

ISSN 2304-196X

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

# ВНМИЗЖ

# ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

МАЙ №2 {5} 2013



# ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



Ведущий центр разработчиков и производителей ветеринарных препаратов для профилактики и диагностики болезней птиц, свиней и рогатого скота (производится около 100 наименований вакцин и около 50 наименований диагностических наборов).

- Референтная лаборатория по бешенству в РФ
- Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ
- Испытательный центр
- Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья
- Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру

Деятельность осуществляется в соответствии с международными стандартами ISO 9001-2008

600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьеvec  
Тел./факс: (4922) 26-38-77, 26-15-25, 26-15-51, 38-30-30, 26-18-56  
Тел.: (4922) 26-06-14, 26-17-65  
E-mail: mail@arriah.ru http://www.arriah.ru



## Ветеринария сегодня №2(5) 2013 научный журнал

**Главный редактор:** Василий Александрович Грубый, доктор экономических наук, профессор, академик РАЕН, директор ФГБУ «ВНИИЗЖ»

**Шеф-редактор:** Анна Глаголева

**Выпускающие редакторы:** Ольга Борисова, Юлия Трофимова, Ольга Лесных, Юлиана Бададгулова  
**e-mail:** veterinariytoday@yandex.ru, **тел.:** +7915 477 78 36

### Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:

– **Ю.А. Пивоварчик** – первый заместитель директора Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия – Главный государственный ветеринарный инспектор Республики Беларусь

– **Г.С. Исаева** – д.ф.н., к.с.-х.н., Вице-Министр Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан

– **В.В. Дрыгин** – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по НИР и развитию ФГБУ «ВНИИЗЖ» – заместитель главного редактора;

– **О.А. Борисова** – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ» – выпускающий редактор;

– **К.Н. Груздев** – доктор биологических наук, член-корреспондент РАЕН, главный эксперт по болезням свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.В. Макаров** – доктор биологических наук, профессор, академик РАЕН, заведующий кафедрой ветеринарной патологии РУДН (г. Москва);

– **В.А. Мищенко** – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.С. Русалеев** – доктор ветеринарных наук, профессор, ученый секретарь ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **О.В. Прунтова** – доктор биологических наук, профессор, гл. эксперт по пищевой безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.Н. Ирза** – доктор ветеринарных наук, зав. лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **С.К. Старов** – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, заместитель директора по качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **А.С. Иголкин** – кандидат ветеринарных наук, зав. аспирантурой ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **Л.Б. Прохвятилова** – кандидат биологических наук, доцент, начальник отдела координации НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ».

**Дизайн и верстка:** Олеся Михайлина

**Корректор:** Лариса Грибникова

**Менеджер по подписке и дистрибуции:** Алексей Липатов +7 (925) 357 20 61

Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № ФС77-47033 от 21 марта 2012 г. Тираж 1000 экземпляров. Цена свободная.

**Учредитель:** ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

**Издатель:** ООО «Успех»  
105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д.13, оф. 402

**Адрес редакции:** 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

**Типография:** ЗАО «Группа-Море», г. Москва, Хохловский переулок, д. 7-9,  
тел.: (495) 917-42-28

Подписано в печать 28 февраля 2013 года

## СОДЕРЖАНИЕ

- 6 В.М. Захаров, Н.А. Перевозчикова  
**На крутом переломе**
- 13 В.В. Макаров, В.А. Грубый  
**Африканская чума свиней : эпизоотический полиморфизм и контроль**  
Часть I. Естественноисторические предпосылки
- 23 А.В. Спрыгин, Д.В. Волохов, Ю.Ю. Бабин,  
А.В. Пискунов, В.Н. Ирза  
**Выявление *Mycoplasma* sp. 1220, вызвавшей случаи заболевания у гусей**
- 29 Н.М. Карасева, В.Г. Амелин, А.В. Третьяков  
**Одновременное определение патулина, трихотеценовых микотоксинов и зеараленона в зерне и кормах**
- 35 А.В. Варкентин, М.С. Волков, В.Н. Ирза  
**О распространении вирусов гриппа птиц в некоторых регионах Российской Федерации в 2011 году**
- 39 А.С. Яковлева, А.В. Щербаков  
**Получение рекомбинантного белка SpaA *Erysipelothrix rhusiopathiae***
- 42 А.Е. Метлин, С.С. Рыбаков, А.А. Егоров  
**Статус российской популяции крупного рогатого скота по риску губкообразной энцефалопатии, перспективы его оценки согласно критериям, принятым МЭБ**

## CONTENTS

- 18 V.V. Makarov, V.A. Grubyy  
**African swine fever: epidemic polymorphism and control**  
Part I. Natural and historic background
- 26 A.V. Sprygina, D.V. Volokhov, Yu.Yu. Babin,  
A.V. Piskunov, V.N. Irza  
**Detection of *Mycoplasma* sp. 1220 causing disease in geese**
- 29 N.M. Karaseva, V.G. Amelin, A.V. Tret'yakov  
**Simultaneous detection of patulin, trichothecene mycotoxins and zearalenone in grain and feed**
- 35 A.V. Varkentin, M.S. Volkov, V.N. Irza  
**Influenza virus spread in some areas of the Russian Federation in 2011**
- 39 A.S. Yakovleva, A.V. Scherbakov  
**Production of SpaA *Erysipelothrix rhusiopathiae* recombinant protein**
- 50 A.Ye. Metlin, S.S. Rybakov, A.A. Yegorov  
**Bovine spongiform encephalopathy status of the cattle population in Russia, prospects of its assessment in compliance with OIE requirements**



Получить юридическую консультацию  
Узнать новости из мира ветеринарии

Участвовать в обсуждении  
Разместить резюме

WWW.ROSVETPORTAL.RU



УДК 619:578.835.2:001.89:63

## НА КРУТОМ ПЕРЕЛОМЕ

**В.М. Захаров<sup>1</sup>, Н.А. Перевозчикова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zaharov@arriah.ru

<sup>2</sup>доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Есть в славной истории ФГБУ «ВНИИЗЖ» период, который, на наш взгляд, сыграл важнейшую роль в становлении института, предопределил основные направления его деятельности на долгую перспективу.

Это время, когда в 1992-2003 гг. институт носил название Всероссийского научно-исследовательского института защиты животных, можно обозначить как бурный период, насыщенный значимыми событиями в жизни коллектива института, неразрывно связанный с историей нашей страны, распадом СССР и образованием Российской Федерации как самостоятельного государства, формированием новых российских органов управления, в том числе и в области ветеринарии.

Конечно, в краткой журнальной статье трудно отобразить все многообразие событий этого периода, поэтому остановимся лишь на отдельных моментах, участниками или свидетелями которых мы были (Захаров В.М. работает в институте с 1963 г., Н.А. Перевозчикова – с 1965 г.).

Но в начале хотелось бы привести несколько уточняющих штрихов к характеристике предшествующего периода истории института, довольно подробно изложенной профессорами А.М. Рахмановым и В.Л. Узюмо-

вым, усилиями которых изданы 3 исторических книги, отражающих разные этапы в деятельности института.

Инициатива создания института, с учетом громадной для страны экономической значимости проблемы, отнюдь не принадлежала Министерству сельского хозяйства СССР, как это зачастую трактуется в публикациях по истории института.

Изначальным было постановление ЦК КПСС и Совета министров СССР от 7 августа 1958 г., обязующее МСХ СССР создать в 1958-1960 гг. на базе существующих научных и учебных учреждений и совхозов Всесоюзный ящурный институт с экспериментальной лабораторией по испытанию биопрепаратов против особо опасных инфекций на территории РСФСР.

В развитие этого постановления министром сельского хозяйства СССР В.В. Мацкевичем приказом от 20 августа 1958 г. № 233-13 «О мероприятиях по усилению научно-исследовательских работ в области микробиологии и вирусологии» было предусмотрено создать в 1958-1960 гг. вышеупомянутый институт, а приказом от 27 июня 1960 г. № 0102-921 – разместить и построить Всесоюзный ящурный институт с экспериментальной лабораторией во Владимирском районе Владимирской области.



Приказом по МСХ СССР от 25 ноября 1960 г. № 225 было предписано создать теперь уже Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт (ВНИИЯИ) во Владимирской области, с назначением на должность и.о. директора института заместителя начальника Управления научно-исследовательских учреждений МСХ СССР профессора Лактионова А.М., а заместителем директора по научной работе – кандидата ветеринарных наук Дорофеева А.А. (ВНИИВВиМ).

Этот небольшой краткий экскурс в историю первоначального становления института, кроме уточнения некоторых существенных деталей по процессу организации института, прежде всего направлен только на то, чтобы подчеркнуть, что само создание института было отнюдь не ведомственной сельскохозяйственной проблемой, а отражало насущные государственные проблемы страны в целом.

И поэтому, естественно, с развалом СССР, ВНИИЯИ, как призванного решать общегосударственные проблемы в области сельского хозяйства страны, также непосредственно коснулись основополагающие проблемы определения путей дальнейшего функционирования.

Тем более, что основные задачи, возложенные на ВНИИЯИ, к этому времени были уже успешно решены и на территории страны было достигнуто устойчивое благополучие по ящуру. Предстояло значительно расширить направленность научной тематики института, должной отвечать актуальным проблемам животноводства.

Приказом министра сельского хозяйства Российской Федерации В. Н. Хлыстуна от 10 июня 1992 г. № 329 ВНИИЯИ был переименован в Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных (ВНИИЗЖ). В этот период директором института был заслуженный деятель науки РФ, профессор А.Н. Бурдов, а затем до 2002 г. институтом руководил член-корреспондент РАСХН, профессор А.А. Гусев.

В связи с переименованием института, как о курьезе уместно было бы напомнить о таком факте, что в перестроечной суете, царившей в это время, институт чуть было не лишился своего официального символа – Красного знамени, которое бережно сохранил и вернул в институт руководитель сектора централизованного использования оборудования к.б.н. В.А. Перевозчиков.

Конечно, утрата знамени, как в былые времена, не повлекла бы за собой расформирование владельца, но только благодаря патриотизму сотрудников, сегодня мы можем любоваться этой уникальной реликвией на выставочном стенде с гордой надписью «Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт».

В этот же период произошло еще одно знаковое в истории института событие, связанное с ликвидацией союзных органов управления. По инициативе дирекции ВНИИЯИ приказом министра сельского хозяйства Российской Федерации В.Н. Хлыстуна от 29 сентября 1992 г. № 441 институт был подчинен Главному управлению ветеринарии Минсельхоза России. Кстати, находившийся со дня основания в том же ГУНИИЭПУ МСХ СССР родственник по тематике ВНИИВВиМ (г. Покров) был включен в состав Россельхозакадемии, и тем самым два самых значимых во Владимирской области ветеринарных научно-исследовательских института были разведены по ведомственной подчиненности.

Перед ВНИИЗЖ в качестве главной была поставлена цель по оказанию оперативной помощи ветеринарной службе в борьбе с особо опасными заразными болезнями животных и выполнению научно-исследовательских прикладных задач в этой области.

В соответствии с новыми задачами предстояло радикально расширить тематику исследовательских программ, разработать технологии производства новых биопрепаратов, интенсифицировать междуна-



родное сотрудничество, позволяющее быть на уровне современных тенденций развития ветеринарной биотехнологии.

С учетом этого, оставляя в качестве приоритетной «ящурную» тематику, были разработаны программы научных исследований по изучению многих актуальных болезней крупного и мелкого рогатого скота, свиней и птиц, перепрофилированы существовавшие и созданы новые лаборатории.

Но этому предшествовали значимые события, внесшие большие потрясения в жизнь коллектива института.

Дело в том, что исходя из постановляющих документов по организации ВНИИЯИ, наряду с развитием исследовательского сектора, одновременно строился экспериментально-производственный корпус института, на базе которого по приказу МСХ СССР от 18.12.85 г. № 7-25 в целях ускорения разработки и внедрения в практику промышленных технологий производства новых диагностических и профилактических биопрепаратов против ящура и других везикулярных болезней животных, развития опытно-экспериментального и промышленного производства ветеринарных препаратов, был создан экспериментальный завод «Юрвецветбиопрепарат», находящийся в непосредственном подчинении института.

Институт и завод имели раздельный баланс, но обслуживались одними и теми же подразделениями (бухгалтерия, плановый отдел, инженерно-техническая и ветеринарно-санитарная службы и др.), имели единые объекты энергообеспечения, соцкультбыта, общественные организации. Функционирование завода в составе института прежде всего имело целью использование экономических хозрасчетных рычагов в биологическом производстве.

Однако, с распадом СССР, в обстановке всеобщей эйфории самостоятельности, в коллективе института разгорелись жаркие дискуссии о значимости дальнейшей совместной работы института и завода. Многим казалось, что научный сектор ничего более не сможет принести в общую копилку, будет таким балластом в эффективной деятельности завода по производству ветеринарных биопрепаратов.

На основании своих амбициозных устремлений руководство завода, апеллировавшее к решению конференции трудового коллектива завода, обратилось с соответствующим ходатайством в Комитет по управлению государственным имуществом РСФСР, и приказом по Минсельхозпроду РСФСР от 29 августа 1991 г. № 863 завод ВНИИЯИ «Юрвецветбиопрепарат» был отделен от института и передан в ведение Главветуправления РСФСР.

Руководство института, и прежде всего директор профессор Бурдов А.Н., категорически возражало против разделения единого научно-производственного комплекса, а заместитель директора по научной работе Захаров В.М. и заместитель главного бухгалтера Шулик Е.В. даже внесли в акт приема-передачи особое мнение о недопустимости раздела института.

С отделением экспериментального завода был расколот единый трудовой коллектив, институт практически лишился мастерских, складских помещений, гаража, но самое главное – утратил экспериментальную базу для отработки новых технологий, ибо для завода в условиях рыночной экономики основным было производство биопрепаратов по налаженной технологии, что гарантировало бы уверенный сбыт продукции.

В связи с этим последовали неоднократные обращения института в вышестоящие организации об ошибочности отделения завода от института, приведшего



к развалу существовавшего комплекса, позволявшего быстро и эффективно осуществлять научные разработки, испытывать их в экспериментальных условиях с внедрением в опытно-промышленное, а затем и промышленное производство.

Согласившись с доводами института, министр сельского хозяйства и продовольствия РФ А.Г. Назарчук приказом от 23 декабря 1994 г. № 315 вновь включил государственное предприятие завод «Юрвецветбиопрепарат» в состав Всероссийского научно-исследовательского института защиты животных как структурное подразделение.

Правильность и дальновидность этого решения была подтверждена жизнью.

В условиях общего недостатка государственного бюджетного финансирования, выделяемого на науку в первый постсоветский период, ВНИИЗЖ, располагая высочайшим научным потенциалом для выполнения научных исследований на самом передовом научно-методическом уровне, современной экспериментальной технологической базой, сумел под руководством директора института А.А. Гусева развернуть интенсивные научно-исследовательские работы не только по ящуру, но и по широкому кругу других особо опасных и экономически значимых болезней, организовать для государственных нужд опытно-промышленное производство биопрепаратов, не уступающих по качеству зарубежным аналогам.

Этому в значительной мере способствовала заметно возросшая творческая активность молодых научных кадров института, получивших реальный шанс проявить себя на научном поприще, а также появление в институте новой плеяды молодых, с высокой творческой инициативой научных сотрудников, прошедших ранее аспирантуру ВНИИЯИ и работавших в других инсти-

тутах или пришедших из других научных организаций.

В их числе, определивших появление и развитие принципиально новых направлений научной деятельности института, необходимо отметить таких исследователей, как В.Н. Иванющенко, Н.А. Перевозчикова, В.В. Дрыгин, С.С. Рыбаков, А.В. Щербаков, Н.С. Мудрак и др., обеспечивших успешное развитие молекулярно-биологических исследований в институте. Исследованиями А.В. Борисова, В.Н. Ирзы, В.В. Борисова, С.К. Старова, Ш.К. Куляшбековой были заложены основы принципиально новых для института направлений научно-исследовательских работ по разработке и совершенствованию диагностических и вакцинных препаратов против вирусных болезней птиц (Гамборо, Марека, Ньюкасла, ССЯ-76, инфекционного ларинготрахеита, инфекционного бронхита кур и др.).

Большое значение для профилактики болезней крупного и мелкого рогатого скота, свиней, плотоядных животных получили разработки В.А. Мищенко, В.И. Диева, Т.З. Байбикова, В.С. Русалева, О.В. Прунтовой, Л.А. Глобенко и др.

На базе научно-технических разработок в Федеральном центре охраны здоровья животных впервые в стране создана и успешно используется на практике комплексная система, включающая диагностику с применением современных молекулярно-биологических методов, слежение за эпизоотической ситуацией по данным серологического мониторинга с использованием автоматизированного ИФА и специфическую профилактику с учетом данных изучения циркулирующих на территории РФ изолятов возбудителей.

Комплексность исследований, проводимых во ВНИИЗЖ, позволила быстро реагировать на запросы практики, осуществлять непосредственную связь с животноводческим производством путем выезда сотрудников института в хозяйства различных регионов



для сбора материалов, анализа эпизоотической обстановки и оказания практической помощи в ликвидации инфекционных болезней, обеспечивая их ветеринарным обслуживанием на совершенно новых принципах, включающих точечное комплексное осуществление диагностической работы, научную консультацию, поставку необходимых лечебных средств и биопрепаратов собственного производства.

Институт функционировал как Центр стандартизации современных методов ветеринарной диагностики, разрабатывал ИФА, ПЦР диагностические наборы, комплектовал диагностическое оборудование, разра-

батывал программы для обработки и интерпретации результатов анализов для оснащения ветеринарных лабораторий страны.

Осуществлялись массовые диагностические исследования проб патологического материала и сывороток крови животных на наиболее актуальные инфекционные болезни. Причем выделение возбудителей инфекционных болезней из полевых материалов проводилось на лабораторных животных и культурах клеток, а при необходимости и на восприимчивых животных, осуществлялась их идентификация и сравнение с вакцинными штаммами.

Эта система способствовала своевременному предупреждению и эффективной ликвидации вспышек особо опасных и экономически значимых болезней животных, что позволяло существенно снизить напряженность эпизоотической ситуации в стране и уменьшить экономический ущерб от инфекционных болезней животных.

Но приоритетным направлением в работе института оставались исследования по совершенствованию противоящурных вакцин, средств и методов диагностики ящура (А.И. Дудников, Н.А. Улюпов, В.В. Михалишин, Ж.А. Шажко, С.А. Дудников, Т.А. Фомина и др.).

За разработку научных основ и комплекса мероприятий, обеспечивших ликвидацию эпизоотии ящура в стране и создание устойчивого благополучия по этой инфекции, группа ветеринарных специалистов, в том числе ведущие сотрудники института А.А. Гусев, А.И. Дудников и Ж.А. Шажко, в 1996 г. были отмечены Государственной премией Российской Федерации в области науки и техники.

Учитывая огромный вклад института в разработку и осуществление комплекса противоящурных мероприятий по ликвидации ящура в стране, Международное



эпизоотическое бюро (МЭБ) на 63-й Генеральной сессии (1995 г.) отметило заслуги института как научно-методического центра и присвоило ему статус «Региональной референтной лаборатории МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья», а в 1997 г. на институт были возложены также функции «Центра МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных» для этого же региона.

В связи с тем, что в Европе с 90-х годов прошлого столетия была прекращена вакцинация животных против ящура, в институте была разработана новая стратегия борьбы с ящуром в стране (А.А. Гусев, А.И. Дудников, В.М. Захаров, Т.З. Байбиков и др.), основные положения которой сводились к последовательному расширению зон устойчивого благополучия по ящуру с поэтапным уменьшением объемов иммунизации животных, сохранением территорий вакцинации только в зонах постоянной угрозы заноса ящура; четкой системе диагностики заболевания и идентификации вируса; при возникновении очагов – применению вакцин для ранней защиты с убоем животных или без убоя; поддержанию резерва вакцин; системе чрезвычайных мер при возникновении угрозы заболевания.

С обострением в 90-е годы прошлого столетия эпизоотической ситуации по ящуру в республиках Закавказья и Центральной Азии, институтом совместно с Департаментом ветеринарии МСХ РФ и международными организациями (МЭБ/FAO/ЕС) в 1998-1999 гг. были подготовлены предложения и осуществлены мероприятия по созданию противоящурной буферной зоны стран СНГ. При этом ВНИИЗЖ, при финансовой поддержке со стороны Европейской Комиссии FAO по ящуру, осуществлял эпизоотологический и серологический мониторинг, поставку вакцин и контроль иммунного фона у животных буферной зоны.

Поддержание буферной зоны в Закавказском регионе до настоящего времени во многом способствует

предотвращению заноса и распространения ящура в странах региона.

Плодотворное функционирование ВНИИЗЖ по борьбе с особо опасными болезнями животных в стране, так же как и активная деятельность на международной арене, обеспечило то, что даже крайне неритмичное бюджетное финансирование уже не сказывалось негативно на общем финансовом состоянии института. Более того, за счет самостоятельно зарабатываемых средств институт мог значительно расширить сферу научных исследований и, как следствие, увеличить виды и объемы производимой продукции.

За счет прибыли от коммерческой деятельности институт вкладывал значительные средства в развитие науки, оснащение современной экспериментальной базой, осуществление хозяйственной и производственной деятельности, стимулирование труда работников.

Успешная работа института в виде единого научно-производственного комплекса породила даже иллюзию возможности практически полностью отказаться от бюджетного финансирования, направляемого на содержание института, и выйти из под контроля Главного управления ветеринарии МСХ РФ, что, конечно, не получило поддержки вышестоящих органов управления.

С уходом из института в 2002 г. профессора Гусева А.А. коллектив ВНИИЗЖ пережил свой исторический период «смутного времени», со стихийными митингами и акциями протестов, когда институтом руководила целая череда исполняющих обязанности директора института, зачастую не имевших никакого отношения ни к науке, ни к сельскому хозяйству вообще.

Именно в это время последовали кардинальные преобразования в организации работы института с принципиальными изменениями Устава и переименованием в июле 2003 г. в Федеральное государственное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных».

УДК 619:616.98:578.842.1

# АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ: ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И КОНТРОЛЬ

## ЧАСТЬ I. ЕСТЕСТВЕННОИСТОРИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ

(РАЗДЕЛ ОТЧЕТА ПО ТЕМЕ «АДАПТИВНОЕ ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЕ ПРОИЗВОДСТВО В УСЛОВИЯХ ТРОПИКОВ И СУБТРОПИКОВ»)

**В.В. Макаров<sup>1</sup>, В.А. Грубый<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов, г. Москва, e-mail: vvm-39@mail.ru

<sup>2</sup> доктор экономических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

### РЕЗЮМЕ

Рассматриваются основополагающие особенности естественной истории АЧС, систематизированные паттерны эпизоотических ситуаций, реальные пути распространения и укоренения инфекции, сценарии контроля.

**Ключевые слова:** африканская чума свиней, эпизоотические ситуации, эрадикация, экономика.

### ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – генерализованная (системная) вирусная инфекция, передающаяся клещами (tick-borne). Характеризуется выраженной вариабельностью вирулентности различных изолятов вируса и высокой его устойчивостью к физическим и химическим факторам инактивации [1, 5, 6]. Болезнь известна с начала 20 в., с первых попыток интродукции свиней культурных пород в колониальные страны Южной и Восточной Африки. В течение последующих шестидесяти лет регистрировалась в этом регионе как типичная природно-очаговая инфекция, резервуаром которой служили преимущественно бородавочники *Phacochoerus aethiopicus*, одушевленными переносчиками – африканские аргасовые клещи *Ornithodoros moubata*. С начала 60-х гг. АЧС была занесена, распространялась и укоренилась в южно-европейских странах. Здесь инфекция эволюционировала в направлении самостоятельного антропоургического цикла в домашнем свиноводстве с передачей возбудителя

за счет прямых и непрямых контактов восприимчивых животных с больными или через различные контактированные объекты, с нерегулярным вовлечением диких свиней (европейских кабанов) и европейских клещей группы *O. erraticus*. Последующий этап естественной истории ознаменовался двукратным эмерджентным переносом АЧС «домашнего» эпизоотического стереотипа через Атлантический океан, возникновением и распространением в странах Центральной и Южной Америки (1971 и 1978–1985 гг.). В 1977 г. инфекция была занесена и распространилась в СССР.

АЧС во второй половине 20 в. и далее – одна из важных трансграничных инфекций с катастрофическим потенциалом, наиболее серьезная проблема мировой эпизоотологии в виду чрезвычайно большого прямого ущерба (высокой восприимчивости животных и затрат на мероприятия по искоренению эпизоотических очагов), способности к возникновению и эпизоотическому распространению и укоренению в самых неожиданных регионах мира, невозможностью специфической профилактики [1, 2, 5, 6, 7].

Важнейшая эпизоотологическая особенность («коварство») АЧС «домашнего» стереотипа вне традиционного природно-очагового юго-восточноафриканского нозоареала – чрезвычайно быстрое изменение форм течения инфекции среди домашних свиней от острого со 100% летальностью до хронического и бессимптомного носительства и непредсказуемого распространения за счет вариабельности возбудителя по вирулентности [1]. **Эпизоотический процесс АЧС**



Рис. 1. Пути и факторы межгосударственного заноса и распространения АЧС (1978-2008 гг.) (%), n = 30 [по данным WAHID и ProMED]

представляет собой ряд связанных между собой заражением и возникающих один из другого эпизоотических очагов, поэтому наиболее важным элементом противоэпизоотических мероприятий является приоритет пресечения выноса инфекции «изнутри» перед заносом «извне». Последний фактор в силу многих причин, прежде всего антропогенного характера, непредсказуем и чрезвычайно сложно контролируем. Именно этими соображениями диктуются масштабы реализации политики стемпинг аут и тотальной ликвидации всего неблагополучного материала (восприимчивых животных независимо от состояния и неодушевленных объектов) [1, 2, 3].

### МЕЖГОСУДАРСТВЕННОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Проникновение АЧС в неэнзоотичные страны характеризуется своеобразием и многочисленностью факторов и путей. Безусловно, вне Африки преобладающими среди них являются авиа- и морские сообщения с незаконным использованием впоследствии пищевых отходов и разнообразная трансграничная передача на сопредельные территории из энзоотичных стран (рис. 1, 4).

Конкретными примерами служат скармливание свиньям мелких хозяйств необезвреженных авиапассажирских отходов вблизи международных аэропортов Рио-де-Жанейро в Бразилии, Санто-Доминго на о. Гаити (1978), морских портов Одесской области (Украина, 1977), на о. Сардиния и Мальте (1978) (во всех случаях вирус I генотипа, указывающий на европейское происхождение), в Порт-Луисе (Республика Маврикий, 2007) и Поти (Грузия, 2007) (в обоих случаях вирус II генотипа юго-восточноафриканского происхождения), многофакторные выносы из Испании во Францию (1964, 1967, 1974), из Гаити в Республику Куба (1980), систематический трансграничный трафик из неблагополучных стран на благополучные территории Африки (дикие свиньи, миграция населения,

перемещения свиней, охотники и трофеи, пищевые продукты, корма, отбросы) [1, 4, 6, 7].

После крупной эпизоотии АЧС на Кубе в 1971 г. стало очевидным, что страны Западного полушария никакими привилегиями в защите от этой инфекции не располагают и естественные территориальные факторы («атлантический» барьер, географическая удаленность или изоляция вообще) весьма уязвимы (что и показала дальнейшая история). Первичные за океанские случаи АЧС экзотического происхождения весной 1978 г. были близки хронологически и топографически (центр Америки с высокой популяционной плотностью свиней – о. Гаити и Бразилия; эпизоотия вторичного характера в 1980 г. в Республике Куба).

