

На правах рукописи

Новикова Оксана Борисовна

РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ПРОФИЛАКТИКИ
И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПТИЦ

06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в отделе микробиологии Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства (ВНИВИП) – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ВНИВИП – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН).

Научный консультант: **Джавадов Эдуард Джавадович,**
доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН.

Официальные оппоненты: **Ленченко Екатерина Михайловна,**
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», профессор кафедры «Ветеринарная медицина»;
Мусиев Джабраил Габибулаевич,
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет им. М.М.Джамбулатова», заведующий кафедрой эпизоотологии;
Плешакова Валентина Ивановна,
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А.Столыпина», заведующая кафедрой ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН).

Защита диссертации состоится «__» _____ 2021 г., в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5, тел./факс: (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5 и на официальном сайте: <https://spbguvn.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Птицеводство – важнейшая составляющая сельского хозяйства, наиболее динамичная и наукоемкая отрасль агропромышленного комплекса (АПК), которая обеспечивает население широким ассортиментом диетических продуктов питания. В решении проблемы продовольственной безопасности мира и России роль птицеводства особенно велика, ибо оно производит два полноценных сбалансированных протеиновых продукта – яйцо и мясо птицы. Птицеводство обеспечивает наиболее динамичный прирост белка животного происхождения благодаря росту поголовья птицы, более высокому выходу продукции с единицы площади, лучшей конверсии корма, быстрой окупаемости вложенных инвестиций (Фисинин В.И., 2019). В настоящее время российское птицеводство является лидером на рынке животноводческой продукции (Бобылева Г.А., Гуцин В.В., 2020).

В последние годы промышленное птицеводство значительно изменилось за счет использования высокопродуктивных кроссов птицы, генетический потенциал которых проявляется лишь при оптимальных технологических, зооветеринарных условиях содержания и кормления. При неполном или некачественном их соблюдении снижается резистентность и изменяется микробиоценоз организма, создаются предпосылки для активизации условно-патогенной микрофлоры, что может привести к развитию инфекционного процесса в виде острого сепсиса или респираторного синдрома, к повышенному падежу. Поэтому существенным звеном в оптимизации экономических показателей является создание стабильной эпизоотической ситуации в отношении инфекционных, в частности, бактериальных болезней, занимающих в общей структуре инфекций птиц более 70% (Борисенкова А.Н., 2007; Уваров И.И., 2009; Андрианова Е.Н. с соавт., 2017; Рождественская Т.Н., 2019). Согласно анализу ветеринарной отчетности ФГБУ «Центр ветеринарии» в Российской Федерации (РФ) наибольшую часть в структуре неблагополучия и заболеваемости также занимают бактериальные болезни (Спиридонова А.Н. с соавт., 2015).

Бактериальные болезни птиц следует рассматривать не только как проблему ветеринарную, но и как медико-эпидемиологическую, так как птицы могут быть носителями в кишечнике патогенных для людей микроорганизмов. При нарушении санитарных правил получения птицеводческой продукции происходит контаминация ее, что может в конечном итоге привести к заболеванию людей. Часто приходится сталкиваться с загрязнением продукции бактериями группы кишечной палочки и общей микробной загрязненностью. По-прежнему отмечается высокий уровень загрязнения мяса птицы сальмонеллами. Сегодня заболеваемость людей сальмонеллезом представляет серьезную проблему во многих странах мира (Борисенкова А.Н., 2007; Яковлев С.С. с соавт., 2015; Фисинин В.И., 2019). В этиологической структуре сальмонеллезов птиц наиболее значимыми являются: *S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*, *S.Gallinarum*, *S.Infantis* (Виткова О.Н., 2016; Ленченко Е.М. с соавт., 2017; Мусиев Д.Г. с соавт., 2020). Наиболее распространенными серотипами сальмонеллы в Европе также являются *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium* (Давлеев А.В., 2020).

Еще одной актуальной проблемой в настоящее время является анаэробная энтеротоксемия птиц, ставшая особенно острой в связи с повсеместной тенденцией к отказу от использования в промышленном птицеводстве стимулирующих рост антибиотиков и противоккокцидных препаратов (а также заменой их на вакцины против кокцидиоза), дававших возможность некоторого контроля клостридиозов. Анаэробная энтеротоксемия (АЭ, некротический энтерит, НЭ) птиц – острая анаэробная инфекция, вызываемая *Clostridium perfringens* (*Cl.perfringens*), характеризующаяся диффузными фибринозно-

некротическими поражениями слизистой оболочки тонкого отдела кишечника, приводящих к серьезной потере продуктивности вследствие влияния токсинов микроорганизма на организм птиц, повышенной смертности, а также риску заражения продуктов птицеводства, которые идут в питание человеку. Для людей серьезную опасность представляют энтеротоксигенные штаммы. По данным ряда зарубежных авторов, клостридии занимают третье место (после сальмонелл и кампилобактерий) среди причин острых кишечных пищевых токсикоинфекций человека во всем мире (Immerseel F. et al., 2004; Williams R.B., 2005; Wilson J. et al., 2005; Sawires Y.S., Songer J.G., 2006; Hafez M., 2011).

Одна из основных задач птицеводческой промышленности – производство высококачественной и безопасной пищевой продукции (Толстых Н.А. с соавт., 2016). Одним из методов контроля бактериальных болезней птиц является использование антибактериальных препаратов. Однако широкое применение антибиотиков, особенно бессистемное с нарушением схем и доз, не только неэффективно, но и наносит существенный ущерб за счет развития антибиотикорезистентности. В настоящее время проблема возрастающей резистентности микроорганизмов к антибиотикам, имеющая важное социальное и экономическое значение, является одной из наиболее актуальных как в ветеринарии, так и в медицине. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам – один из глобальных вызовов современному человечеству (Панин А.Н. с соавт., 2017; Козлов Р.С., Голуб А.В., 2019; Limburn R., 2019; Лаптев Г.Ю., Тюрина Д.Г., 2020). Одними из источников резистентных штаммов для людей являются животные и продукты животного происхождения (Забровская А.В., Егорова С.А., 2017). По данным Всемирной организации здравоохранения, объем используемых в ветеринарии антибиотиков для продуктивных животных, птицы и аквакультуры более чем в 2 раза превышает объем лекарственных средств, применяемых в медицине, что ведет к накоплению их остатков в продуктах животноводства и рыбоводства (Щепеткина С.В., 2019).

Объективная необходимость отказа от антибиотиков подтверждает необходимость внедрения альтернативных способов лечения и профилактики бактериальных болезней. В первую очередь, это применение рациональной схемы вакцинации против вирусных и бактериальных инфекций с целью исключения феномена иммунодепрессии, применение бактериофагов – специфическая профилактика (Джавадов Э.Д., 2017; Плешакова В.И. с соавт., 2017; Васильев Д.А. с соавт., 2018). Не менее важно использование новых экологически чистых препаратов неспецифической профилактики с целью нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта птиц и снижения инфицированности патогенной и условно-патогенной микрофлорой. Рынок таких средств постоянно расширяется, это пробиотики и пребиотики, органические кислоты, ароматики, фитобиотики, растительные экстракты, препараты на основе эфирных масел, пектина, ферменты, антиоксиданты и др. (Джавадов Э.Д. с соавт., 2017, 2018; Околелова Т.М. с соавт., 2018; Дубровин А.В. с соавт., 2019; Павлова М.А., 2019; Портянко А.В. с соавт., 2019; Святковский А.В. с соавт., 2019; Трайнев И.В., 2019; Афонюшкин В.Н., 2020; Йылдырым Е.А. с соавт. 2020).

В современной ситуации в России существует потребность в достижении экологической безопасности продукции птицеводства и импортозамещении ветеринарных препаратов. Доля отечественных ветпрепаратов на рынке – не более 35%. Больше половины импортных препаратов составляют вакцины для птицы. За последние 20 лет в птицеводческих хозяйствах значительно увеличилось число инфекционных болезней, для профилактики которых требуется иммунизация поголовья. Но средства специфической профилактики заразных болезней – вакцины – в основном привозные (Фисинин В.И., 2014; Андреева Н.Л. с соавт., 2016; Дмитриева М.Е., 2016). Также для

ветеринарной науки и практики остается актуальной разработка научно-практических основ обеспечения микробиологической безопасности продукции птицеводства от выращивания птицы до получения конечных продуктов (Козак С.С., 2016). Поэтому создание отечественных средств профилактики бактериальных болезней птиц, в первую очередь вакцин, из циркулирующих в России штаммов, не уступающих в качественных характеристиках импортным, но обладающих преимуществом в цене реализации по сравнению с зарубежными, являются на данном этапе развития промышленного птицеводства объективной необходимостью и актуальной задачей.

Степень разработанности темы. Основу промышленного птицеводства России составляют крупные сельскохозяйственные холдинги, на территории которых сконцентрировано многомиллионное поголовье. В этих условиях основной способ противостояния инфекционным болезням – вакцинопрофилактика (Джавадов Э.Д., 2015). Для специфической профилактики сальмонеллезов разработано большое количество вакцин живых и инактивированных как отечественного производства, так и иностранного. Всего в обращении на российском рынке находится около полутора десятков вакцин против сальмонеллеза птиц, в основном зарубежных компаний. Российские вакцины против сальмонеллеза птиц выпускаются компаниями НПП «Авивак», ФКП «Ставропольская биофабрика». Для нужд птицеводов сегодня производятся одно-, двух- и трехвалентные живые и инактивированные вакцины против сальмонеллеза кур. Также существуют специализированные иммунобиологические препараты для голубей и водоплавающих птиц (Лавренова В., 2019).

В отношении контроля клостридиозов еще в 1956 г. (Выгодчиков Г.В. и др.) установлено, что основным защитным фактором в иммунитете против *Cl.perfringens* является анатоксин. В дальнейшем материнские антитела к α -токсину были выявлены у суточных цыплят (Heier et al., 2001). Также были проведены опыты по изучению эффективности вакцинации бройлеров рекомбинантным α -токсином при экспериментальном заражении (Соорег et al., 2009). Существуют и успешно применяются в животноводстве и свиноводстве вакцины против клостридиозов крупного рогатого скота, овец, свиней. Однако вопросы этиологии, эпизоотологии, лечения и профилактики клостридиоза птиц остаются малоизученными, не разработаны комплексная система контроля данной инфекции, препараты специфической профилактики и методы получения безопасной продукции птицеводства, что является актуальной целью научно-исследовательских работ.

На сегодняшний день перед ветеринарной наукой поставлена задача по обеспечению разработки и внедрения в практику новых современных способов и методов диагностики и средств профилактики болезней птиц бактериальной этиологии, а также поиску инновационных высокоэффективных отечественных препаратов с целью импортозамещения, позволяющих обеспечить стабильно благополучную эпизоотическую ситуацию и получать экологически чистую продукцию.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований явились разработка, усовершенствование и модификация методов диагностики, специфической и неспецифической профилактики болезней птиц бактериальной этиологии.

