образца вакцины с гелем ГОА в качестве адъюванта. Уровень противопастереллезных антител при этом составлял 6 $\log_2$, противокоронавирусных – 4 $\log_2$.

Результаты опыта по изучению оптимального соотношения вирусного и бактериального антигенов (коронавирусных и пастереллезных) в соотношении 1:1 и 2:1 в составе вакцины представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Иммуногенная активность лабораторных образцов вакцины «Ковпаст» при разных соотношениях вирусного и бактериального антигенов

Группы	1-я опытная	2-я опытная	Контроль
Соотношение монокомпонентов	2:1	1:1	СИР + ГОА
Титр антибактериальных антител, $\log_2$	5,0±0	4,67±0,2	1,67±0,2
Титр противовирусных антител, $\log_2$	4,0±0	3,67±0,2	0

Результаты опыта показали, что оптимальным является соотношение вирусного и бактериального антигенов 2:1. Его применение позволяет обеспечить выработку специфических антител в титрах на $0,2-0,4 \log_2$ выше в сравнении с образцом с соотношением моноконпонентов 1:1.

Таким образом, лабораторные образцы вакцины, предназначенные для вакцинации норок в неблагополучных по коронавирусной инфекции и пастереллезу звероводческих хозяйствах, являются стерильными, безвредными, ареактогенными и иммуногенными.

Анализ уровня специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови привитых животных указывает на выраженную динамику образования антител к обоим компонентам вакцины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя данные серологических исследований сывороток крови кроликов, иммунизированных вакциной «Ковпаст», установлено, что все исследуемые адъюванты оказывают положительное влияние на синтез специфических антител.

При подборе оптимального адъюванта при изготовлении вакцины «Ковпаст» более высокие показатели иммуногенности были получены при применении адъюванта гидроксал (гель гидроокиси алюминия).

Общих и местных изменений в клиническом состоянии животных после введения трех вариантов биопрепарата, а также аллергических реакций не выявлено. На протяжении всего опыта животные сохраняли активность и аппетит; болезненности, отека, воспалительных реакций на месте введения образцов вакцины не наблюдалось.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Красочко, П. А. Современные подходы к классификации иммуномодуляторов / П. А. Красочко // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2006. – № 2. – С. 35–40.
2. Адъюванты при конструировании ассоциированных вакцин против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарная биотехнология. – 2019. – № 35. – С. 90–99.
3. Михалишин, В. В. Адъюванты и их использование / В. В. Михалишин, Н. С. Мамков // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – Владимир, 2008. – Т. 6. – С. 340–371.
4. Addition of saponin to double oil emulsion FMD vaccines enhances specific antibody responses in cattle and pigs / E. Smitsaart, A. M. Espinoza, R. Sanguinetti [et al.] // Europ. Commis. Control FMD. Sess. Ress. Group Stand. Techn. Comm. – Chania : Grete, 2004. – P. 344–351.
5. Воробьев, А. А. Анатоксины / А. А. Воробьев, Н. Н. Васильев, А. Т. Кравченко. – М. : Медицина, 1965. – 488 с.
6. Государственная фармакопея Республики Беларусь : в 2 т. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Изд. II. – Молодечно : Победа. – Т. 1 : Общие методы контроля лекарственных средств. – 1220 с.

ВАКЦИНА ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬГИРОВАННАЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛИБАКТЕРИОЗА (ЭШЕРИХИОЗА) И КЛЕБСИЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

КОЛИТОКС-ЛТ

► изготовлена из штаммов бактерий *Escherichia coli* серотипов F41, K88 (F4), K99 (F5), A20 (F17); *Klebsiella pneumonia*; рекомбинантной субъединицы В термолabile токсина *Escherichia coli*; масляного адъюванта



► термолabile энтеротоксин *E. coli* имеет белковую природу и обладает высокой иммуногенной активностью

► для иммунизации глубокостельных коров, нетелей и телят в неблагополучных и угрожаемых по колибактериозу и клебсиеллезу хозяйствах

WWW.BIEVM.BY

УДК 619:616.99:616.3:636.22/.28.053.2

Щемелева Н.Ю., кандидат ветеринарных наук, доцент
Василькова В.П., кандидат ветеринарных наук
Леонтьева Л.В., соискатель

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ПРЕПАРАТА «ЭПРИНОВЕТ» И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ

Резюме

Разработанный препарат «Эприновет» в терапевтической дозе 20 мг/кг массы тела не оказывает отрицательного влияния на изученные гематологические и биохимические показатели крови у телят. Эффективность ветеринарного препарата «Эприновет» в дозе 10 мг/кг и 20 мг/кг при желудочно-кишечных нематодозах телят составила 100 %.

Ключевые слова: антгельминтик, желудочно-кишечные нематодозы, телята, гематологические показатели, биохимические показатели.

Summary

The developed drug «Eprinovet» in a therapeutic dose of 20 mg/kg of body weight does not have a negative effect on the studied hematological and biochemical blood parameters in cattle. The effectiveness of the veterinary drug «Eprinovet» in a dose of 10 mg/kg and 20 mg/kg for gastrointestinal nematodosis of rearing calves was 100 %.

Keywords: anthelmintic, gastrointestinal nematodosis, calves, hematological parameters, biochemical parameters.

Поступила в редакцию 15.04.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Практически все животные в той или иной степени подвержены заражению экто- или эндопаразитами. В организме животных чаще отмечается полиинвазия.

Наиболее распространенными у животных паразитами являются нематодозы желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей, а также фасциолез, эймериозы, криптоспоридиоз, гиподерматоз, болезни, вызываемые нападением клещей, гнуса и т.д. Они наносят животному существенный вред, который выражается в снижении уровня иммунобиологической резистентности организма, продуктивности, племенной ценности, выхода молодняка, качества животноводческой продукции.

Для конструирования эффективно и приемлемого по цене препарата для лечения и профилактики арахноэнтомозов и гельминтозов животных был проведен скрининг по подбору активных субстанций.

Основными критериями отбора при составлении композиции препарата являлись способность компонентов оказывать

комплексное противопаразитарное действие, низкая токсичность, использование молока без ограничений и возможность дальнейшего производства в республике. В результате отбора, основанного на литературных данных и наших собственных исследованиях, была подобрана новая субстанция – эприномектин.