### ВНУТРИГОСУДАРСТВЕННОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ И УКОРЕНЕНИЕ

В дальнейшем интенсивном распространении инфекции из первичных очагов внутри стран заноса особая роль принадлежит дальним грузовым автоперевозкам и возможности перемещения людей на большие расстояния по магистралям (например, в Бразилии по автомагистралям от первичных вспышек в Рио-де-Жанейро на юг страны, где содержится до половины свиного поголовья, в РФ – с Северного Кавказа по всей Европейской части вплоть до Заполярья). Вместе с этим в Бразилии и на о. Гаити критическими кофакторами эпизоотии были люмпенизированная психология и крайняя отсталость сельского населения, бесчисленное количество свалок мусора, помоек и свободный доступ к ним свиней (рис. 2), крайняя степень бытовой антисанитарии в трущобах (фавелах), примитивное свиноводство с откормом пищевыми отбросами из любых источников, криминализованной убой, реализация, вообще торговля и распространение продуктов свиного происхождения, а также отсроченная диагностика. Все это свидетельствовало о преимущественно социальном характере АЧС в этих странах [4, 6, 7].

По «опыту» Испании, Португалии и Сардинии [1, 6, 7], становление энзоотий обуславливается прежде всего высокой плотностью популяций домашних свиней и мелких частных хозяйств (1-5 голов для лич-



Рис. 2. Идеальные условия для возникновения и распространения АЧС

ного использования). Усредненный стереотип отличается от такового других важнейших кормовых эпизоотических инфекций свиней – классической чумы и везикулярной болезни (рис. 3 и 4).

Вместе с тем тотальное неблагополучие обеих стран Иберийского региона и становление энзоотии в ближайшее время после заноса АЧС в 1960 г. было обусловлено, главным образом, безрассудным широкомасштабным применением так называемой «живой вакцины» из вируса, модифицированного в культуре лейкоцитов крови свиней. В 1963 г. число эпизоотических очагов таким образом одновременно возросло до 821 (втрое по отношению к 1961 г.) с регистрацией преимущественно нелетальной инфекции, диагностируемой по серопозитивности. Если на о. Гаити и в Бразилии (1978-1979) такая эволюция АЧС произошла за счет отбора ослабленных природных вариантов эпизоотического возбудителя, то в Испании, вероятнее всего, возникла «рукотворная» энзоотия, спровоцированная распространением антропогенного вируса.

На западе Кубы в 1971 г. популяция риска в основном была сосредоточена на специализированных фермах. В связи с задержкой постановки диагноза на полтора месяца и высокой плотностью свиноферм в двух провинциях возникло 33 очага АЧС с поголовьем в 32 500 свиней. Быстрое распространение инфекции было обусловлено тесными межхозяйственными связями, перевозками свиней и перемещением персонала.

В 1980 г. АЧС вновь возникла уже на востоке страны, в Гуантанамо, и распространилась в трех сопредельных провинциях. Крайняя восточная оконечность острова расположена в 77 км от побережья Гаити, там же находится печально известная военно-морская база США площадью более 100 кв. км, что дает основания предполагать близкие к реальным пути заноса АЧС – от тысяч гаитянских иммигрантов-нелегалов до диверсии. Для этой части страны, в отличие от западной, неблагополучной в 1971 г., характерна аграрная и животноводческая экономика. Поголовье, достигшее в Гуантанамо 90 000 свиней, сосредоточено в личном пользовании сельского населения в целях самообеспечения и рыночной торговли (по 1-3 сви-

ньи), животные откармливаются фруктами и пищевыми отходами в отсутствие элементарной зоогигиены. Высокая популяционная плотность восприимчивого поголовья и мобильность сельского населения явились причиной возникновения 37 эпизоотических вспышек в 9 из 10 муниципалитетов, в большинстве случаев с высокой инцидентностью [7].

### ЭВОЛЮЦИЯ И ПАТТЕРНЫ ЭПИЗОТИЧЕСКИХ СИТУАЦИЙ

Общими предпосылками глобальной эмерджентности АЧС во второй половине 70-х гг. явились активизация эпизоотического процесса АЧС в Европе (2384 вспышки в Испании, 864 – в Португалии, 24 – в Италии только в 1978 г.; далее – Мальта, 1978-1979; позднее – Франция, 1984; Бельгия, 1985 и Голландия, 1986), интенсификация торговли, туризма и международного трафика вообще с энзоотичными странами Иберийского региона, где в начале 70-х гг. произошли радикальные социально-политические преобразования (ликвидация тоталитарных режимов и демократизация общества). Эти же причины, вероятно, сыграли свою роль в возникновении и распространении АЧС в 1977 г. в СССР [1, 4, 6, 7].

Выход АЧС из экзотического нозоареала и по сути панзоотического распространение в домашнем свиноводстве в 1970-1980 гг. характеризовались трансформацией проявления инфекции на территориальном и популяционном уровнях. Своеобразный эпизоотический полиморфизм выразился в трех типах развития эпизоотических ситуаций.

(i). АЧС в «свободном плавании» в странах традиционного нозоареала юго-восточной Африки, сохраняющего чрезвычайный лоймопотенциал, о чем свидетельствует вынос в Грузию и беспрецедентное распространение далее вируса II генотипа, регистрируемого ранее только там (Мадагаскар, Мозамбик, Замбия, Маврикий). Вместе с тем, в последнее время активизировался относительно новый центрально-





# AFRICAN SWINE FEVER: EPIDEMIC POLYMORPHISM AND CONTROL

## PART I. NATURAL AND HISTORIC BACKGROUND

(SECTION OF THE REPORT 'ADAPTIVE NATURAL RESOURCE MANAGEMENT AND AGRICULTURAL PRODUCTION IN THE TROPICS AND SUBTROPICS')

V.V. Makarov<sup>1</sup>, V.A. Grubyy<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Doctor of Science (Biology), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, e-mail: vvm-39@mail.ru

<sup>2</sup> Doctor of Science (Economics), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir

### SUMMARY

Basic peculiarities of the natural history of African swine fever, systematized patterns of epidemic situations, realistic pathways of spread and eradication of the infection, and control scenarios are described in the paper.

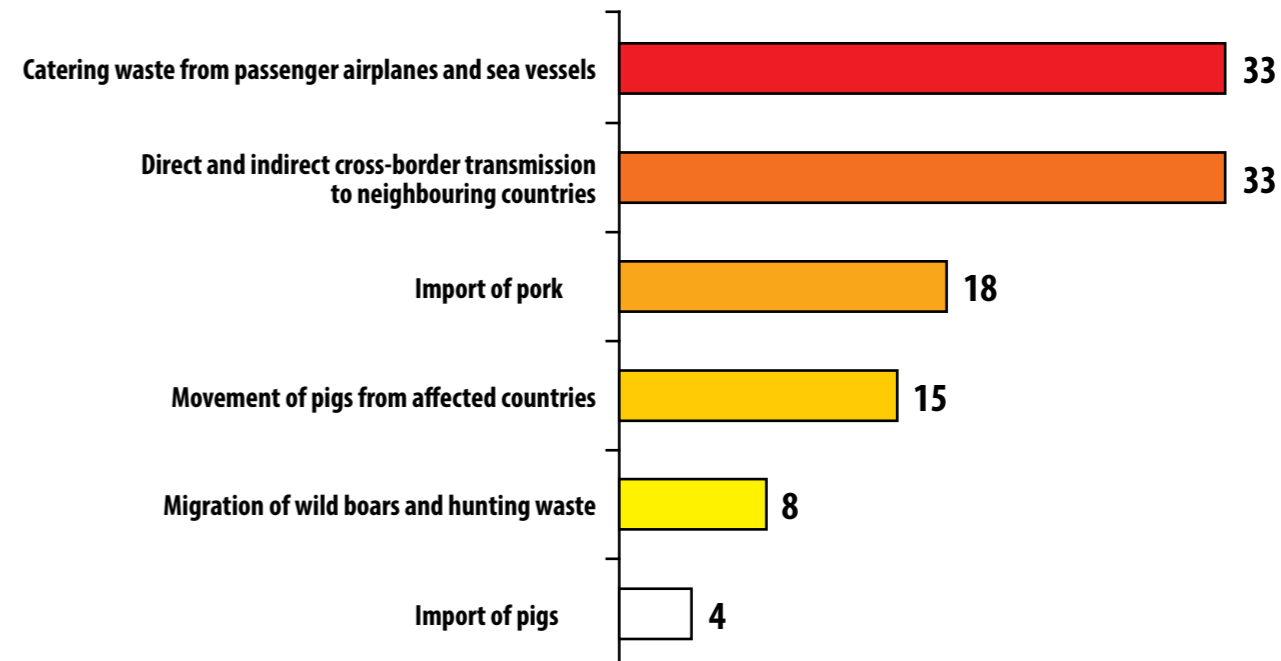
**Key words:** African swine fever, epidemic situations, eradication, economics.

### INTRODUCTION

African swine fever (ASF) is a tick-borne generalized (systemic) viral infection. It is characterized by a pronounced variability of virulence of different virus isolates and high resistance of the virus to physical and chemical inactivation factors [1, 5, 6]. The disease has been known from the beginning of the 20th century, from the first attempts to introduce pedigree pigs to the colonial countries of the South and Eastern Africa. During the subsequent 60 years the disease was reported in this region as a typical natural focal infectious disease with its reservoir being predominantly wart hogs *Phacochoerus aethiopicus* and vectors – soft ticks *Ornithodoros moubata*

of Argasidae family. In the early 60-s ASF was introduced, spread and established in the South European countries. In this region the infection evolved to the state of an independent focus associated with anthropogenic activities. The disease spread in domestic pigs via direct and indirect contacts between susceptible and affected animals or via different contaminated objects with sporadic involvement of wild pigs (European hogs) and European *O. erraticus* ticks. During the subsequent stage of its natural history the 'domestic' epidemic serotype of the infection managed to cross the Atlantic Ocean and spread in the countries of the Central and South America (1971 and 1978–1985). In 1977 the disease was introduced and started to circulate in the territory of the USSR.

In the second half of the 20<sup>th</sup> century and later ASF became one of the most important transboundary infections with a disastrous potential and one of the most serious problems of the world epidemiology due to the extremely large direct losses inflicted (high susceptibility of animals and cost of epidemic foci eradication measures), its potential to emerge, epidemically spread and establish in completely unexpected regions of the world, lack of specific prevention measures [1, 2, 5, 6, 7].



The most important epidemic peculiarity ('insidiousness') of ASF 'domestic' serotype outside of the conventional natural focal Southeast African nosoarea is the extremely rapid change of the disease course in domestic pigs: from acute form with 100% mortality to chronic and asymptomatic carrier status and to unpredictable spread due to the agent virulence variability [1]. ASF epidemic process is the sequence of interrelated epidemic outbreaks emerging one after another. Therefore, one of the most crucial elements of anti-epidemic measures should be the priority of measures for the prevention of the infection escape from within a focus over those aimed at the elimination of the risk of introduction. The latter is extremely difficult to predict and control owing to many reasons, primarily, of anthropogenic origin. Exactly these considerations should be taken into account when implementing stamping out strategy and total destruction of all affected animal population and objects (susceptible animals independent of their health status and inanimate objects) [1, 2, 3].

### GLOBAL SPREAD

Introduction of African swine fever to non-enzootic countries is characterized by multiple and diverse ways and factors. Outside of the African continent the predominant ways and factors were definitely associated with air and sea transportation and illegal use of catering waste, as well as with different routes of cross-border transmission of the infection from enzootic countries to neighbouring territories (Fig. 1, 4).

The following examples can be given: feeding of backyard pigs with non-decontaminated waste from passenger airlines near the international airport of Rio de Janeiro in Brazil, Santo-Domingo in Haiti, (1978), sea ports of the Odessa Oblast (Ukraine, 1977), on the islands of Sardinia and Malta (1978) (in all cases it was genotype I virus which is indicative of its European origin), in Port-Louis (Mauritius, 2007) and Poti (Georgia, 2007) (in both cases it was genotype II virus of Southeast African origin), multiple introductions of the infection from Spain to France (1964, 1967, 1974), from Haiti to the Cuba Republic (1980), systematic cross-border traffic from affected territories of Africa (wild boars, migration of population,

Fig. 1. Ways and factors of global introduction and spread of ASF (1978-2008) (%), n=30 [according to WAHIS and ProMED data]

movement of pigs, hunter's trophy, food products, feed, waste) [1, 4, 6, 7].

The large ASF epidemic in Cuba in 1971 demonstrated that the countries of the Western Hemisphere could not boast of any protection from the infection and the natural territorial factors (Atlantic Ocean barrier, geographical distance or general isolation) are very vulnerable (that became evident as the events progressed). Primary overseas ASF outbreaks of exotic origin in spring of 1978 were chronologically and topographically related (Central America with high pig population density – Haiti and Brazil; secondary epidemic in 1980 – in the Cuba Republic).

### SPREAD AND ESTABLISHMENT OF THE INFECTION WITHIN THE COUNTRY

Major role of the further intensive virus spread from primary outbreaks inside the county belongs to distant truck haulage and long-distance highway transportation of people (for example, in Brazil: from primary outbreaks in Rio de Janeiro to the South of the country where half of the pig population is kept, in the RF – from the Northern Caucasus over the whole European part up to the Zapolyarye). As for Brazil and Haiti, critical factors of the epidemic were lumpenized psychology and backwoods mentality of farm people, innumerable dumps, landfills and free access of pigs to them (Fig. 2), extremely insanitary conditions in slums (favelas), primitive pig farming with feeding pig with waste of any origin, criminal slaughter, trade, marketing and distribution of pork products, as well as delayed diagnosis. All these factors testified to the predominantly social nature of ASF spread in given countries [4, 6, 7].

Spanish, Portuguese and Sardinia experience [1, 6, 7] shows that the epidemic development primarily depends on high population density of domestic pigs and small farms (1-5 pigs for self-consumption). Average stereotype differs from that of the other important feed-borne porcine epidemic infections – classical swine fever and



Fig. 2. Ideal conditions for ASF occurrence and spread

swine vesicular disease (Fig. 3 and 4).

At the same time, the disease managed to rapidly spread in both countries of the Iberian Peninsula immediately after its introduction in 1960 due to a reckless large-scale use of the so-called 'live vaccine' based on the virus modified in porcine leukocyte culture. Thus, the number of epidemic foci sharply increased up to 821 in 1963 (three times as compared to 1961) with the prevalence of nonlethal infection diagnosed by the presence of serum antibodies. If on the island of Haiti and in Brazil (1978-1979) the ASF evolution was associated with the selection of impaired natural variants of the epidemic agent, Spain was sure to become a victim of a man-made enzootic caused by the anthropogenic spread of the virus.

In 1971 the population at risk in the western part of Cuba was concentrated on specialized farms. A 1.5-month delay of the diagnosis and high density of pig farms resulted in 33 ASF outbreaks occurred in two provinces with the total affected population of 32,500 pigs. Galloping spread of the infection was caused by close inter-farm relations, movement of pigs and personnel.

In 1980 ASF re-emerged in the eastern part of the country, in Guantanamo, and spread in three neighbouring provinces. The farthest part of the island is located 77 km from the coast of Haiti where the notorious Naval Station Guantanamo Bay is situated in the area of more than 100 km<sup>2</sup>. Such close neighborhood allows suggesting possible ASF routes of introduction: from thousands of Haitian illegal immigrants to an act of sabotage. As opposed to

the western part which was affected in 1971, economy of the eastern part heavily depends on agricultural and livestock production. The Guantanamo pig population amounting to 90,000 pigs was kept in small backyards for the purpose of self-consumption and market trade (1-3 pigs). The animals were fed with fruit and kitchen waste without observing any elementary rules of animal health hygiene. High density of susceptible animal population and mobility of rural people resulted in 37 outbreaks in 9 out of 10 municipalities with high disease incidence in most cases [7].

#### EPIDEMIC SITUATION EVOLUTION AND PATTERNS

Common prerequisites of global occurrence of ASF in the second half of the 70-s were the enhancement of the ASF epidemic process in Europe (2,384 outbreaks in Spain, 864 outbreaks in Portugal, 24 – in Italy in 1978 only, then Malta, 1978-1979, later France, 1984, Belgium, 1985, and Holland, 1986), intensification of trade, tourism and international traffic, in general, with enzootic countries of the Iberian Peninsula where radical social and political transformations (overthrowing of the totalitarian regime and democratization of social structure) took place in the early 70-s. The similar reasons were likely to play their role in the occurrence and spread of ASF in the USSR in 1977 [1, 4, 6, 7].

ASF escape from the enzootic nosoarea and, virtually, its pandemic spread in domestic pigs in 1970-1980 were characterized by the transformation of the infection manifestations at the territorial and population levels. The peculiar epidemic polymorphism can be observed in three types of epidemic situations.

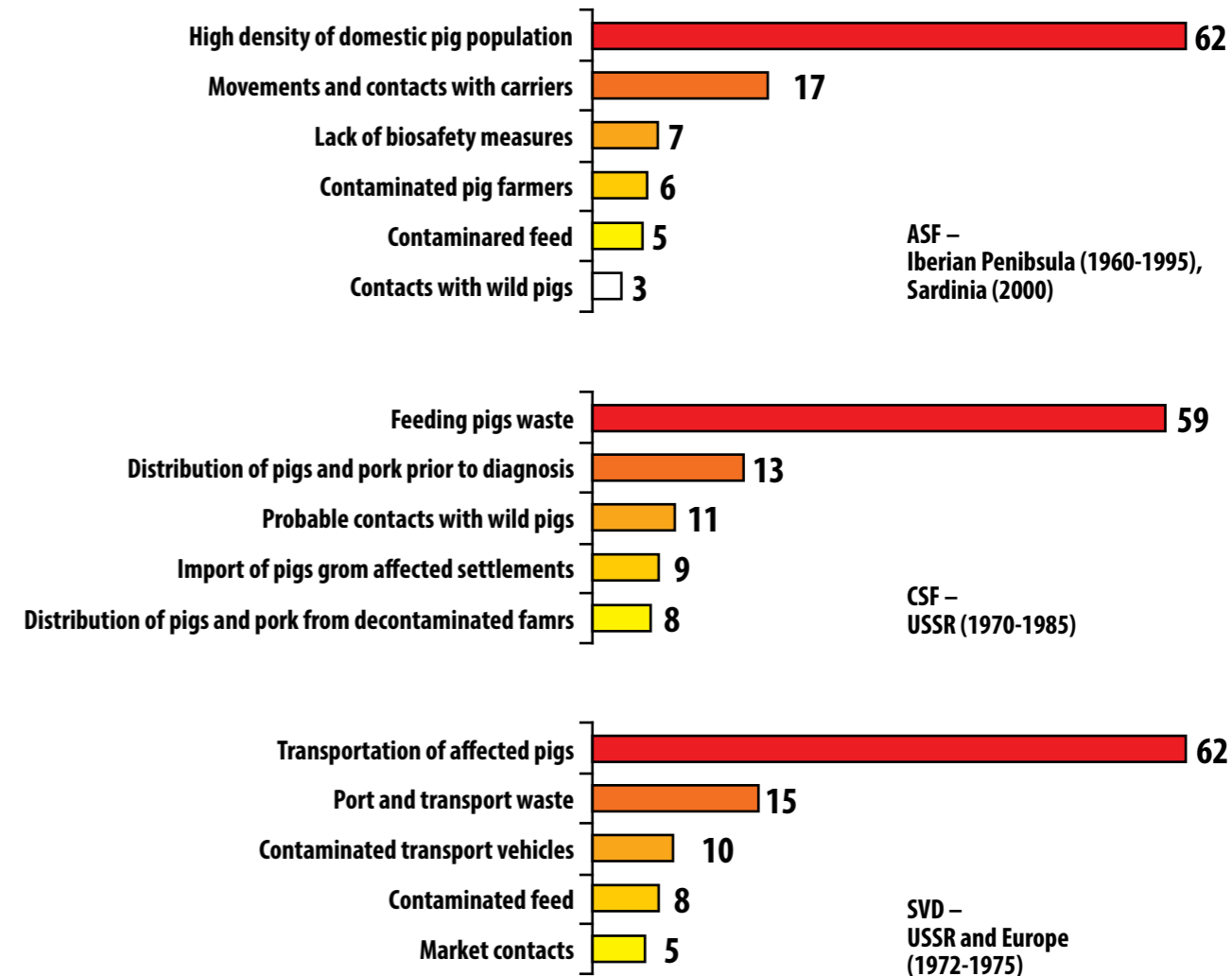


Fig. 3. Ways and factors of spread of important acute feed-borne porcine virus infections – ASF, CSF and vesicular swine disease in affected territories (%)

#### CONTROL SCENARIOS

Even the comparatively small global experience is invaluable. Similar to the epidemic situation development, three scenarios of ASF control measures are implemented [1, 3, 4, 6, 7].

(i) Nonsystematic control measures, no monitoring programs, irregular passive control measures, completely neglected disease in the West African nosoarea accompanied with a continuously unfavourable situation with unpredictable intermittent occurrence and self-limitation of sporadic outbreaks of the disease in domestic and wild pigs. Control of natural and focal infection in the Southeast Africa is unfeasible due to ecological reasons.

(ii) Palliative measures – lack of national ant-epidemic programs, acknowledgment of the epidemic process spontaneous development and outbreak occurrence, their eradication and different measures of rather passive than preventive nature taken *post factum* during the long-term severe unfavourable situation in Spain and Portugal (up to 1985), in the island of Sardinia (up to the present time). Refusal from and delay of radical control measures is the evident and main reason for the geographical spread of epidemics and a wide-scale enzootic established in the West European countries

(i) ASF in the so-called 'free floating' state in the countries within the conventional nosoarea of the Southeast Africa with extremely high epidemic potential that can be confirmed by the virus introduction to Georgia and further unprecedented spread of genotype II virus previously reported only in this region (Madagascar, Mozambique, Zambia, Mauritius). At the same time, a relatively new Central West African nosoarea has recently been established in the territory stretching from Senegal to Angola having comparatively stable commercial pig farming industry with millions of pigs in separate countries; only genotype I virus, etiologic agent of all outbreaks and epidemics outside Africa from 1960 till recent times, circulated there; *O. moubata* vectors were not common; main route of transmission was pig-to-pig. The given situation is some sort of a hyperepidemic in the whole territory of the Sub Saharan Africa.

(ii) Enzootics outside Africa of various duration formed after the virus introduction and spread in Spain and Portugal (1960-1995) and in Sardinia (from 1978), in Brazil and in the island of Haiti (1978-1985) with the prevalence of subacute, chronic, latent and other nontypical clinical forms of the disease and low mortality (<5%).

(iii) Emergent outbreaks and epidemics of ASF of different scale occurred in separate countries (Portugal – 57, Cuba, France, Italy, Malta, USSR, Belgium, Holland), successfully eradicated by modern radical anti-epidemic measures (stamping out in case of outbreaks and depopulation in case of epidemics) [1, 6, 7].

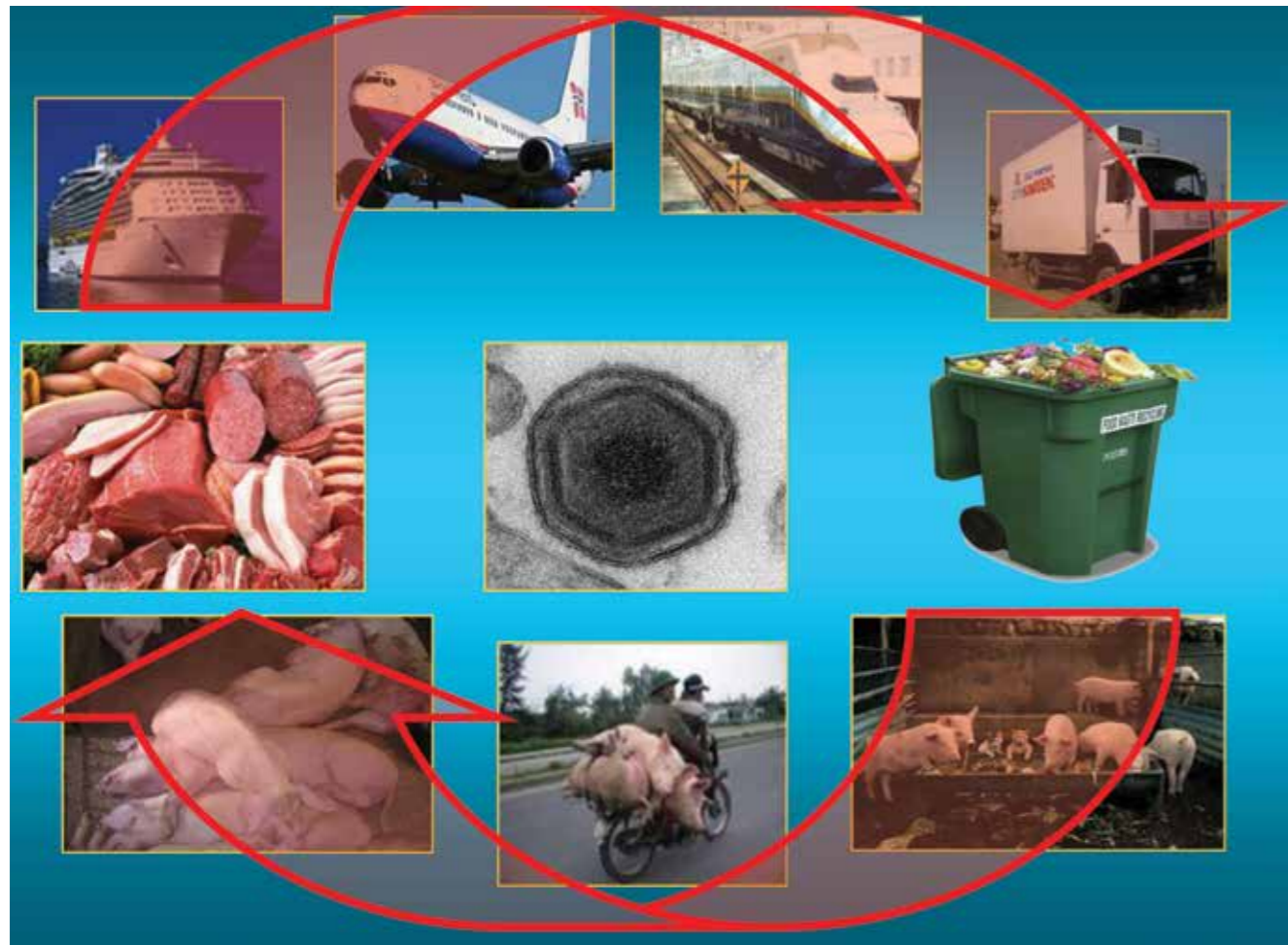


Fig. 4. Actual ways and factors of ASF spread

as well (Brazil and Haiti, 1978-1985) and in the RF (from 2007). The distinctive feature of ASF control in this case is the identification and eradication of outbreaks of predominantly subacute, nonlethal infection based on serological retrospective diagnosis and regular serological monitoring which inevitably entails disbelief in radical measures (mass slaughter and destruction of animals) up to social conflicts, comparatively high financial expenses, labour costs and significant, underdetermined duration.

(iii) Active radical measures and epidemic surveillance (stamping out, depopulation) successfully implemented in many countries independent of the measures range covering entire states, hundreds of thousands and millions of pigs involved. This scenario is currently internationally accepted as the 'golden standard' for ASF control. It is characterized by urgent solution of epidemic and other concurrent problems as the paramount condition for

transboundary disease eradication, by reliability and fewer investments.