Для реализации цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить видовой состав патогенных микроорганизмов на птицефабриках различного технологического направления; выявить спектр микрофлоры, выделяемой от птицы с выраженным респираторным синдромом; определить удельный вес сальмонелл и клостридий в спектре микрофлоры, выделяемой от сельскохозяйственной птицы разных видов;

2. Усовершенствовать и модифицировать методику выделения *Clostridium perfringens* из патологического материала; разработать методику типирования культур

Clostridium perfringens в реакции нейтрализации на модели развивающихся куриных эмбрионов;

3. Разработать и применить на практике новый способ молекулярно-генетического типирования – метод двойного расщепления и избирательного мечения (ДРИМ) для идентификации патогенных микроорганизмов, выделенных от птиц;

4. Изучить эффективность средств неспецифической профилактики на основе органических кислот – кормовых добавок КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо – в отношении клостридий в экспериментальных условиях;

5. Изучить антибактериальную активность средств неспецифической профилактики на основе органических кислот – подкислителей Сальмоцил FL и Сальмоцил F – в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц;

6. Разработать технологию изготовления препарата специфической профилактики против анаэробной энтеротоксемии птиц – вакцины инактивированной сорбированной;

7. Разработать технологию изготовления препарата специфической профилактики сальмонеллеза птиц – вакцины инактивированной эмульгированной, испытать ее в экспериментальных условиях, утвердить нормативную документацию (НД).

Научная новизна работы. Изучено биоразнообразие патогенных микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственной птицы разных видов (кур яйценоских кроссов, бройлеров, индеек, перепелов, гусей и уток) и возрастов на птицефабриках различного технологического направления, выявлен удельный вес сальмонелл и клостридий в спектре выделенной микрофлоры.

Модифицирована методика выделения *Clostridium perfringens* из патологического материала и разработан альтернативный метод двойной индикации с промежуточным накоплением. Предложена методика типирования культур *Clostridium perfringens* в реакции нейтрализации с сыворотками антитоксическими Клостридиум перфрингенс типов А, С, D диагностическими на модели развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) 7-суточного срока инкубации.

Разработан и использован на практике новый способ быстрого генотипирования бактериальных изолятов, выделенных от птиц разных видов, основанный на методе двойного расщепления и избирательного мечения фрагментов ДНК (ДРИМ).

Изучена и выявлена эффективность инновационных средств неспецифической защиты на основе органических кислот – кормовых добавок КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо для профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц; установлена антибактериальная активность подкислителей Сальмоцил FL, Сальмоцил F в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц.

Создан препарат специфической профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц – вакцина инактивированная сорбированная. Разработана технология изготовления и подготовлен проект НД на вакцину. Опытный образец вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц испытан на яйценоской птице и бройлерах в экспериментальных условиях.

Разработана технология изготовления вакцины инактивированной эмульгированной против сальмонеллеза птиц «Сальмокрон», биопрепарат испытан в экспериментальных и производственных условиях. Вакцина зарегистрирована, регистрационный номер ПВР-1-9.0/02708 от 11.01.2017 г. На конкурсе инновационных биотехнологических решений в рамках выставки-конференции «Биоиндустрия-2012» в номинации/категории «Ветеринария» вакцина «Сальмокрон» против сальмонеллеза птиц инактивированная эмульгированная получила золотую медаль.

Получено два патента: патент на полезную модель Ru 173791 «Чашка Петри» и патент на штамм сальмонеллезного бактериофага Ru 2342429 C1 «Штамм бактериофага *Bacteriophage Salmonella IBP-1*, обладающий лизирующей активностью по отношению к *S. Enteritidis*».

Теоретическая и практическая значимость работы. Внедрение в практику вакцины против анаэробной энтеротоксемии птиц позволит профилактировать и контролировать эту инфекцию в птицеводстве, благодаря чему будут уменьшены или исключены экономические потери, ею вызванные. Применение в птицеводствах инактивированной вакцины против сальмонеллеза «Сальмокрон» позволяет создать стабильное эпизоотическое благополучие птицеводств в отношении сальмонелл. Регулярная вакцинация против сальмонеллеза в промышленном птицеводстве способствует получению безопасной доброкачественной продукции, свободной от этой эпидемиологически опасной микрофлоры. Создание специфической защиты против сальмонеллеза обеспечивает охрану здоровья людей от этой инфекции.

На основе наших исследований разработаны методические положения «Контроль сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц» и «Диагностика, профилактика и меры борьбы с анаэробной энтеротоксемией птиц». Методические положения рассмотрены и одобрены на Ученом совете ВНИВИП и на секции «Патология и профилактика болезней птиц», утверждены в Отделении ветеринарной медицины Россельхозакадемии академиком Смирновым А.М. Разработанные методические положения могут быть использованы в работе врачами-бактериологами лабораторий птицефабрик и бактериологических отделов ветеринарных лабораторий. Разработано и утверждено учебно-методическое пособие «Выявление и генотипирование возбудителей сальмонеллеза птиц (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*) молекулярно-биологическими методами».

Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций и для проведения практических занятий на курсах повышения квалификации для ветеринарных врачей, врачей-бактериологов, специалистов птицеводческих предприятий «Диагностика болезней птиц бактериальной и паразитарной этиологии», «Лабораторная диагностика болезней птиц бактериальной этиологии», «Лабораторное обеспечение системы контроля бактериальных болезней птиц и выпуска безопасной продукции птицеводства», «Организация системы контроля бактериальных болезней птиц, применения антимикробных препаратов и выпуска безопасной продукции птицеводства», «Лабораторное обеспечение системы контроля антимикробных препаратов (СКАМП)» (Ленинградская область (г. Тихвин, г. Волхов), Санкт-Петербург, г. Белгород, Краснодарский край (г. Кропоткин), 2016–2021 гг.); на курсах повышения квалификации отдела питания птицы ВНИТИП «Современные технологии в кормопроизводстве, кормлении высокопродуктивных кроссов птицы, контроль безопасности и качества комбикормов, премиксов, биологически активных добавок» (для технологов птицеводств и комбикормовых предприятий, ветврачей, заведующих зоо- и ветлабораториями, зоотехников по кормам, преподавателей вузов); на курсах повышения квалификации отдела инкубации ВНИТИП «Актуальные проблемы и пути их решения в современной практике инкубации яиц сельскохозяйственной птицы» (для руководителей, технологов, зоотехников, заведующих лабораторий, ветврачей, заведующих и механиков цехов инкубации, преподавателей вузов) (Московская область, г. Сергиев Посад, 2017–2020 гг.).

Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедре эпизоотологии им. В.П.Урбана ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Методология и методы исследования. Методологические подходы в решении задач диссертационного исследования основаны на литературном поиске, посвященном

обоснованию актуальности, цели и задач исследований, анализе отечественных и зарубежных публикаций по тематике работы.

Для проведения лабораторных, экспериментальных и научно-производственных исследований мы использовали существующие современные эпизоотологические, клинические, патологоанатомические, микробиологические, серологические, молекулярно-биологические методы, а также статистический анализ, применяли различные способы культивирования и идентификации микроорганизмов, что нашло отражение в подготовленных и утвержденных методических положениях, учебном пособии, монографиях.

Обработка экспериментальных данных проведена с использованием методов статистического анализа. Полный перечень методологии и методов исследований отражен в разделе «Материалы и методы исследований».

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- видовой состав патогенной микрофлоры, выделяемой в птицеводствах различного технологического направления, а также уровень инфицированности сальмонеллами и клостридиями, зависит от вида птицы и технологии содержания; спектр микроорганизмов, выделяемых при респираторном синдроме птиц, достаточно широк и представлен 12-ю видами;

- усовершенствованная методика выделения *Clostridium perfringens* из патологического материала – метод двойной индикации с промежуточным накоплением – дает возможность быстрого выделения чистой культуры возбудителя анаэробной энтеротоксемии птиц при сильном обсеменении патологического материала посторонней микрофлорой;

- методика типирования культур *Clostridium perfringens* на развивающихся куриных эмбрионах в реакции нейтрализации с сыворотками антитоксическими Клостридиум перфрингенс типов А, С, D диагностическими позволяет определить вид и тип возбудителя по основному летальному токсину;

- способ быстрого генотипирования с использованием метода двойного расщепления и избирательного мечения (ДРИМ) для идентификации патогенных микроорганизмов, выделяемых от птиц, позволяет выявить пути распространения инфекции и локализации источника патогена бактериальной природы;

- инновационные средства неспецифической профилактики бактериальных болезней птиц на основе органических кислот – КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо предотвращают потерю массы тела, являющуюся следствием анаэробной энтеротоксемии; подкислители Сальмоцил FL, Сальмоцил F – способствуют снижению и предотвращению обсеменения кормов патогенной и условно-патогенной микрофлорой;

- вакцина инактивированная сорбированная против анаэробной энтеротоксемии птиц позволит контролировать эпизоотическую ситуацию в отношении этой инфекции в птицеводствах, снижая экономические потери от нее; вакцина инактивированная эмульгированная против сальмонеллеза птиц «Сальмокрон» создает стабильное эпизоотическое благополучие в отношении сальмонеллеза в промышленном птицеводстве, способствует получению безопасной доброкачественной продукции, свободной от сальмонелл.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов работы подтверждена использованием современных методов и оборудования, методологически правильной постановкой опытов, статистически значимым количеством проведенных исследований в лабораторных, экспериментальных и производственных условиях, которые соответствуют поставленным в работе цели и задачам, а также результатами статистической обработки данных. Достоверность выводов основывается на значительном объеме полученных экспериментальных данных. Результаты исследо-

ваний, полученные в ходе экспериментов, обработаны биометрически при помощи передовых методов вариационной статистики с использованием программы Statistica for Windows и программных комплектов Microsoft Office Excel.

Результаты исследований с положительным эпизоотологическим и экономическим эффектом внедрены в птицеводческих хозяйствах. Результаты работы опубликованы в ведущих российских и международных изданиях с высоким импакт-фактором.

Основные научные положения, результаты исследований, выводы и рекомендации диссертационной работы заслушаны, обсуждены, одобрены и получили положительную оценку на заседаниях Методических советов отделов микробиологии и паразитологии ВНИВИП, расширенных Методических советах отделов вирусологии и опухолевых болезней птиц, микробиологии, паразитологии и лаборатории фармакологии и токсикологии ВНИВИП, Ученых советах ВНИВИП (2005–2020 гг.).