Эприномектин относится к группе авермектинов макроциклических лактонов. Основные соединения авермектина выделяют из ферментативного бульона почвенного микроорганизма *Streptomyces avermitilis*. Некоторые производные основных соединений авермектина были получены с помощью ряда химических средств.

В частности эприномектин, который также имеет название 4'-эпи-ацетиламино-4'-дезоксавермектин В1, является новым полусинтетическим производным семейства авермектина.

Эприномектин представляет собой смесь двух гомологов, эприномектина В1а (90 %) и эприномектина В1б (10 %), различие между которыми состоит в наличии метиленовой группы в положении С-25.

Эти структуры обладают широким спектром активности против нематод и членистоногих.

Эприномектин повышает проницаемость к ионам хлора мышц и нервных клеток паразитов, тем самым вызывая их паралич и смерть. Эти молекулы связываются с глутамат-зависимыми каналами для ионов хлора клеток беспозвоночных. Они также могут связываться с другими ГАМК-зависимыми каналами для ионов хлора. Поскольку млекопитающие не обладают данным типом глутамат-зависимого канала для ионов хлора, эти молекулы обеспечивают высокую степень безопасности, даже если применяются при высоких дозах.

Результаты кинетических исследований показали, что ацетиламиновермектин может всасываться различными путями (перорально, накожно, а также подкожная и внутримышечная инъекции) с хорошей эффективностью и быстрым распределением по всему телу.

Поскольку биодоступность препарата высокая, наиболее удобным является его применение внутрь, так как это не доставляет беспокойства животному. Было установлено, что пероральное всасывание лучше, чем накожное, при борьбе с нематодами и членистоногими, которые питаются кровью или биологическими жидкостями [1].

Спектр противопаразитарного действия эприномектина аналогичен действию ивермектина. Это последнее поколение средств от насекомых для животных.

Препарат можно применять крупному рогатому скоту (КРС), овцам, козам при нематодозах: желудочно-кишечных стронгилятозах, трихоцефалезе, диктиокаулезе, трихостронгилятозе, стронгилоидозе, неоаскаридозе, буностомозе, телязиозе; гиподерматозе, эстрозе, псороптозе, саркоптозе, сифункулятозе, маллофагозе; лошадям – при стронгилятозах, параскаридозе, оксиурозе, саркоптозе и гастрофилезе; свиньям – при аскаридозе, эзофагостомозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, стефанурозе, метастронгилезе и других нематодозах; саркоптозе и вшивости; собакам и кошкам – при токсокарозе и токсаскаридозе, анкилостомозе и унцинариозе, саркоптозе и отодектозе, демодектозе и поражении блохами [2, 3].

При подкожном введении препарата КРС биодоступность эприномектина составляет около 89,0 %, максимальная концентрация в крови – 58 мкг/л – достигается в течение 36–48 ч, период полувыведения составляет 65–75 ч. Эприномектин до 99,0 % связывается с белками сыворотки крови и выделяется из организма в неизменном виде, главным образом с фекалиями и мочой [4].

Согласно литературным данным эприномектин выделяется с молочным жиром в количестве 0,1 % от примененного средства, что в 50 раз меньше по сравнению с другими известными макроциклическими лактонами, такими, например, как ивермектин или моксидектин [5].

В отделе паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» был разработан противопаразитарный препарат «Эприновет», содержащий в своем составе действующее вещество эприномектин и лактозу в качестве наполнителя, что придает лекарственному препарату приятный сладковатый вкус и является питательным субстратом для лакто- и бифидумбактерий естественной микрофлоры кишечника животных.

Целью нашей работы стало изучение влияния на организм животных нового противопаразитарного препарата «Эприновет», а также определение его терапевтической эффективности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в 2 этапа. На первом этапе изучали эффективность терапевтической дозы препарата «Эприновет», на втором – влияние препарата в эффективной терапевтической дозе на некоторые гематологические и биохимические показатели крови.

Терапевтическую эффективность препарата «Эприновет» исследовали на базе ОАО «Толочинский райагросервис» Витебской области на телятах чернопестрой породы возраста 5-6 месяцев. После проведения паразитологического лабораторного анализа проб фекалий были сформированы группы для исследования.

На первом этапе телятам 1-й группы (39 голов), инвазированным желудочно-кишечными нематодами, применили вете-

ринарный препарат «Эприновет» в дозе 20 мг/кг массы тела, телятам 2-й группы (30 голов), также инвазированным желудочно-кишечными нематодами, – в дозе 10 мг/кг массы тела. Препарат применяли однократно, индивидуально. Телята 3-й группы (25 голов) служили контролем, препарат не получали.

Эффективность дегельминтизации определяли через 7 дней после применения препарата общепринятыми паразитологическими методами.

На втором этапе было сформировано 2 группы телят по 6 голов в каждой: 1-я группа (опытная) – спонтанно инвазированные желудочно-кишечными стронгилятами телята, 2-я группа – свободные от гельминтов животные (контрольная).

Телятам 1-й группы применили ветеринарный препарат «Эприновет» в дозе 20 мг/кг массы тела внутрь индивидуально в бутылке с водой, 2-я группа препарат не получала.

Кровь у животных брали до введения препарата и через 7 и 14 дней после. Гематологические исследования проводили на анализаторе «Mythic 18», биохимические – на анализаторе «Dialab Avtolyser». Определяли уровень эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов, аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы, общего билирубина, общего белка, альбуминов, мочевой кислоты, креатинина, кальция, меди, железа, магния, фосфора, цинка.

Весь полученный цифровой материал подвергли статистической обработке с помощью программ статистического анализа Excel, Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение терапевтической эффективности ветеринарного препарата «Эприновет»

При проведении копроовоскопического обследования животных было установлено, что телята 1-й группы инвазированы желудочно-кишечными стронгилятами на 20,0 %, стронгилоидами – на 4,0 % и трихоцефалами – на 6,0 %; телята 2-й группы инвазированы желудочно-кишечными стронгилятами на 12 %, стронгилоидами и трихоцефалами – на 5 %, телята 3-й группы – на 12,0 %, 4,0 %, 4,0 % соответственно. Интенсивность инвазии желудочно-кишечными нематодами проявлялась в средней степени.