#### REFERENCES

1. Makarov V.V. African Swine Fever. – M.: Peoples' Friendship University of Russia, 2011. – 268 p.
2. Rosselkhoznadzor. – URL: <http://www.fsvps.ru>.
3. Stamping out in infection eradication. Part I. Slaughter and destruction of animals / V.V. Makarov, V.A. Grubyy, K.N. Gruzdev, O.I. Sukharev. – Vladimir: FGBl 'ARRIAH', 2012. – 62 p.
4. Lyra T. The eradication of African swine fever in Brazil, 1978-1984 / Rev. Sci. Tech. – 2006. – Vol. 25. – P. 93-103.
5. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa / A.L. Baratang. – Univ. Pretoria. – 2005. – 132 p.
6. Scientific review on African Swine Fever / J. Sánchez-Vizcaino [et al.] // CFP/EFSA/AHAW/2007/2. – 2009. – 141 p.
7. Trends emerging viral infections of swine / ed. A. Morilla [et al.]. – ISP, 2002 – 380 p.

## ВЫЯВЛЕНИЕ *Mycoplasma* sp. 1220, ВЫЗВАВШЕЙ СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ГУСЕЙ

А.В. Спрыгин<sup>1</sup>, Д.В. Волохов<sup>2</sup>, Ю.Ю. Бабин<sup>3</sup>, А.В. Пискунов<sup>4</sup>, В.Н. Ирза<sup>5</sup>

<sup>1</sup> старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: sprygin@arriah.ru

<sup>2</sup> старший научный сотрудник, PhD, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов, 1401 Роквилл Пайк, Роквилл, Мэриленд 20852-1448, США

<sup>3</sup> младший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>4</sup> младший научный сотрудник, аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>5</sup> заведующий лабораторией, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

#### РЕЗЮМЕ

В 2010 г. были исследованы пробы лимфы фаллоса и клоакальные смывы от гусей с клиническими признаками воспаления фаллоса, клоаки из гусеводческого хозяйства, где отмечалась повышенная смертность гусиных эмбрионов на последних сроках. Ранее в литературе сообщалось, что подобная клиническая картина у гусей может вызываться *Mycoplasma gallisepticum*, однако результаты ПЦР на *M. gallisepticum* были отрицательны. При высеве на питательные среды была выращена культура микоплазм с характерной морфологией в виде «яичницы-глазуньи». При постановке ПЦР на недавно охарактеризованный новый вид патогенной микоплазмы гусей, *Mycoplasma* sp. strain 1220 [5], был получен специфический ампликон ожидаемой длины [1]. Результаты секвенирования продемонстрировали 99% идентичности выявленного нами изолята *Mycoplasma* sp. 1220 с последовательностями из базы данных GenBank.

Ключевые слова: ПЦР, *Mycoplasma* sp.1220, сальпингит, гуси, микоплазмоз гусей.

#### ВВЕДЕНИЕ

Микоплазмоз птиц представляет серьезную угрозу птицеводческим хозяйствам, вызывая острые и хронические заболевания, которые приводят к снижению яйценоскости, уменьшению массы тела и гибели поголовья, что наносит значительный экономический ущерб. От своевременного выявления и дифференциации возбудителя зависит эффективность мер по борьбе с микоплазмозами.

Гусеводческие птицекомплексы широко представлены на территории России и в странах бывшего СССР, и вопрос о поддержании поголовья, свободного от микоплазм, очень актуален. Впервые в литературе сообщения о микоплазмозах гусей появились несколько десятилетий назад. Микоплазмы у гусей могут вызывать аэросаккулит, перитонит, сальпингит, смертность эмбрионов, а также воспаления фаллоса [6].

Микоплазмы гусей впервые были выделены в 1970 г. Позднее установили возможную этиологическую роль апатогенных *Acholeplasma laidlawii*, *Acholeplasma axanthum* и *Mycoplasma gallinarum* в развитии патологических признаков у гусей и гусиных эмбрионов в экспериментальных условиях [4]. Ранее предполагалось, что сальпингит, воспаление фаллоса у гусак и повышенная эмбриональная смертность могут быть обусловлены микотоксинами, присут-

ствующими в кормах. Однако на основе эпизоотологических и экспериментальных исследований было сделано предположение, что этиология данного заболевания носит инфекционный характер и, возможно, оно вызвано микроорганизмами рода *Neisseria* или *Candida*. Сходные клинические признаки у гусей регистрировали в Израиле [2], однако их этиология в большинстве этих случаев оставалась неизученной. Позднее была выделена бактерия рода *Mycoplasma* от гусака с клиническими признаками воспаления фаллоса в Венгрии, которой было предварительно присвоено таксономическое название *Mycoplasma* sp. 1220. Случаи выявления *Mycoplasma* sp. 1220 у гусей также были зарегистрированы в России и Украине [1].

В настоящей работе впервые описывается клинический случай инфекции, вызванной *Mycoplasma* sp. 1220 у гусей в Украине с признаками воспаления фаллоса, клоаки и яйцевода.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Исследуемый материал.** В 2010 г. в лабораторию диагностики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступили пробы лимфы фаллоса (6 шт.), клоакальных смывов (6 шт.) от гусаков и гусынь с клиническими признаками сальпингита, воспаления клоаки и фаллоса из гусеводческого комплекса в Украине численностью 2500 голов. Образцы помещали в криобрирки и хранили при температуре -70°C. Все пробы тестировали на наличие вирусов гриппа и болезни Ньюкасла методом ПЦР, а также методом ПЦР на наличие *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* согласно ранее описанному методу [3].

**Бактериологический анализ.** Выделение чистой культуры микоплазм проводили согласно общепринятой методике. После отбора лимфы фаллоса, ее разводили в 10 раз и инокулировали в жидкую культуральную среду Фрея с ацетатом таллия и инкубировали при 37°C до легкого изменения окраски среды. Затем выращенную в жидкой культуре микоплазму высевали на твердые питательные среды.

**Выделение суммарной ДНК, анализ продуктов ПЦР и филогенетический анализ** проводили, как описано ранее [1].



Fig. 1. Inflammation of phallus in ganders infected with *Mycoplasma* sp. 1220. Sclerostenosis and atrophy is observed in the organ

Рис. 1. Воспаление фаллоса у гусака, инфицированного *Mycoplasma* sp. 1220. Отмечаются рубцевания и атрофия органа



Fig. 2. Hemorrhagic lesions in intestines of a female goose infected with *Mycoplasma* sp. 1220

Рис. 2. Геморрагические поражения кишечника у гусыни, инфицированной *Mycoplasma* sp. 1220

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая картина воспаления кишечника и фаллоса представлена на рис. 1-2.

В результате бактериологического анализа была выявлена бактерия рода *Mycoplasma* (рис. 3).

При проведении ПЦР было выявлено наличие генетического материала *Mycoplasma* sp.1220 в 6 клоакальных пробах. Микроорганизмы рода *Pasteurella*, *Salmonella* и *Neiseria*, а также антитела к вирусу гриппа птиц ранее в данном хозяйстве у птиц не выявляли (данные не представлены). Секвенирование изолята микоплазмы показало 99% идентичности выявленного нами изолята *Mycoplasma* sp. 1220 с последовательностями из базы данных GenBank.

В настоящее время *Mycoplasma* sp. 1220 является малоизученным микроорганизмом, что затрудняет разработку методов борьбы с данной инфекцией. Однако опыт венгерских исследователей показывает, что эта микоплазма является факультативным паразитом и основную роль в развитии данного заболевания играют стресс-факторы, такие как переуплотнение поголовья, повышенная нагрузка на гусаков, отсутствие водоема (S. Varga, персональное сообщение). Некоторое время назад исследуемое хозяйство на Украине было благополучно по всем заболеваниям. Однако после завоза нового поголовья гусят у всего поголовья птицекомплекса стали развиваться признаки воспаления фаллоса у гусаков (60–80% случаев) и воспаления яйцевода (10–20%), а также точечные кровоизлияния в кишечнике (меньше 5% случаев), что приводило к повышенной смертности эмбрионов и выбраковке самцов, которые больше не могли выполнять свою



репродуктивную функцию. При обработке поголовья антибиотиками фторхинолонового ряда смертность эмбрионов на последних сроках немного уменьшилась, однако воспалительные процессы полностью купировать не удалось. В хозяйстве практиковали искусственное осеменение, поскольку при естественном спаривании у гусаков воспалительный процесс в фаллосе развивался за несколько часов, как только новых гусаков подсаживали к самкам. L. Stipkovits из Венгрии, впервые описавший данный вид, считает что передача *Mycoplasma* sp. 1220 может происходить во время копуляции у гусей (персональное сообщение), однако экспериментов для подтверждения этой точки зрения не проводились. Более того, исследования показали, что патогенная микоплазма гусей *Mycoplasma* sp. 1220 является причиной снижения выводимости гусят и воспалительных процессов у гусей [5].

В настоящее время оптимальными методами борьбы с данным заболеванием являются антибиотикотерапия с учетом чувствительности штаммов, снижение плотности посадки и переход на искусственное осеменение, что не всегда возможно на крупных гусефермах, наличие водоема. Возможно, что наиболее действенным подходом будет использование аутовакцины из циркулирующего штамма, что позволит значительно снизить проявление клинических признаков и повысить рентабельность хозяйства.

### ВЫВОДЫ

В результате работы выделена *Mycoplasma* sp. 1220 от гусей с признаками воспаления фаллоса. Показана ее потенциальная роль в воспалительных процессах

у гусаков и снижении выводимости гусят на гусеводческой ферме, что согласуется с данными других исследователей [5].

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Выявление и генетическая идентификация *Mycoplasma* sp. 1220 у гусей в Российской Федерации и Украине / A.B. Спрыгин [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 87–95.
2. Beemer A.M., Kuttin E.S., Katz Z. Epidemic venereal disease due to *Candida albicans* in geese in Israel // Avian Dis. – 1973. – Vol. 17, № 3. – P. 639–649.
3. Development of a duplex real-time TaqMan PCR assay with an internal control for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in clinical samples from commercial and backyard poultry / A.V. Sprygin, D.B. Andreychuk, A.N. Kolotilov [et al.] // Avian Pathol. – 2010. – Vol. 39, № 2. – P. 99–109.
4. *Mycoplasma* infection of geese. 1. Incidence of mycoplasmas and acholeplasmas in geese / L. Stipkovits, A.A. El-Ebeedy, J. Kisary, L. Varga // Avian Pathol. – 1975. – Vol. 4, № 1. – P. 35–43.
5. Salpingitis in geese associated with *Mycoplasma* sp. strain 1220 / M. Dobos-Kovacs, Z. Varga, G. Czifra, L. Stipkovits // Avian Pathol. – 2009. – Vol. 38, № 3. – P. 239–443.
6. Stipkovits L., Varga Z., Czifra G. Occurrence of *Mycoplasmas* in geese affected with inflammation of the cloaca and phallus // Avian Pathol. – 1986. – Vol. 15, № 2. – P. 289–299.

## DETECTION OF *MYCOPLASMA* SP. 1220 CAUSING DISEASE IN GEESE

A.V. Sprygin<sup>1</sup>, D.V. Volokhov<sup>2</sup>, Yu.Yu. Babin<sup>3</sup>, A.V. Piskunov<sup>4</sup>, V.N. Irza<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: sprygin@arriah.ru

<sup>2</sup>Senior Researcher, PhD, Food and Drug Administration, 1401 Rockville Pike Rockville, Maryland 20852-1448, the USA

<sup>3</sup>Junior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir

<sup>4</sup>Junior Researcher, post-graduate student, FGBI "ARRIAH", Vladimir

<sup>5</sup>Head of the Laboratory, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir

### SUMMARY

Phallus lymph samples and cloacal swabs from geese with clinical signs of cloaca and phallus inflammation were tested in 2010. The samples were taken on a geese farm where high rates of late-stage embryo mortality were detected. As it was earlier reported, similar disease patterns in geese might be caused by *Mycoplasma gallisepticum*, however, negative PCR results were obtained for *M. gallisepticum*. A mycoplasma culture exhibiting distinctive «fried egg» morphology was grown on nutrient media. PCR for the recently characterized new *Mycoplasma* sp. strain 1220 pathogenic for geese [5] produced a specific amplicon of expected length [1]. Further sequencing demonstrated 99% identity between the recovered *Mycoplasma* sp. strain 1220 isolate and sequences included into GenBank database.

**Key words:** PCR, *Mycoplasma* sp. strain 1220, salpingitis, geese, *Mycoplasma* infections in geese.

### INTRODUCTION

Avian mycoplasmosis poses a serious threat to poultry farming and causes acute and chronic diseases which can lead to a drop in egg production, weight losses and mortality among the poultry flocks, thus, resulting in serious economic damage. Effectiveness of mycoplasmosis control depends on timely detection and differentiation of the agent.

Geese farming is common for Russia and for the ex-Soviet countries, therefore, it is very important to ensure freedom from mycoplasmosis in geese population. First references to mycoplasmosis in geese were made some decades ago. Mycoplasmas in geese may cause aerosacculitis, peritonitis, salpingitis, embryo mortality, and inflammation of phallus [6].

Mycoplasmas were first isolated in 1970. Possible etiological role of apathogenic *Acholeplasma laidlawii*, *Acholeplasma axanthum* and *Mycoplasma gallinarum* in the development of pathological signs in geese and goose embryos under experimental conditions was later studied [4]. It was earlier assumed that salpingitis, phallus-inflammation of ganders and increased embryo mortality were caused by contamination of feeds with mycotoxins. However, based on epizootological tests and experiments it was concluded that the disease was of infectious etiology possibly caused by *Neisseria* or *Candida* microorganisms. Similar clinical signs in geese were reported in Israel [2], however, in most cases their etiology remained unknown. A bacterium of *Mycoplasma* genus was isolated in Hungary from a gander with clinical signs of phallus-inflammation, preliminary it was given a taxonomy name *Mycoplasma* sp 1200. *Mycoplasma* sp. 1220 was also detected in Russia and Ukraine [1].

The present study is the first one to describe a clinical case of infection caused by *Mycoplasma* sp 1220 in Ukraine in geese with signs of inflammatory disease of cloaca and phallus and oviduct inflammation.

### MATERIALS AND METHODS

**The tested material.** Six samples of phallus lymph, 6 cloacal swabs from male and female geese demonstrating signs of salpingitis, inflammatory disease of cloaca and phallus were sent to the Laboratory for Avian Disease Diagnosis of the FGBI "ARRIAH" in 2010 from a commercial goose farm in Ukraine with a flock numbering 2,500 geese. The samples were put into cryotubes and stored at -70°C. All the samples were tested for influenza and

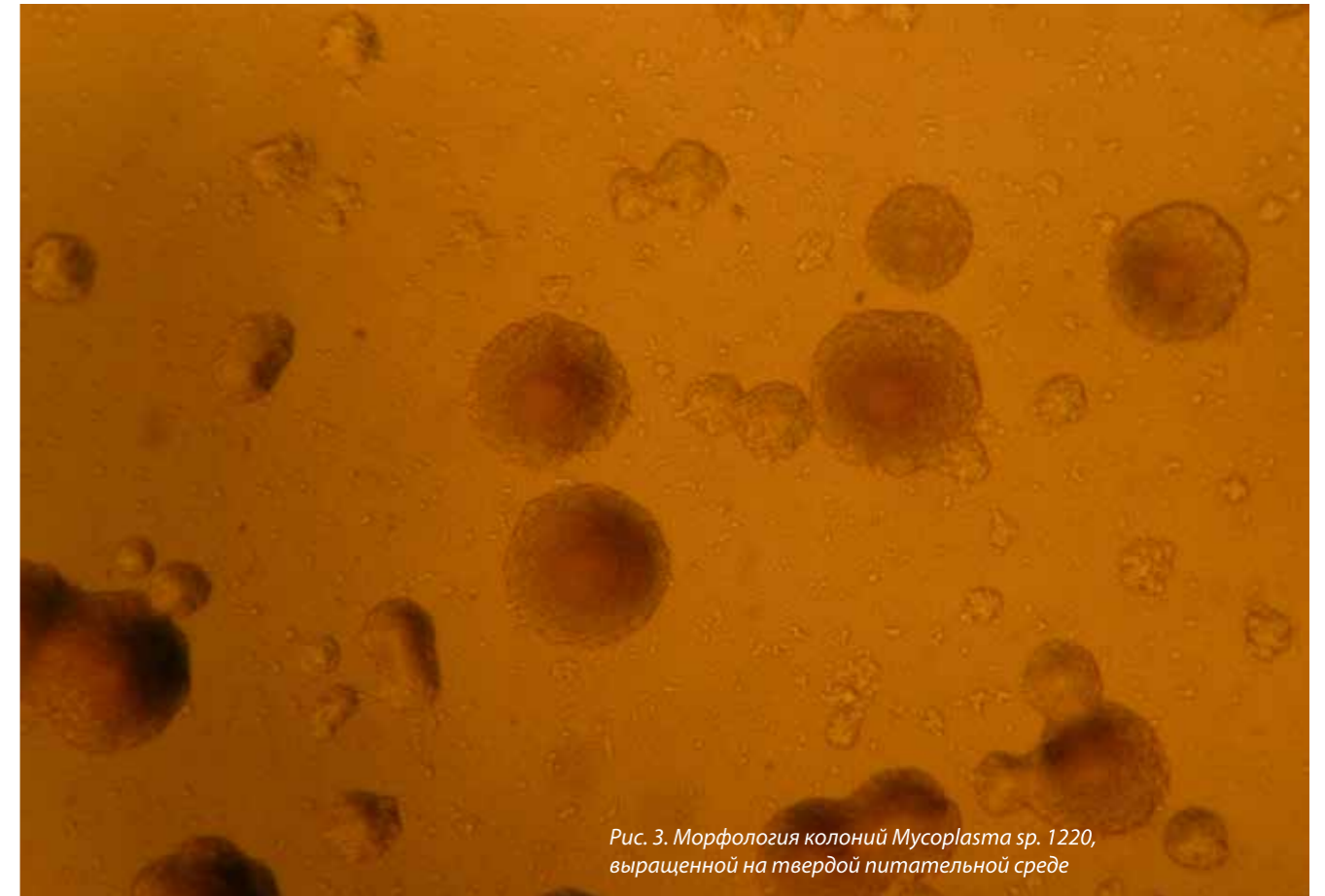


Рис. 3. Морфология колоний *Мycoplasma* sp. 1220, выращенной на твердой питательной среде

Newcastle disease viruses using PCR and for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* using PCR according to the methods previously described [3].

**Bacteriological test.** Pure mycoplasma culture was isolated in accordance with the common techniques. A 10-fold dilution of phallus lymph was prepared and inoculated into FREY liquid medium with thallium acetate and incubated at 37°C until the medium slightly changed its colour. The mycoplasma grown in the liquid culture was then seeded in solid nutrient media.

Total DNA extraction, analysis of PCR products and phylogenetic analysis were carried out as described earlier [1].

### RESULTS AND DISCUSSION

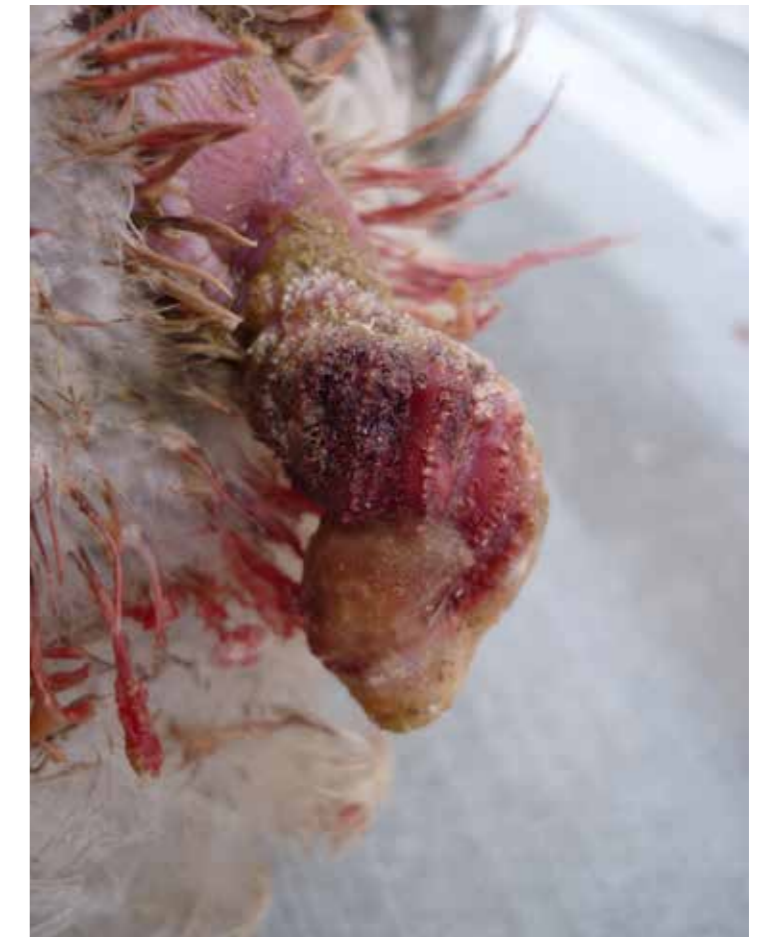
Disease pattern of intestine and phallus inflammation is given in Fig. 1-2.

The biological analysis revealed *Mycoplasma* bacterium (Fig. 3).

*Mycoplasma* sp. 1220 genetic material was detected with the help of PCR in 6 cloacal swabs. *Pasteurella*, *Salmonella* and *Neisseria* microorganisms as well as antibodies to AI virus were not detected earlier in geese on the farm (no data available). Sequencing of mycoplasma isolate demonstrated 99% identity between the detected *Mycoplasma* sp. 1220 and GenBank database sequences.

*Mycoplasma* sp. 1220 is a poorly studied microorganism and the fact makes it difficult to develop methods aimed at the infection control. However, experience of the Hungarian researchers suggests that this mycoplasma is a facultative parasite and such stress factors as excessive density of population, increased reproductive burden on ganders, and absence of a water body play a major role in the disease progression (S. Varga, personal report). Some time ago the tested Ukrainian farm was free from

Fig. 3. Morphology of *Mycoplasma* sp. 1220 colonies grown in solid nutrient medium



all diseases. However, as soon as a new geese flock was brought to the farm, the total flock on the farm demonstrated signs of the disease: phallus-inflammation in ganders (60–80% of cases) and oviduct inflammation (10–20%) and petechial hemorrhages in intestines (less than 5% of cases). Embryo mortality rate increased and the ganders were culled since they could not fulfill their reproductive function. Treatment of the flock with fluoroquinolone antibiotics decreased late-stage embryo mortality rates, however, inflammation was not completely stopped. Artificial insemination was used on the farm because in case of the natural one, phallus inflammation progressed over several hours as soon as a new gander had a contact with a female geese. L. Stipkovits from Hungary who is the first one to describe this microorganism believes that *Mycoplasma* sp. 1220 can be transmitted during copulation of geese (personal report), however no experiments have been carried out to confirm this assumption. Furthermore, the carried out research demonstrated that pathogenic *Mycoplasma* sp. 1220 decreases hatchability of goose eggs and causes inflammations in geese [5].

These are current optimal methods applied to control the disease: antibiotic treatment depending on strain sensitivity, low density of flocks and application of artificial insemination which is not always possible on large geese farms, availability of a water body. Application of autovaccine from the circulating strain seems to be the most effective approach that will significantly decrease clinical signs and will increase cost-effectiveness of the commercial farm.

## CONCLUSIONS

Within the research *Mycoplasma* sp. 1220 was isolated from geese with signs of phallus inflammation. The research also revealed potential role of the pathogen in inflammatory processes in geese and in low hatchability of goose eggs that corresponds to the data provided by other researchers [5].

## REFERENCES

1. Detection and genetic identification of *Mycoplasma* sp. 1220 in geese in the Russian Federation and Ukraine / A.V. Strygin [et al.] // *Agricultural Biology*. – 2012. – № 2. – P. 87–95.
2. Beemer A.M., Kuttin E.S., Katz Z. Epidemic venereal disease due to *Candida albicans* in geese in Israel // *Avian Dis.* – 1973. – Vol. 17, № 3. – P. 639–649.
3. Development of a duplex real-time TaqMan PCR assay with an internal control for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in clinical samples from commercial and backyard poultry / A.V. Strygin, D.B. Andreychuk, A.N. Kolotilov [et al.] // *Avian Pathol.* – 2010. – Vol. 39, № 2. – P. 99–109.
4. *Mycoplasma* infection of geese. 1. Incidence of mycoplasmas and acholeplasmas in geese / L. Stipkovits, A.A. El-Ebeedy, J. Kisary, L. Varga // *Avian Pathol.* – 1975. – Vol. 4, № 1. – P. 35–43.
5. Salpingitis in geese associated with *Mycoplasma* sp. strain 1220 / M. Dobos-Kovacs, Z. Varga, G. Czifra, L. Stipkovits // *Avian Pathol.* – 2009. – Vol. 38, № 3. – P. 239–443.
6. Stipkovits L., Varga Z., Czifra G. Occurrence of *Mycoplasmas* in geese affected with inflammation of the cloaca and phallus // *Avian Pathol.* – 1986. – Vol. 15, № 2. – P. 289–299.

УДК 636.085.3;633.1:581.192:543

# ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТУЛИНА, ТРИХОТЕЦЕНОВЫХ МИКОТОКСИНОВ И ЗЕАРАЛЕНОНА В ЗЕРНЕ И КОРМАХ

**Н.М. Карасева<sup>1</sup>, В.Г. Амелин<sup>2</sup>, А.В. Третьяков<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: gaaday@mail.ru

<sup>2</sup>ведущий научный сотрудник, доктор химических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>3</sup>заведующий лабораторией, кандидат химических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

## РЕЗЮМЕ

Разработана методика одновременного определения 10 микотоксинов: патулина, ниваленола, дезоксиниваленола, 3- и 15-ацетил-дезоксиниваленола, фузаренона X, диацетоксисцирпенола, токсинов HT-2 и T-2, зеараленона в зерне и кормах в диапазоне концентраций 0,1–1,0 мг/кг методом газожидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов. Микотоксины из проб экстрагировали ацетонитрилом и экстракты очищали по методу QuEChERS, для получения производных целевых компонентов использовали трифторуксусный ангидрид. Продолжительность анализа составляет 1,0–1,5 ч.

**Ключевые слова:** микотоксины, зерно, корма, газожидкостная хроматография, детектор по захвату электронов, метод QuEChERS.

# SIMULTANEOUS DETECTION OF PATULIN, TRICHOTHECENE MYCOTOXINS AND ZEARALENONE IN GRAIN AND FEED

**N.M. Karaseva<sup>1</sup>, V.G. Amelin<sup>2</sup>, A.V. Tretyakov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Chemist, Post-graduate student, FGBI "ARRIAH", Vladimir; E-mail:gaaday@mail.ru

<sup>2</sup>Doctor of Science (Chemistry), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir;

<sup>3</sup>Head of the Laboratory of chemical analysis, FGBI "ARRIAH", Vladimir

## SUMMARY

Rapid and simple method for simultaneous detection of 10 mycotoxins; patulin, nivalenol, desoxynivalenol, 3- and 15-acetyl-Deoxynivalenol, fuzarenol X, diacetoxyscirpenol, HT-2 and T-2 toxins, zearalenone in grain and feed at 0.1-1 mg/kg concentration is described. The detection is performed using electron capture detector gas chromatography. Mycotoxins were extracted from the samples using acetonitrile and the extracts were purified using QuEChERS method. Trifluoroacetic anhydride was used to obtain target components. The analysis duration amounts to 1-1.5 hour.