По материалам диссертации представлены доклады на городских, региональных, всероссийских, международных научно-практических курсах, семинарах, форумах, конференциях, конгрессах: на курсах повышения квалификации ветеринарных врачей и на координационных совещаниях специалистов птицеводства во ВНИВИП «Актуальные вопросы ветеринарной безопасности и профилактики заболеваний птиц в промышленных условиях» и др. (2005–2021 гг.); на курсах повышения квалификации в ЦНТИ «Прогресс» (Санкт-Петербург, 2006–2009 гг.); на курсах повышения квалификации ветеринарных врачей в Центральной научно-методической ветеринарной лаборатории (Косино, Московская область, 2006–2011 гг.); на научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии» (Санкт-Петербург, 2009 г.); на конференции Роснауки – стендовый доклад (Москва, 2009 г.); на Международной научно-практической конференции «Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц» (г. Екатеринбург, 2010 г.); на научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии в промышленном птицеводстве» в рамках международной агропромышленной выставки-ярмарки «Агрорусь» (Санкт-Петербург, 2010 г.); на Международной научно-практической конференции «Новые подходы к решению актуальных ветеринарно-санитарных и зоотехнических проблем в птицеводстве на современном этапе» (г. Омск, 2011 г.); на Международном агропромышленном конгрессе «Модернизация АПК – механизмы взаимодействия государства, бизнеса и науки» (Санкт-Петербург, 2011 г.); на VIII Московском международном ветеринарном конгрессе по птицеводству (Москва, 2012 г.); на Международном форуме птицеводов «Бройлер-2013» (Москва, 2013 г.); на Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России», посвященной 115-летию со дня основания Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р.Коваленко (Москва, 2013 г.); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные подходы к решению актуальных ветеринарно-санитарных и зоотехнических проблем в птицеводстве» в рамках координационного совещания по проблеме «Ветеринарная профилактика в промышленном птицеводстве» (Санкт-Петербург, 2013 г.); на научно-практическом семинаре «Современные технологии содержания высокопродуктивных кроссов птицы. Обеспечение эпизоотического и санитарного благополучия в промышленном птицеводстве» (г. Ярославль, 2014 г.); на научно-практическом семинаре «Бактериальные проблемы и микотоксикозы. Экспресс-методы определения микотоксинов и способы их нейтрализации. Принципы подбора антибактериальных препаратов. Проблемы повышения качества скорлупы» (г. Саратов, 2014 г.); на международной научно-практической конференции «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве», посвященной 50-летию института ГНУ ВНИВИП Россельхозакадемии

(Санкт-Петербург, 2014 г.); на конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины и зоотехнии в промышленном птицеводстве» (г. Екатеринбург, 2015 г.); на 3-й Международной выставке «Молочная и мясная индустрия – 2015» (Москва, 2015 г.); на II Международном ветеринарном конгрессе VETistanbul Group–2015 (Санкт-Петербург, 2015 г.); на семинаре «Механизмы контроля болезней птицы в условиях интенсификации птицеводства» (г. Челябинск, 2015 г.); на IV Международной конференции «Птицеводство России–2015» (г. Волгоград, 2015 г.); на конференции «Будущее индейководства России» (Москва, 2016 г.); на научно-практической конференции «Современные подходы к решению актуальных ветеринарных проблем в птицеводстве» (Санкт-Петербург, 2016 г.); на форуме ветеринарии и зоотехнии «Современные технологии повышения эффективности в птицеводстве» (г. Алматы, Казахстан, 2016 г.); на конференции «Ветеринарная безопасность – основа развития животноводства и птицеводства сельскохозяйственных предприятий всех форм собственности» в рамках 25-й Юбилейной международной агропромышленной выставки-ярмарки «Агрорусь» (Санкт-Петербург, 2016 г.); на Международном специализированном форуме АГРО.PRO (Санкт-Петербург, 2016 г.); на II Международной конференции «Индейководство в России: практические аспекты» (Москва, 2017 г.); на Международной научно-практической конференции «Заразная патология продуктивной птицы – 2017» (г. Гродно, Беларусь, 2017 г.); на конференции «Антибиотикорезистентность в ветеринарии: проблемы и решения» (г. Белгород, 2017 г.); на семинаре «Импортозамещение в ветеринарии – повышение эффективности схем лечения и профилактики болезней у сельскохозяйственных животных и птицы» (г. Белгород, 2017 г.); на научно-практической конференции «Современные подходы и перспективы решения актуальных зооветеринарных проблем в промышленном птицеводстве» (Санкт-Петербург, 2018 г.); на XIX Международной конференции Российского отделения Всемирной научной ассоциации по птицеводству – НП «Научный центр по птицеводству» «Мировые и российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего» (Московская область, г. Сергиев Посад, 2018 г.); на IV Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Эколого-биологическая проблема использования природных ресурсов в сельском хозяйстве» (г. Екатеринбург, 2018 г.); на конференции «Внедрение и практическое применение современных методов обеспечения биологической безопасности в ветеринарии» в рамках Международной выставки-ярмарки «Агрорусь» (Санкт-Петербург, 2017–2018 гг.); на Международной научно-практической конференции «Постегномные технологии в обеспечении здоровья и повышении продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц», посвященной 210-летию Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины и высшего ветеринарного образования в России (Санкт-Петербург, 2018 г.); на региональных форумах «Птицепром» (Санкт-Петербург, Белгород, 2018, 2019, 2021 гг.); на семинарах компаний ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита», ООО «Инновационное предприятие «Апекс Плюс» («Эффективное выращивание сельскохозяйственных птиц и животных в условиях ограниченного применения антибиотиков»), «Балтиза», Zoetis, (Санкт-Петербург, Челябинск, Омск, Казань, 2017–2019 гг.), на онлайн-курсах повышения квалификации ветврачей с птицефабрики Гомельской области (Беларусь) «Актуальные проблемы болезней птиц бактериальной этиологии в условиях современного промышленного птицеводства» (2020 г.), на открытом научно-практическом онлайн-семинаре «Организация системы контроля антимикробных препаратов (СКАМП) в ветеринарии и сельском хозяйстве: проблемы и решения» (г. Кропоткин, Краснодарский край, 2021 г.).

Личное участие автора в получении научных результатов. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. Автор участвовал в выполнении всех эта-

пов исследования и написания разделов диссертации. В ходе выполнения научно-исследовательских работ по теме диссертации автором самостоятельно выполнен углубленный анализ российской и зарубежной научной литературы и нормативной документации. Соискателем лично определены цель и задачи исследования, проведен комплекс микробиологических исследований, самостоятельно выполнены лабораторные и клинические испытания, опыты по применению биопрепаратов, проведен анализ и обобщение результатов собственных исследований, их обработка, а также написан текст диссертации.

Публикация результатов исследований. Основное содержание диссертации и результаты научных исследований изложены в 100 работах, в том числе 25 – в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 2 – статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science и Scopus), двух монографиях, одном учебно-методическом пособии, двух методических положениях.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена в одном томе на 433 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы исследований, результаты исследований), обсуждение результатов исследований, заключение, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы, приложение. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами, 55 рисунками, содержит приложения, подтверждающие достоверность результатов работы, ее научную и практическую значимость. Список использованной литературы включает 624 источника, в т.ч. 210 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе проведен анализ научной литературы, посвященной проблеме бактериальных болезней в птицеводстве, подробно освещены вопросы эпидемиологической опасности продукции птицепереработки, сальмонеллеза и анаэробной энтеротоксемии птиц. Проанализированы опубликованные данные о существующих способах контроля и средствах неспецифической и специфической профилактики болезней бактериальной этиологии в птицеводстве, о современных методах диагностики болезней птиц.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Исследования проводили с 2005 по 2019 год в отделе микробиологии Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ВНИВИП – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН, ранее ГНУ ВНИВИП Россельхозакадемии) в соответствии с программой научно-исследовательских работ. Часть исследований выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук «Разработка системы контроля эпидемиологически опасных и зоопатогенных микроорганизмов, выделяемых от птиц (*Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter jejuni* и *Clostridium perfringens*)» № МК-3041.2009.4. Исследования по разработке вакцины «Сальмокрон» выполнены при поддержке гранта Министерства науки и образо-

вания РФ № 02.512.12.2022 «Антигенный дизайн лекарственной формы, направленный на подавление развития сальмонеллеза у птиц, разработка и ее изготовление» в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы».

В работе был исследован материал 119-ти птицевладельцев различного технологического направления, в том числе птицефабрик по производству яйца – 40, птицефабрик по производству мяса бройлеров – 51, индейководческих птицефабрик – 8, птицевладельцев по выращиванию перепелов – 7, хозяйств по выращиванию водоплавающей птицы (гусей и уток) – 13.

Всего бактериологически исследовано 1158 трупов пяти видов сельскохозяйственной птицы (куры яйценоских и мясных кроссов (бройлеры), индейка, перепела, гуси, утки), сделано 3497 высева из различных органов, выделено и идентифицировано 4019 культур более 30 видов патогенных микроорганизмов. Общий объем проведенных исследований представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Объем проведенных бактериологических исследований

Вид/группа птицы	Количество птицефабрик/ регионов	Количество исследованных трупов/высевов	Количество других исследованных проб	Количество выделенных культур
Куры яйценоские	40/17	392/1160	141	1107
Бройлеры	51/31	508/1488	187	1699
Индейка	8/7	117/369	45	457
Перепела	7/2	40/71	125	227
Гуси и утки	13/9	101/409	21	529
Всего	119/47*	1158/3497	519	4019

*В некоторых регионах исследовали по несколько различных птицефабрик

2.1.1 Методики культивирования и идентификации микроорганизмов, выделяемых от птиц

Вся работа в лабораторных и экспериментальных условиях была проведена в соответствии санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2008 г. № 4).

Эпизоотологическое обследование проводили в птицевладельцах различного технологического направления: птицефабриках по производству яйца, мяса бройлеров, по выращиванию индеек, перепелов, гусей и уток, а также фермерских птицеводческих хозяйствах различных регионов Российской Федерации (43 субъекта всех восьми федеральных округов РФ – Северо-Западного, Центрального, Южного, Северо-Кавказского, Приволжского, Уральского, Сибирского, Дальневосточного), Республик Беларусь, Казахстан, Таджикистан, Узбекистан.

В работе было проведено бактериологическое исследование трупов павших и вынужденно убитых (с диагностической целью) цыплят, кур яйценоских кроссов и бройлеров, индеек, перепелов, гусей и уток разного возраста, эмбрионов различного срока инкубации, отходов инкубации (тумаки, замершие, задохлики), проб мекония и помета (в т.ч. от клинически здоровых птиц), воздуха выводных шкафов инкубатория и других птицеводческих помещений, смывов с оборудования. При бактериологическом исследовании птицы высева делали из крови сердца, легких, печени, желчного пузыря, селезенки, почек, яичных фолликулов, яйцевода, кист, семенников, тонкого (двенадцати-

перстная, тощая) и толстого (слепые отростки, прямая кишка) отделов кишечника, перитонеальной жидкости, суставов, подошв лап, клюва, подглазничных синусов, соскобов с трахеи, головного мозга, мозжечка, костного мозга, спермы, гребня.

Первичные пробы исследуемого материала засеивали в стерильные стеклянные пробирки с простыми питательными средами – мясопептонным бульоном (МПБ), мясопептонным агаром (МПА); либо с транспортной средой (при необходимости длительной транспортировки материала, более 6 ч) – тиогликолевой средой (среда для контроля стерильности); либо в системы транспортные со средой Кэри-Блейра, Стюарта или Эймса (с углем). При необходимости исследования на сальмонеллез первичные посевы также делали на среды накопления (обогащения) сальмонелл – селенитовый бульон или магниевую среду. Через сутки инкубирования в термостате с первичных посевов делали пересевы на МПА в пробирках (скошенный) или чашках Петри; на чашки Петри с селективными, элективными и дифференциально-диагностическими питательными средами для выделения кишечной микрофлоры (энтеробактерий), стафилококков, энтерококков. Для выявления гемолиза проводили посевы на колумбийский кровяной агар с бараньей или куриной кровью. Для выделения орнитобактерий использовали колумбийский агар с кровью барана и антибиотиком гентамицин. Исследования для подтверждения вида выделенных культур в реакции ПЦР проводили в отделе эпизоотологического анализа и диагностики ВНИВИП.

У выделенных культур микроорганизмов разных видов изучали морфологические, культуральные, тинкториальные, биохимические, серологические, вирулентные свойства, определяли чувствительность к антибактериальным препаратам разных групп и при необходимости к дезинфицирующим средствам. Видовую принадлежность культур сальмонелл устанавливали в реакции агглютинации на стекле с сыворотками диагностическими адсорбированными сальмонеллезными поливалентной ABCDE и моновалентными групп О (соматические антигены) и Hmg (жгутиковые антигены).