При обследовании животных на эффективность дегельминтизации через 7 дней после применения ветеринарного препарата «Эприновет» в дозах 20 мг/кг и 10 мг/кг яиц желудочно-кишечных нематод не выявили. После применения препарата каких-либо отклонений в клиническом состоянии животных отмечено не было.

Таким образом, эффективность ветеринарного препарата «Эприновет» в дозах 20 мг/кг и 10 мг/кг при желудочно-кишечных нематодозах телят группы дощивания составила 100 % (таблица 1).

Таблица 1 – Эффективность ветеринарного препарата «Эприновет» в дозах 20 мг/кг и 10 мг/кг при желудочно-кишечных нематодозах телят

Экстенсивность инвазии, %				Экстенсивность, %		
Группа животных	стронгилятозы	стронгилоидоз	трихоцефалез	стронгилятозы	стронгилоидоз	трихоцефалез
1-я группа	20	4	6	100	100	100
2-я группа	12	5	5	100	100	100
3-я группа	12	4	4	-	-	-

Изучение влияния препарата «Эприновет» на некоторые гематологические и биохимические показатели организма животных

Из анализа полученных результатов исследований динамики уровня гемоглоби-

на, количества эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов в крови животных опытной группы достоверных изменений по отношению к аналогичным показателям животных контрольной группы не наблюдается (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика гематологических показателей телят при применении эприновета в дозе 20 мг/кг массы тела

Дни исследований	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа
	эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$, N=5,0–7,5 (в среднем 6,5)		гемоглобин, г/л, N=80–120 (в среднем 100,0)	
До применения	4,58±1,39	4,78±0,23	73,00±0,48	82,00±3,88
Через 7 дней	5,20±0,33	4,81±0,18	84,66±0,24	82,66±5,09
Через 14 дней	6,05±0,13	5,55±0,23	89,33±3,64	92,00±4,85
	лейкоциты, $\cdot 10^9$, N=4,5–12,0 (в среднем 7,0)		лимфоциты, $\cdot 10^9$, N=3,7–14,7	
До применения	5,96±0,43	6,33±0,31	3,90±0,14	3,56±0,09
Через 7 дней	7,2±0,38	5,13±0,33	4,20±0,46	3,83±0,31
Через 14 дней	6,4±0,48	6,20±0,00	4,27±0,20	4,33±0,05

Примечание – N – физиологическая норма

Изучение качественного состава лейкоцитов показало, что после применения эприновета лейкоцитарная формула находится в пределах физиологической нормы.

Активность печеночных ферментов сыворотки крови телят после применения эприновета не претерпевала заметных изменений в сравнении с контрольными животными (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние эприновета на динамику активности ферментов сыворотки крови телят

Дни исследований	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа
	АсАТ, ед./л, N=30,3–110,2		АлАТ, ед./л, N=4,9–48,0	
До применения	28,93±1,65	32,46±1,46	25,13±1,51	23,53±1,28
Через 7 дней	23,56±0,50	30,10±1,10	24,56±1,87	26,36±1,35
Через 14 дней	29,66±0,41	28,00±1,37	20,03±1,55	24,80±1,42
	щелочная фосфатаза, ед./л, N=29–257		гамма-глутамилтрансфераза, ед./л, N=4,9–48,0	
До применения	19,63±4,34	49,60±1,37	14,70±2,08	34,70±10,65
Через 7 дней	35,96± 9,89	42,80±2,83	16,36±0,92	22,4±7,75
Через 14 дней	35,00±8,06	55,53±17,78	16,30±2,60	20,10±5,06
	лактатдегидрогеназа, ед./л, N=208,6–295,8		общий билирубин, ед./л, N=0,34–8,0	
До применения	1535,67±141,88	1812,67±148,93	2,54±0,17	3,10±0,29
Через 7 дней	1361,33±95,17	1407,00±51,86	4,22±0,26	2,99±0,22
Через 14 дней	1482,67±87,83	1470,67±21,54	3,23± 0,27	4,22±0,21

Примечание – N – физиологическая норма

При анализе белкового обмена выявлено, что количество общего белка и альбуминов находилось в пределах физиологической нормы (таблица 4).

Установлено также, что достоверных изменений уровня креатинина и мочевой кислоты в сыворотке крови животных не наблюдалось (таблица 5).

Таблица 4 – Влияние эприновета на динамику общего белка и альбуминов сыворотки крови телят

Дни исследований	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа
	общий белок, г/л		альбумины, г/л	
Норма, г/л	62–94		27–45	
До применения	67,90±2,39	74,23±9,79	25,93±0,89	26,06±1,54
Через 7 дней	68,53±9,80	57,00±3,02	21,83±0,31	20,90±1,19
Через 14 дней	66,30±8,68	56,43±6,54	23,33±0,49	22,10±0,35

Таблица 5 – Динамика мочевины и креатинина в сыворотке крови после применения эприновета

Дни исследований	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа
	мочевая кислота, ммоль/л		креатинин, ммоль/л	
Норма, ммоль/л	0–170		52,0–162,4	
До применения	139,00±3,21	137,66±10,08	83,30±5,47	88,40±8,33
Через 7 дней	140,66±9,59	149,66±12,17	87,06±4,58	79,13±8,78
Через 14 дней	144,66±4,91	143,66±8,66	87,63±7,07	86,46±6,31

В поддержании гомеостаза организма определенная роль принадлежит макро- и микроэлементам. Калий и натрий участвуют в регулировании осмотического давления крови и поддержании кислотно-щелочного равновесия. В таблице 6 представлены результаты изучения динамики минерального обмена сыворотки крови те-

лят после применения эприновета в дозе 20,0 мг/кг массы тела. Содержание микро- и макроэлементов не претерпевало статистически достоверных изменений, и их концентрация на протяжении всего периода наблюдений находилась в пределах физиологической нормы.