**Key words:** mycotoxins, grain, feed, gas-liquid chromatography, electron capture detector, QuEChERS method.

## ВВЕДЕНИЕ

Среди возможных загрязнителей, представляющих угрозу здоровью человека, а также домашних животных и птиц, можно выделить микотоксины – токсичные вторичные метаболиты плесневых грибов. Упоминания о данных веществах присутствуют еще с древних времен, однако особый интерес к этим токсинам возник лишь в 60-х гг. XX века. Плесневые грибы широко распространены по всему миру и встречаются на растительной продукции. Микотоксины могут образоваться еще в поле, когда растения растут и набирают силу, а также при хранении зерна или кормов. Вообще зерновые культуры, которые хранятся в течение нескольких дней, уже могут стать мишенью заражения токсинами [17]. Температура и влажность являются основными факторами образования микотоксинов, в частности, в средней полосе часто встречаемыми

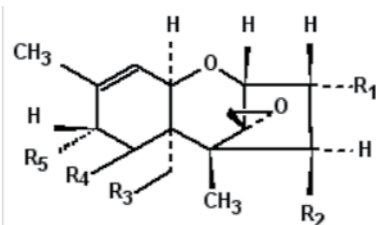
ТРИХОТЕЦЕНОВЫЕ МИКОТОКСИНЫ

Тип А

**Токсин Т-2:**  $R_1=OH, R_2=R_3=OCOCH_3, R_4=H, R_5=OCOCH_2CH(CH_3)_2$

**Токсин HT-2:**  $R_1=R_2=OH, R_3=OCOCH_3, R_4=H, R_5=OCOCH_2CH(CH_3)_2$

**Диацетоксискирпенол:**  $R_1=OH, R_2=OCOCH_3, R_3=OCOCH_3, R_4=H, R_5=H$



Тип В

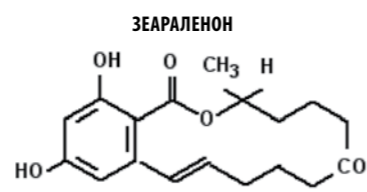
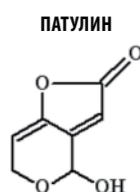
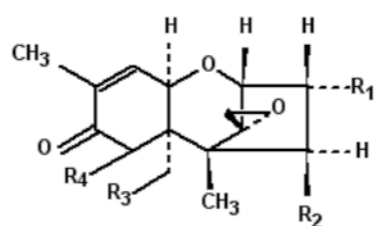
**Ниваленол:**  $R_1=R_2=R_3=R_4=OH$

**Дезоксиниваленол:**  $R_1=R_3=R_4=OH, R_2=H$

**3-ацетил-дезоксиниваленол:**  $R_1=OCOCH_3, R_2=H, R_3=R_4=OH$

**15-ацетил-дезоксиниваленол:**  $R_1=R_4=OH, R_2=H, R_3=OCOCH_3$

**Фузаренон X:**  $R_1=R_3=R_4=OH, R_2=OCOCH_3$



токсинами считаются трихотеценовые микотоксины, зеараленон, реже патулин. Данные соединения обладают рядом токсичных свойств. Трихотецены проявляют тератогенные, цитотоксические, иммунодепрессивные, дерматотоксические свойства и др. Зеараленон и его производные обладают эстрогенными и тератогенными свойствами. Патулин обладает высокими мутагенными свойствами [6].

В связи с их опасным действием присутствие микотоксинов является крайне нежелательным и опасным. Возможны случаи заражения различных кормов микотоксинами и, как следствие, гибель или серьезные отравления домашних животных и птиц. В результате могут страдать целые хозяйства и сам человек [17].

На сегодняшний день микотоксины нормируются в продукции растительного происхождения во многих странах, в том числе и в РФ, где установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) или максимально допустимые уровни (МДУ) для некоторых микотоксинов [4, 5].

Определение микотоксинов основано на извлечении этих веществ органическими растворителями, в том числе ацетонитрилом, хлороформом, толуолом, метанолом, этилацетатом, и последующей очистке экстракта на иммуноаффинных колонках или твердофазной экстракцией [11, 12, 14]. Для определения микотоксинов широко используют иммунохимические или хроматографические методы. Иммунохимические методы эффективно применяют для анализа большого количества образцов. Они пригодны в основном для избирательного определения одного или небольшого числа микотоксинов. В их основе ле-

жит высокоспецифическое взаимодействие антигена и антитела [7]. Для подтверждающего анализа используют уже более точные и высокочувствительные хроматографические методы. Предложено одновременное определение микотоксинов разных классов в кукурузе методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором [15]. Разработаны методики определения патулина [10], трихотеценовых микотоксинов и зеараленона [16] методом газовой хроматографии с аналогичным детекторованием. Для определения трихотеценовых микотоксинов часто используют метод газовой хроматографии с детектором по электронному захвату [9] и пламенно-ионизационным детектором [13]. В качестве реагента для получения производных в первом случае используют гептафтормасляный ангидрид, во втором – трифторуксусную кислоту. Очистку экстрактов осуществляют на колонках с оксидом алюминия.

В РФ существуют ГОСТы по определению трихотеценовых микотоксинов, зеараленона, патулина [1, 2, 3]. Однако данные методики длительны, трудоемки и используются для определения только одного определенного микотоксина.

В связи с этим, цель настоящей работы заключалась в разработке экспрессной и экологичной методики одновременного извлечения и определения микотоксинов различных классов в зерне и кормах.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

**Аппаратура.** В работе использовали газовый хроматограф Clarus-600 с детектором по захвату электронов (ДЗЭ) (Perkin-Elmer, США). Разделение

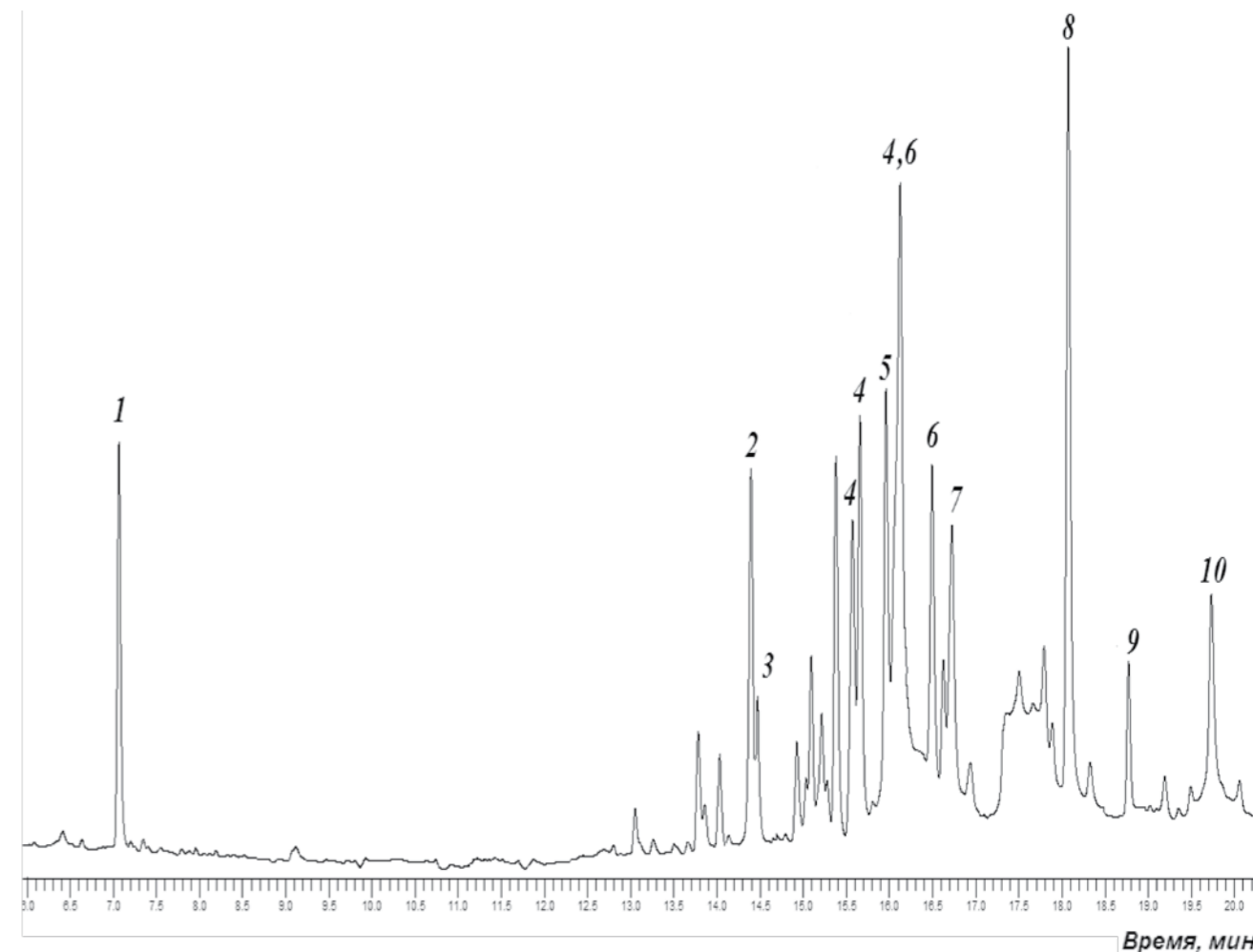


Рис. 1. Хроматограмма стандартной смеси производных микотоксинов:

- 1 – патулин (2 мкг/мл), 2 – ниваленол (17 мкг/мл),
- 3 – ДОН (17 мкг/мл), 4 – 15-ацДОН (17 мкг/мл),
- 5 – Фузаренон X (8 мкг/мл),
- 6 – 3-ацДОН (8 мкг/мл),
- 7 – ДАС (13 мкг/мл), 8 – HT-2 (3 мкг/мл),
- 9 – ЗОН (2 мкг/мл), 10 – Т-2 (17 мкг/мл)

микотоксинов проводили на кварцевой капиллярной колонке Rtx-Pesticides® (Merck, Германия) длиной 30 м и внутренним диаметром 0,32 мм (толщина пленки неподвижной фазы 0,25 мкм). Температура колонки 120–310°C (скорость нагрева 15 град/мин), температура испарителя 240°C, температура детектора 300°C. Газ-носитель – азот, расход 2 мл/мин. В хроматограф вводили 1 мкл пробы без деления потока с использованием автоматического дозатора.

При пробоподготовке использовали центрифугу ОПН-3М (DASTAN, Россия), центрифугу MPW-260R («MPW Med. Instruments», Россия).

**Реактивы и материалы.** Использовали ацетонитрил для хроматографии (Merck, Германия), бензол, ч.д.а., сульфат магния, х.ч., хлорид натрия, х.ч., натрий лимоннокислый тризамещенный двойной гидрат, х.ч., натрий лимоннокислый двузамещенный полуторный гидрат, х.ч., сорбент Bondesil-PSA (Varian, США), Supelclean ENVI – Carb 120/400 (Varian, США), стандартные растворы микотоксинов 100 мкг/мл в ацетонитриле дезоксиниваленола ниваленола, фузаренона X, HT-2, диацетоксискирпенанола, 3- и 15-ацетил-дезоксиниваленола, HT-2 (Romer Labs Diagnostic GmbH, Германия) и 100 мкг/мл в ацетонитриле Т-2 ток-сина, зеараленона, патулина (Stylab, Россия).

Российские стандартные образцы кукурузы (ОСО 10-141-2007), пшеницы (ОСО 10-147-2007), со-ломы (ОСО 10-139-2006), шрота подсолнечного (ОСО 10-148-2007) и ячменя (ОСО 10-143-2007).

В качестве образцов для испытания использовали ячмень, кукурузу, шрот, сено и комбикорм, поступившие в Испытательный центр ФГБУ «ВНИИЗЖ» по плану

мониторинга в 2012 году, проводимого управлением Россельхознадзора.

**Пробоподготовка.** Экстракцию микотоксинов и очистку экстрактов осуществляли по методу QuEChERS [17]. Исследуемые образцы измельчали и отбирали среднюю пробу, не менее 100 г. В центрифужную пробирку вместимостью 50 мл вносили навеску измельченного и усредненного образца массой 2,0 г, добавляли 10,0 мл ацетонитрила и 10,0 мл воды, закрывали пробирку и энергично взбалтывали в течение 1 мин. Затем вносили смесь, состоящую из 4,0 г безводного сульфата магния, 1,0 г хлорида натрия, 1,0 г натрия лимоннокислого тризамещенного двойного гидрата и 0,5 г натрия лимоннокислого двузамещенного (полуторный гидрат). После внесения солей смесь взбалтывали в течение 1 мин и центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин, отбирали 8,0 мл верхней части экстракта и переносили в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл, которая содержала смесь сульфата магния (0,9 г), сорбента Bondesil-PSA (0,15 г) и активированного угля (0,15 г). Пробирку энергично встряхивали в течение 30 сек и центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин. Отбирали 5,0 мл экстрак-



Таблица 2. Аналитические характеристики методики определения микотоксинов разных классов в зерне и кормах методом ГХ-ДЭЭ

Микотоксин	Время удерживания (мин)	Диапазон определяемых содержаний (мг/кг)	Степень извлечения (%)	ПДК, для продовольственного зерна, кормов (мг/кг) [4, 5]
Патулин	7,05±0,03	0,1–1,0	79–81	не нормируется
Ниваленол	14,33±0,03	0,1–1,0	80–82	не нормируется
ДОН	14,41±0,03	0,1–1,0	83–86	0,7*; 1,0**
15-ацДОН	15,65±0,04	0,1–1,0	80–82	не нормируется
Фузаренон Х	15,95±0,04	0,1–1,0	83–87	не нормируется
3-ацДОН	16,51±0,04	0,1–1,0	79–82	не нормируется
ДАС	16,72±0,04	0,1–1,0	79–84	не нормируется
НТ-2	18,04±0,02	0,1–1,0	81–84	не нормируется
ЗОН	18,80±0,05	0,1–1,0	80–83	1,0
Т-2	19,72±0,05	0,1–1,0	83–87	0,1

\* ПДК дезоксиниваленола (ДОН) для пшеницы;

\*\* ПДК дезоксиниваленола для ячменя и для некоторых кормов (шрот, премикс, фуражное зерно).

та и упаривали на ротормном испарителе досуха при температуре 40°C. К сухому остатку добавляли 200 мкл бензола, 50 мкл трифторуксусного ангидрида, перемешивали, переносили в микрофлакон, плотно закрывали и оставляли в сушильном шкафу при 60°C на 15 мин, охлаждали и хроматографировали.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассматриваемые трихотеценовые микотоксины (ниваленол, дезоксиниваленол (ДОН), 3- и 15-ацетил-дезоксиниваленол (3-ацДОН, 15-ацДОН), фузаренон Х, диацетоксискирпенол (ДАС), токсины НТ-2 и Т-2), зеараленон (ЗОН) и патулин (табл. 1) [11] имеют в своей структуре гидроксигруппы и легко ацилируются трифторуксусным ангидридом, что может позволить раз-

делять и детектировать данные вещества методом ГХ-ДЭЭ.

Полученные трифторпроизводные являются летучими веществами. Они хорошо разделяются на капиллярной колонке Rtx-Pesticides®. Хроматограмма продуктов ацилирования смеси стандартов микотоксинов, полученная в подобранных условиях, представлена на рис. 1. Время удерживания и диапазон определяемых содержаний микотоксинов по результатам хроматографирования их производных представлены в табл. 2.

По разработанной методике исследованы пробы стандартных образцов (кукурузы (ОСО 10-141-2007), пшеницы (ОСО 10-147-2007), соломы (ОСО 10-139-2006), шрота подсолнечного (ОСО 10-148-2007) и ячменя (ОСО 10-143-

Таблица 3. Определение микотоксинов разных классов в зерновых культурах и кормах (n = 3, P = 0,95)

Токсин	Найдено (мг/кг)				
	Ячмень	Шрот рапсовый	Комбикорм	Кукуруза	Сено
Патулин	-*	0,034±0,001	0,12±0,02	-	-
Ниваленол	0,40±0,02	-	-	-	-
ДОН	0,15±0,02	-	-	0,033±0,001	-
15-ацДОН	-	-	0,011±0,003	0,048±0,001	-
Фузаренон Х	-	-	-	-	-
3-ацДОН	-	-	0,32±0,02	0,009±0,002	-
ДАС	-	-	-	-	-
НТ-2	-	-	-	-	-
ЗОН	-	-	-	-	0,045±0,008
Т-2	-	0,24±0,04	-	-	0,032±0,006

\* – не обнаружено.

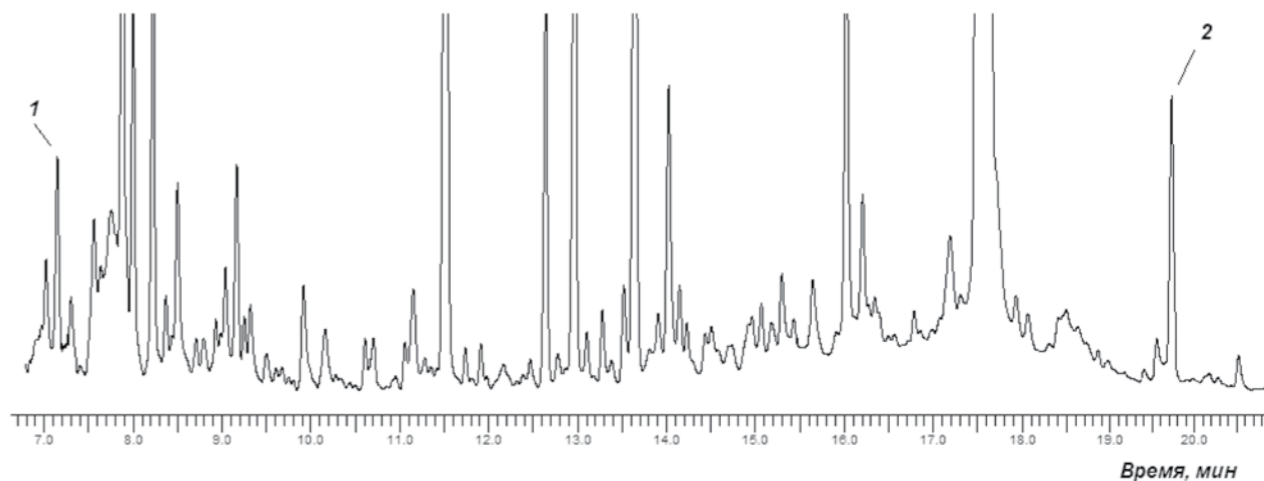


Рис. 2. Хроматограмма экстракта шрота рапсового на содержание микотоксинов разных классов: 1 – патулин, 2 – Т-2

2007)), не содержащих микотоксины, а также проб зерна и комбикормов, которые поступали в Испытательный центр ФГБУ «ВНИИЗЖ» по плану мониторинга в 2012 году, проводимого управлением Россельхознадзора.

Для извлечения микотоксинов из анализируемых объектов и очистки экстрактов был применен метод QuEChERS (сокращение от всех достоинств метода: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe). В настоящее время данный способ пробоподготовки стандартизован для определения остаточных количеств пестицидов нормативным документом EN 15662-2007 [8]. Нами предложено извлечение микотоксинов из проб этим методом. Экстракт очищали от органических кислот, сахаров, липидов, жиров, белков насыпными сорбентами Bondesil-PSA (смесь первичных и вторичных аминов).

Установлено, что реакция ацилирования микотоксинов протекает в течение 15 мин при 60°C в среде безводного бензола. Диапазоны определяемых содержаний микотоксинов для анализируемых объектов с учетом концентрирования (4 раза) составили 0,1–1,0 мг/кг (табл. 2).

Использование представленного в данной работе способа определения микотоксинов позволило значительно сократить продолжительность анализа. На определение одного микотоксина по существующим ГОСТ [1, 2, 3] затрачивается более 4 ч, а по разработанной методике возможно определение десяти микотоксинов в рамках одного исследования всего за 1,0–1,5 ч. Представленная методика отличается экологичностью: на определение десяти микотоксинов требуется всего около 11 мл растворителей, а по ГОСТ требуется более 300 мл различных токсичных растворителей для определения только одного микотоксина.

Степень извлечения добавок микотоксинов из анализируемых объектов по данной методике составила >80% (табл. 2), что свидетельствует об эффективности используемой методики при применении ее на реальных пробах.

По разработанной методике проанализированы 5 образцов: зерно (ячмень, кукуруза) и корма (сено, комбикорм, шрот) на содержание в них микотоксинов. Было установлено наличие данных токсинов во всех образцах. В настоящее время в РФ нормируется только зеараленон, дезоксиниваленол и Т-2 токсин из микотоксинов, исследуемых в данной работе. В образце шрота превышено значение микотоксина Т-2, в остальных образцах не установлено превышений по иссле-

дуемым токсинам. Результаты анализа представлены в табл. 2. На рис. 2–3, в качестве примера, представлены хроматограммы экстрактов из некоторых анализируемых объектов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика одновременного определения микотоксинов разных классов: трихотеценовых (типа А и В), зеараленона и патулина в зерне и кормах. Одновременное извлечение и определение микотоксинов разных классов позволяет значительно сократить время анализа, а также использовать меньшее количество токсичных растворителей, что является важными преимуществами при исследовании данных соединений.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ 28001-88. Зерно фуражное, продукты его переработки, комбикорма. Методы определения микотоксинов: Т-2 токсина, зеараленона и охратоксина А. – М.: Изд-во стандартов, 1990. – С. 69–78.
- ГОСТ 28396-89. Зерновое сырье, комбикорма. Метод определения патулина. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – С. 82–87.
- ГОСТ Р 51116-97. Комбикорма, зерно, продукты его переработки. Метод определения содержания дезоксиниваленола. – М.: Изд-во стандартов, 1999. – С. 170–180.
- Максимально допустимые уровни (МДУ) микотоксинов в кормах для сельскохозяйственных животных: утв. ГУВ Минсельхоза СССР 01.02.89 № 434-7.
- СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. – 2001.
- Тутельян В. А., Кравченко Л. В. Микотоксины. – М.: Медицина, 1985. – 211 с.
- Урусов А.Е., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Иммунохимические методы анализа микотоксинов (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 3. – С. 276–290.
- Anastassiades M., Stajnbaher D., Schenck F.J. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase

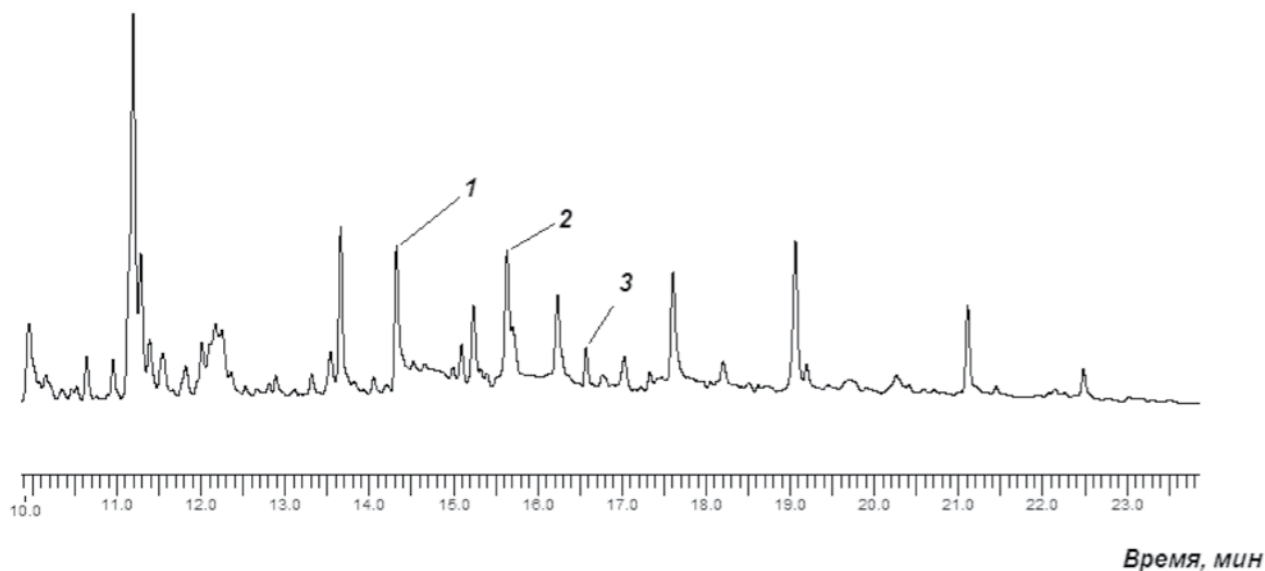


Рис. 3. Хроматограмма экстракта кукурузы на содержание микотоксинов разных классов: 1 – ДОН, 2 – 15-ацДОН, 3 – 3-ацДОН

Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce // J. AOAC Int. – 2003. – Vol. 86. – P. 412–431.

9. Croteau S.M., Prelusky D.B., Trenholm H.L. Analysis of Trichothecene Mycotoxins by Gas Chromatography with Electron-Capture Detection // J. Agric. Food Chem. – 1994. – Vol. 42. – P. 928–933.

10. Fernández-Cruz M.L., Mansilla M.L., Tadeo J.L. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications // J. Adv. Res. – 2010. – Vol. 1. – P. 113–122.

11. Hajslova J., Zachariasova M., Cajka T. Analysis of Multiple Mycotoxins in Food // Mass Spectrometry in Food Safety: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology / ed. J. Zweigenbaum, – 2011. – P. 233–258.

12. Mycotoxin analysis: An update / R. Krska, P. Schubert-Ullrich, A. Molinelli [et al.] // Food Addit. Contam. A. – 2008. – Vol. 25, № 2. – P. 152–163.

13. Oliveira A. de Q., Soares L.M.V. Survey of deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, and t2 toxin in popcorn hybrids planted in the state of São Paulo and in popcorn commercialized in the city of Campinas // Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas. – 2001. – Vol. 21. – P. 330.

14. Pittet A. Modern methods and trends in mycotoxin analysis // Mitt. Lebensm. Switzerland. – 2005. – Vol. 96. – P. 424.

15. Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A and Fusarium toxins in maize by liquid chromatography/tandem mass spectrometry after multitoxinimmunoaffinity cleanup / V.M.T. Lattanzio, M. Solfrizzo, S. Powers, A. Visconti // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2007. – Vol. 21. – P. 3253–3261.

16. Simultaneous determination of trichothecenes mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography-mass spectrometry / T. Tanaka, A. Yoneda, S. Sugiura, Y. Ueno // J. Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 882. – P. 23–28.

17. Turner W., Subrahmanyam S., Piletsky S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review // Analytica Chimica Acta. – 2009. – Vol. 632, № 2. – P. 168–180.

## О РАСПРОСТРАНЕНИИ ВИРУСОВ ГРИППА ПТИЦ В НЕКОТОРЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2011 ГОДУ

А.В. Варкентин<sup>1</sup>, М.С. Волков<sup>2</sup>, В.Н. Ирза<sup>3</sup>

<sup>1</sup> младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: varkentin@arriah.ru

<sup>2</sup> старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>3</sup> заведующий лабораторией, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

### РЕЗЮМЕ

В статье представлены данные о результатах серологических и молекулярно-биологических исследований биологического материала от диких, синантропных и домашних птиц, поступивших из 12 субъектов Российской Федерации в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2011 г. Обнаружение антител к вирусу гриппа птиц указывает на циркуляцию вируса подтипов H5 и H7 в популяциях диких и синантропных птиц на территории Южного и Сибирского федеральных округов.

Ключевые слова: грипп птиц, сыворотка крови, биологический материал.

## INFLUENZA VIRUS SPREAD IN SOME AREAS OF THE RUSSIAN FEDERATION IN 2011

A.V. Varkentin<sup>1</sup>, M.S. Volkov<sup>2</sup>, V.N. Irza<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Junior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: varkentin@arriah.ru

<sup>2</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir

<sup>3</sup> Head of the Laboratory, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir

### SUMMARY

Results of serological and molecular-biological tests of biological materials collected from wild, synanthropic and domestic birds delivered from 12 RF Subjects to the FGBI "ARRIAH" in 2011 are demonstrated. Avian influenza virus detection demonstrates H5 and H7 subtype virus circulation in populations of wild and synanthropic birds in the South and Siberian Federal Okrugs.