Для выделения микроорганизмов рода *Campylobacter* использовали селективный угольный агар с цефоперазоном и дезоксихолатом (производство Oxoid, Великобритания) и колумбийский агар с 5% лизированной крови лошади и ростовой добавкой. Для посева на неселективный кровяной агар использовали мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм (производство Sartorius, Германия). Посевы инкубировали в микроаэрофильной атмосфере при $t\ 37,0\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 48 ч. Для идентификации культур параллельно использовали традиционные фенотипические тесты, MALDI-TOF масс-спектрометрию и ПЦР с мультипраймерной тест-системой, содержащей видоспецифические праймеры к *C.jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, *C.upsaliensis* и *C.fetus*. Исследования проводили совместно с НИИЭМ им. Пастера (Санкт-Петербург).

Кроме обычных стеклянных и одноразовых пластиковых чашек Петри в работе использовали чашки Петри с замком. На чашку Петри получен патент на полезную модель Ru 173791 «Чашка Петри» / Щепеткина С.В., Новикова О.Б.; номер заявки: 2016152298/16; дата регистрации: 28.12.2016; дата публикации: 11.09.2017.

2.1.2 Условия проведения экспериментальных исследований на птице

Выращивание и обращение со всей птицей проводили гуманно согласно Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.). По окончании опытов птицу подвергали эвтаназии в соответствии с протоколом № 15-065-А, утвержденным Институциональным комитетом по уходу и использованию животных (OLAW № D16-00214). Условия содержания и плотность посадки, параметры микроклимата, освещенности, продолжительности светового дня, влажности, а также состав и пита-

тельность комбикормов на протяжении всего срока выращивания соответствовали существующим рекомендациям ФНЦ «ВНИТИП» РАН.

2.1.3 Определение вирулентных свойств культур микроорганизмов, условия постановки биопробы при определении иммуногенной активности вакцин

Вирулентные свойства культур микроорганизмов, выделенных от птиц, изучали на модели интраорбитального заражения цыплят первых дней жизни; моделях внутримышечного, внутривенного, внутрибрюшинного, перорального, подкожного заражения цыплят и взрослых кур, индеек; а также на моделях заражения развивающихся куриных, перепелиных и цесариных эмбрионов (РКЭ) 7–9-суточного срока инкубации. В любом опыте параллельно с заражением ставили контроли – контроль введения и чистый контроль. Для освежения и поддержания вакцинных штаммов использовали модели заражения РКЭ 7–9-суточного срока инкубации.

2.1.4 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом (методом дисков) на среде Мюллера-Хинтона. Использовали диски с антибиотиками с известной концентрацией действующего вещества, изготовленные промышленным способом, производства НИЦФ, НИИЭМ им. Пастера.

2.1.5 Генотипирование методом ДРИМ

Предлагаемый метод генотипирования бактериальных изолятов основан на использовании двух эндонуклеаз рестрикции (одна имеет небольшое число сайтов расщепления и производит 3'-усеченные концы фрагментов ДНК, которые в реакции заполнения (fill-in) включают меченый биотином дезоксицитозинтрифосфат (Bio-dCTP), а другая – производит либо тупые концы, либо 3'-выступающие концы, не способные к включению этой метки). Реакцию заполнения проводили с помощью фермента Taq-полимеразы в одной микропробирке одновременно с расщеплением бактериальной ДНК. Затем фрагменты ДНК в реакционной смеси разделяли по размеру в агарозном геле, переносили на нейлоновый фильтр. Биотин-содержащие фрагменты ДНК выявляли в цветной реакции в виде четко различимых полос, число и распределение которых характерно для каждого бактериального штамма. Исследования проведены во ВНИИГРЖ совместно с д.б.н. Терлецким В.П., к.б.н. Тыщенко В.И.

2.2 Результаты исследований

2.2.1 Биоразнообразие патогенной микрофлоры, выделяемой от сельскохозяйственной птицы

2.2.1.1 Патогенная микрофлора, выделяемая от птиц разных видов в хозяйствах различного технологического направления

При изучении биоразнообразия патогенной микрофлоры установлено, что спектр микроорганизмов, циркулирующих на птицефабриках различного технологического направления, достаточно широк, включает более 30 видов. Обобщенные данные спектра выделенной патогенной микрофлоры от всех видов сельскохозяйственной птицы (куры яйценокских кроссов, бройлеры, индейка, перепела, гуси и утки) из всех объектов исследования представлены в таблице 2.

Всего от сельскохозяйственной птицы выделено 12 групп и видов патогенных микроорганизмов.

Таблица 2 – Патогенная микрофлора, выделяемая от птиц разных видов в птицеводствах различного технологического направления

Вид или группа микроорганизмов		Вид птицы				Всего	
		Куры		Индейка	Перепела		Гуси
		Яйценоские	Бройлеры				
		Количество выделенных культур (процент)					
<i>Escherichia coli</i>		543 (49,1%)	771 (45,4%)	209 (45,7%)	94 (41,4%)	194 (36,7%)	1811 (45,1%)
<i>Staphylococcus spp.</i>		209 (18,9%)	332 (19,5%)	100 (21,9%)	62 (27,3%)	173 (32,7%)	876 (21,8%)
<i>Enterococcus spp.</i>		64(5,8%)	93 (5,5%)	6 (1,3%)	12(5,3%)	43(8,1%)	218 (5,4%)
<i>Proteus spp.</i>		93(8,4%)	315(18,5%)	105(23%)	16 (7,1%)	43(8,1%)	572(14,2%)
<i>Salmonella spp.</i>		90(8,1%)	36 (2,1%)	3 (0,7%)	5 (2,2%)	19(3,6%)	153(3,8%)
<i>Enterobacter spp.</i>		15(1,4%)	42 (2,5%)	1 (0,2%)	28(12,3%)	13(2,5%)	99 (2,5%)
<i>Clostridium spp.</i>		54(4,9%)	51 (3,0%)	25 (5,5%)	10 (4,4%)	29(5,5%)	169(4,2%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		17(1,5%)	40 (2,4%)	7 (1,5%)	–	8 (1,5%)	72 (1,8%)
Респираторная микрофлора	<i>Pasteurella multocida</i>	–	–	–	–	1 (0,2%)	19 (0,5%)
	<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	4 (0,3%)	3 (0,2%)	–	–	–	
	<i>Gallibacterium anatis</i>	10 (0,9%)	–	–	–	–	
	<i>Corynebacterium spp.</i>	–	–	1 (0,2%)	–	–	
<i>Micrococcus spp.</i>		1 (0,1%)	7 (0,4%)	–	–	–	8 (0,2%)
<i>Bacillus spp.</i>		4 (0,3%)	–	–	–	–	4 (0,1%)
Гриб – ковая	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2 (0,2%)	9 (0,5%)	–	–	5 (0,9%)	18 (0,4%)
	<i>Candida spp.</i>	1 (0,1%)	–	–	–	1 (0,2%)	
Всего		1107 (100%)	1699 (100%)	457 (100%)	227 (100%)	529 (100%)	4019 (100%)

Среди всех видов изолированных микроорганизмов ведущее место занимает кишечная палочка *Escherichia coli*, ее удельный вес в спектре выделенной микрофлоры составил 45,1%. Доминирующая роль *E.coli* в инфекционной патологии птиц осложняет эпизоотическую ситуацию в хозяйстве вследствие того, что кишечная палочка является фундаментом для развития смешанных инфекций, это значительно затрудняет своевременную диагностику. Во многих случаях колибактериоз является вторичным, развивается на фоне какой-либо вирусной инфекции.

Значительный процент приходится на кокковую микрофлору: 21,8% – стафилококки и 5,4% – энтерококки. Среди стафилококков чаще выделяли золотистый *Staphylococcus aureus*, белый *Staphylococcus epidermidis* и лимонно-желтый *Staphylococcus citreus*. Из энтерококков – *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Реже встречались стафилококки видов *gallinarum*, *hyicus*, *intermedius*, *saprophyticus*, *xylosus* и других.

Доля энтеробактерий составила 2,5% (кроме протеев и сальмонелл, выделенных отдельно). Из семейства *Enterobacteriaceae* доминирующими были культуры родов *Citrobacter* (в том числе *C.freundii*, *C.diversus*, *C.amalonaticus*), *Klebsiella*. Также встречались энтеробактерии родов *Enterobacter* (*E.aerogenes*, *E.agglomerans*, *E.cloacae*), *Providencia*, *Serratia* (*Serratia marcescens* – чудесная палочка). Отдельно мы выделили

протей – 14,2%. Из протеев были выделены виды *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. В 3,8% случаев выделены культуры эпидемиологически опасной микрофлоры – сальмонелл. Чаще всего выделяли сальмонеллы серотипов *S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*, *S.Gallinarum* и *S.Infantis*. В 4,2% выделены культуры клостридий, в большинстве вида *Cl.perfringens*. Многие культуры были выделены из тонкого отдела кишечника – двенадцатиперстной и тощей кишок, а также паренхиматозных органов – печени и селезенки.

В 1,5% случаев выделены культуры синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa* – возбудителя псевдомоноза. Небольшой процент выделения пришелся на респираторную микрофлору – 0,5%. Из респираторных микроорганизмов в нескольких птицеводствах выделены культуры пастерелл *Pasteurella multocida*, орнитобактерий *Ornithobacterium rhinotracheale*, галлибактерий *Gallibacterium anatis*, коринебактерий *Corynebacterium spp.*

Кроме бактериальной микрофлоры в некоторых хозяйствах были выделены возбудители грибковых болезней – грибы родов *Aspergillus* и *Candida* (0,4%). В наименьшем проценте выделены микроорганизмы родов *Micrococcus spp.* (0,2%) и *Bacillus spp.* (0,1%). Из рода *Bacillus* чаще всего выделяли *Bacillus cereus*, которые обладали выраженным гемолизом на питательных средах с кровью. На некоторых птицефабриках (от всех видов птиц) были выделены культуры кампилобактерий вида *Campylobacter jejuni*, реже *Campylobacter coli*. Также в некоторых пробах был обнаружен близкородственный кампилобактериям микроорганизм *Arcobacter cryaerophilus*.

Выявление доминирующей микрофлоры в каждом отдельном хозяйстве было разным и зависело от его эпизоотической ситуации. Во всех случаях отмечали развитие смешанных инфекций (в т.ч. с вирусными и паразитарными болезнями), ассоциативное воздействие разных видов микроорганизмов на организм птицы. При хронических, вялотекущих болезнях бактериальной этиологии наблюдали неравномерный или низкий прирост массы бройлеров. На некоторых птицефабриках от цыплят с целью выяснения этиологии подкожного фибринозного воспаления (целлюлитов) выделяли культуру *E.coli* с последующим подтверждением ее роли в появлении целлюлита при подкожном заражении цыплят первых дней жизни (в области грудной мышцы) и цыплят старшего возраста (в области голени). На нескольких птицефабриках были выделены редко встречающиеся лактозоотрицательные штаммы кишечной палочки.

2.2.1.2 Патогенная микрофлора, выделяемая при респираторном синдроме птиц

Отдельно из общего спектра микрофлоры нами проведен сравнительный анализ патогенных микроорганизмов, изолируемых при респираторном синдроме – часто встречаемой патологии у птиц. Природа респираторного синдрома полиэтиологична, клиническая картина характерна для многих вирусных и бактериальных инфекций, а также их ассоциаций.

Нами проведено бактериологическое исследование проб патологического материала от птиц разных видов (куры яйценоских кроссов, бройлеры, индейка) с выраженным респираторным синдромом. Высевы делали из пораженных тканей в области подглазничных синусов, воспаленных сережек, мазков и соскобов из трахеи, легких. Результаты исследований представлены на рисунке 1.