Таблица 6 – Влияние эприновета на динамику макро- и микроэлементов сыворотки крови телят

Дни исследований	Кальций, ммоль/л	Медь, мкг/дл	Железо, мкмоль/л	Магний, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Са/Р соотношение	Цинк, ммоль/л
Норма	2,1–2,99	39,9–154,4	15–34	0,5–1,64	1,3–2,9	0,9–1,9	100–220
опытная группа							
До применения	1,72±0,08	82,56±1,6	9,38±0,91	0,95±0,03	1,62±0,12	1,06	119,00±1,52
Через 7 дней	1,64±0,05	83,80±2,05	9,13±0,53	0,87±0,04	1,55±0,03	1,05	161,3±3,38
Через 14 дней	1,62±0,05	84,26±1,25	9,62±0,26	0,96±0,07	1,56±0,03	1,04	158,33±1,76
контрольная группа							
До применения	1,81±0,16	85,03±1,22	7,48±0,74	1,10±0,03	1,56±0,10	1,16	143,66±12,11
Через 7 дней	1,60±0,05	83,00±0,25	9,98±1,53	0,95±0,05	1,57±0,03	1,02	142,66±14,19
Через 14 дней	1,66±0,09	84,73±2,38	8,02±0,27	0,95±0,02	1,52±0,11	1,17	151,33±2,96

Таким образом, разработанный ветеринарный препарат «Эприновет» в терапевтической дозе 20 мг/кг массы тела не оказывает отрицательного влияния на изученные гематологические и биохимические показатели крови телят.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ветеринарный препарат «Эприновет» обладает высокой терапевтической эффективностью при желудочно-кишечных нематодозах и не оказывает отрицательного влияния на гематологические и биохимические показатели крови животных.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Веремей, Э. И. Способы введения лекарственных веществ и их обоснование в ВЗІ клинической ветеринарной медицине : учеб.-метод. пособие для студентов по специальности 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина», слушателей ФПК и ПК 1-74 03 75 «Ветеринарная хирургия», 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза», 1-74 03 05 «Ветеринарная фармация» / Э. И. Веремей, А. И. Карамалак, В. А. Журба. – Витебск : УО ВГАВМ, 2017. – 28 с.
2. 1 % эприномектин для инъекций. – URL: <http://ru.veyongpharma.com/copy-eprinomectin-injection-1-product/> (дата обращения: 02.03.2024).
3. Новые инъекционные препараты. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2578036C2/ru?pli=1> (дата обращения: 10.12.2024).
4. Эприномектин (USP). – URL: <http://ru.veyongpharma.com/eprinomectin-product/> (дата обращения: 22.06.2024).
5. Эприномектин КАС 123997-26-2. – URL: <http://www.fengchenggroup.net/vet-api-and-premix/veterinary-antibiotics/eprinomectin-cas-123997-26-2.html> (дата обращения: 10.03.2023).



ТРИКЛАМИЗОЛ

противопаразитарный препарат



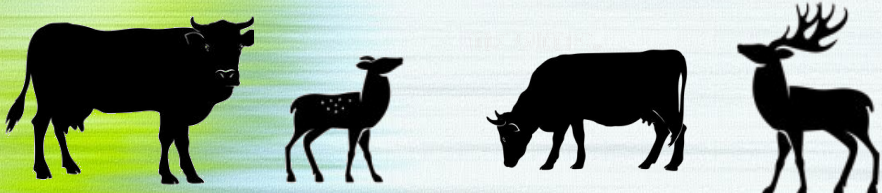
СОДЕРЖИТ

триклабендазол,
албендазол,
левамизола
гидрохлорид,
лактозу

ПРИМЕНЯЮТ

при ассоциативных
гельминтозах крупного
рогатого скота и
диких парнокопытных
животных групповым
способом с кормом или
подкормкой однократно

WWW.BIEVM.BY



УДК 614.9:637.11

Кажеко О.А., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Барановский М.В., доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Тимошенко В.Н., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси

Портной А.И., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Музыка А.А., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

ПУТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОЦЕССА САНИТАРНОЙ ОБРАБОТКИ ТРАНСПОРТНЫХ МОЛОКОПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Резюме

В статье представлен материал исследований, посвященных усовершенствованию технологического процесса последоильной обработки транспортных молокопроводящих путей. Его отличительной особенностью является применение механической чистки трансформирующимся устройством, обеспечивающим высокий санитарно-гигиенический уровень молокопроводящей системы – 2–7 RLU (4–12 КОЕ/см²), снижение уровня общей бактериальной обсемененности с 81 до 67 КОЕ/см³ и увеличение производства молока-сырья сорта «Экстра» на 3,0–5,0 %. Усовершенствованный нами технологический процесс обеспечивает высокий санитарно-гигиенический уровень молокопроводящей системы.

Ключевые слова: транспортные молочные шланги, внутренняя поверхность, контаминация микроорганизмами, загрязненность, механическая чистка, санитарно-гигиеническое состояние, качество молока.

Summary

This paper contains the materials of research devoted to improvement of technological process of post-milking treatment of milk delivery lines. Its distinctive feature is the use of mechanical cleaning with a transformable device, which ensures a high sanitary and hygienic level of the milk delivery system – 2–7 RLU (4–12 CFU/cm²), a decrease in the level of total bacterial contamination from 81 to 67 CFU/cm³ and an increase in the production of raw milk of the «Extra» grade by 3,0–5,0 %. The use of our improved technological process provides a high sanitary and hygienic level of the milk delivery system.

Keywords: milk delivery hoses, internal surface, contamination by microorganisms, mechanical cleaning, sanitary and hygienic condition, milk quality.

Поступила в редакцию 01.04.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достигнутые успехи в наращивании объемов производства молока, вопрос повышения его качества остается актуальным. Чтобы защитить качество и безопасность молока и молочных продуктов, а также повысить их конкурентоспособность, разрабатываются отраслевые регламенты производства молока высокого качества, вводятся организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа, прописывающие систему мер по обеспечению его высокого качества в условиях молочно-товарных комплексов. Согласно Государственному стандарту Республики Беларусь, содержание микробных клеток в 1 см³ молока сорта «Экстра» не должно превышать 100 тыс., соматических – 300 тыс. Более того, согласно изменениям № 3, внесенным в действующий стандарт

от 5 мая 2015 г., в 1 см³ молока сорта «Экстра» содержание микробных, равно как и соматических клеток, не должно превышать 100 тыс. [1].

Значительную роль в обеспечении производства безопасной пищевой продукции и продовольственного сырья играет система менеджмента безопасности, основанная на анализе рисков и критических контрольных точек – ХАССП, которая совместно с программами обязательных предварительных мероприятий является основой стандарта ИСО 22000 [2, 3].