Key words: avian influenza, blood serum, biological material.

### ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц, подлежащий обязательной международной нотификации, включает высокопатогенный грипп птиц (ВПГ), вызываемый высоковирулентными вирусами любого подтипа с индексом внутривенной патогенности для цыплят, превышающим 1,2, и низкопатогенный грипп птиц, вызываемый вирусами подтипов H5 и H7 [2].

По данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) ВПГ подтипа H5N1 в 2003-2012 гг.

зарегистрирован в 63 странах мира. За первые шесть месяцев 2012 г. ВПГ подтипа H5N1 у домашних и диких птиц нотифицирован 10 странами (Гонконг, Индия, Бангладеш, Бутан, Вьетнам, Непал, Мьянма, Израиль, Китай, и Камбоджа) [5]. Также зарегистрированы случаи ВПГ подтипа H5N2 на Тайване, в ЮАР; H7N3 – в Мексике. Наряду с распространением ВПГ отмечены случаи низкопатогенного гриппа (НПГ) подтипов H5N2 и H7N3 на Тайване, H7N7 и H7N1 в Голландии, H7N3 и H7N9 в США и H7N7 в Германии [5].

В Российской Федерации ВПГ у домашних птиц не регистрировали с 2008 г., а у диких птиц – с 2010 г., однако угроза заноса возбудителя из сопредельных государств существует.

С учетом установленных рисков, которые представляет ВПГ как для мирового птицеводства, так и для здоровья людей, крайне важно раннее предупреждение распространения вируса с целью осуществления адекватных противоэпизоотических и профилактических мероприятий. Кроме того, необходимо отслеживать



эволюцию вируса для выявления мутаций, которые могли бы привести к инфицированию людей.

Для выполнения этих задач необходимо проводить мониторинг популяций диких, домашних и синантропных птиц, направленный на выявление и идентификацию вируса гриппа [4].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с приказом № 120 от 8 апреля 2011 г. «О лабораторных исследованиях в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для обеспечения выполнения требований Соглашения ВТО по СФС при

вступлении России в ВТО на 2011 г.» в ФГБУ «ВНИИЗЖ» для лабораторных исследований на грипп птиц (ГП) поступали биологические материалы и сыворотки крови из следующих субъектов Российской Федерации: Астраханской, Владимирской, Нижегородской, Ивановской областей, Республик Тыва, Дагестан, Ингушетия, Калмыкия, Кабардино-Балкария, Северная Осетия – Алания, Чеченской Республики и Алтайского края.

Из данных регионов доставлено 12118 проб сывороток крови и 673 пробы биологического материала (смывы, фрагменты органов и тканей), отобранных от клинически здоровых птиц. Отбор и подготовку проб биологического материала проводили согласно требованиям МЭБ по диагностике гриппа птиц [1].

Исследование сывороток крови птиц на наличие антител к вирусу гриппа проводили иммуноферментным анализом (ИФА) и в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием следующих коммерческих наборов согласно инструкции по их применению:

1. Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении, производство ФГБУ «ВНИИЗЖ» (серия 6, срок годности до 04.2012 г.);

2. Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации, производство ФГБУ «ВНИИЗЖ» (серия 9, срок годности до 04.2012 г.);

3. Антиген ВГП подтипа H7 производства IZSve, Италия (серия 1/06, срок годности до 10.2015 г.).

Титр антител в РТГА на уровне  $\geq 1:16$  ( $4,0 \log_2$ ) [1] и в ИФА при значении  $S/P \geq 0,257$  считали диагностическим титром.

Исследование биологического материала проводили методом обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) с олигонуклеотидными праймерами и зондом для выявления генома вируса гриппа птиц типа А в пробах [1, 3].

Для выделения РНК из суспензий биологического материала использовали набор РИБО-сорб-50 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Кат. № K2-1-Et-50, годен до 02.2012 г.).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из Астраханской области получено 1325 проб сывороток крови от домашних птиц промышленных птицеводческих предприятий. По результатам ИФА в 8 пробах были обнаружены антитела к вирусу гриппа птиц (ВГП) типа А, однако исследования данных проб в РТГА с антигенами H5 и H7 не подтвердили наличия специфических антител к вирусам данных подтипов. При исследовании 39 проб сывороток крови от диких и синантропных птиц в 1 пробе от чирка-свистунка (*Anas crecca*) выявлены антитела к ВГП подтипа H5 и в 1 пробе от грача (*Corvus frugilegus*) к ВГП подтипа H7 в диагностически значимых титрах ( $4,0 \log_2$ ).

При исследовании проб органов и смывов генетический материал ВГП не обнаружен.

Из Республики Тыва поступили 243 пробы сывороток крови от домашних, синантропных и диких водоплавающих птиц и 112 образцов биологических материалов. Активные мониторинговые исследования проводились в прибрежных районах озера Убсу-Нур в связи с ранее неблагополучной эпизоотической обстановкой по высокопатогенному гриппу птиц. В 2 пробах сывороток крови от чомги (*Podiceps cristatus*) в РТГА выявлены специфические антитела к ВГП подтипа H5 в диагностически значимых титрах ( $4,0-5,0 \log_2$ ). Кроме того, в 11 пробах от диких птиц в РТГА определены антитела в титрах  $2,0-3,0 \log_2$  к ВГП подтипов H5 и H7. Антитела на уровне ниже диагностического выявлены в сыворотках крови от коршуна (*Milvus migrans*) (H5/H7), чомги (*Podiceps cristatus*) (H7), серой утки (*Anas strepera*) (H7), чайки озерной (*Larus ridibundus*) (H7) и большого баклана (*Phalacrocorax carbo*) (H7). Результаты молекулярно-биологических исследований 112 образцов биологических материалов – отрицательные.

Таким образом, популяции диких птиц на озере Убсу-Нур представляют значительный интерес в изучении вопросов циркуляции ВГП.

Из Владимирской области было получено 1683 пробы сывороток крови птиц и 168 образцов биологического материала. Специфические антитела к ВГП не выявлены, результаты молекулярно-биологических исследований – отрицательные.

Из Нижегородской области поступили 5184 пробы сыворотки крови от домашних, синантропных и диких птиц, а также 152 образца биологического материала. В сыворотках крови от домашних птиц из личных подсобных хозяйств (ЛПХ) Городецкого, Ворынского, Навашинского, Шарангского, Тоншаевского, Лысковского, Шатковского и Болдинского районов обнаружены антитела к ВГП А/H5, которые связаны с профилактической иммунизацией птиц. Присутствие специфических антител и циркуляция вируса среди невакцинированных домашних, синантропных и диких птиц не установлена.

Из Республики Калмыкия исследованы 234 пробы сывороток крови от домашних и диких птиц. В 1 пробе



от домашней водоплавающей птицы из Черноземельного района обнаружены антитела к ВГП А/H5 ( $4,0 \log_2$ ).

Из Республики Дагестан поступили 275 образцов сывороток крови. В 5 пробах сывороток крови от птиц ЛПХ из с. Куруш и с. Боташурт выявлены в ИФА антитела к ВГП типа А, однако ретестирование в РТГА исключило принадлежность антител к вирусу подтипов H5 и H7. В 5 пробах в РТГА с антигеном H7 обнаружены антитела на уровне ниже диагностического ( $2,0-3,0 \log_2$ ) в сыворотках крови невакцинированных птиц, принадлежащих гражданину из с. Куруш.

Из Ивановской области поступили 997 проб биологических материалов. В 1 пробе сыворотки крови от домашней птицы в ИФА обнаружены антитела к ВГП типа А, но в РТГА антитела к ВГП подтипов H5 и H7 не выявлены.

Из Республики Кабардино-Балкария было получено 111 проб сывороток крови от домашних птиц и голубей (*Columba livia*) и 104 пробы биологического материала. Результаты лабораторных исследований – отрицательные. Однако в сыворотках крови голубей (*Columba livia*) (с. Новоивановское, п. Октябрьский, п. Майский и ст. Котляревская) обнаружены в РТГА антитела к вирусу ГП подтипа H7 на уровне ниже диагностического ( $3,0 \log_2$ ).

Из Республики Ингушетия поступило 259 сывороток крови от птиц ЛПХ граждан и 20 проб биологического



материала. В сопроводительном документе указано, что птицы ЛПХ привиты 04.2011 г. вакциной ФЛУ «ПРОТЕКТ Н5» (Ставропольская биофабрика, серия 080410). Однако антитела к ВГП подтипа Н5 в диагностическом титре – 7,0 log<sub>2</sub> обнаружены только в 1 пробе.

Из Республики Северная Осетия – Алания исследовано 535 проб сывороток крови птиц ЛПХ и 16 проб биологического материала. Обнаруженные антитела к ВГП подтипа Н5 в сыворотках крови от птиц ЛПХ связаны с вакцинацией (иммунизация 29.06.11 г.). Результаты молекулярно-биологических исследований – отрицательные.

Из Чеченской Республики поступили 550 проб сывороток крови птиц и 50 проб биологического материала. Антитела, обнаруженные в сыворотках крови домашних птиц ЛПХ (Гудермесский и Наурский районы), были связаны с вакцинацией (иммунизация от 16.06.11 г.). В биологическом материале генетический материал ВГП не выявлен.

Было исследовано 686 проб сывороток крови от диких, синантропных и домашних птиц, поступивших из Алтайского края. Специфические к ВГП А/Н5 антитела выявлены в сыворотке крови от дикой утки (*Anas platyrhynchos*) из Кулундинского района, озеро Большие Осоры. Кроме этого, в 3 пробах сывороток от диких уток (*Anas platyrhynchos*) обнаружены антитела на уровне ниже диагностического к вирусу ГП подтипа Н7.

### ВЫВОДЫ

1. Несмотря на то, что вирусы гриппа в пробах биоматериала, поступивших в 2011 г., не обнаружены, результаты серологических исследований указывают на циркуляцию вируса гриппа птиц А/Н5 в популяциях

диких и синантропных птиц в Астраханской области (ЮФО), Республике Тыва и Алтайском крае (СФО), а также вируса ГП А/Н7 в Астраханской области. Кроме того, на территории Республик Тыва, Кабардино-Балкария, Дагестан, Калмыкия и Алтайского края в сыворотках крови диких и синантропных птиц обнаружены антитела на уровне ниже диагностического титра (2,0–3,0 log<sub>2</sub>) к вирусам гриппа А подтипов Н5 и Н7, что не исключает возможности циркуляции вирусов гриппа в дикой авифауне и взаимодействия между резервуаром инфекции и синантропными птицами.

2. Отсутствие поствакцинального иммунитета у привитых домашних птиц в некоторых регионах, видимо, связано с недостаточным охватом поголовья или нарушением дозировки препарата при проведении профилактических мероприятий.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avian influenza // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – Paris, 2012. – Vol. 1. Chap.2.3.4. – P. 436–452.
2. Avian influenza // OIE. Terrestrial Animal Health Code. – 2011. – Vol. 2. Chap.10.4. – P. 526–543.
3. Cattoli G., Monne I. Molecular diagnosis of avian influenza // Avian Influenza and Newcastle Disease, a Field and Laboratory Manual. – 2009. – P. 87–112.
4. Feare Chris J. Role of wild birds in the spread of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 and implications for global surveillance / Avian Diseases. – 2010. – Vol. 54. – P. 201–212.
5. Weekly disease information OIE. – URL: <http://www.oie.int/wahis/public> (дата обращения: 30.06.2012).

УДК 619:579.869.2:636.4:616-078

# ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА SpaA *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

А.С. Яковлева<sup>1</sup>, А.В. Щербakov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир; e-mail: yakovleva\_as@arriah.ru

<sup>2</sup>ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

### РЕЗЮМЕ

Проведено молекулярное клонирование гена, кодирующего SpaA-антиген *Erysipelothrix rhusiopathiae*, в составе экспрессирующего вектора в *E. coli*. Получены клоны *E. coli*, синтезирующие рекомбинантный белок SpaA. Отработаны условия экспрессии и очистки, обеспечивающие высокий выход рекомбинантного белка.

Ключевые слова: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, рекомбинантный белок Spa A, экспрессия, рожа свиней.

# PRODUCTION OF SpaA *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* RECOMBINANT PROTEIN

A.S. Yakovleva<sup>1</sup>, A.V. Scherbakov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir; e-mail: yakovleva\_as@arriah.ru

<sup>2</sup>Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir

### SUMMARY

Molecular cloning of SpaA antigen-coding gene of *Erysipelothrix rhusiopathiae* included in expressing *E. coli* vector is described. *E. coli* clones were obtained, which synthesize recombinant SpaA protein. Conditions for expression and purification were worked out providing for high recombinant protein yield.

Key words: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, recombinant SpaA protein, expression, erysipelas.

### ВВЕДЕНИЕ

*Erysipelothrix rhusiopathiae* – палочковидная грампозитивная бактерия рода *Erysipelothrix* семейства *Erysipelotrichaceae*. *E. rhusiopathiae* является возбудителем рожи – инфекционного заболевания, поражающего свиней, индеек и иногда другие виды животных и человека [5, 10].

У свиней рожа проявляется при остром течении септициемией и общей эритемой кожи, при хроническом течении – эндокардитом, артритом или некрозом кожи. Заболевание имеет широкое распространение по всему миру. Потери свиноводства от рожи весьма значительны и обуславливаются высокой смертностью при острых септических формах, а также большими расходами на организацию противорожистых мероприятий [1, 10].

Для профилактики болезни широко применяются инактивированные и аттенуированные вакцины. Однако, несмотря на вакцинацию, проявления болезни продолжают регистрировать [7]. Возможно, это связано с различной эффективностью применяемых вакцин. В связи с этим актуальной задачей является контроль поствакцинального иммунитета свиней против рожи.

В настоящее время для обнаружения антител против *E. rhusiopathiae* используются различные серологические методы: реакция агглютинации, реакция непрямой гемагглютинации, реакция торможения гемагглютинации, реакция агглютинации латекса, иммуноферментный анализ [4, 6, 8, 10]. Большинство этих методов основано на использовании антигена, получаемого из культуры *E. rhusiopathiae*, что небезопасно, учитывая зооантропонозность инфекции. Биологически безопасным является использование в серологических тестах рекомбинантных антигенов возбудителя рожи. Рекомбинантные антигены помимо безопасности имеют и другие преимущества перед нативными: они легки в приготовлении и обеспечивают более высокую специфичность серологических реакций [7].

При изучении антигенов *E. rhusiopathiae* было установлено, что наибольшей иммуногенной активностью обладает белок клеточной стенки бактерии с молеку-

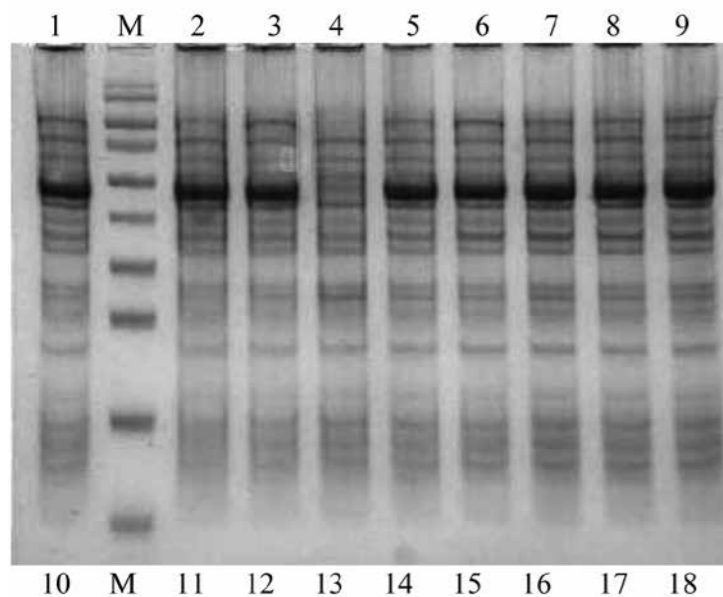


Рис. 1. Отбор клонов *E. coli*, экспрессирующих рекомбинантный белок SraA:  
M – маркер молекулярного веса белков (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 кДа);  
1–9 – номера клонов *E. coli*

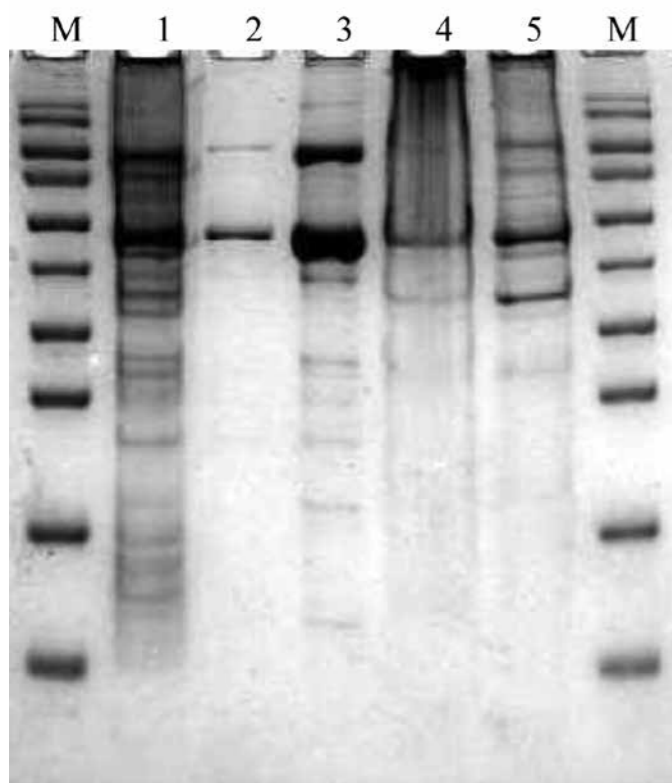


Рис. 2. Отработка условий денатурации при очистке рекомбинантного белка SraA:  
M – маркер молекулярного веса белков (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 кДа);  
1 – лизат *E. coli* после 4 часов индукции;  
2 – элюат очищенного белка SraA при использовании для денатурации 8М мочевины;  
3 – элюат очищенного белка SraA при использовании для денатурации 6М гуанидингидрохлорида;  
4 – клеточный дебрис *E. coli* после очистки с использованием 6М гуанидингидрохлорида;  
5 – клеточный дебрис *E. coli* после очистки с использованием 8М мочевины

лярной массой 69 кДа [7, 9]. Этот белок получил название SraA (сокр. от англ. surface protective antigene). Показано, что рекомбинантный белок SraA способен защищать свиней при заражении вирулентным штаммом *E. rhusiopathiae*, а также может быть использован в качестве антигена в ИФА для выявления антител к возбудителю рожи в сыворотках крови свиней [7].

Цель нашей работы заключалась в клонировании и экспрессии в *E. coli* гена, кодирующего SraA-антиген *E. rhusiopathiae*, для последующего использования рекомбинантного антигена в иммуноферментном анализе.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Бактериальные штаммы.** Штамм M-2 *E. rhusiopathiae* (серовар 1a) был получен из коллекции микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ».

**Выделение бактериальной ДНК** из суспензии осуществляли с использованием 6М гуанидинизотиоционата и стекловолокнистых фильтров GF/F [2].

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР).** Фрагмент гена SraA был амплифицирован методом ПЦР. Продукты реакции анализировали с помощью электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле, содержащем 0,001% бромистого этидия, при силе тока 50мА.

**Молекулярное клонирование** продукта ПЦР осуществляли по общепринятым методикам [3].

**Экспрессия рекомбинантного белка.** Культивирование *E. coli* проводили в орбитальном шейкере при 150 об/мин при 37°C. Индукцию осуществляли добавлением в суточные культуры бактериальных клеток IPTG (Promega, США). Уровень экспрессии и размер рекомбинантных белков определяли с помощью вертикального электрофореза в 12%-ном ПААГе.

**Очистка рекомбинантного белка** проводилась методом металл-хелатной хроматографии с применением Ni-NTA агарозы (Sigma).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве источника ДНК *E. rhusiopathiae* был использован штамм M-2 (серовар 1a). Фрагмент гена, кодирующего белок SraA, был амплифицирован методом ПЦР, при этом использовали праймеры, в структуру которых были заложены сайты рестрикции для BamHI и HindIII. После обработки соответствующими рестриктазами продукт ПЦР был клонирован в экспрессирующий плазмидный вектор.

В результате трансформации рекомбинантной плазмидой компетентных клеток *E. coli* было получено 9 клонов, экспрессирующих белок SraA, содержащий на N-конце шесть остатков гистидина (рис. 1). Молекулярная масса рекомбинантного белка составляла 48 кДа и соответствовала расчетной.

С целью повышения уровня накопления рекомбинантного белка в клетках *E. coli* были проведены эксперименты по оптимизации условий экспрессии. Работа была проведена по двум направлениям: определение оптимальной концентрации индуктора и установление периода экспрессии, при котором происходит максимальное накопление белка в бактериальных клетках.

Влияние концентрации IPTG на уровень экспрессии изучали в диапазоне от 0,1 до 1 мМ. Максимальное накопление белка SraA наблюдали при концентрации индуктора 0,5 мМ.

Для исследования кинетики экспрессии рекомбинантного белка отбирали аликвоты дневной культуры *E. coli* через 1, 2, 4 и 18 часов после индукции и анали-

зировали в ПААГе. Было обнаружено, что белок SraA является относительно стабильным, поскольку даже через 18 часов экспрессии не наблюдалось его протеолиза. Однако накопление рекомбинантного белка в клетках *E. coli* достигало максимума уже через 4 часа после индукции и далее не менялось, поэтому данный период времени был принят в качестве оптимального для экспрессии SraA-белка.

Оптимизация условий очистки и концентрирования белка SraA заключалась в подборке денатурирующего и элюирующего растворов.

Эксперименты показали, что рекомбинантный белок находился в клетках *E. coli* в нерастворимой форме. Использование 8М мочевины позволило лишь частично растворить белок. В связи с этим в состав денатурирующего буфера был включен 6М гуанидингидрохлорид, с помощью которого удалось перевести в растворимое состояние большую часть белка (рис. 2).

Очистку растворенной фракции белка проводили методом металл-хелатной хроматографии с применением Ni-NTA агарозы. Для элюирования SraA-белка были использованы три варианта буферов: буфер 1 (8М мочевины, 100мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10мМ трис HCl, pH 4,0), буфер 2 (8М мочевины, 100мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10мМ трис HCl, 0,2М имидазол pH 8,0), буфер 3 (мочевина, 100мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10мМ трис HCl, 0,4М имидазол pH 8,0). Концентрацию белка в каждом элюате оценивали визуально по электрофореграмме (рис. 3). Как видно из рисунка, наибольшая концентрация рекомбинантного белка была в элюатах с использованием буферов 2 и 3.

Таким образом, максимального выхода очищенного белка SraA удалось добиться при денатурации 6М гуанидингидрохлоридом и элюции 0,2-0,4 М раствором имидазола.

Очищенный и концентрированный препарат рекомбинантного белка SraA предполагается использовать в дальнейших исследованиях для разработки иммуноферментного анализа по определению антител к *Erysipelothrix rhusiopathiae* в сыворотках крови свиней.

### ВЫВОДЫ

Проведено молекулярное клонирование гена, кодирующего белок SraA *Erysipelothrix rhusiopathiae*, в составе экспрессирующего вектора в *E. coli*.

Получены клоны *E. coli*, синтезирующие рекомбинантный белок SraA.

Определены условия экспрессии и очистки, обеспечивающие высокий выход очищенного препарата рекомбинантного белка.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенов Н.И., Шубина Е.А. О специфической профилактики рожи свиней // БИО. – 2011. – № 5. – С. 25–26.
2. Использование агарозы A-300 и фильтров GF/F (GF/C) для очистки фрагментов ДНК, ДНК / О.Г. Грибанов, А.В. Щербаков, Н.А. Перевозчикова [и др.] // Биохимия. – 1996. – Т. 21, № 6. – С. 1064–1070.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сембрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – М: Мир, 1984. – 480 с.
4. Нахмансон В.М., Бурба Л.Г. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Справочник. – М.: Росагропромиздат, 1990. – 255 с.
5. Пейсак З. Болезни свиней: пер. с польск. – Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. – 424 с.

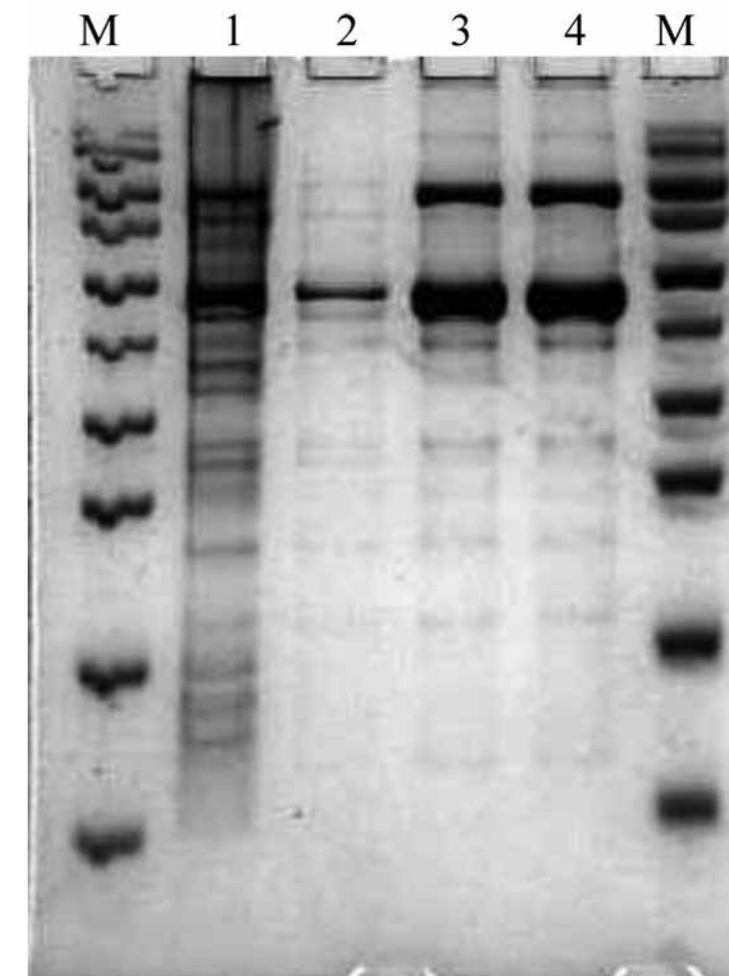


Рис. 3. Отработка условий элюирования рекомбинантного белка SraA:  
M – маркер молекулярного веса белков (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 кДа);  
1 – лизат *E. coli* после 4 часов индукции;  
2 – очищенный белок SraA при использовании для элюирования буфера 1;  
3 – очищенный белок SraA при использовании для элюирования буфера 2;  
4 – очищенный белок SraA при использовании для элюирования буфера 3

6. Application of the indirect enzyme immunoassay for the detection of antibodies against *Erysipelothrix rhusiopathiae* / H. Kirchhoff, H. Dubenkropp, G. Kerlen [et al.] // Vet. Microbiol. – 1985. – Vol. 10. – P. 549–559.

7. Enzyme-linked immunosorbent assay employing a recombinant antigen of protective antibody against swine erysipelas / Y. Imada, Y. Mori, M. Daizoh [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 11. – P. 5015–5021.

8. Protective effect of NaOH-extracted *Erysipelothrix rhusiopathiae* vaccine in pigs / T. Kitajama, E. Oishi, K. Amimoto [et al.] // J. Vet. Med. Sci. – 1998. – Vol. 60. – P. 9–14.

9. To H., Nagai S. Genetic and antigenic diversity of the surface protective antigen proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae* // Clin. Vaccine Immunol. – 2007. – Vol. 14, № 7. – P. 813–820.