В результате наших исследований от птицы с признаками респираторного синдрома были выделены 12 видов и групп патогенных микроорганизмов, из которых доминирующие – *E.coli* (29,2%), и *Staphylococcus spp.* (18,7%), далее следуют *Streptococcus spp.* (15,8%), *P.vulgaris* (9,4%), *P.aeruginosa* (7,1%), *G.anatis* (5,8%), *O.rhinotracheale* (4,1%), *Mycoplasma gallisepticum* (3,5%), *Klebsiella spp.* (2,9%), *S.Enteritidis* (2,3%), *Pasteurella multocida* (0,6%), *Corynebacterium spp.* (0,6%).

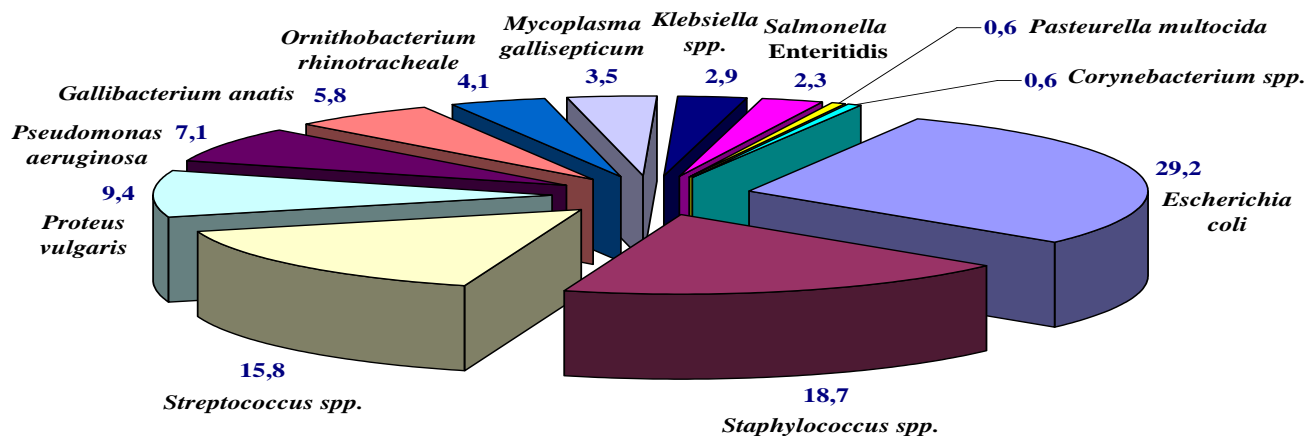


Рисунок 1 – Патогенная микрофлора, выделяемая при респираторном синдроме птиц, %

2.2.1.3 Патогенная микрофлора, выделяемая на птицефабриках по производству яйца

Всего было исследовано 1160 высевов от 392 трупов вынужденно убитых и павших цыплят и кур разного возраста, 68 эмбрионов и отходов инкубации, 48 проб помета, 5 проб воздуха птичников, 20 смывов с оборудования на 40 промышленных и фермерских птицеводств яичного направления продуктивности 14-ти регионов РФ; выделено 1107 культур 12-ти групп и видов микроорганизмов: *E.coli* (49,1%), стафилококки (18,9%), протеи (8,4%), сальмонеллы (8,1%), энтерококки (5,8%), клостридии (4,9%), синегнойная палочка (1,5%), энтеробактерии (1,4%), респираторная микрофлора (1,2%), *Bacillus spp.* (0,3%), грибковая микрофлора (0,3%) и микрококки (0,1%).

Среди сальмонелл выделены *S.Enteritidis*, *S.Gallinarum*, *S.Infantis*. Из респираторной микрофлоры выделены культуры орнитобактерий *O.rhinotracheale* и *G.anatis*.

2.2.1.4 Патогенная микрофлора, выделяемая от бройлеров

В работе было проведено бактериологическое исследование 1488 высевов от 508 трупов павших и вынужденно убитых бройлеров разного возраста, в т.ч. родительского стада, 69 эмбрионов и отходов инкубации, 16 смывов с оборудования, 97 проб мекония и помета, 5 проб воздуха птичников из 51-го промышленного и фермерского птицеводства по производству мяса бройлеров 28-ми регионов РФ; выделено 1699 культур 11-ти групп и видов микроорганизмов: *E.coli* (45,4%), стафилококки (19,5%), протеи (18,5%), энтерококки (5,5%), клостридии (3,0%), энтеробактерии (2,5%), синегнойная палочка (2,4%), сальмонеллы (2,1%), *Aspergillus fumigatus* (0,5%), микрококки (0,4%), *O.rhinotracheale* (0,2%). Из сальмонелл выделены *S.Enteritidis* и *S.Gallinarum*.

В одном из фермерских птицеводств Северо-Западного округа РФ были проведены исследования с целью изучения уровня инфицированности кампилобактериями бройлеров при различной технологии выращивания птицы: напольном и клеточном содержании. При исследовании материала от цыплят, находящихся на напольном содержании, кампилобактерии были обнаружены в 28 из 30 проб, что составило 93,3%. *C.jejuni* был обнаружен в 21 (70,0%) пробе, *C.coli* – в 14 (46,7%). В 7 (23,3%) образцах одновременно присутствовали *C.jejuni* и *C.coli*. В двух пробах кампилобактерии обнаружены не были, но был выделен близкородственный микроорганизм *Arcobacter cryaerophilus* (*A.cryaerophilus*). Помимо указанных выше двух проб, *A.cryaerophilus* был выделен еще в одной пробе вместе с *C.coli*. У цыплят, находящихся на клеточном со-

держании, кампилобактерии были обнаружены в 12 из 32 проб (37,5%). В 8 пробах был обнаружен *S.jejuni* и в 4 – *S.coli*, что составляет 25,0 и 12,5% соответственно. Три штамма *S.jejuni*, выделенные от кур, находившихся на напольном содержании, не расщепляли гиппурат и были отнесены к гиппуратотрицательным *S.jejuni*. Решающее значение в их идентификации имели результаты MALDI TOF масс-спектрометрии с последующей мультиплексной ПЦР с видоспецифическими праймерами.

2.2.1.5 Патогенная микрофлора, выделяемая в индейководческих хозяйствах

Всего было исследовано 369 высевов от 117 трупов павших и вынужденно убитых индеек разного возраста, 5 проб спермы, 10 эмбрионов, 22 пробы помета, 5 проб подстилки, 3 пробы воды из 8 промышленных и фермерских птицеводств по выращиванию индеек семи регионов РФ; выделено 457 культур 9-ти групп и видов патогенных микроорганизмов: *E.coli* (45,7%), протеи (23,0%), стафилококки (21,9%), клостридии (5,5%), синегнойная палочка (1,5%), энтерококки (1,3%), сальмонеллы (0,7%), энтеробактерии (0,2%), *Corynebacterium spp.* (0,2%).

2.2.1.6 Патогенная микрофлора, выделяемая от перепелов

В работе было проведено бактериологическое исследование 151 высева от 40 трупов павших и вынужденно убитых перепелов разного возраста, 50 перепелиных яиц, 75 проб помета (в т.ч. от клинически здоровых особей) из 7 промышленных и фермерских птицеводств по выращиванию перепелов двух регионов РФ; выделены 7 групп и видов патогенных микроорганизмов: *E.coli* (41,4%), стафилококки (27,3%), энтеробактерии (12,3%), протеи (7,1%), энтерококки (5,3%), клостридии (4,4%), сальмонеллы (2,2%). Среди сальмонелл были выделены серотипы *S.Enteritidis*, *S.Gallinarum*.

У доминирующих видов микроорганизмов были изучены вирулентные свойства на модели заражения перепелиных эмбрионов 7-суточного срока инкубации. В работе были использованы 7 культур *E.coli* и 3 культуры *Citrobacter diversus*. Большинство инфицированных эмбрионов пали в течение 24–72 часов после заражения. Из 35 эмбрионов, зараженных культурами *E.coli*, пало 24 (69%), из 15 эмбрионов, зараженных *C.diversus*, пали 12 (80%). Из всех эмбрионов были выделены культуры соответствующего заражающего штамма.

2.2.1.7 Патогенная микрофлора,

выделяемая от водоплавающей птицы (гусей и уток)

В работе было проведено бактериологическое исследование 409 высевов от 100 трупов павших и вынужденно убитых гусей и уток разного возраста, 21-го эмбриона из 13-ти промышленных и фермерских птицеводств по выращиванию гусей и уток 8-ми регионов РФ; выделено 10-ти групп и видов микроорганизмов: *E.coli* (36,7%), стафилококки (32,7%), энтерококки (8,1%), протеи (8,1%), клостридии (5,5%), сальмонеллы (3,6%), энтеробактерии (2,5%), синегнойная палочка (1,5%), грибковая микрофлора – 1,1 % (*A.fumigatus* – 0,9% и *Candida spp.* – 0,2%), из респираторной – *P.multocida* (0,2%). Из сальмонелл от гусей были выделены *S.Typhimurium* и сальмонелла группы E.

2.2.1.8 Удельный вес сальмонелл и клостридий в спектре микрофлоры, выделяемой от птиц, контроль бактериальных болезней в птицеводствах

При сравнительном анализе микрофлоры, выделяемой на птицефабриках различного технологического направления, установлено, что у всех видов сельскохозяйственной птицы (кур яйцекладущих кроссов, бройлеров, индеек, перепелов, водоплавающих) доминирующей является кишечная палочка. Процент выделения *E.coli* у любого вида

птиц составил больше трети: наибольший у яйценоской – 49,1%, наименьший у водоплавающей птицы – 36,7%. На 2-м месте у всех видов птиц – кокковая микрофлора, от 18,9% (у яйценоской) до 32,7% (у гусей). На 3-м месте – условно-патогенные энтеробактерии рода протей: от 7,1–8,4% у перепелов и яйценоской птицы до 18,5–23% у бройлеров и индеек соответственно. Это связано с преимущественным напольным выращиванием бройлеров и индеек на подстилке, в отличие от перепелов и яйценоской птицы, которых чаще содержат в клетке. Синегнойную палочку от перепелов не выделили ни в одном случае. У других птиц процент выделения *P.aeruginosa* был примерно равным: по 1,5% у яичной птицы, индеек и гусей; 2,4% – от бройлеров.

Наибольшее биоразнообразие патогенной микрофлоры – все 12 выделенных групп микроорганизмов – выявлено у яйценоской птицы. Это связано с наибольшим, по сравнению с другими, сроком эксплуатации несушек. На втором месте по биоразнообразию микрофлоры – бройлеры, от них выделено 11 групп. На третьем месте – водоплавающая птица (10 групп). Наименьшее биоразнообразие выявлено у индеек (9 групп) и перепелов (7 групп).

Удельный вес микроорганизмов рода *Clostridium* в общем спектре микрофлоры в среднем составил 4,2% и колебался от 3,0% (у бройлеров) до 5,5% (у индеек и гусей) в зависимости от вида птицы. Наименьший процент выделения клостридий у бройлеров связан с коротким сроком жизни, в среднем 35–40 дней. Наибольший процент у индеек и гусей связан с более длительным сроком выращивания и напольным содержанием. У тоже длительно эксплуатируемой яйценоской птицы процент выделения клостридий чуть меньше – 4,9%, за счет клеточного содержания и меньшего контакта с пометом.