Учитывая постоянно растущий спрос в мире и в Республике Беларусь на высококачественные молочные продукты, повышение требований к сырью для их производства, сегодня актуальным является поиск путей получения молока высокого санитарного качества. В контексте данного вопроса исследования по усовершен-

ствованию технологических процессов и элементов последоильной обработки транспортных молокопроводящих путей, обеспечивающих существенное повышение качества молока (сырья) до уровня сорта «Экстра», позволяющие произвести молочные продукты с высокими потребительскими свойствами, конкурентоспособными на мировом рынке, имеют практическую значимость для производителей молока и молочной продукции.

Целью исследований явилось усовершенствование технологического процесса последоильной обработки транспортных молокопроводящих путей доильных установок на основе усовершенствованных режимов обработки внутренних (рабочих) поверхностей молочных шлангов для перекачки молока из доильного зала в танк-охладитель и из танка-охладителя – в молоковоз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе лаборатории разработки интенсивных технологий производства молока и говядины РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» и в условиях производства молока базового сельскохозяйственного предприятия – РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области.

Объектом исследований являлись молокопроводящие участки доильно-молочного оборудования (молочные шланги для перекачки молока из доильного зала в танк-охладитель и молокопроводящие пути молочных шлангов для перекачки молока из танка-охладителя в молоковоз) автоматизированных доильных установок «Параллель» (МТК «Березовица»), «Ёлочка» (СПФ «Будагово») и «Карусель» (МТК «Рассошное»). Предмет исследований – смывы с внутренних (рабочих) поверхностей молочных шлангов для перекачки молока из доильного зала в танк-охладитель и из танка-охладителя – в молоковоз, качество молока.

Преддоильная подготовка молочной железы подопытных животных, включающая стимуляцию рефлекса молокоотдачи и санитарно-гигиеническую обработку вымени, осуществлялась согласно требованиям п. 3 Республиканского регламента «Организационно-технологические требования при

производстве молока на молочных комплексах промышленного типа» [4].

Санитарная обработка доильно-молочного оборудования производилась сразу же по окончании его использования. Режимы промывания молочных линий доильных установок соответствовали требованиям «Санитарных правил по уходу за доильными установками и молочной посудой, контролю их санитарного состояния и санитарного качества молока» [5].

Последовательность выполнения операций по санитарной обработке технологического оборудования осуществлялась в соответствии с заводской инструкцией по эксплуатации и уходу за доильной установкой.

Для промывки доильно-молочного оборудования использовались высокоэффективные моюще-дезинфицирующие средства. Система промывки доильной установки позволяла автоматически подстраиваться под смену моющих средств для основного цикла промывки, производить опционный контроль температуры и автоматический запуск программы дезинфекции.

На протяжении всего периода проведения исследований изучались следующие санитарно-гигиенические показатели молока: кислотность ($^{\circ}\text{T}$), механическая загрязненность (группа чистоты), количество соматических клеток, бактериальная обсемененность (тыс./см³) согласно соответствующему ГОСТу.

Качество молока, получаемого на доильных установках, оценивалось в соответствии с техническими условиями СТБ 1598-2006 «Молоко коровье. Требования при закупках» (измененная редакция, изм. № 3) [1].

Полученные результаты исследований обработаны биометрически по общепринятым методам вариационной статистики по П.Ф. Рокицкому [6] с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что молочные шланги по перекачке молока в танк-охладитель, изготовленные из различных видов материалов, были в разной степени загрязнены микроорганизмами. Так, уровень бактериальной обсемененности внутренней по-

верхности шланга, изготовленного из нитрильной резины, превысил в среднем за период исследований уровень обсемененности двух других шлангов – из поливинилхлорида (ПВХ) и поливинилхлорида, армированного пластификатом, соответственно, на 11,3 и 18,3 колониеобразующих единиц на 1 см² (КОЕ/см²) или 9,9 и 14,8 светоотражающих единиц (RLU). По санитарному показателю, равному 34 RLU, шланг из нитрильной резины приближался к допустимому пределу (до 40 RLU), в связи с чем его дальнейшая эксплуатация рекомендуется лишь в исключительных случаях.

Установлена динамика повышения уровня контаминации транспортного пути армированного молочного ПВХ шланга по перекачке молока в танк-охладитель в промежутке времени между окончанием мойки и началом следующего доения – с 28 до 204 колониеобразующих единиц на 1 см², что превысило нормативные требования «Ветеринарно-санитарных правил для молочно-товарных ферм и сельскохозяйственных организаций, личных подсобных и крестьянских (фермерских) хозяйств по производству молока» [7], предъявляемых к качеству санитарного состояния доильных установок – на 176 КОЕ/см². После тщательной дополнительной мойки на 1 см² молокопроводящей поверхности молочного шланга обнаружено всего лишь 11 микробных клеток, что указывает на хорошее гигиеническое состояние пути движения молока из молокоприемника в танк-охладитель и на необходимость проведения дополнительной мойки данного вида изделия перед началом каждой последующей дойки.

Установлено влияние площади внутренней поверхности молочного шланга для перекачки молока в танк-охладитель на общую бактериальную обсемененность молока. Так, среднее значение показателя КОЕ проб молока, транспортируемого по молочным шлангам, имеющим площадь внутренней поверхности, равную 0,50 и 0,86 м², составило, соответственно, 81,2±13,1 и 82,3±10,7 тыс./см³ (разница 1,1 тыс. КОЕ/см³). При перекачке молока от молочного насоса к танку-охладителю и прохождении его по транспортному пути площадью 1,55 м² обсеменение молока микроорганизмами при контаминации с

внутренней поверхностью шланга обусловило уровень общей бактериальной обсемененности проб, включая мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы, равный 90,1±11,4 тыс. КОЕ/см³. При этом разница составила 9,8 %, или 8,9 тыс. КОЕ/см³. По показателям титруемой кислотности, механической загрязненности и содержанию соматических клеток молоко соответствовало сорту «Экстра».

Для транспортировки молока из танка-охладителя в цистерну молоковоза используются шланги, изготовленные преимущественно из поливинилхлорида и поливинилхлорида, армированного металлом.

При сравнительной оценке данного вида изделий было установлено, что уровень бактериальной загрязненности внутренней поверхности шланга из поливинилхлорида армированного незначительно – на 4,0 колониеобразующие или 3,0 светоотражающие единицы – превысил в среднем за период зимне-весеннего использования уровень загрязненности шланга, изготовленного из поливинилхлорида неармированного, и составил, соответственно, 37 КОЕ/см² (норма – до 100 КОЕ/см²) и 33 RLU (норма до 40 RLU).