10. Wang Q., Chang B.J., Riley T.V. *Erysipelothrix rhusiopathiae* // Vet. Microbiol. – 2010. – Vol. 140. – P. 405–417.

# СТАТУС РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО РИСКУ ГУБКООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ОЦЕНКИ СОГЛАСНО КРИТЕРИЯМ, ПРИНЯТЫМ МЭБ

А.Е. Метлин<sup>1</sup>, С.С. Рыбаков<sup>2</sup>, А.А. Егоров<sup>3</sup>

<sup>1</sup> заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: metlin@arriah.ru

<sup>2</sup> эксперт по прионным болезням и бешенству, доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>3</sup> научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

## РЕЗЮМЕ

В статье представлены: характеристики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота; определения термина «статус популяции по риску инфекционных болезней»; актуальность проведения экспертной оценки статуса российской популяции крупного рогатого скота по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота; стандарты, принятые МЭБ, для оценки статуса стран или зон по риску инфекционных болезней; перечислены основные мероприятия, необходимые для представления досье страны, содержащего сведения о выполненных мерах контроля губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота в России в Научный комитет по болезням животных МЭБ.

**Ключевые слова:** губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота; статус популяции КРС, содержащейся в стране, по риску ГЭ; международные стандарты, рекомендованные МЭБ.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблемы пищевой безопасности и здоровья животных, связанные с международной торговлей продукцией животноводства и сельскохозяйственными животными, приобрели существенно большее значение, чем они имели несколько десятилетий ранее. Нарастание факторов риска, связанных с импортом животных и продукции из стран или регионов, нередко географически отдаленных и существенно отличающихся по эпизоотической ситуации от страны-импортера, поставило перед ветеринарными службами ряд задач, решение которых потребовало совершенствования мер защиты от инфекционных болезней как традиционными санитарно-карантинными мерами, так и средствами активной профилактики ин-

фекционных болезней. Одной из наиболее сложных болезней для ветеринарного контроля является губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ГУБКООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ КРС

Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС, BSE) – нейродегенеративное заболевание, возбудителем которого является патогенная изоформа прионного белка, поражающее преимущественно КРС, а также других животных семейств полорогих, кошачьих и куньих, в меньшей степени приматов. ГЭ КРС – относительно новое заболевание, впервые зарегистрированное в Великобритании в 1986 г. Заражение животных агентом ГЭ КРС происходит вследствие кормления КРС кормом, содержащим мясо-костную муку, полученную из тканей жвачных животных и контаминированную патогенной изоформой прионного белка.

Возбудитель ГЭ КРС опасен для человека. При попадании возбудителя ГЭ КРС в организм человека в связи с употреблением продуктов или применением медицинских препаратов, в производстве которых были использованы ткани инфицированных животных, с крайне малой вероятностью происходит заражение человека, и развивается новый вариант болезни Крейтцфельда-Якоба (vCJD), который, как и прочие прионные болезни, является неизлечимым заболеванием. Всего к середине 2012 г. в 12 странах мира были выявлены 227 случаев vCJD, из них 176 – в Великобритании [2]. Основным способом защиты людей от заражения возбудителем ГЭ КРС является удаление и уничтожение материалов специфического риска, которые потенциально могут содержать возбудитель: преимущественно тканей нервной системы, а также диагностические

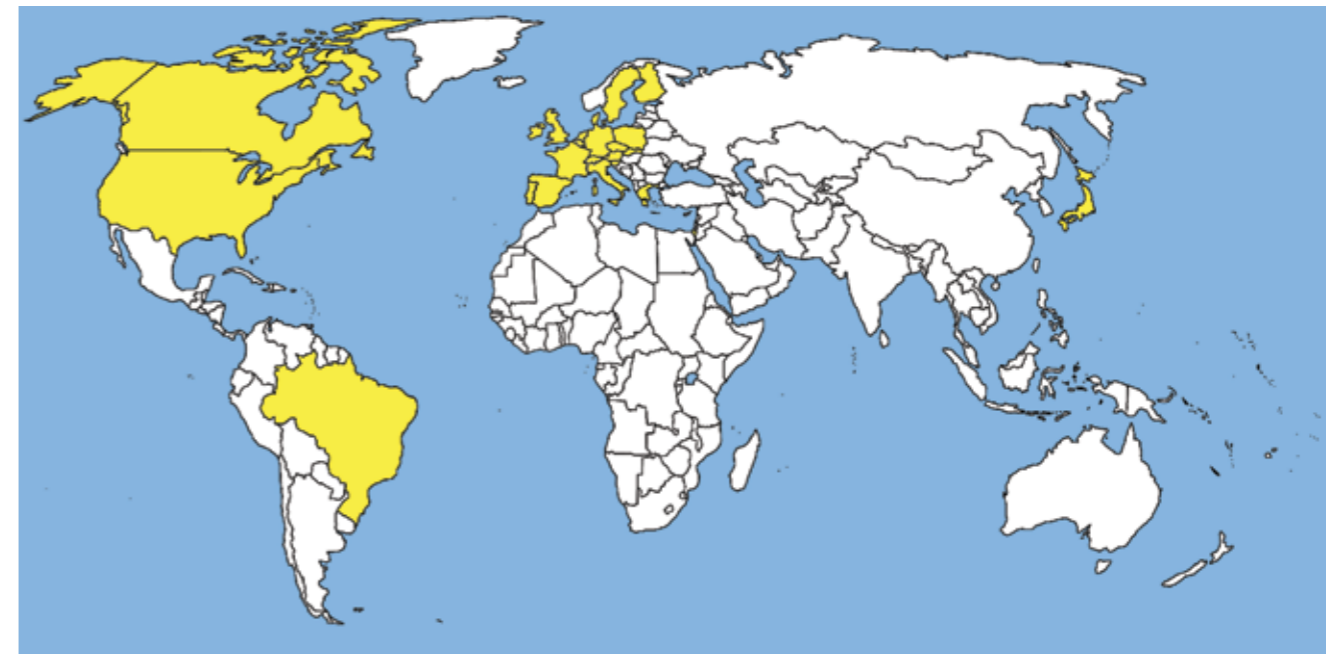


Рис. 1. Географическое распространение ГЭ КРС в странах мира на январь 2013 г.

исследования ткани мозга на наличие возбудителя ГЭ КРС как животных групп риска (вынужденно убитых и павших), так и здоровых, направленных на бойню с целью производства мясной продукции [1].

Инкубационный период ГЭ КРС, в среднем, составляет 4-7 лет, в течение которых болезнь развивается без видимых клинических признаков. Особенность ГЭ КРС, отличающая эту болезнь от скрепи овец, – отсутствие приемлемых по надежности и времени проведения лабораторных методов прижизненной диагностики, а также отсутствие средств и методов иммунопрофилактики, поскольку возбудитель является структурно измененным собственным белком организма.

Термическая обработка, применяемая при приготовлении пищи и при производстве мясо-костной муки, традиционные средства и методы стерилизации медицинских средств, такие как стерилизующая фильтрация и автоклавирование, а также дезинфектанты, основными компонентами которых являются детергенты, кислоты и альдегиды, не обеспечивают полной инактивации возбудителя болезни.

Поскольку главным фактором риска ГЭ КРС является кормление животных мясо-костной мукой (МКМ) из тканей жвачных животных, основной мерой профилактики и борьбы с болезнью, проводимой ветеринарными службами, является введение санитарно-карантинных ограничений, исключающих попадание в корм жвачных не только белков жвачных, но и белков предназначенный для млекопитающих.

Эффективное выполнение запрета на кормление МКМ потребовало проведения ряда технических и организационно сложных и дорогостоящих мер: удаления и уничтожения тканей КРС, которые потенциально могут содержать агент этой болезни, проведения контроля кормов на отсутствие контаминации тканями животных.

По сведениям, публикуемым МЭБ, число случаев ГЭ КРС в мире, благодаря принятым противозооотическим мерам, неуклонно снижается, тем не менее, учитывая длительный инкубационный период болезни, считать свободными от ГЭ можно только те страны, в которых болезнь не выявляли при проведении эпизоотического мониторинга, согласно правилам,

рекомендованным МЭБ, в течение не менее 7 лет. В настоящее время ГЭ КРС выявлена в 26 странах у местного скота и в 2 странах (Оман, Фолклендские острова) – только у животных, импортированных из других стран [4, 5]. Географическое распространение ГЭ КРС в мире на январь 2013 г. представлено на рис. 1.

В 2012 г. был выявлен первый случай ГЭ КРС в Бразилии (атипичный, не эпизоотический вариант, не влияющий на статус популяции бразильского КРС по ГЭ) [3], также единичные случаи были зарегистрированы в Ирландии, Испании, Польше, Соединенном Королевстве, США (атипичный вариант), Франции, Швейцарии (атипичный у импортированного животного) [4, 5].

В Российской Федерации в результате выполнения ряда программ по мониторингу эпизоотической ситуации по ГЭ КРС до 2013 г. было исследовано более 16500 проб мозга крупного рогатого скота. Из них более 12000 были исследованы с применением диагностических наборов TeSeE производства Bio-Rad, рекомендованных МЭБ для проведения скрининговых лабораторных исследований на ГЭ КРС. Все исследованные пробы были отрицательными по ГЭ КРС. Следовательно, благодаря ограничительным мерам при импорте животных, кормов и продукции животноводства из неблагополучных по ГЭ КРС стран, введенным ранее Департаментом ветеринарии МСХ РФ и проводимых в настоящее время Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору, вероятно, удалось избежать заноса этого заболевания в нашу страну. Однако исследованное количество проб не позволяет утверждать, что это предположение справедливо с надежностью, рекомендуемой МЭБ [8] – инцидентность ГЭ КРС с вероятностью 95% не превосходит 1 случай на 100 000 голов КРС возрастом от 24 мес.

## АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ ОЦЕНКИ СТАТУСА ПО ГЭ КРС ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РОССИИ

Поскольку свободные от опасных болезней животных страны или регионы имеют значительные преимущества

в международной торговле животными и продукцией животного происхождения, проведение мер, направленных на достижение эпизоотического благополучия, является экономически важной областью деятельности. Продукция животноводства – возобновляемый ресурс, сбыт такой продукции на внешних рынках позволяет, при наличии необходимых кормовых ресурсов, десятилетиями поддерживать на высоком уровне доходы в этой сфере производства, как, например, в большинстве стран Южной Америки, Австралии и Новой Зеландии. Следует также отметить, что благополучие по инфекционным болезням важно не только в отношении торговли продукцией животноводства, но и в других областях экономики. Наличие в какой-либо зоне опасных инфекционных болезней животных требует введения дополнительных мер контроля безвредности производимой в этой зоне продукции медицинского и ветеринарного назначения.

Правила контроля эпизоотической ситуации формально действуют вне зависимости принадлежности стран-экспортеров и импортеров к каким-либо международным организациям, регулирующим правила торговли, например, ВТО. Международные правила торговли, регулируемые ВТО, направлены на преодоление экономических, преимущественно тарифных барьеров. Способы решения проблем в международной торговле продукцией животноводства, связанных с инфекционной безопасностью, согласно определению целей и задач Санитарного и фитосанитарного комитета ВТО, основаны на стандартах в области ветеринарии, принятых МЭБ.

Стандарты определения статуса страны, зоны или производственной единицы, имеющих незначительный или контролируемый риск по опасным инфекционным болезням животных, были разработаны МЭБ в течение последних двух десятилетий.

Перечень сведений, на основании которых Научный комитет по болезням животных МЭБ определяет статус стран в отношении ГЭ КРС, был разработан и опубликован в январе 2008 г. [9]. Последняя редакция этого документа изложена в статье 1.6.3 «Вопросник по ГЭ КРС» главы 1.6 «Процедуры самодекларирования и официального признания со стороны МЭБ»

**Таблица 1. Целевые (минимальные) количества баллов для популяций крупного рогатого скота различного размера в стране, зоне или производственной единице, которые необходимо набрать на основании результатов диагностических исследований на ГЭ КРС, чтобы соответствовать критерию: инцидентность ГЭ КРС с вероятностью 95% не превосходит 1 случай на 100 000 голов КРС возрастом от 24 мес.**

Численность популяции взрослого КРС	Надзор типа А	Надзор типа В
> 1 000 000	300 000	150 000
800 000 – 1 000 000	240 000	120 000
600 000 – 800 000	180 000	90 000
400 000 – 600 000	120 000	60 000
200 000 – 400 000	60 000	30 000
100 000 – 200 000	30 000	15 000
50 000 – 100 000	15 000	7 500
25 000 – 50 000	7 500	3 750

Кодекса здоровья наземных животных МЭБ 2012 г. издания [7].

Единственно возможным вариантом оценки статуса стран по ГЭ КРС является официальное признание со стороны МЭБ, согласно статье 1.6.1 «Общие принципы» главы 1.6 вышеназванного Кодекса... [7]. Такое правило оценки статуса стран или зон действует в отношении следующих четырех болезней: ящура, ГЭ КРС, африканской чумы лошадей и контагиозной плевропневмонии КРС. По другим болезням, декларируемым МЭБ, Научный комитет не проводит процедуру оценки официального статуса, и ветеринарная администрация каждой страны имеет право самостоятельно провести оценку в соответствии с критериями, изложенными в соответствующих главах последней по дате издания редакции вышеназванного Кодекса... МЭБ [7].

Для запроса официального признания статуса по ГЭ КРС государственная ветеринарная служба страны должна представить в Научный комитет по болезням животных МЭБ досье, содержащее необходимую информацию согласно статье 1.6.3 вышеназванного Кодекса... МЭБ. С целью официального признания и поддержания статуса страны по вышеназванным четырем заболеваниям (в том числе – ГЭ КРС) действия МЭБ представлены в Резолюции № XXII (административные процедуры) и Резолюции № XXIII (финансовые обязательства), принятых 76-й Общей сессией МЭБ в мае 2008 г. [13]. Критерии соответствия популяции крупного рогатого скота в какой-либо стране нормативам контролируемого риска распространения агента ГЭ КРС изложены в Кодексе здоровья наземных животных МЭБ 2012 г. издания, части 11.5, статье 11.5.4 [8].

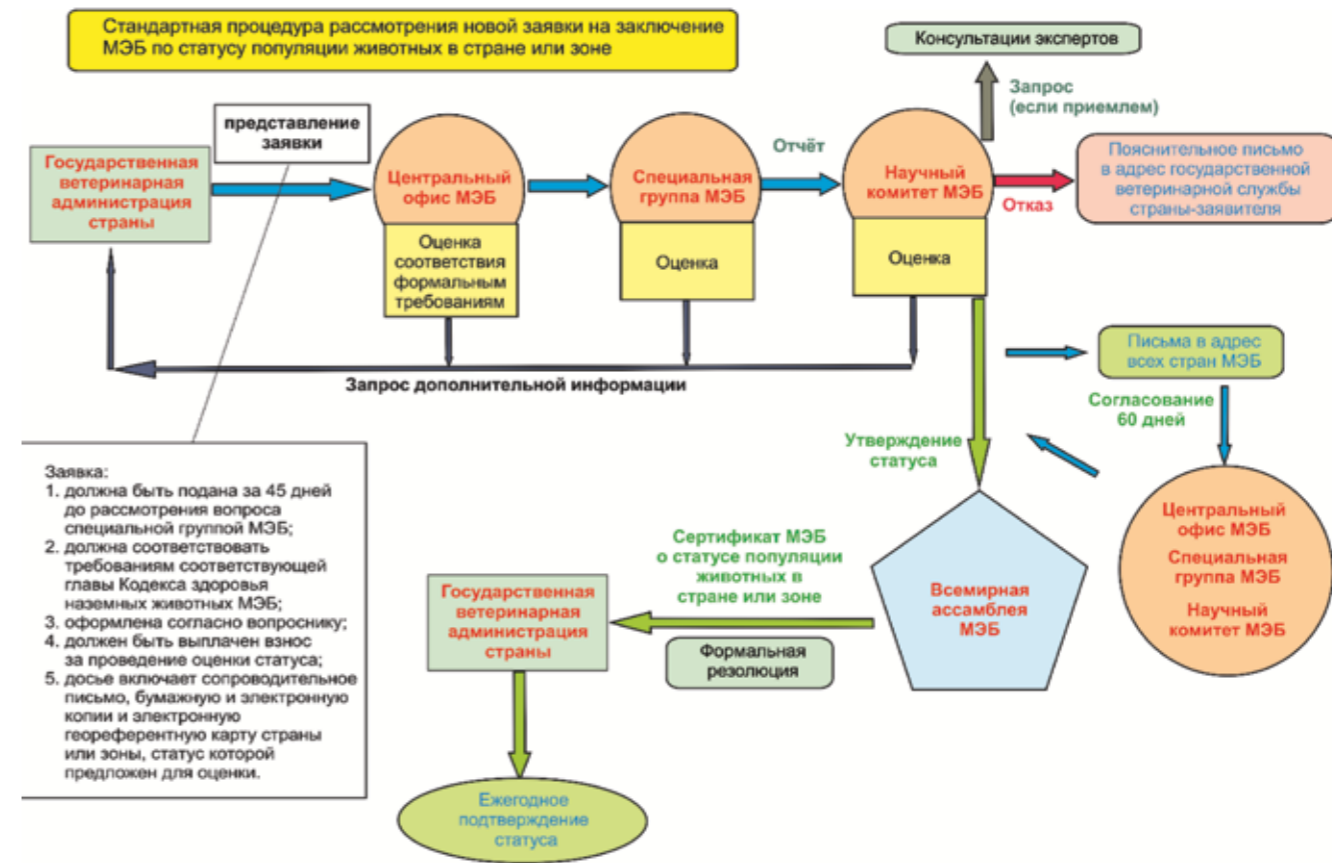
Поскольку в Российскую Федерацию после начала эпизоотии ГЭ КРС в 1986 г. были ввезены миллионы тонн кормов и более миллиона голов крупного рогатого скота из стран, неблагополучных по ГЭ КРС, а импорт перечисленных товаров МЭБ рассматривает как существенный фактор риска для популяции КРС в стране, на перспективу нескольких ближайших лет популяция КРС в России может претендовать в лучшем случае на статус контролируемого риска ГЭ КРС.

### КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СТАТУСА ПО ГЭ КРС ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РОССИИ

1. Для признания России страной контролируемого риска ГЭ КРС популяция крупного рогатого скота должна соответствовать следующим условиям:

1.1. Оценка риска проведена в соответствии с пунктом 1 статьи 11.5.2 (вышеназванного Кодекса... [8]) с целью идентификации исторических и существующих в настоящее время факторов риска, и показано, что необходимые меры приняты для управления всеми возможными рисками ГЭ КРС, однако эти меры не проводились в течение необходимого периода времени (по большинству мер – в течение 7-8 лет).

1.2. Страна (зона, предприятие) может показать, что надзор за ситуацией по ГЭ КРС проводился в соответствии со статьями 11.5.20-11.5.22, и проведено исследование соответствующего количества проб мозга КРС в количестве, указанном в статье 11.5.22 «Направления надзора», пункт 3, таблица 1 «Целевые (минимальные) количества баллов, полученных в результате исследования на ГЭ КРС проб мозга для популяций крупного рогатого скота различного размера в стране, зоне или производственной единице», в колонке «Надзор типа А».



Популяция КРС может быть разделена на четыре группы по риску ГЭ КРС, максимальный риск имеют животные с клиническими признаками ГЭ КРС, лабораторное исследование проб от таких животных наиболее важно и приносит максимальное количество баллов, вторая по риску ГЭ КРС группа – вынужденно убитые животные, третья – павшие и четвертая – клинически здоровые животные, у которых также может быть выявлена ГЭ КРС лабораторными методами в течение полугода до появления клинических признаков. Порядок пересчета количества исследованных проб в нескольких возрастных группах КРС в баллы представлен в табл. 2.

Таким образом, количество проб, подлежащее исследованию, зависит от исследуемой субпопуляции. В связи с этим, при отборе проб необходимо ориентироваться на категории животных, исследование проб от которых дает наибольшее количество баллов. Вероятность найти животных с клиническими признаками ГЭ и получить пробы, приносящие сотни баллов, крайне мала. В 2010 г. во Франции (популяция взрослого КРС 10,5 млн голов, больше чем в России) животные с клиническими признаками ГЭ КРС не зарегистрированы, в Германии (популяция взрослого КРС 5,8 млн голов) – 3 случая клинического диагноза ГЭ КРС, не подтвердившиеся при лабораторном исследовании [11].

Опыт проведения программ мониторинга ГЭ КРС в России в 2011 и 2012 гг. показывает, что одна проба, преимущественно от вынужденно убитого КРС, в среднем, приносит 1,07+0,11 балла, поэтому для России целевым количеством следует считать 300 000 проб в течение не более 7 последовательных лет. В Российской Федерации популяция взрослого КРС составляет несколько менее 9 млн голов, поэтому в течение 7 лет необходимо исследовать 300 000 проб, или в среднем 43 000 проб в год, что составит 0,48% популяции.

**Рис. 2. Порядок рассмотрения заявки государственной ветеринарной службы страны на оценку и решение МЭБ о статусе популяции животных в стране или зоне по ящуру, ГЭ КРС, африканской чуме лошадей и контагиозной плевропневмонии КРС [12]**

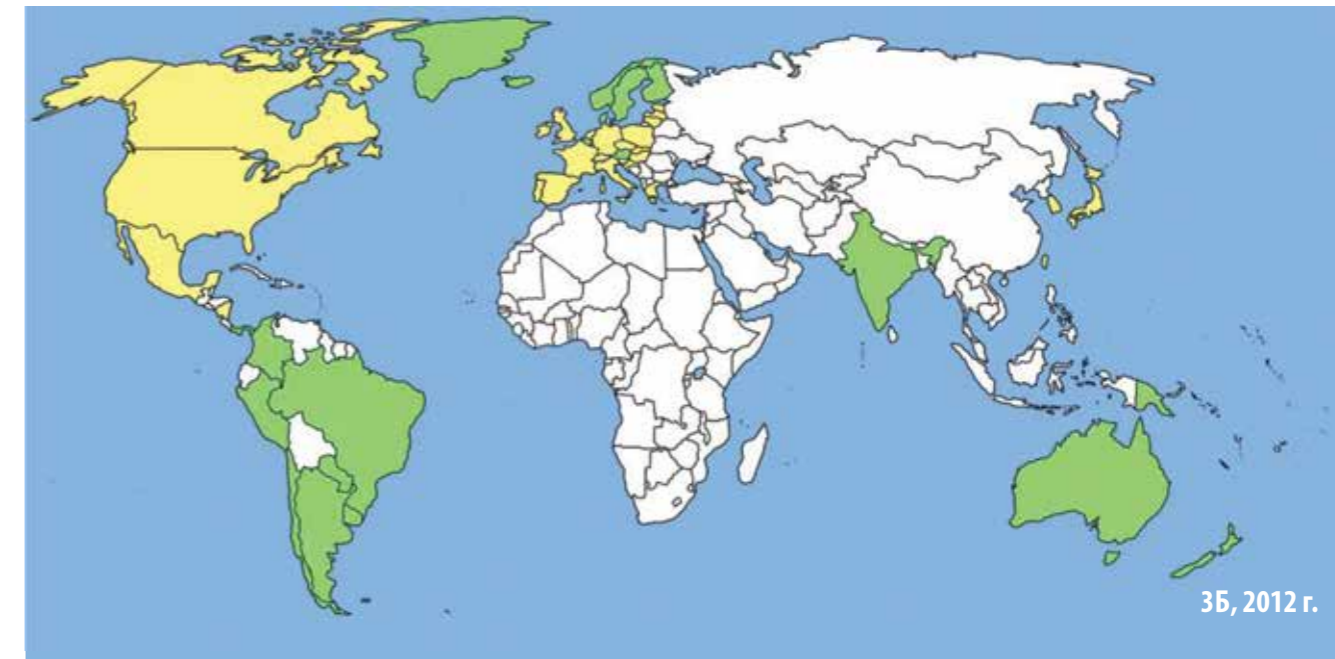
Исследование проб в количестве, как предписано в колонке табл. 1 «Надзор типа В», может проводиться в стране по достижении целевого количества исследованных проб, определенного в колонке «Надзор типа А».

**Таблица 2. Подсчет баллов в зависимости от групп риска при мониторинге BSE**

Субпопуляции КРС, подлежащие мониторингу			
Обычный убой для производства мясной продукции	Павшие животные	Вынужденно убитые животные	С клиническими признаками ГЭ КРС
Возраст ≥ 1 года и < 2 года			
0,01	0,2	0,4	Приравнены к вынужденно убитым или павшим животным в этой возрастной группе
Возраст ≥ 2 год и < 4 года			
0,1	0,2	0,4	260
Возраст ≥ 4 года и < 7 лет			
0,2	0,9	1,6	750
Возраст ≥ 7 лет и < 9 лет			
0,1	0,4	0,7	220
Возраст ≥ 7 лет и < 9 лет			
0,0	0,1	0,2	45



3А, 2006 г.



3Б, 2012 г.

2. А также:

2.1. Не было выявлено случаев ГЭ КРС, или, если такие случаи были, для каждого случая можно доказать, что он выявлен у импортированного животного, и это животное полностью уничтожено, критерии, перечисленные в пунктах с 2 по 4 статьи 11.5.2., выполняются (п. 2 – действует программа обучения для ветеринаров, фермеров и других специалистов, занятых транспортировкой, торговлей и убоем КРС, имеющая целью уведомление о выявлении животных, имеющих клинические признаки ГЭ КРС; п. 3 – обязательное уведомление и расследование всех выявленных клинических случаев ГЭ КРС; п. 4 – лабораторное диагностическое исследование на ГЭ КРС проб мозга, собранных в рамках программ надзора и мониторинга), и может быть показано, что соответствующий уровень контроля и аудита, включая контроль кормов на перекрестную контаминацию, контроль выполнения запрета на кормление жвачных животных мясо-костной мукой и белковыми брикетами из тканей жвачных животных выполняются, и выполнено как минимум одно из перечисленных условий:

2.1.1. критерии, перечисленные в пунктах с 2 по 4 статьи 11.5.2 не выполнялись в течение 7 лет;

2.1.2. нельзя доказать, что контроль запрета на кормление жвачных животных мясо-костной мукой и шкварой из жвачных проводился в течение 8 лет.

или:

2.2. Были выявлены случаи ГЭ КРС у местного скота, критерии, перечисленные в пунктах с 2 по 4 статьи 11.5.2., выполняются, и может быть показано, что соответствующий уровень контроля и аудита, включая контроль кормов на перекрестную контаминацию, контроль выполнения запрета на кормление жвачных животных мясо-костной мукой и шкварой из жвачных также выполняются; и все животные, у которых выявлена ГЭ КРС, а также следующие животные:

i. которые в течение первого года своей жизни откармливались в одном животноводческом хозяйстве с выявленным ГЭ-позитивным животным в течение первого года его жизни, и которые потребляли один и тот же потенциально контаминированный агентом ГЭ КРС корм в этот период;

ii. если результаты расследования по кормовой цепи не убедительны, то животные, которые родились в течение 12 месяцев до и 12 месяцев после рождения ГЭ-позитивного животного в одном стаде;

iii. если вышеназванные животные были в стране, зоне или производственной единице, то они были идентифицированы в постоянно действующей системе идентификации, все их перемещения контролировались, и после убоя или падежа эти животные были полностью уничтожены.