Удельный вес эпидемиологически опасных микроорганизмов рода *Salmonella* в общем спектре микрофлоры составил 3,8% и колебался от 0,7% (у индеек) до 8,1% (у яичных) в зависимости от вида птицы. Наибольший процент и разнообразие серотипов сальмонелл выявлены от яйценоской птицы – 8,1%, что связано с длительной, более одного года, эксплуатацией несушек.

Для профилактики бактериальных болезней птиц в птицеводстве в отделе микробиологии ВНИВИП (Борисенкова А.Н., Рождественская Т.Н., Новикова О.Б.) разработана целостная система контроля с выделением основных технологических звеньев, включающая 11 основных положений. Подробно о контроле бактериальных болезней птиц рассказано в монографиях «Современные принципы антибиотикотерапии в птицеводстве» (Щепеткина С.В., Новикова О.Б., Забровская А.В., Терлецкий В.П., Тыщенко В.И., 2015) и «Организация системы контроля инфекционных болезней, применения антимикробных препаратов и выпуска безопасной продукции птицеводства» (2018 г.). Наряду с соблюдением ветеринарно-санитарных правил, условий содержания и кормления, ведущее место в комплексе мер борьбы с бактериальными болезнями занимает специфическая профилактика – вакцинация. Помимо вакцин в качестве специфической профилактики бактериальных болезней птиц используются бактериофаги. На штамм сальмонеллезного бактериофага получен патент на изобретение Ru 2342429 C1 «Штамм бактериофага *Bacteriophageum Salmonella* IBP-1, обладающий лизирующей активностью по отношению к *S.Enteritidis*» (Цыганова С.В., Гончаров А.Е., Новикова О.Б., Борисенкова А.Н., 2008).

2.2.1.9 Изучение чувствительности сальмонелл к антибактериальным препаратам разных групп

При изучении чувствительности сальмонелл к антибактериальным препаратам разных групп методом дисков установлена резистентность многих культур к пеницилинам, тетрациклинам, аминогликозидам, фторхинолонам, сульфаниламидам.

2.2.2 Усовершенствование и модификация методики выделения клостридий Подбор штамма для создания препарата специфической профилактики – вакцины – против анаэробной энтеротоксемии птиц

2.2.2.1 Освоение методики выделения *Clostridium perfringens* согласно ГОСТ 26503-85

Изначально нами была освоена методика выделения *Cl.perfringens* из патматериала, полученного от птиц, согласно ГОСТ 26503-85 85 (Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики клостридиозов / М-во сельского хоз-ва СССР. – М.: Изд-во стандартов, 1985. – 15 с.)

Первичный посев согласно ГОСТ проводят в среду Китта-Тароцци – мясопептонный печеночный бульон с кусочками печени под вазелиновым маслом (МППБ). Однако среда при первичном посеве не дает возможности индикации *Cl.perfringens* и обладает селективными свойствами только за счет создания анаэробных условий. Поскольку особенностью бактериальных болезней в промышленном птицеводстве в настоящее время является развитие смешанных инфекций, врачи лабораторий сталкиваются с обилием в первичных посевах микроорганизмов, менее требовательных к условиям культивирования, и по-разному влияющих на рост клостридий. Например, энтерококки образуют молочную кислоту, угнетающую рост клостридий, что очень затрудняет диагностику.

Так как во всех литературных источниках указывается, что *Cl.perfringens* редко или не образует споры в организме животных, а вегетативные клетки при прогреве инактивируются, мы рассмотрели возможность изменения схемы исследования.

2.2.2.2 Метод двойной индикации с промежуточным накоплением

В связи с биологическими особенностями возбудителя (анаэробный тип дыхания, неспособность синтезировать 13 из 20 незаменимых аминокислот, активная ферментация углеводов), а также в связи с преимущественно смешанным течением инфекций и недостаточной специфичностью сред мы разработали для выделения *Cl.perfringens* из патологического материала метод двойной индикации с промежуточным накоплением.

Подготовка материала для посева. Основное требование – отбор материала от свежих трупов, поскольку через 3–4 часа клостридии, обитающие при жизни в кишечнике птиц, павших от самых разных причин, активно проникают в органы и ткани трупа. При посеве из трупов кусочки паренхиматозных органов (печень, селезенка) и пораженные участки кишечника (двенадцатиперстной, тощей, слепых отростков) с содержимым растирали в стерильной фарфоровой ступке с небольшим количеством физраствора. Полученный гомогенат засеивали в пробирки с жидкими питательными средами. Если материал получен в транспортной среде, то посева производили со дна пробирки.

Транспортная среда. Мы использовали в качестве транспортной среды тиогликолевую среду в пробирках по 5 см³. Она избыточно питательна за счет гидролизата казеина и экстракта кормовых дрожжей, содержит восстанавливающий компонент – тиогликолят натрия, небольшое количество агара (0,075%) для снижения диффузии кислорода в среду, 0,5% глюкозы и имеет слабощелочной pH (7,2). Данная среда позволяет сохранить жизнеспособность анаэробной и микроаэрофильной микрофлоры до 3-х суток при комнатной температуре и до 5–7 суток при охлаждении до +4°C.

Первичные посева. Гомогенат тканей или жидкость со дна пробирок с тиогликолевой средой засеивали в количестве 0,5–1,0 см³ в 2 пробирки со средой Китта-Тароцци и в одну пробирку с железосульфитным молоком или лактозо-сульфитным бульоном в пробирках по 5 см³. После посева одну пробирку со средой Китта-Тароцци прогревали в водяной бане при температуре 80°C в течение 20 минут для уничтожения посторонней

вегетативной микрофлоры. На этих средах *Cl.perfringens* можно выделить в смеси с энтерококками, которые на других средах способны заметно угнетать ее рост. Такой комплексный подход позволяет через 3–6 часов оценить рост по нескольким признакам:

- помутнение и газообразование на среде Китта-Тароцци;
- образование черного губчатого сгустка со следами пузырьков газа и прозрачной сероватой сыворотки при посеве в железосульфитное молоко либо почернение лактозо-сульфитного бульона;
- обнаружение в микроскопических препаратах со среды Китта-Тароцци крупных грамположительных палочек с «обрубленными» концами, не обладающих активной подвижностью при исследовании культуры в препарате «висячая капля»

При получении указанных результатов можно сделать предварительное заключение об обнаружении в исследуемом материале *Cl.perfringens*.

Пересев на среду для промежуточного накопления. Из пробирок, в которых наблюдался хотя бы один из вышеперечисленных признаков (почернение среды, образование на поверхности сгустка, пронизанного пузырьками газа и отхождении прозрачной серой сыворотки), пипеткой со дна делали пересев 0,2 см³ жидкости на жидкую питательную среду для накопления *Cl.perfringens* – МППБ с 1% глюкозы, мясо-казеиновую, казеиново-дрожжевую в пробирках по 10 см³, инкубировали 16–18 ч при t 37,0±0,5°C.

Пересев на среду для финальной индикации. При появлении признаков роста (помутнение, газообразование) материал пересевали на среду с индикаторной системой на сульфитредуцирующие свойства – среду Вильсона-Блера. При наличии анаэробности – на поверхность среды, при отсутствии – глубинным способом. Из почерневших участков среды получали чистую культуру *Cl.perfringens*, которую использовали в дальнейшей работе для микроскопии, определения биохимических свойств, токсигенности и типирования в реакции нейтрализации.

Таким образом, приведенная схема исследования (первичная индикация → накопление → подтверждающая индикация) дает возможность быстрого выделения чистой культуры возбудителя АЭ птиц даже при сильном обсеменении патологического материала посторонней микрофлорой. Схематично метод представлен на рисунке 2.

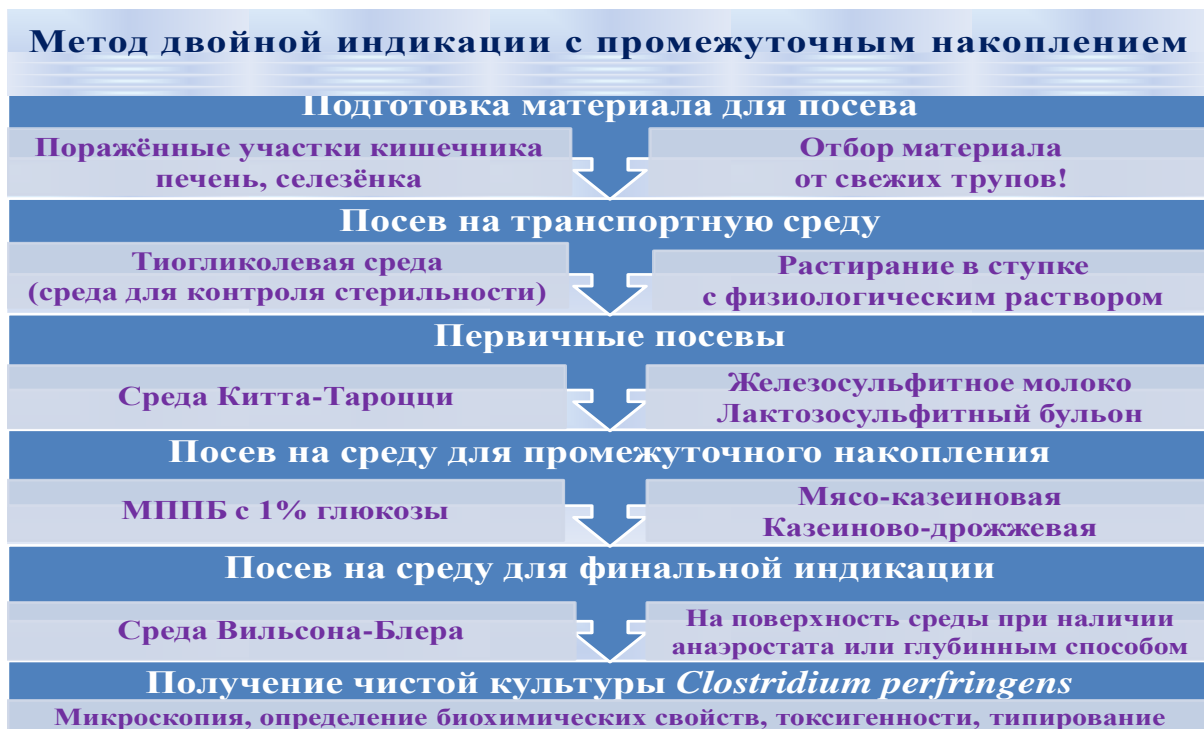


Рисунок 2 – Метод двойной индикации с промежуточным накоплением

2.2.2.3 Изучение культуральных, тинкториальных, морфологических, биохимических и токсигенных свойств *Clostridium perfringens*, выделенных от птиц

В качестве основы для плотных питательных сред мы предлагаем использовать агар для определения чувствительности к антибиотикам АГВ (агар Гювенталья-Ведьминой), который содержит больше азотистых веществ по сравнению с МПА, и обеспечивает лучший учет результатов за счет хорошей прозрачности. На основе АГВ готовили желточный агар или модифицированный нами сахарно-кровяной агар по Цейслеру. Культуры *Cl.perfringens* дают образование белого преципитата на желточном агаре и частичный гемолиз на кровяном агаре. Для определения биохимических свойств и токсигенности культур мы создали питательные среды на основе жидкого аминокислотного пептида, обеспечивающие большее накопление токсинов. Также создали еще одну среду для накопления токсинов – трехсахарную казеиново-дрожжевую. По аналогии с железосульфитным молоком создали минимальную индикаторную среду (включающую в состав аминокислотный пептид, гидролизат казеина, натрия тиосульфат, железа (II) сульфат) для индикации *Cl.perfringens* в патматериале. Среда обладает высокой чувствительностью, но малой специфичностью. Все среды первоначально испытали с эталонным штаммом *Cl.perfringens* ATCC 13124 с положительным результатом.