По мере увеличения сроков эксплуатации выгрузных молочных шлангов наблюдалось дальнейшее увеличение содержания микробных клеток на контактируемой с молоком поверхности. Так, если в пробах смывов № 1, взятых с внутренней поверхности армированного молочного шланга, содержалось 39 КОЕ/см², неармированного – 33 КОЕ/см², то в пробах № 8 – соответственно, 50 и 70 КОЕ/см². При этом уровень контаминации армированного молочного шланга по перекачке молока из танка-охладителя в цистерну молоковоза на 188-й день эксплуатации (проба № 4) превысил пороговое значение уровня бактериальной загрязненности на 1 имп/с (RLU), в то время как уровень контаминации шланга неармированного – 45 днями позже (проба № 7).

Установлена динамика повышения уровня контаминации транспортного пути молочного ПВХ шланга по перекачке молока в цистерну молоковоза в промежутке времени после мойки до следующего забора молока – от 7 до 52 колониеобразующих единиц на 1 см².

Установлено влияние площади внутренней поверхности шлангов по перекачке молока на общую бактериальную обсемененность молока. Так, если среднее значение показателя КОЕ проб молока, транспортируемого по молочным шлангам при перекачке молока из танка-охладителя в молоковоз, имеющим площадь внутренней поверхности, равную $1,13 \text{ м}^2$, составило $85,1 \pm 18,5 \text{ тыс.}/\text{см}^3$, то при перекачке молока из танка-охладителя в молоковоз и прохождении его по транспортному пути площадью $1,87 \text{ м}^2$ обсеменение молока микроорганизмами при контаминации с внутренней поверхностью шланга обусловило уровень общей бактериальной обсемененности проб (включая мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы), равный $96,1 \pm 14,5 \text{ тыс. КОЕ}/\text{см}^3$. При этом разница составила $11,0 \text{ тыс. КОЕ}/\text{см}^3$, или $11,4 \%$. По показателям титруемой кислотности, механической загрязненности и содержания соматических клеток молоко соответствовало сорту «Экстра».

Режимами обработки было предусмотрено проводить дополнительную ручную мойку и дезинфекцию выгрузных молочных шлангов (шлангов для перекачки молока из танка-охладителя в молоковоз) перед каждым последующим забором молока. Однако при ручной промывке в шлангах не создается турбулентности, из-за чего загрязнения плохо «отрываются» от поверхности. Возникает необходимость в использовании дополнительных мер и устройств.

С учетом вышеизложенного потребовалось дальнейшее изучение технологического процесса санитарной обработки молочных шлангов для перекачки молока – с применением чередования двух комплектов данных изделий, а также изучение процесса механической чистки – с помощью трансформирующихся устройств для обеспечения высокой санитарии внутренних поверхностей данного вида изделий и получения молока с низким уровнем бактериальной обсемененности. Установлено, что в опытном варианте при использовании двух комплектов транспортных шлангов для перекачки молока из танка-охладителя в молоковоз показатели санитарного состояния данных изделий в 8 случаях из 10 соответствовали действующим требованиям ветеринарно-санитарных правил, регламен-

тирующих уровень бактериальной загрязненности до 40 RLU ($100 \text{ КОЕ}/\text{см}^2$), и только в двух случаях незначительно превышали нормативные требования. В контрольном варианте – при использовании для транспортировки молока только одного комплекта шланга – его санитарное состояние без дополнительной обработки во всех десяти случаях не соответствовало нормативным требованиям, предъявляемым к поверхностям, контактирующим с молоком (больше 40 RLU), и оценивалось как неудовлетворительное.

В опытном варианте оба шланга в промежутке времени, когда они не использовались для перекачки молока, заполнялись моющим раствором. Перед использованием моющий раствор из шлангов удалялся, после чего проводилась операция по ополаскиванию проточной водой. В контрольном варианте вышеперечисленные операции не проводились. Поскольку добиться идеальных результатов по санитарной обработке шлангов для транспортировки молока из холодильника в цистерну молоковоза невозможно только лишь чередованием их использования без механической чистки, для проведения дальнейших исследований было приобретено специальное устройство, снабженное двумя насадками ершей, которые располагались на тросе.

Исследования по совершенствованию способа санитарной обработки выгрузных молочных шлангов были продолжены на двух молочно-товарных комплексах по производству молока – МТК «Рассошное» и СПФ «Будагово». Объектом исследования явились молочные транспортные шланги одинакового срока эксплуатации. Качество санитарной обработки данных изделий оценивалось по уровню контаминации с помощью метода АТФ-люминометрии и путём посева смывной жидкости в мясо-пептонный агар с последующим подсчётом числа выросших колоний микроорганизмов.

В ходе исследований транспортные молочные шланги после перекачки молока в цистерну молоковоза на каждом молочно-товарном комплексе подвергались усовершенствованной санитарной обработке: ополаскиванию проточной водой, обработке моющим раствором в сочетании с механической очисткой при помощи специаль-

ного устройства, а также заключительному ополаскиванию проточной водой от остатков моющего средства. Оценка санитарно-гигиенического состояния шлангов для транспортировки молока из холодильника в молоковоз проводилась десятикратно с интервалом в пять дней. Всего за период опыта проведено 40 анализов по измерению уровня их контаминации.

На первом этапе рекогносцировочного опыта установлено, что включение дополнительной операции по механической очистке бывших в эксплуатации транспортных шлангов не дало положительного результата. Так, на МТК «Буда-

гово» перед санитарной обработкой шланга уровень RLU составил 30 имп./с, а после применения механической очистки – 60 имп./с. Данное явление объясняется тем, что при механической очистке разрушился молочный камень, и это привело к дополнительной контаминации, что потребовало большего времени на санитарную обработку. Повторная обработка транспортного шланга усовершенствованным способом в течение 5 мин позволила снизить уровень контаминации до 1 имп./с.