Таблица 3. Категории статуса популяций крупного рогатого скота по ГЭ КРС и наиболее важные характеристики

№	Статус по риску ГЭ КРС	Характеристики
1	Популяция неопределенного риска ГЭ КРС	Уровень мер контроля ГЭ КРС не полностью соответствует статьям 11.5.3. и 11.5.4. Кодекса... МЭБ [6–8]. Ситуация характерна для стран-импортеров мяса и мясной продукции (преимущественно страны среднего и малого уровня развития). Риск ГЭ КРС не известен, не проведены в должной степени все меры контроля ГЭ КРС и/или не проводится в должной степени документирование деятельности по контролю факторов риска ГЭ КРС. Если досье не содержит ответов на все вопросы, необходимых для оценки статуса по ГЭ КРС, то она отклоняется Научным комитетом по болезням животных МЭБ, который затем предлагает стране-кандидату перечень мер по исправлению ситуации.
2	Популяция контролируемого риска ГЭ КРС	Уровень мер контроля ГЭ КРС соответствует статье 11.5.4. Кодекса... МЭБ. Риск ГЭ КРС существует, однако ветеринарная служба страны проводит научно обоснованные меры, препятствующие рециркуляции агента ГЭ КРС. Вероятность возникновения ГЭ КРС со временем снижается. Экспорт продукции животноводства имеет минимальные ограничения, однако сырье из тканей КРС для промышленности биопрепаратов медицинского и ветеринарного назначения рассматривают как недостаточно безопасное.
3	Популяция незначительного риска ГЭ КРС	Уровень мер контроля ГЭ КРС соответствует статье 11.5.3. Кодекса... МЭБ. Оценка риска ГЭ КРС проведена и признана незначительной, ветеринарная служба страны не менее 7-8 лет проводит научно обоснованные меры, препятствующие заносу и рециркуляции агента ГЭ КРС. Экспорт продукции животноводства и промышленности биологических препаратов медицинского и ветеринарного назначения не имеет ограничений в связи с ГЭ КРС.

**КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ «ВОПРОСНИКА МЭБ ПО ГЭ КРС»**

«Вопросник МЭБ по ГЭ КРС» [9] был издан в 2008 г. Назначение вопросника – предоставить ветеринарным службам государств-участников МЭБ стандартный перечень сведений о мерах по контролю ГЭ КРС, выполненных в предшествующие годы, которые необходимо документировать и направить в МЭБ для проведения экспертной оценки статуса популяции КРС в стране по губкообразной энцефалопатии. Наиболее важными являются следующие условия и сведения.

1. Заявление на определение статуса страны, зоны или производственной единицы по ГЭ КРС может быть принято МЭБ только от ветеринарной службы страны-заявителя (т.е. со стороны Российской Федерации – только от Россельхознадзора).

2. Лаборатории, проводящие диагностические исследования на ГЭ КРС, должны соответствовать критериям, изложенным в главе 1.1.3 «Руководства МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных» [6].

3. Критерии, на основании которых Научный комитет по болезням животных МЭБ проводит оценку статуса популяции крупного рогатого скота страны по ГЭ КРС, изложены в статье 11.5.2 Кодекса здоровья наземных животных МЭБ 2012 г. издания [8].

4. Критерии включают:

4.1. Оценку риска, которая определяется на основании:

4.1.1. оценки наличия или отсутствия агента ГЭ КРС в популяции крупного рогатого скота и превалентности;

4.1.2. наличия и объемов производства мясо-костной муки и белковых кормовых брикетов из биоматериалов жвачных животных;

4.1.3. импорта мясо-костной муки и белковых кормовых брикетов;

4.1.4. импорта крупного рогатого скота, овец и коз;

4.1.5. импорта кормов и компонентов для производства кормов для животных;

4.1.6. импорта продукции из жвачных животных, предназначенной для потребления человеком, содержащей ткани, перечисленные в статье 11.5.14 (материалы специфического риска ГЭ КРС), которая может



3В, ЕВРОПА, 2012 г.

Рис. 3. Страны незначительного риска ГЭ КРС выделены зеленым, контролируемого риска – желтым

быть использована для кормления крупного рогатого скота;

4.1.7. импорта продукции из жвачных животных, которая применяется крупному рогатому скоту in vivo (например: культуральные вакцины, в производстве которых использована сыворотка крови КРС);

4.2. Если какие-либо факторы риска возникновения или заноса ГЭ КРС присутствуют, то необходимо провести оценку воздействия, которая определяется на основании оценки следующих факторов:

4.2.1. циркуляции и амплификации агента ГЭ КРС в популяции крупного рогатого скота вследствие



кормления мяско-костной мукой или белковыми брикетами из жвачных или контаминированными кормами;

4.2.2. направлений использования туш жвачных животных, включая павших, субпродуктов, боенских отходов, технических параметров их переработки и способов производства кормов для животных;

4.2.3. вероятности кормления жвачных животных мяско-костной мукой и белковыми брикетами, полученными из жвачных, или кормами, контаминированными вышеназванными компонентами в процессе производства;

4.2.4. уровня выполненных ранее мер по надзору за ситуацией по ГЭ КРС и результатов надзора.

4.3. Наличия программы подготовки ветеринарных врачей, животноводов и других специалистов, непосредственно работающих с КРС, направленной на обязательное уведомление ветеринарной службы о всех случаях выявления у этих животных клинических признаков ГЭ КРС.

4.4. Обязательное уведомление и расследование случаев наблюдения КРС, у которого были выявлены клинические признаки ГЭ КРС.

4.5. Проведение диагностических исследований на ГЭ КРС в соответствии с методами, рекомендованными в «Руководстве МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных» [6].

Таким образом, для признания Российской Федерации страной контролируемого риска ГЭ КРС необходимо собрать и представить в МЭБ документы, оформленные в соответствии с правилами, изложенными в «Вопроснике по ГЭ КРС» [9] и содержащие информацию о:

– количестве диагностических исследований на ГЭ КРС и результатах;

– производстве и применении мяско-костной муки и белковых брикетов из тканей жвачных животных (количество в тоннах, технические характеристики процессов, эффективность лабораторного контроля, эффективность контроля применения, область применения /запрещено в корм жвачным, разрешено техническое и в корм пушным животным, под контролем в корм птице и свиньям/);

– импорте кормов в Российскую Федерацию;

– импорте КРС в Российскую Федерацию;

– оценку эффективности выполнения ранее введенных (в 90-е гг.) запретов на кормление жвачных животных в России кормами, содержащими белок жвачных, на основании результатов лабораторных исследований кормов на белок или геном жвачных;

– описание направления использования туш павших животных и боенских отходов (сколько процентов на какие цели, технические характеристики процессов);

– оценку риска попадания белков из жвачных животных в корм жвачным (на основе результатов лабораторных исследований кормов);

– оценку эффективности надзора за ГЭ КРС в предыдущие годы;

– описание программы подготовки ветеринарных врачей и животноводов (с целью обязательного уведомления о выявлении клинических признаков ГЭ у животных);

– описание методов и результатов диагностических исследований на ГЭ КРС.

Порядок рассмотрения заявки государственной ветеринарной службы страны на оценку и решение МЭБ

о статусе популяций животных в стране или зоне опубликован в [12] и представлен на рис. 2. Такой порядок применим к оценке статуса по ящуру, ГЭ КРС, африканской чуме лошадей и контагиозной плеввропневмонии КРС.

Ряд важных мероприятий в настоящее время уже проводится.

Разработана программа обучения специалистов по вопросам надзора и диагностики ГЭ КРС и ежегодно проводятся курсы в ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также в ФГБУ «ЦНМВЛ». Участникам программы мониторинга ГЭ КРС в 2011 и 2012 гг. были направлены необходимые инструкции, содержащие определения категорий КРС, подлежащих диагностическому исследованию, и правила отбора и транспортировки проб мозга.

Категории статуса популяций крупного рогатого скота по ГЭ КРС и наиболее важные характеристики представлены в табл. 3.

Оценку статуса стран по риску ГЭ КРС МЭБ проводит с 2004 г. На рис. 3А представлены страны, оценка статуса которых была проведена МЭБ в 2006 г.: свободные от ГЭ КРС (выделены зеленым): Австралия, Аргентина, Новая Зеландия и Уругвай; и потенциально свободные (выделены желтым): Чили, Исландия, Парагвай и Сингапур.

В 2012 г. перечень стран, риск ГЭ КРС в которых признан незначительным, вырос до 19, стран контролируемого риска – до 30 (рис. 3Б и 3В) [10].

Оценку статуса по ГЭ КРС в настоящее время провели, прежде всего, страны – крупнейшие экспортеры мяса: Аргентина, Бразилия, Уругвай, Парагвай, Австралия, Новая Зеландия, а также высокоразвитые страны Европейского Союза, Норвегия, Исландия, Швейцария, США, Канада и Япония. Постсоветские страны, за исключением вступивших в 2004 г. в ЕС Латвии, Литвы и Эстонии, страны Восточной и Юго-Восточной Азии, Балканские страны (за исключением Греции), Ближнего Востока и Африки не имеют определенного статуса по ГЭ КРС.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, чтобы получить статус страны контролируемого риска ГЭ КРС, ветеринарная администрация соответствующей страны должна показать, что располагает организационными, правовыми и материальными возможностями для проведения научно обоснованных мер по защите популяции КРС от рециркуляции агента этой болезни, эпизоотологическому мониторингу и надзору за безопасностью кормов для КРС, и что результаты лабораторных исследований получены надежными методами и статистически достоверны. Необходимо также показать, что информация, на основе которой ветеринарная служба принимает решения, объективна, и на применение ветеринарных правил не влияют экономически заинтересованные организации. Популяция КРС в Российской Федерации в настоящее время имеет неопределенный риск по ГЭ КРС, что негативно влияет на международную торговлю продукцией животноводства и промышленность биологических препаратов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рыбаков С.С. Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота. – Владимир, 2007. – 588 с.

2. EUROCID Surveillance Data. vCJD cases Worldwide at 28 June 2012. – URL: <http://www.eurocid.ed.ac.uk/surveillance%20data%204.htm>.

3. Nota Oficial a Secretaria de Defesa Agropecuária 07.12.2012, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, República Federativa do Brasil. – URL: <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2012/12/nota-oficial>.

4. Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide (excluding the United Kingdom), OIE, 31.01.2013. – URL: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-reported-cases-worldwide-excluding-the-united-kingdom/>.

5. Number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) reported in the United Kingdom. – URL: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-cases-in-the-united-kingdom/>.

6. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012, Ch. 2.4.6. Bovine spongiform encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.06\\_BSE.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.06_BSE.pdf).

7. OIE Terrestrial Animal Health Code 2012, Ch. 1.6. Procedures for self-declaration and for official recognition by the OIE, Article 1.6.3. Questionnaire on bovine spongiform encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre\\_1.1.6.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_1.1.6.htm).

8. OIE Terrestrial Animal Health Code 2012, Ch. 11.5, Bovine spongiform Encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre\\_1.11.5.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_1.11.5.htm).

9. Questionnaire for BSE-status recognition revised version – 23 January 2008, OIE. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/A\\_BSEquest.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/A_BSEquest.pdf).

10. Recognition of the Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Status of Member Countries. OIE Final Report, 80-th General Session, Paris, 20-25 May 2012. – P. 150-151. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About\\_us/docs/pdf/A\\_FR\\_2012\\_Public.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About_us/docs/pdf/A_FR_2012_Public.pdf).

11. Report on the monitoring and testing of ruminants for the presence of Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) in the EU in 2010. – URL: [http://ec.europa.eu/dgs/health\\_consumer/docs/tse\\_report\\_2010\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/docs/tse_report_2010_en.pdf).

12. Standard Operating Procedures for Official recognition of disease status and for the endorsement of official control programmes of Member Countries for FMD. OIE. – 2012. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/EN\\_Standard\\_Operating\\_Procedure\\_final\\_July\\_2012.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/EN_Standard_Operating_Procedure_final_July_2012.pdf).

13. Update on procedures for Members for the official recognition and maintenance of status of certain animal diseases and Update on the cost to be covered by Members applying for the official recognition... (Resolutions XXII and XXIII). OIE Final Report 76-th General Session, OIE, Paris, 25-30 May 2008. – P. 150-154. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About\\_us/docs/pdf/A\\_RF\\_2008\\_webpub.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About_us/docs/pdf/A_RF_2008_webpub.pdf).

# BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY STATUS OF THE CATTLE POPULATION IN RUSSIA, PROSPECTS OF ITS ASSESSMENT IN COMPLIANCE WITH OIE REQUIREMENTS

A.Ye. Metlin<sup>1</sup>, S.S. Rybakov<sup>2</sup>, A.A. Yegorov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: metlin@arriah.ru

<sup>2</sup> Expert in prion diseases and rabies, Doctor of Sciences (Biology), Professor, FGBI «ARRIAH», Vladimir

<sup>3</sup> Researcher, FGBI «ARRIAH», Vladimir

## ABSTRACT

The paper presents the characteristics of bovine spongiform encephalopathy; definition of the term «infectious disease risk status of the population»; actuality of expert assessment of the BSE status of the Russian cattle population; OIE standards for infectious disease risk status assessment of countries and zones; the paper also lists the major activities needed for the submission of a dossier containing data on taken measures to control bovine spongiform encephalopathy in Russia to the OIE Scientific Committee for Animal Diseases.

**Key words:** bovine spongiform encephalopathy; domestic cattle population status; OIE international standards.

## INTRODUCTION

At the present time the food safety and animal health problems associated with the international trade in animal products and farm animals have gained a much greater significance in comparison to the importance they had several decades before. Increase in number of risk factors associated with import of animals and products from countries or regions that can be very distant from each other and have significantly different epidemic situations resulted in several tasks set before veterinary services. To complete the tasks both conventional sanitary and quarantine measures and infectious disease prevention tools had to be improved. One of the most difficult diseases for veterinary control is bovine spongiform encephalopathy.

## CHARACTERISTICS OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is a neurodegenerative disease caused by pathogenic isoform

of prion protein affecting predominantly cattle as well as hollow-horned ruminants, felines, mustelids and to a lesser degree, non-human primates. BSE is a relatively new disease first registered in Great Britain in 1986. Animals get BSE infected due to ingestion of feeds containing meat and bone meal derived from ruminant tissues and contaminated with pathogenic isoform of prion protein.

BSE agent is dangerous for humans. When BSE agent is consumed by a human with products or drugs which were produced using BSE affected animal tissues, it's extremely unlikely that the human will get infected and a new variant of the disease will develop. This variant is called Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) which is fatal like other prion diseases. Up to the middle of 2012, 227 vCJD cases were registered in 12 countries of the world, 176 cases out of them were registered in Great Britain [2]. The major measure to protect humans from BSE infection is the removal and disposal of specified risk materials which may potentially contain the agent, i.e. predominantly nervous tissue, as well as diagnostic tests of brain tissues for BSE agent of both risk animals (emergently slaughtered or dead) and healthy animals subject to slaughter for meat production [1].

Average BSE incubation period is 4–7 years; within the incubation period the disease develops without any apparent clinical signs. The BSE peculiarity, which makes this disease different from scrapie, is the lack of reliable and time-effective antemortem laboratory tests as well as of vaccination tools and methods, because the agent is a structurally modified native protein.

Thermal treatment applied for cooking and meat and bone meal production, conventional tools and methods of medicine sterilization, such as sterilizing filtration and autoclaving as well as disinfectants containing

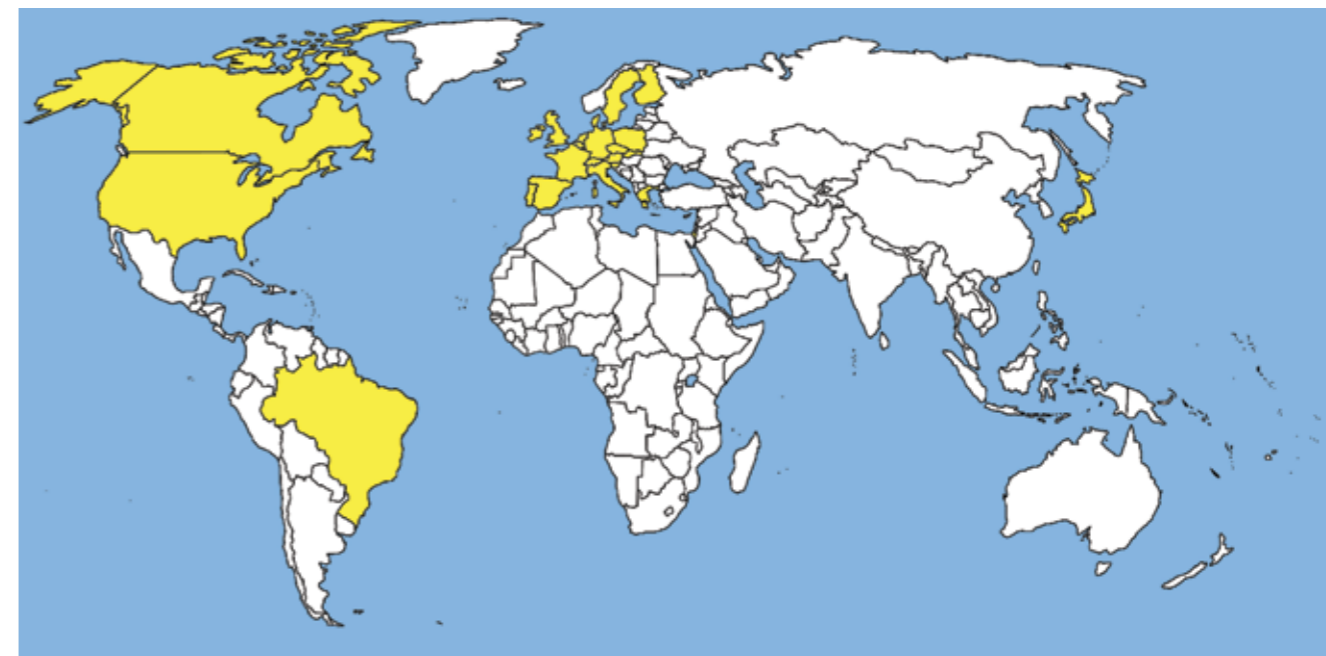


Fig. 1. BSE geographical spread in the world as for January 2013

detergents, acids and aldehydes do not provide complete inactivation of the disease agent.

As the main BSE risk factor is feeding animals with ruminant meat and bone meal (MBM) the basic disease prevention and control measure taken by veterinary services is the introduction of sanitary and quarantine restrictions eliminating the possibility of feed contamination not only with ruminant proteins but with mammal proteins as well.

It was necessary to take the following difficult-to-arrange and expensive measures to implement the MBM ban efficiently: to remove and dispose of cattle tissues, which may potentially contain the disease agent, to control feeds for contamination with animal tissues.

Based on the OIE published data the BSE case number thanks to taken anti-epizootic measures is steadily decreasing, but taking into account the long incubation period, only those countries may be considered BSE free where the disease has not been detected within at least 7 years during the epidemic monitoring in accordance with the OIE recommendations. Up to the present time BSE has been detected in 26 countries in domestic cattle and in 2 countries (Oman and the Falkland Islands) only in imported animals [4, 5]. BSE geographical spread as for January 2013 is shown in Figure 1.

In 2012 the first BSE case was registered in Brazil (atypical, non-epidemic variant, not affecting the BSE status of Brazilian cattle population) [3]; individual cases were registered in Ireland, Spain, Poland, United Kingdom, the USA (atypical BSE), France, Switzerland (atypical BSE in an imported animal) [4, 5].

Within the BSE monitoring in the Russian Federation up to 2013 more than 16,500 cattle brain samples were tested. More than 12,000 out of them were tested using Bio-Rad TeSeE diagnostic kits, recommended by the OIE to perform BSE screening laboratory tests. All tested samples were BSE negative. Thus probably thanks to restriction measures on import of animals, feeds and animal products from BSE affected countries imposed by the Veterinary Department of the RF Ministry of Agriculture and implemented by the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance the introduction of the disease in our country was prevented. But the number of tested samples doesn't suggest that this assumption is

true at the OIE recommended confidence [8], i.e. design prevalence of at least one case per 100,000 in the cattle over 24 months at a confidence level of 95 percent.

## ACTUALITY OF BSE STATUS ASSESSMENT OF THE CATTLE POPULATION IN RUSSIA

As countries or regions free from dangerous animal diseases have significant advantages in the international trade in animals or products measures aimed at epidemic freedom are economically important. Animal products are a renewable resource and international sales of this type of products make it possible to maintain high incomes in this production sector provided all necessary feed resources are available, as for example in the most countries of South America, in Australia and New Zealand. It should be noted that freedom from infectious diseases is important not only for animal product trade but for other economic activities as well. Presence of dangerous animal diseases in any zone requires introduction of additional measures aimed at safety control of veterinary and medical preparations manufactured in the zone.

Epidemic situation control regulations have effect regardless of the exporting and importing countries' membership in certain international organizations governing trade rules, for example the WTO. The WTO international trade regulations are aimed at overcoming of economic and predominantly tariff barriers. Methods of solution of international animal product trade problems associated with safety are based on the OIE animal health standards pursuant to targets and tasks of the WTO Committee on Sanitary and Phytosanitary Measures.

Standards for status determination of a country, zone or compartment with negligible or controlled risk of dangerous infectious animal diseases have been elaborated by the OIE during the last two decades.

The OIE Scientific Committee for Animal Diseases elaborated and published the list of data necessary for recognition of BSE status in January, 2008 [9]. The last revision of the document is presented in Article 1.6.3. «Questionnaire on bovine spongiform encephalopathy», Chapter 1.6. «Procedures for self declaration and for

official recognition by the OIE» of the Terrestrial Animal Health Code, 2012 [7].

The single possible option of BSE status assessment is the official recognition by the OIE in accordance with Article 1.6.1. «General principles», Chapter 1.6 of the Terrestrial Code [7]. Such assessment regulation for countries or zones is effective for the following four diseases: FMD, BSE, African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia. For other OIE declared diseases the Scientific Committee doesn't assess the official status and veterinary bodies of any country are authorized to conduct a self-assessment in accordance with the requirements stated in the corresponding chapters of the latest revised OIE Terrestrial Animal Health Code [7]. When requesting official recognition of BSE status, the Veterinary Services of a country should submit to the OIE Scientific Committee for Animal Diseases a dossier providing the information requested (as appropriate) in Article 1.6.3. of the Terrestrial Code. The OIE framework for the official recognition and maintenance of status for abovementioned four diseases (including BSE) is described in Resolution N° XXII (administrative procedures) and Resolution N° XXIII (financial obligations) adopted during the 76th General Session in May 2008 [13]. Criteria of compliance of domestic cattle population with the requirements for the status of controlled risk of transmitting the BSE agent are outlined in the OIE Terrestrial Animal Health Code 2012, Chapter 11.5, Article 11.5.4. [8].

Taking into account the fact that after BSE epidemic in 1986 millions of tons of feeds and more than a million of cattle were imported into the Russian Federation from BSE affected countries and import of the abovementioned commodities is considered by the OIE as a significant risk factor for domestic cattle population. Within next several years the status of cattle population in the Russian Federation may be recognized as BSE controlled risk in the best-case scenario.

### ASSESSMENT CRITERIA OF BSE STATUS OF CATTLE POPULATION IN THE RUSSIAN FEDERATION

1. To recognize Russia as a country with BSE controlled risk cattle population should comply with the following requirements:

**Table 1. Points targets for different adult cattle population sizes in a country, zone or compartment which should be selected based on BSE diagnostic testing results to comply with criteria: design prevalence of at least one case per 100,000 in the adult cattle population at a confidence level of 95 percent**

Points targets for country, zone or compartment		
Adult cattle population size (24 months and older)	Type A surveillance	Type B surveillance
> 1 000 000	300 000	150 000
800 000 – 1 000 000	240 000	120 000
600 000 – 800 000	180 000	90 000
400 000 – 600 000	120 000	60 000
200 000 – 400 000	60 000	30 000
100 000 – 200 000	30 000	15 000
50 000 – 100 000	15 000	7 500
25 000 – 50 000	7 500	3 750

1.1. Risk assessment was conducted in compliance with point 1, Article 11.5.2. (Terrestrial Animal Health Code [8]) to identify all potential factors for BSE occurrence and their historic perspective and demonstrated that all appropriate measures have been taken to manage all identified BSE risks, but those measures have not been taken for the relevant period of time (7 – 8 years for the majority of measures).

1.2. Country (zone, compartment) may demonstrate that BSE surveillance was conducted in accordance with Articles 11.5.20 – 11.5.22 and appropriate number of cattle brain samples was tested in accordance with Article 11.5.22 «Surveillance activities» Point 3, Table 1 «Points targets for different adult cattle population sizes in a country, zone or compartment», Column «Type A Surveillance».

Cattle population may be divided into four subpopulations based on BSE risk; cattle displaying clinical signs consistent with BSE are at maximum risk. Laboratory testing of samples from such animals is the most important one and has the maximum number of points. The second subpopulation includes emergency slaughtered animals; the third subpopulation covers fallen animals and the fourth one includes clinically healthy animals in which BSE may be detected using laboratory methods within 6 months before clinical signs appear. Conversion of tested sample number in several age groups into point values is shown in Table 2.

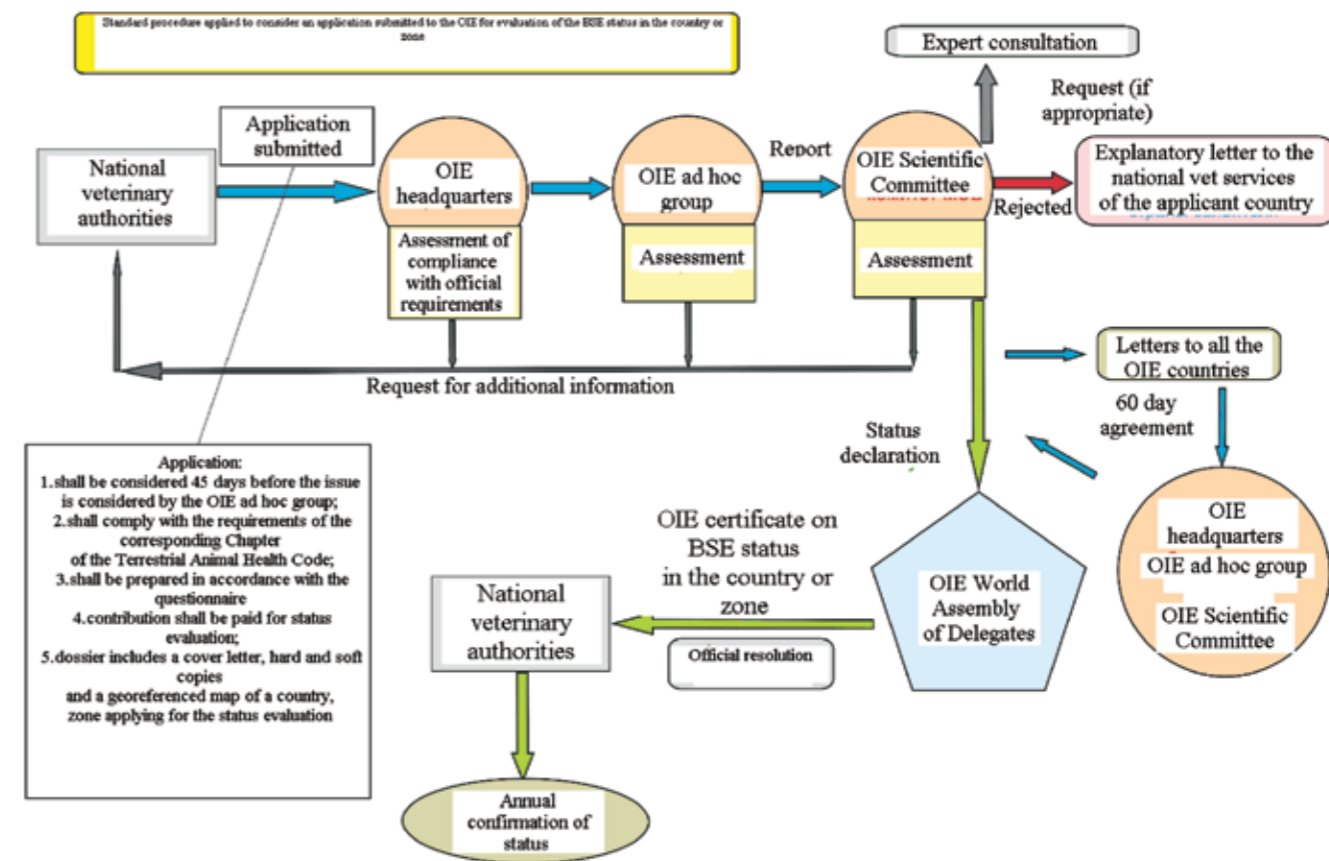
Thus number of samples subject to testing depends on the sampled population. Due to this fact sampling should be oriented to the animal category that gives the highest point value when tested. The likelihood of finding animals with BSE clinical signs and collecting samples equal to hundreds of points is very low. In 2010 no animals with BSE clinical signs were registered in France (adult cattle population is 10.5 million animals, more than in Russia), 3 BSE clinical cases, which were not laboratory confirmed, were registered in Germany (adult cattle population – 5.8 million animals).