2.2.2.4 Разработка методики типирования клостридий на модели развивающихся куриных эмбрионов

Согласно ГОСТ для подтверждения диагноза на АЭ необходимо определить вид и тип возбудителя по основному летальному токсину. Определение токсигенности культур и их типирование проводят в реакции нейтрализации (РН) на мышах или морских свинках/кроликах. Результаты РН учитывают при гибели контрольных мышей или образовании некроза у морских свинок/кроликов. Белые мыши, получившие смесь токсина с гомологичной антитоксической сывороткой, остаются живы, а у морских свинок/кроликов некроз не развивается. Мы провели исследования по изучению возможности типирования культур полевых изолятов *Cl.perfringens* в РН на развивающихся куриных эмбрионах 7-суточного срока инкубации с сыворотками антитоксическими Клостридиум перфрингенс типов А, С, D диагностическими (производства Курской биофабрики). В качестве исследуемого материала использовали 16-часовые культуры, выращенные на трехсахарной казеиново-дрожжевой среде. Смесь вводили в ХАП. Также ставили контроль введения (вводили стерильный физраствор) и 3 эмбриона были в качестве чистого контроля (ничего не вводили). Гибель эмбрионов выявляли при ежедневной овоскопии. Установлено, что выделенные культуры вырабатывают токсины, летальные для РКЭ 7-суточного срока инкубации. Токсины нейтрализуются антитоксической сывороткой *Cl.perfringens* типа А. В результате исследований отработана доза токсина *Cl.perfringens* для реакции нейтрализации на модели заражения РКЭ 7-суточного срока инкубации на музейной культуре и выделенных штаммах. Минимальная доза составила 0,4 см³.

2.2.2.5 Изучение вирулентных свойств клостридий, выделенных от птиц

Вирулентные свойства выделенных от птиц клостридий изучали на моделях заражения цыплят и кур разного возраста: 25-суточных бройлерах, 49-суточных цыплятах яйценосского кросса и 130-дневных молодках. Для заражения культуры *Cl.perfringens* выращивали на МППБ с добавлением 1% глюкозы и на МПБ с содержанием 30% аминокислотного пептида. При всех способах введения (внутривенном, внутримышечном и подкожном) отмечали сходные клинические признаки: мышечная дрожь в первые 1–2 ч после заражения, диарея, угнетение в течение 1–2 суток. Аппетит сохранен, падеж отсутство-

вал. При патологоанатомическом исследовании (убой на 4–7-е сутки после заражения) отмечали некроз на месте введения заражающего штамма, энтерит. Результаты согласуются с литературными данными – одно лишь присутствие возбудителя не вызывает острого заболевания, для его воспроизведения необходимы предрасполагающие факторы, например скормливание возбудителя в смеси с мясной мукой или культурой кокцидий.

Опыт по заражению с применением избыточного источника аминокислот проведен на 57-дневных бройлерах (модель субклинического НЭ). Для заражения использовали музейную культуру *Cl.perfringens* ATCC 13124, выращенную на среде накопления в течение 17 ч. Заражали перорально в дозе 10 см^3 и выпаивали 10% раствор гидролизата казеина по 10 см^3 на голову. 1-й группе выпаивали культуру, 2-й – культуру и гидролизат казеина, 3-й – гидролизат казеина, 4-я – чистый контроль. В группе, которой выпаивали и культуру, и гидролизат казеина, клинические признаки диареи были более выражены, чем в группе, получавшей только культуру. При бакисследовании птицы 1-й группы выделили культуру из печени у одного цыпленка из пяти, а во 2-й – у трех из пяти. При этом макроскопические изменения в печени не выявлены ни в одной группе, то есть такая печень может поступить в переработку и стать источником заражения людей.

2.2.2.6 Особенности эпизоотологии анаэробной энтеротоксемии при смешанном течении с другими бактериальными болезнями

С использованием модифицированной нами схемы выделения клостридий были проведены исследования и изолированы 169 культур *Cl.perfringens* от разных видов сельскохозяйственной птицы. Помимо культур клостридий в ассоциациях были выделены культуры многих эпидемически опасных и зоопатогенных видов и родов микроорганизмов: *E.coli*, *P.aeruginosa*, *Salmonella*, *Proteus*, *Bacillus*, кокковая микрофлора и других. В литературе встречается лишь описание ассоциации *Cl.perfringens* и *E.coli*.

От яйценокских птиц *Cl.perfringens* культуры были выделены из участков тонкого кишечника и слепых отростков с характерными для АЭ повреждениями – вздутые кишки с истонченными стенками, кровоизлияния и очаги некроза слизистой оболочки, пенистое зловонное содержимое оранжево-коричневого цвета. Некоторые культуры были выделены из печени, при этом печень увеличена, с некротическими очагами; а также – из селезенки, которая тоже была увеличена. От бройлеров разного возраста культуры выделяли из кишечника с патологоанатомическими признаками клинической формы АЭ – кровоизлияния и диффузные некрозы слизистой оболочки тонкого кишечника. У перепелов ассоциация *Cl.perfringens* с *E.coli* и стафилококками вызывала выраженный дуоденит и панкреатит – воспаление поджелудочной железы.

При типировании в РН выделенные культуры были отнесены к типу А, они менее токсигенны, чем музейный штамм ATCC 13124, давали слабый рост на АГВ с 1% глюкозы, однако при подсевах к суточным культурам выделенных энтеробактерий, особенно *S.Enteritidis* и *E.coli*, наблюдали активный рост *Cl.perfringens* с обильным газообразованием и разрывами агара. В мазках находили большое количество как клостридий, так и энтеробактерий. Таким образом, установлено, что носительство сальмонелл и условно-патогенных энтеробактерий является предрасполагающим фактором в развитии субклинической формы АЭ у птиц. Факультативно-аэробные энтеробактерии, ассоциирующие с патогенными клостридиями, повышают вирулентность и токсигенность последних, способствуя быстрому и глубокому понижению окислительно-восстановительного потенциала среды и создавая этим необходимые условия для их активного размножения.

2.2.2.7 Изучение чувствительности клостридий к антибактериальным препаратам разных групп

При изучении чувствительности культур *Cl.perfringens*, выделенных из органов цыплят-бройлеров и яйценокских кур, к антимикробным препаратам разных групп, выявлена высокая резистентность к ним клостридий. В связи с чем актуально создание препарата специфической профилактики в отношении *Cl.perfringens*.

2.2.3 Разработка унифицированной методики генотипирования патогенных микроорганизмов, циркулирующих у птиц, методом двойного расщепления и избирательного мечения – ДРИМ

2.2.3.1 Подбор унифицированной комбинации ферментов рестрикции *in-silico* для одновременного генотипирования разных видов патогенов

С целью разработки эффективного и быстрого способа идентификации штаммов патогенных микроорганизмов проведена работа по созданию унифицированной методики генотипирования полевых бактериальных изолятов, циркулирующих у птиц, методом двойного расщепления и избирательного мечения – ДРИМ. Метод основан на одновременном расщеплении геномной ДНК микроорганизма двумя рестрикционными эндонуклеазами и избирательном мечении отдельных фрагментов ДНК с последующей их визуализацией. Результатом генотипирования методом ДРИМ является группа фрагментов ДНК в виде полос на фильтре, распределение которых специфично для каждого штамма.

Методология основана на использовании компьютерной программы «*in-silico*» на сайте для подбора пары ферментов рестрикции, дающих оптимальный размер фрагментов ДНК при генотипировании каждого вида патогена. Оптимизация метода заключается в подборе пар эндонуклеаз рестрикции, дающих четко различимые фрагменты ДНК, распределение которых характерно для каждого бактериального штамма. Были испытаны десятки различных комбинаций ферментов у трех родов микроорганизмов (*E.coli*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*). В результате определены ферменты, которые можно использовать для генотипирования сразу нескольких видов патогенов. Впервые предложены два фермента рестрикции: крупнощеплящая рестриктаза *XbaI* и мелкощеплящая рестриктаза *PstI*, которые являются совместимыми в одном буфере, дают оптимальный размер фрагментов ДНК при генотипировании одновременно двух родов микроорганизмов – *E.coli* и *Salmonella spp.* В отношении *Proteus spp.* данная комбинация не подходит, поэтому была отобрана другая пара ферментов – *SgsI/Eco32I*.

Новизна метода заключается в том, что впервые одновременно используются два фермента рестрикции, проводится мечение и детекция небольшой части получаемых фрагментов ДНК (30-50) с помощью Taq-полимеразы и метки Bio-dСТР. Преимуществом метода является быстрота (1 сутки в сравнении с 7 сутками метода ПГЭ), высокая точность и отсутствие ПЦР этапа. Научно-технический уровень разработки соответствует мировым стандартам, так как позволяет экономически эффективно проводить генотипирование микроорганизмов без использования дорогостоящих технологий.

2.2.3.2 Генотипирование методом двойного расщепления и избирательного мечения (ДРИМ) микроорганизмов родов *Salmonella* и *Proteus*, выделенных от птиц

Материалом для исследования служили 9 изолятов сальмонелл (*S.Enteritidis*, *S.Gallinarum*, *S.Typhimurium*) и 8 изолятов протей видов *P.vulgaris* и *P.mirabilis*, выделенных из трупов и помета птиц нескольких птицефабрик. Результаты генотипирования методом ДРИМ сальмонелл представлены в таблице 3. Генотипирование геномной

ДНК сальмонелл выявило идентичность трех изолятов *S.Gallinarum* – 2SG, 3SG и 4SG и двух *S.Enteritidis* – 1SE и 3SE. Данные генотипирования методом ДРИМ коррелируют с эпизоотологическими данными: изоляты *S.Gallinarum* были выделены из органов больных кур, находившихся в контакте в одном хозяйстве яичного направления. Идентичность генотипа сальмонелл свидетельствует о заражении кур друг от друга одним и тем же штаммом патогена. Культуры *S.Gallinarum* были выделены из разных органов кур: 2SG – из сердца, 3SG – из печени, 4SG – из яичных фолликул.

Таблица 3 – Генотипирование изолятов *Salmonella spp.* (*XbaI/PstI*)

№ изолята	№ генотипа
1ST	1
1SG	2
2SG, 3SG, 4SG	3
1SE, 3SE	4
4SE	5
5SE	6

ST – *S.Typhimurium*, SG – *S.Gallinarum*, SE – *S.Enteritidis*

Изоляты протей по данным генотипирования представляли собой отличающиеся штаммы. Исключение составили изоляты № 6 и № 7, которые были идентичными. Данные культуры были выделены из помета перепелов птицеводческого хозяйства СЗФО в 2010 и 2011 годах. Все остальные образцы были выделены из других объектов.