Результаты исследований в разрезе молочно-товарных комплексов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Контаминация молочных шлангов по перекачке молока из танка-охладителя в цистерну молоковоза при различных вариантах санитарной обработки

№ пробы	Контрольный вариант (МТК «Россошное»)		Усовершенствованный вариант (СПФ «Будагово»)	
	RLU/см ²	КОЕ/см ²	RLU/см ²	КОЕ/см ²
1	29	32	2	4
2	33	35	3	5
3	37	44	4	6
4	39	47	5	8
5	42	51	5	8
6	46	52	5	9
7	50	55	6	11
8	55	59	6	11
9	58	70	7	12
10	61	75	7	12
М	45,0	52,0	5,0	8,6
м±	3,16	3,84	0,37	0,77

Анализ данных таблицы 1 показывает, что санитарная обработка транспортного молочного шланга после завершения перекачки молока в молоковоз с применением механической чистки (усовершенствованный вариант) обеспечивает высокий санитарно-гигиенический уровень данного участка молокопроводящего пути. Контаминация шланга для транспортировки молока из холодильника в цистерну молоковоза находилась на уровне 2–7 RLU (4–12 КОЕ/см²), что значительно ниже, чем в контрольном варианте, где механическая чистка не применялась – 29–61 RLU (32–52 КОЕ/см²).

Таким образом, включение в технологический процесс санитарной обработки транспортных молочных шлангов механической очистки их внутренних молокопроводящих поверхностей дает ощутимый по-

ложительный эффект по снижению контаминации. Однако конструктивно изделие, используемое для механической чистки, в предыдущих опытах позволяло обрабатывать только входную и выходную части транспортного шланга, что позволило сделать заключение лишь об эффективности данной дополнительной операции.

В дальнейшем предстояло установить предельный срок эксплуатации транспортных молочных шлангов, обеспечивающий предельно допустимую контаминацию (до 40 RLU), причем по всей их длине (протяженность 13–18 м). Длина шланга для транспортировки молока как в танк-охладитель, так и из него в молоковоз зависит от объемно-планировочных решений по местоположению технологического оборудования в молочном отделении доильно-молочного блока.

В связи с вышеизложенными особенностями потребовалось техническое решение задачи по применению трансформирующейся системы для чистки, состоящей из отдельной детали с ершом и нескольких тросов, позволяющих беспрепятственно проходить всю длину транспортного шланга, эксплуатируемого на конкретном молочно-товарном комплексе.

При проведении научно-хозяйственного опыта на данном этапе использовались транспортные шланги, не бывшие в эксплуатации. Это позволяло обеспечить чистоту эксперимента и получить сопоставимые результаты исследований при изучении уровня микробного загрязнения внутренних (рабочих) поверхностей шлангов, а также изучить динамику санитарного состояния на протяжении 300 дней эксплуатации. Транспортные шланги были изготовлены из ПВХ. Диаметр внутреннего сечения составлял 31 мм, что позволяло им с лёгкостью крепиться на выходных патрубках насосов по перекачке молока. Толщина стенки в 3,6 мм выдерживала напор молока, создаваемый в процессе машинного доения коров на доильных установках.

Санитарная обработка транспортного шланга в контрольном варианте осуществлялась по традиционной схеме, принятой в хозяйстве, а в усовершенствованный вариант был включен дополнительный технологический элемент – механическая чистка поверхностей, контактирующих с молоком в процессе его транспортировки. Объем производства молока на данных молочно-товарных комплексах находился на уровне 5000–6000 кг в сутки. Доение осуществлялось двукратно с равными промежутками времени между дойками.

Санитарная обработка транспортного молочного шланга в усовершенствованном варианте включала следующие операции: ополаскивание от остатков молока проточной водой, чистка его трансформирующейся системой, мойка щелочным раствором, Ополаскивание водой, мойка кислотным раствором и ополаскивание водой от остатков моющего раствора. Следует отметить, что количество протяжек трансформирующейся системы для механической очистки молокопроводящих путей шланга зависит от его первичной контаминации. В данном

научно-хозяйственном эксперименте для достижения высокого уровня санитарного состояния транспортного шланга потребовалось 2-3 протяжки. При проведении данной операции протяжка должна осуществляться в одном направлении, чтобы избежать заклинивания ерша в шланге. Перед протяжкой трансформирующейся системы в транспортный шланг заливается моющий раствор, используемый при циркуляционной мойке доильной установки, в объеме 2–3 л. После выполнения операции чистки все элементы трансформирующейся системы подвергаются ополаскиванию проточной водой и обработке моющим раствором с последующим ополаскиванием проточной водой. Желательно элементы данной системы один раз в неделю обрабатывать дезинфицирующим раствором. Для хранения элементов трансформирующейся системы в молочной лаборатории оборудуются стеллаж.

Исследования уровня контаминации биоорганическими загрязнителями представлены в таблице 2. Анализ данных таблицы показывает, что усовершенствованный способ санитарной обработки транспортного молочного шланга положительно отразился на контаминации. Сравнительная оценка двух вариантов санитарной обработки транспортных шлангов убедительно демонстрирует преимущество усовершенствованного способа над традиционно применяемым в данном хозяйстве. Установлено, что предельно допустимый уровень контаминации молочного шланга в контрольном варианте санитарной обработки (40 RLU) был достигнут на 200-й день его эксплуатации, а в усовершенствованном – на 300-й. Разница составила 100 дней. Следует отметить, что и уровень микробной загрязненности транспортного шланга, подвергавшегося механической чистке трансформирующейся системой, на протяжении всего периода исследований был в 1,8 раза ниже, чем шланга, обрабатываемого традиционным способом.

Более наглядно динамика изменения уровня бактериальной загрязненности транспортных молочных шлангов контрольной и опытной групп в зависимости от сроков эксплуатации представлена на рисунке.