Experience in BSE monitoring programme implementation in Russia in 2011–2012 shows that one sample collected predominantly from emergency slaughtered cattle stands for 1.07±0.11 points in average; that's why the target number of points for Russia should be 300,000 samples collected during 7 consecutive years. In the Russian Federation adult cattle population is a little bit less than 9 million animals, that's why during 7 years it is necessary to test 300,000 samples or 43 thousand samples a year, or 0.48% of population.

The number of samples indicated in column «Type B Surveillance» of Table 1 can be tested in the country as soon as the target number of samples indicated in column «Type A Surveillance» is tested.

2. In addition to it:

2.1. No BSE cases were detected or even if there were such cases, it was possible to prove that the disease was detected in an imported animal and the animal was completely destroyed; criteria specified in items 2-4 of Article 11.5.2 are complied with (item 2 – a training programme is implemented for veterinarians, farmers and other specialists involved in cattle transportation, trade and slaughter. The programme is aimed at informing about cases with BSE clinical signs; item 3 – mandatory notification and investigation of all the detected BSE clinical cases; item 4 – laboratory diagnosis of BSE in brain samples taken within the surveillance and monitoring programmes) and it can be demonstrated that the required control and audit are ensured including feed control for cross contamination, compliance with



**Fig. 2. Procedure applied to consider an application submitted by the national veterinary services to the OIE for evaluation of BSE status, FMD status and status on African horse sickness and bovine contagious pleuropneumonia in the country or zone [12]**

the ban on feeding meat and bone meal and ruminant tissue protein blocks to ruminants and at least one of the following conditions is fulfilled:

2.1.1. criteria listed in items 2-4 of Article 11.5.2 have not been complied with for 7 years;

2.1.2. it is impossible to prove that the ban on feeding MBM and greaves of ruminant origin to ruminants has been controlled for 8 years.

Or:

2.2. BSE cases were detected in local cattle; criteria listed in items 2-4 of Article 11.5.2 are complied with and it can be demonstrated that the corresponding control and audit are ensured including feed control for cross contamination; the ban on feeding meat and bone meal and greaves of ruminant origin to ruminants is also complied with; all the BSE-affected animals, as well as the other animals:

i. that were fed during the first year of life on a livestock farm with a BSE-positive animal detected at the first year of his life and if during this period they had the same feed potentially contaminated with BSE;

ii. if food chain investigation results are not convincing then the animals born 12 months before and 12 months after the BSE positive animal was born in the same herd;

iii. if the abovementioned animals were born in the country, zone or compartment they were all identified within the full-time identification system, their movements were controlled and the animals were completely destroyed after slaughter or killing.

### SUMMARY OF THE "OIE QUESTIONNAIRE FOR BSE"

The "OIE questionnaire for BSE" (9) was issued in 2008. The purpose of the questionnaire is to provide veterinary services of the OIE member countries with a standard list of BSE control measures implemented in previous years. They shall be documented and sent to the OIE for an

expert evaluation of the country's BSE status. These are the most important conditions and data:

1. An application to determine the BSE status in a country, zone or compartment can be submitted to the OIE only by the veterinary services of the applicant country (on behalf of the Russian Federation – the Rosselkhozadzor).

**Table 2. Surveillance point values for samples collected from animals in the given subpopulation and age category**

Surveillance subpopulation			
Routine slaughter	Fallen stock	Emergency slaughter	Clinical suspect
Age > 1 year and <2 years			
0,01	0,2	0,4	Equated to emergency slaughtered or fallen in this age group
Age > 2 year and <4 years (young adult)			
0,1	0,2	0,4	260
Age > 4 year and <7 years (middle adult)			
0,2	0,9	1,6	750
Age > 7 year and <9 years (older adult)			
0,1	0,4	0,7	220
Age > 9 year and <2 years (aged)			
0,0	0,1	0,2	45



3A, 2006 r.



3B, 2012 r.

2. Laboratories carrying out diagnostic tests for BSE shall comply with the criteria indicated in Article 1.1.3 of "the OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals" [6].

3. Criteria applied by the OIE Scientific Committee for Animal Diseases to evaluate BSE status of cattle population are given in Article 11.5.2. of the OIE Terrestrial Animal Health Code of 2012 [8].

4. The criteria include:

4.1. Risk assessment determined on the basis of:

4.1.1. absence/presence of the BSE agent in the cattle population and its prevalence;

4.1.2. meat and bone meal availability and production volumes of MBM and protein feed blocks from ruminant biomaterials;

4.1.3. import of MBM and protein feed blocks;

4.1.4. import of cattle, sheep and goats;

4.1.5. import of feeds and feed components for animals;

4.1.6. import of products from ruminants for human consumption and containing tissues listed in Article 11.5.14 (BSE specified risk materials) that can be used to feed the cattle;

4.1.7. import of products from ruminants that can be applied in vivo (for example, cultural vaccines produced with bovine sera);

4.2. If there are any risk factors associated with BSE introduction it is necessary to evaluate the impact which is determined on the basis of the following factors:

4.2.1. circulation and amplification of BSE agent in cattle population due to MBM and protein blocks from ruminants or contaminated feeds;

4.2.2. ways of using bovine carcasses (including the dead animals), offals, slaughterhouse wastes, processing parameters and ways of animal feed production;

4.2.3. feeding MBM and protein blocks of ruminant origin to ruminants or use of feeds contaminated during production process with the abovementioned components;

4.2.4. measures implemented earlier to ensure surveillance of BSE and results of this surveillance.

4.3. Training courses for veterinarians, animal handlers and other specialists dealing directly with cattle. The aim of the programme is to notify veterinary services of BSE clinical signs detection in these animals.

4.4. Mandatory notification and investigation of all the detected BSE cases with clinical signs.

4.5. BSE diagnosis in accordance with the methods recommended by "the OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals" [6].

Therefore, so that Russia could be declared a controlled BSE risk country, it is necessary to collect and submit to

the OIE the following documents prepared in accordance with the "OIE BSE questionnaire" rules [9] and covering information on:

– number of BSE diagnostic tests and their results;

– production and application of MBM and protein blocks from ruminant tissues (in tones, production specifications, efficient control of application, scope of application/ ruminant feed ban; allowed for technical use and as feed for fur animals, shall be controlled if used as poultry and swine feeds);

– import of feeds to the Russian Federation;

– cattle import to the Russian Federation;

– implementation of the bans on feeding ruminant proteins to ruminants imposed in Russia in the 90s on the basis of laboratory tests of feeds for ruminant protein and genome;

– application of dead animals and slaughter wastes (percentage, purposes, technical characteristics);

– risk assessment of ruminant protein introduction into ruminant feeds (based on feed laboratory tests);

– assessment of BSE surveillance effectiveness ensured in previous years;

– description of the training programme for veterinarians and animal handlers (to provide mandatory notification in case BSE clinical signs are detected in animals);

– description of BSE diagnostic methods and their results.

An application submitted by the national veterinary services to the OIE for evaluation of the BSE status in the country or zone is considered in the way depicted in Figure 2 and published in [12]. The procedure is applied to evaluate FMD status, BSE status, status on African horse sickness and contagious bovine pleuropneumonia.

Some important measures are being implemented now.

A training course has been developed for specialists engaged in BSE surveillance and diagnosis and daily courses are held in the FGBI "ARRIAH" and in the FGBI "CNMVL". In 2011 and 2012 participants of the BSE monitoring programme received all the necessary instructions covering bovine groups that shall go through diagnostic tests and rules on brain sampling and transportation of brain samples.



3C, EUROPE, 2012 r.

Table 3. BSE risk status of the cattle population and its most important characteristics

Nº	BSE risk status	Characteristics
1	Undetermined BSE risk	BSE control measures do not completely comply with Articles 11.5.3. and 11.5.4. of the OIE Code [6-8]. The situation is typical of countries importing meat and meat products (primarily these are less and least developed countries). BSE risk is unknown, BSE control measures are not fully taken and/or BSE risk factors control is not documented in appropriate way. If the dossier does not include answers to all the questions required to assess BSE status, the OIE Scientific Committee for Animal Diseases rejects the dossier and sends an explanatory letter to the applicant country to correct the situation.
2	Controlled BSE risk	BSE control measures comply with Article 11.5.4 of the OIE Code. There is BSE risk, however, national veterinary services take scientifically justified measures to prevent BSE agent recirculation. Probability of BSE emergence decreases over time. Minimum restrictions are imposed on export of animal products, however, use of bovine raw materials to produce veterinary preparations is not considered as safe enough.
3	Negligible BSE risk	BSE control measures comply with Article 11.5.4 of the OIE Code. BSE risk has been assessed and recognized negligible, national veterinary services have taken scientifically justified measures for 7-8 years to prevent BSE agent introduction and recirculation. No restrictions are imposed on export of animal products and production of veterinary preparations and medicines due to BSE.

Fig. 3. Negligible BSE risk countries are printed in green, controlled BSE risk countries are printed in yellow

BSE risk status of the cattle population and its characteristics are given in Table 3.

The OIE has assessed BSE risk status of countries since 2004. Figure 3A depicts countries with the BSE status assessed in 2006: free from BSE (in green): Australia, Argentina, New Zealand and Uruguay; potentially free (in yellow): Chile, Iceland, Paraguay and Singapore.

In 2012 number of negligible BSE risk countries increased up to 19 and number of BSE controlled risk countries increased up to 30 (Fig. 3B and 3C) [10].

BSE risk status has been assessed in most large meat exporters such as Argentina, Brazil, Uruguay, Paraguay,

Australia, New Zealand and developed EU-countries as Norway, Iceland, Switzerland, the USA, Canada and Japan. Post-Soviet countries (excluding those that joined the European Union in 2004 (Latvia, Lithuania, Estonia) of Eastern and South-Eastern Asia, the Balkans (excluding Greece), Middle East countries and Africa have undetermined BSE status.

### CONCLUSION

Thus, in order to get a controlled BSE risk status national veterinary services shall demonstrate that they possess organizational, legal and material resources to take scientifically justified measures aimed at protection of cattle populations from the disease agent recirculation. They shall demonstrate an ability to provide epizootological monitoring and ensure safety of cattle feeds and demonstrate that reliable and statistically valid methods are used to carry out laboratory tests. It is necessary to demonstrate that the information used as basis by the national veterinary services for decision making is objective and organizations pursuing their own economic interests do not affect application of veterinary standards. The BSE risk status of cattle population in the Russian Federation is undetermined now and such a situation has a negative impact on international trade in animal products and production of biological preparations.

### REFERENCES

1. Rybakov S.S. Bovine Spongiform Encephalopathy. – Vladimir, 2007. – 588 p.
2. EUROCJD Surveillance Data. vCJD cases Worldwide at 28 June 2012. – URL: <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/surveillance%20data%204.htm>.
3. Nota Oficial a Secretaria de Defesa Agropecuária 07.12.2012, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, República Federativa do Brasil. – URL: <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2012/12/nota-oficial>.
4. Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide (excluding the United Kingdom), OIE, 31.01.2013. – URL: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-reported-cases-worldwide-excluding-the-united-kingdom/>.

5. Number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) reported in the United Kingdom. – URL: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-cases-in-the-united-kingdom/>.

6. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012, Ch. 2.4.6. Bovine spongiform encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.06\\_BSE.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.06_BSE.pdf).

7. OIE Terrestrial Animal Health Code 2012, Ch. 1.6. Procedures for self-declaration and for official recognition by the OIE, Article 1.6.3. Questionnaire on bovine spongiform encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre\\_1.1.6.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre_1.1.6.htm).

8. OIE Terrestrial Animal Health Code 2012, Ch. 11.5, Bovine spongiform Encephalopathy. – URL: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre\\_1.11.5.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre_1.11.5.htm).

9. Questionnaire for BSE-status recognition revised version – 23 January 2008, OIE. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/A\\_BSEquest.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/A_BSEquest.pdf).

10. Recognition of the Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Status of Member Countries. OIE Final Report, 80-th General Session, Paris, 20-25 May 2012. – P. 150-151. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About\\_us/docs/pdf/A\\_FR\\_2012\\_Public.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About_us/docs/pdf/A_FR_2012_Public.pdf).

11. Report on the monitoring and testing of ruminants for the presence of Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) in the EU in 2010. – URL: [http://ec.europa.eu/dgs/health\\_consumer/docs/tse\\_report\\_2010\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/docs/tse_report_2010_en.pdf).

12. Standard Operating Procedures for Official recognition of disease status and for the endorsement of official control programmes of Member Countries for FMD. OIE. – 2012. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/EN\\_Standard\\_Operating\\_Procedure\\_final\\_July\\_2012.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/EN_Standard_Operating_Procedure_final_July_2012.pdf).

13. Update on procedures for Members for the official recognition and maintenance of status of certain animal diseases and Update on the cost to be covered by Members applying for the official recognition... (Resolutions XXII and XXIII). OIE Final Report 76-th General Session, OIE, Paris, 25-30 May 2008. – P. 150-154. – URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About\\_us/docs/pdf/A\\_RF\\_2008\\_webpub.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/About_us/docs/pdf/A_RF_2008_webpub.pdf).

# СИМОНУ ИВАНОВИЧУ ДЖУПИНЕ - 85 ЛЕТ

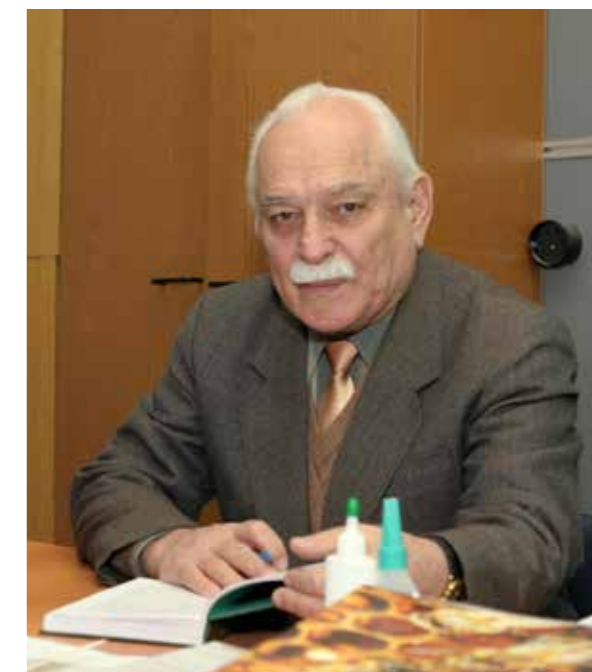
Макаров В.В.

Российский университет дружбы народов, г. Москва

После окончания Киевского ветеринарного института С.И. Джупина работал в сфере сельскохозяйственного производства в центре Сибири – Барабинском районе Новосибирской области, исключительно насыщенном в историко-социальном отношении и самобытном крае. С 1953 по 1969 гг. здесь и в областном центре он занимал значительные посты на профессиональном поприще, на советской работе, вплоть до руководителя областной ветеринарной службы. Все это время Симон Иванович, ввиду своей профессиональной активности, творческой инициативы, успешно работал и исследовал в практических условиях инфекционные болезни животных так называемой распространенной категории, в которых тогда в стране, к сожалению, не было недостатка. Тот период отмечен высокой степенью неблагополучия по ящуру, сибирской язве, туберкулезу, бруцеллезу, классической чуме свиней и другим эпизоотическим инфекциям. Это сейчас легко рассуждать, когда благодаря титаническим усилиям таких, как он, подвижников полностью взяты под контроль, переведены в разряд управляемых большинство эпизоотических болезней!

В Новосибирске С.И. Джупина написал и защитил кандидатскую диссертацию и начал работать над серьезными теоретическими обобщениями в области общей эпизоотологии. Там существовала и активно работала НИВС под руководством замечательного человека и ученого, впоследствии академика ВАСХНИЛ Александра Алексеевича Свиридова, дружба и сотрудничество с которым, вся научная и профессиональная атмосфера тех лет были весьма кстати для Симона Ивановича. В 1969 году он был приглашен А.Д. Третьяковым (тогдашним руководителем ветеринарной службы страны) на заведование специально созданной в ВИЭВ лаборатории эпизоотологии, где собрался коллектив специалистов именно в области эпизоотологии как таковой (а не распространившихся повсеместно спесов по «вакцинкам», «препаратам» и проч.). Здесь С.И. Джупина окончательно сформулировал свою доктрину по классическим (эпизоотическим) и факторным инфекциям, положенную в основу его докторской диссертации. В результате этих работ стали формироваться научно обоснованные представления о том, что вакцинация – далеко не безальтернативная панацея в эпизоотологии. Существует большая группа инфекционных болезней, при которых вакцинация не нужна и даже опасна, что по тому времени в отечественной ветеринарии могло показаться довольно еретичным.

С 1979 года С.И. Джупина вновь в Новосибирске, теперь уже директором нового Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, созданного в рамках Сибирского отделения ВАСХНИЛ. За 17 лет его руководства Институт превратился в крупный центр ветеринарной науки в крае и стра-



не, известный за рубежом, с большим штатом квалифицированных ученых, оснащенный современным оборудованием, с громадной инфраструктурой научных, практических, общественных отношений и связей, добившийся значительных достижений в науке и практике защиты животных. Об этом много написано и практически все известно. Следует только отметить, что в Институте под руководством С.И. Джупины выросла целая плеяда крупных ученых, в числе которых руководители научных коллективов профессора С.И. Прудников, А.А. Колосов, А.А. Самоловов, Н.А. Шкиль, С.К. Димов и многие другие. Стратегически важно, что в развитие своей доктрины Симон Иванович исповедовал естественно-научное современное мировоззрение, видя в основе решения всех практических проблем общеэпизоотологические подходы. Поэтому в период его руководства Институт остался чуть ли не единственным в стране, который не «свихнулся» на поделки вакцин и проч. (см. выше) в погоне за сиюминутной выгодой и удовлетворением административного нетерпения, а концентрировал внимание на фундаментальных разработках противоэпизоотических и профилактических принципов и мероприятий на основе познания эпизоотического процесса в общем и частном. И во многом преуспел: в этом плане были досконально исследованы основные инфекции, созданы и практически реализованы рекомендации по борьбе с важнейшими из них, достигнуто благополучие многих хозяйств и крупных территорий на альтернативных принципах (туберкулез, бруцеллез, лейкоз КРС, листериоз, пастереллез, КЧС и др.).

Но, рано или поздно, директорский пост нужно было оставлять, разумеется, по возрасту. Семья Симона Ивановича между тем жила в Москве. Собственно, это были уже три семьи трех дочерей. Поэтому после выхода в отставку он, естественно, к ним и вернулся. К тому времени мы практически не были знакомы лично, хотя, разумеется, по работам и научной деятельности вообще я знал его куда как хорошо. При случайной встрече где-то в конце 1997 года в ВИЭВе мне показалось, что у него не все складывается с работой, все-таки почти семьдесят, а при его натуре без работы существование немислимо, это знают все. На кафедре ветеринарной патологии Российского университета дружбы народов, куда я тогда перешел из ВНИИВВиМ, к тому времени быстро росли учебные нагрузки, и не было ничего лучшего, как пригласить его в Университет. Симон Иванович был избран по конкурсу профессором кафедры, переизбирался и работал на постоянной основе, не по каким-то там срочным договорам на год-два, несмотря на жесткий курс на повсеместное омоложение.

И что же он успел сделать за пятнадцать лет на совершенно новом поприще?

В отношении учебного процесса это изначально полностью сформированные, обеспеченные в учебно-методическом отношении на самом современном уровне знаний четыре учебных курса – крупные элементы дисциплины эпизоотология и инфекционные болезни, такие как частная эпизоотология, т.е. специальные мероприятия по противоэпизоотической и профилактической практике (объемом в один семестр), инфекционные болезни животных (два семестра) и преподаваемая у нас в университете самостоятельно ветеринарная санитария (семестр), а также организация и экономика ветеринарного дела (семестр). Симон Иванович проводил главным образом практические, выездные, экскурсионные и т.п. занятия, вел свои разделы учебной и производственной практик. Им написаны учебные пособия, в т.ч. объемные, подготовлены и используются многочисленные методические разработки. В отношениях со студентами профессор Джупина С.И. – настоящий наставник, доброжелательный, грамотный педагог, передающий им бесценные знания, навыки, профессиональный и жизненный опыт.

В РУДН С.И. Джупина выполнил много серьезных научных работ. Под его научным руководством российскими и иностранными аспирантами защищены шесть кандидатских диссертаций. Последнее особенно ценно, т.к. выполнены интересные в научном плане и практически значимые исследования по болезням Спика А МЭБ – блютангу, контагиозной плевропневмонии, ньюкаслской болезни в интересах экзотиче-

ских стран традиционного приема учащихся в Университет дружбы народов. Количество его научных публикаций не поддается учету, но о монографиях следует сказать особо. Темы их исключительно интересны и злободневны: «Классическая чума свиней» (2001), «Эпизоотический процесс при факторных инфекциях» (2002), «Теория эпизоотического процесса» (2004), «Уроки эпизоотологических исследований» (2004) и другие. Последнее из написанного – «Кризис ветеринарии», где он нелицеприятно и беспристрастно анализирует состояние и «перспективы» отечественной ветеринарной науки и практики. Начиная с 2001 года, по его инициативе и при самом горячем участии коллектив специалистов провел фундаментальное изучение эволюционной экологии рабической инфекции в центре России, выполнен проект ФЦП «Интеграция» Минобрнауки РФ. Особое внимание им совместно с сотрудниками кафедры уделялось развитию современной концепции факторной природы основной патологии продуктивных животных.

За период своей плодотворной работы доктор ветеринарных наук, профессор С.И. Джупина имеет достаточно наград Родины, он – кавалер ордена Знак Почета, имеет много других поощрений, Заслуженный ветеринарный врач России. За последнее время неоднократно получал благодарности и грамоты руководства Университета и Минобрнауки.

Прожита громадная жизнь, сделано великое множество дел. Они неразрывно связаны с исключительно интересными периодами в жизни народа и страны. Имеются в виду не пресловутые перестройки и выживание последних лет, а целые эпохи в нашей замечательной истории, такие как послевоенное возрождение, подъем народного хозяйства, индустриализация животноводства, расцвет советской ветеринарии в 70–80-е гг. С.И. Джупина прошел самую серьезную жизненную школу, начав работу в простой сельской среде, в условиях, как это воспроизведено в известном фильме «Председатель», встречался и работал с людьми типа Егора Трубникова.

Сейчас, будучи два года, как говорили раньше, за штатом по состоянию здоровья, Симон Иванович продолжает активно сотрудничать с кафедрой – мы в постоянном контакте. Он занимается с аспирантом, регулярно публикуется, как член диссертационного совета не пропускает ни одного заседания.

У С.И. Джупины есть вебсайт (dzhupina.narod.ru), на котором можно подробно ознакомиться с его трудами и автобиографией. Заходите, читайте, общайтесь, задавайте вопросы. Такими знаниями и опытом грех не пользоваться и молодым специалистам, и практикам, и коллегам по образованию и науке. Учитывая его характер, он будет только рад.

## ЗДЕСЬ МОЖЕТ БЫТЬ ВАША СТАТЬЯ!

### Журнал «Ветеринария сегодня» приглашает авторов для публикации своих научных работ

Редакция «Ветеринария сегодня» рассмотрит возможность для публикации Ваших научных статей на страницах журнала. Наша миссия – представление основных направлений развития ветеринарной науки, привлечение внимания мировых научных сообществ к актуальным проблемам и инновационным разработкам в области ветеринарии, формирование и развитие единого мирового научного знания.

Мы публикуем статьи как выдающихся деятелей науки, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и для новых научных дискуссий.

Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» («ВНИИЗЖ»). Статьи публикуются на двух языках: русском и английском. Тематическое содержание журнала меняется в зависимости от текущих задач науки и практики. Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.

#### ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА



Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.



Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области.



Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

#### ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках: русском и английском, содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 10-12-ти страниц – но не менее 5-ти (при одинарном интервале и размере шрифта 12). Оптимальный объем статьи: до 20 тыс. знаков (включая пробелы). В случае, если у вас нет возможности перевести статью самостоятельно, редакция в индивидуальном порядке готова помочь решить эту проблему.

\*Предоставление в редакцию рукописи статей является подтверждением согласия автора на использование его произведения, как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник.

#### СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ\*

1. УДК;
2. Название статьи;
3. Имя, отчество, фамилия автора;
4. Место работы автора, должность, ученая степень, адрес электронной почты;
5. Резюме (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): около 7–8 строк (300-500 знаков с пробелами);
6. Ключевые слова (5-6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи;
7. Введение;
8. Материалы и методы;
9. Результаты и обсуждения;
10. Выводы и заключение;
11. Список литературы (т.е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): Правила составления ГОСТ Р 7.05-2008. Не более 5-7 источников;
12. Иллюстрированные материалы (фото, картинки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек

на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно);

13. Рецензия на статью (доктор наук) и решение экспертной комиссии/руководителя, заверенные круглой печатью учреждения.

\*В таком же порядке и с такой же структурой предоставляется англоязычный перевод статьи.

Работа должна быть предоставлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – одинарный, размер полей по 2 см, отступ в начале абзаца 1 см, форматирование по ширине.

Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и «вмещаться» в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.

#### УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

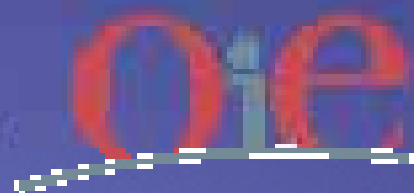
С 1 сентября 2012 года открыта подписка на журнал «Ветеринария сегодня» в каталоге «Газеты. Журналы» ОАО Агентство «Роспечать» на первое полугодие 2013 года. Подписной индекс издания 70460, стоимость подписки на полугодие (два номера журнала) 1520 руб. 00 коп. Подписаться на журнал можно в любом отделении «Почты России».

**БОЛЕЕ ПОДРОБНЫЕ УСЛОВИЯ О ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ:**

**Адрес:** 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец  
**телефон:** +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88  
**Контактное лицо:** Борисова Ольга Анатольевна (тел. добавочный 22-27)  
 Иголкин Алексей Сергеевич (тел. добавочный 20-20)

# ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



Ведущий центр разработчиков и производителей ветеринарных препаратов для профилактики и диагностики болезней птиц, свиней и рогатого скота (производится около 100 наименований вакцин и около 50 наименований диагностических наборов).

- Референтная лаборатория по бешенству в РФ
- Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ
- Испытательный центр



## Международные статусы ФГБУ «ВНИИЗЖ»

- Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья
- Региональная референтная лаборатория МЭБ по птице

Россия, 600091, г. Владимир, пер. Юрьевский

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Тел./факс: (4922) 26-38-77, 26-15-25. Тел.: (4922) 26-06-14, 26-15-12

e-mail: mail@vniizh.ru; <http://www.vniizh.ru>