Таблица 2 – Контаминация транспортных молочных шлангов при различных вариантах их санитарной обработки и в зависимости от срока эксплуатации

№ пробы	Срок эксплуатации, дни	Контрольный вариант (МТК «Березовица»)		Усовершенствованный вариант (МТК «Рассошное»)	
		RLU/см ²	KOE/см ²	RLU/см ²	KOE/см ²
1	15	1	2	0	0
2	30	3	6	1	2
3	45	5	10	2	5
4	60	8	15	2	6
5	75	11	19	3	8
6	90	14	26	6	12
7	105	17	30	8	14
8	120	20	38	10	18
9	135	24	46	13	24
10	150	28	52	15	28
11	165	32	62	18	32
12	180	36	74	22	40
13	195	38	82	24	46
14	210	42	97	26	52
15	225	47	106	28	59
16	240	53	117	32	64
17	255	64	125	34	72
18	270	78	138	36	76
19	285	89	155	38	84
20	300	104	170	41	92
M		35,7	68,5	17,9	36,7
m±		7,15	12,03	3,09	6,73

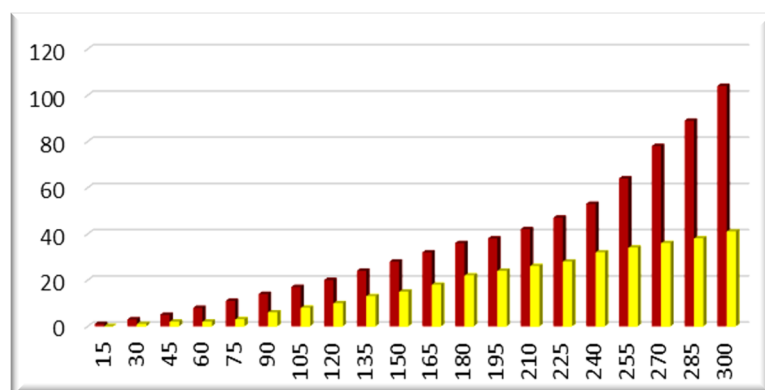


Рисунок – Динамика контаминации транспортных молочных шлангов по периодам эксплуатации

Шланги для перекачки молока, являясь неотъемлемой частью системы по его транспортировке до места охлаждения и хранения, оказывают влияние на качественные показатели молока. Особую важность приобретает санитарное состояние насоса и шлангов, предназначенных для выгрузки молока, так как через это звено транспортной системы в молоковоз проходит все полученное молоко, которое при транспортировке будет медленно нагреваться. В итоге увеличится скорость размножения имеющихся микроорганизмов, а каждая дополнительная колониеобразую-

щая единица может стать решающей в снижении сорта молока.

Согласно анализу санитарно-гигиенического состояния проб молока, отбираемого по периодам, аналогичным отбору проб смывов при определении уровня бактериальной загрязненности выгрузных молочных шлангов, по показателям механической загрязненности, титруемой кислотности, общей бактериальной обсемененности молоко соответствовало требованиям сорта «Экстра» (СТБ 1598-2006). В то же время в опытном варианте, при использовании трансформирующегося устройства,

кислотность молока находилась на уровне 16–17 °Т, что косвенным образом свидетельствовало о менее высоком уровне бактериальной обсемененности, среднее значение которого за период исследований составило $67,4 \pm 13,8$ КОЕ/см³ против $81,7 \pm 15,8$ КОЕ/см³. В контрольном варианте обработки транспортного шланга кислотность молока повысилась до уровня 18 °Т к 270–300-м дням использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлены режимы обработки молочного шланга для перекачки молока из доильного зала в танк-охладитель, включающие дополнительную мойку данного вида изделия перед началом каждого последующего доения.

Установлены режимы обработки молочного шланга для перекачки молока из танка-охладителя в молоковоз, рекомендованные для проведения дополнительной ручной мойки и дезинфекции данного вида изделия перед каждым последующим забором молока.

Усовершенствован технологический процесс и элементы последоильной обработки транспортных молокопроводящих путей, отличающиеся применением механической чистки трансформирующимся устройством, состоящим из отдельной детали с ершом и нескольких тросов, позволяющим беспрепятственно проходить всю длину внутренней (рабочей) поверхности молочных шлангов по перекачке молока.

Санитарная обработка транспортно-го молочного шланга после завершения

перекачки молока в молоковоз с применением усовершенствованного технологического процесса механической очистки, осуществляемого с помощью специального устройства, обеспечивает высокий санитарно-гигиенический уровень данного участка молокопроводящей системы. Так, контаминация 1 см² внутренней поверхности выгрузного молочного шланга составила 2–7 RLU ($4\text{--}12$ КОЕ/см²), что значительно ниже, чем в контрольном варианте, где механическая чистка не применялась, – 29–61 RLU ($32\text{--}52$ КОЕ/см²) соответственно. Предельно допустимый уровень контаминации молочного шланга (40 RLU) в опытном варианте установлен после 300 дней эксплуатации, в то время как при санитарной обработке без использования трансформирующегося устройства (контрольный вариант) – 100 днями раньше. При этом уровень контаминации транспортного шланга, подвергавшегося механической чистке трансформирующейся системой на протяжении всего периода исследований, был в 1,8 раза ниже, чем шланга, обрабатываемого традиционным способом. При использовании трансформирующегося устройства кислотность молока находилась на уровне 16–17 °Т, что косвенным образом свидетельствовало о менее высоком уровне бактериальной обсемененности, среднее значение которой за период исследований составило 67 КОЕ/см³ против 81 КОЕ/см³. В контрольном варианте обработки транспортного шланга кислотность молока к 270–300-м дням эксплуатации повысилась до уровня 18 °Т.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Молоко коровье. Требования при закупках : СТБ 1598-2006. – Минск : Госстандарт, 2015. – 11 с.
2. ХАССП в Беларуси // Стандарт качества. – URL: https://standartno.by/services/razrabotka_hassp/ (дата обращения: 28.11.2024).
3. Системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к организациям, участвующим в пищевой цепи : СТБ ИСО 22000-2006 (ISO 22000:2005, IDT). – Минск : Госстандарт, 2006. – 38 с.
4. Организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа : респ. регламент / М-во сельского хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Науч.-практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству, ГУ «Белплемживобъединение», РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесесского, УО «ВГАВМ», УО «БГСХА», УО «БГАТУ», УО «ГГАУ». – Минск, 2014. – 103 с.
5. Санитарные правила по уходу за доильными установками и молочной посудой, контролю их санитарного состояния и санитарного качества молока / Гос. агропром. комитет СССР. – М., 1987. – 22 с.
6. Рокицкий, П. Ф. Введение в статистическую генетику / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Высшая школа, 1978. – 447 с.
7. Ветеринарно-санитарные правила для молочно-товарных ферм сельскохозяйственных организаций, личных подсобных и крестьянских (фермерских) по производству молока : утв. постановлением М-ва сельского хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь 17.03.2005 г., № 16. – Витебск : УО «ВГАВМ», 2005. – 28 с.