При количественной оценке различий между бактериальными штаммами подсчитано количество общих и отличающихся фрагментов ДНК на картинах ДРИМ. Установлено, что штамм *S.Typhimurium* значительно отличался от остальных штаммов. В то же время штаммы *S.Gallinarum* и *S.Enteritidis* отличались друг от друга в меньшей степени. Аналогичный подсчет числа общих и отличающихся фрагментов ДНК у изолятов рода *Proteus* выявил генетическую удаленность изолята № 11 вида *P.mirabilis* от остальных изолятов вида *P.vulgaris*. Количество отличающихся фрагментов ДНК составило от 40 до 47. Изоляты *P.vulgaris* отличались друг от друга на 1–11 фрагментов. Изоляты 6 и 7 не имели отличий по фрагментам ДНК, т.е. были генетически идентичными.

Таким образом, метод ДРИМ позволяет идентифицировать отдельные штаммы и группы близкородственных штаммов микроорганизмов родов *Salmonella* и *Proteus* и судить об их дивергенции. Метод можно эффективно использовать при поиске источника инфекции и выявлении путей распространения патогена во внешней среде.

2.2.3.3 Генотипирование методом ДРИМ микроорганизмов вида *Escherichia coli*, выделенных от кур яйценокских кроссов

Метод генотипирования ДРИМ для кишечной палочки разрабатывали на примере 29 изолятов *E.coli*, выделенных из различных органов кур двух птицефабрик по производству яйца одного региона. В результате генотипирования выявлены группы идентичных штаммов, которые имели одинаковый профиль всех фрагментов ДНК. Самой большой группой идентичных штаммов оказались изоляты под номерами 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13 и 14, обозначенные как генотип 1. Другие генотипы включали 2–3 изолята, либо были уникальными (1 изолят). Во многих случаях идентичные штаммы выделялись из органов одной и той же особи. В отдельных случаях были выявлены близкородственные штаммы бактерий, отличающиеся друг от друга на 1–3 фрагмента ДНК. Эти штаммы были выделены из различных органов одной и той же особи. В данном

случае можно говорить об инфицировании одновременно двумя штаммами, либо о возникновении мутации у бактерий, размножающихся в отдельных органах курицы.

Данные генотипирования изолятов кишечной палочки птицефабрики № 2 указывают на отсутствие перезаражения кур, содержащихся в разных птичниках. Все штаммы от кур разных птичников имели отличающиеся бактериальные генотипы, что свидетельствует об эффективности санитарных барьеров, предусмотренных между ними.

2.2.3.4 Генотипирование методом ДРИМ микроорганизмов вида *Escherichia coli*, выделенных от бройлеров

На бройлерной птицефабрике выделены 15 культур *E.coli* от 5 цыплят 3-х птичников. Выявлено 9 разных генотипов кишечной палочки. У одного цыпленка птичника № 23 из сердца, печени и желчи выделены культуры *E.coli* одного генотипа. У другого цыпленка того же птичника из сердца, двенадцатиперстной кишки и помета выделены 3 *E.coli* трех разных генотипов. У цыпленка птичника № 18 из сердца, печени и желчи выделены *E.coli* одного генотипа, как и в случае с цыпленком из птичника № 23. От одного цыпленка птичника № 13 из сердца и от другого этого же птичника из сердца и печени выделены *E.coli* одного генотипа, что свидетельствует о перезаражении кишечной палочкой особей в условиях одного птичника. Культуры *E.coli*, выделенные от этих птиц из двенадцатиперстных кишок и слепого отростка, относятся к разным генотипам.

2.2.3.5 Генотипирование методом ДРИМ микроорганизмов вида *Escherichia coli*, выделенных от индеек

При генотипировании методом ДРИМ 19-ти штаммов кишечной палочки *E.coli*, выделенных от индеек, выявлено 16 генотипов. Причем генотип 1 включал два генетически идентичных изолята – 1с и 2п, которые были выделены из сердца и печени индейки № 1 из птичника № 12. Идентичными были также два изолята 11с и 20д, выделенные из сердца и двенадцатиперстной кишки одной индейки из птичника № 14. Сравнение фрагментов ДНК позволило найти изолят бактерии, выделенной из двенадцатиперстной кишки индейки № 1 из птичника № 12, который оказался генетически близким к двум идентичным изолятам 1с и 2п. Различие составило всего 3 фрагмента ДНК. В этом случае можно предполагать возникновение мутаций у бактерий, растущих в разных органах одной и той же особи. Во всех остальных случаях различия составляли больше 10 фрагментов ДНК, что указывает на различное происхождение бактерий.

2.2.3.6 Генотипирование методом ДРИМ микроорганизмов вида *Escherichia coli*, выделенных от перепелов и гусей

При генотипировании изолятов кишечной палочки, выделенных от гусей и перепелов 4-х хозяйств, выявлено 16 генотипов. Генотипы 14а (1-я особь, 2 изолята из сердца и печени) и 14б (2-я особь, 2 изолята из сердца и печени) генетически очень близкие, различие всего 1 фрагмент ДНК. В этом случае подтверждаются сделанные ранее выводы о том, что у одной особи в разных органах могут одновременно сосуществовать разные генетические штаммы патогена. Генетическая близость таких штаммов объясняется появлением мутации, дающей селективное преимущество бактерии для размножения.

2.2.3.7 Разработка молекулярно-генетического подхода для генотипирования методом ДРИМ микроорганизмов вида *Clostridium perfringence*, и испытание метода на группе полевых изолятов, выделенных от разных видов птиц

Для генотипирования методом ДРИМ микроорганизмов вида *Cl.perfringence* оптимальной парой для совместной работы в реакции подобраны ферменты *Sall* и *BsuRI*.

Оба фермента доступны из одного источника (Thermo Scientific), хорошо совместимы в одном буфере этой же фирмы – буфер O, высокоспецифичны и недороги. Для испытания метода были отобраны 10 культур *Cl.perfringens*, выделенные в птицеводствах различных регионов РФ от бройлеров, индеек, перепелов, гусей. По результатам генотипирования *Cl.perfringence* были выявлены как уникальные изоляты, распределение фрагментов ДНК в которых были различными, так и генетически близкие, у которых число различающихся фрагментов ДНК составляло всего от 2 до 4, или полностью идентичные. Идентичность генетических профилей свидетельствует о циркулировании одного штамма в пределах разных птичников, т.е. о перезаражении.

2.2.4 Формирование системы профилактики болезней птиц бактериальной этиологии с использованием препаратов на основе органических кислот

2.2.4.1 Изучение эффективности кормовых добавок КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо в отношении клостридий в экспериментальных условиях

Мы изучили влияние кормовых добавок на основе органических кислот – КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо – на продуктивность и сохранность цыплят-бройлеров в экспериментальных условиях при заражении культурой *Cl.perfringens*. Препараты, выпускаемые под торговой маркой КЛИМ (ООО «Инновационное предприятие Апекс Плюс», Санкт-Петербург, Россия), – экологически безопасные многофункциональные кормовые добавки отечественного производства, уникальный состав которых оптимален, подкисляет корм и питьевую воду. В состав входят янтарная, малоновая, молочная, салициловая кислоты, лимоннокислый натрий и др. компоненты в разных сочетаниях.

При исследовании в условиях вивария ВНИВИП на суточных бройлерах установлено, что цыплята всех подопытных групп, получавших кормовые добавки и зараженные культурой *Cl.perfringens*, на протяжении всех сроков исследования имели значительно более высокую живую массу, чем контрольные. Наилучший результат показал КЛИМ Гидро. Полученные данные указывают на то, что средства неспецифической профилактики на основе органических кислот КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо, КЛИМ положительно влияют на продуктивность цыплят-бройлеров, показали положительную динамику в стимуляции роста при заражении *Cl.perfringens*. Их использование позволяет предотвратить потерю массы тела, являющуюся следствием анаэробной энтеротоксемии.

2.2.4.2 Изучение антибактериальной активности подкислителя Сальмоцил FL в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц

Нами была изучена антибактериальная эффективность подкислителя Сальмоцил FL в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц, являющихся в том числе и контаминантами кормов. Сальмоцил FL (ООО «ИП «Апекс Плюс») – кормовая добавка для снижения уровня патогенной микрофлоры в воде для поения и кормах для свиней и сельскохозяйственной птицы, обеззараживания воды и кормов, снижения уровня pH в желудочно-кишечном тракте, улучшения пищеварения. В состав входят пропионовая, муравьиная, молочная кислоты, муравьинокислый аммоний, пропиленгликоль.

В работе использовали 10 видов возбудителей: *S.Typhimurium*, *S.Gallinarum*, *S.Enteritidis*, *E.coli*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *St.aureus*, *St.citreus*, *St.epidermidis*, *B.cereus*. Минимальные подавляющую (бактериостатическую) и бактерицидную концентрации (МПК и МБК) определяли методом серийных разведений в МПБ с последующим высевом на МПА и другие среды. В отношении большинства культур Сальмоцил FL показал бактериостатический эффект в 0,20% концентрации препарата. Лишь у трех

культур – *S.Typhimurium*, *E.coli*, *St.aureus* – МПК составила 0,39%. Выраженную бактерицидную активность Сальмоцил FL показал в 0,39% концентрации в отношении всех исследованных грамотрицательных культур: трех видов сальмонелл, кишечной палочки, протей и синегнойной палочки. В отношении грамположительных культур (трех видов стафилококков – золотистого, белого и лимонно-желтого) – в 0,78% концентрации. Лишь у культуры *B.cereus* МБК составила 3,1%.

2.2.4.3 Изучение антибактериальной активности подкислителя Сальмоцил F в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц

Сальмоцил F в качестве действующих веществ содержит научно обоснованную, сбалансированную смесь органических кислот: муравьиной, молочной, фумаровой, лимонной, пропионовой в виде пропионата натрия, а также бентонитовую глину, оксид кремния. Общее содержание кислот и пропионата натрия более 70%.

Антибактериальную эффективность Сальмоцила F изучали на тех же культурах, что и Сальмоцил FL, при добавлении препарата в плотную питательную среду (МПА). Сальмоцил F добавляли в дозах 0,5 г на 100 см³ среды, 0,3 г и 0,25 на 100 см³ среды и контроль – питательная среда без добавления подкислителя. На поверхность чашки Петри с питательной средой делали посев штрихом суточной бульонной культуры исследуемого микроорганизма. Через сутки после инкубирования в термостате при температуре 37,0±0,5°С визуально оценивали рост культур в сравнении с контролем. Все опыты были проведены в трех повторностях.

Установлено, что Сальмоцил F в дозе 0,5 г на 100 см³ полностью препятствует росту всех видов изученных микроорганизмов – бактерицидное действие. В дозе 0,3 г на 100 см³ среды обладает бактерицидным действием и полностью подавляет рост *S.Gallinarum* и *St.epidermidis*. В отношении остальных видов возбудителей в дозе 0,3 г Сальмоцил F частично подавляет рост микроорганизмов, оказывая бактериостатическое действие. В дозе 0,25 г препарат подавляет рост микроорганизмов всех исследуемых видов, оказывая бактериостатическое действие.

В результате исследований установлено, что препараты Сальмоцил FL и Сальмоцил F обладают высокой бактериостатической и бактерицидной активностью в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц, в том числе сальмонелл и синегнойной палочки, оптимальны для подавления и препятствия росту и активному размножению патогенной и условно-патогенной микрофлоры в воде и кормах.

2.2.5 Создание и испытание препарата специфической профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц – опытного образца вакцины инактивированной сорбированной

2.2.5.1 Разработка технологии изготовления вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц

После подбора штамма *Cl.perfringens* (от кур птицефабрики по производству яйца) нами разработана технология изготовления и создан опытный образец инактивированной сорбированной вакцины против анаэробной энтеротоксемии птиц. Стадии технологического процесса создания вакцины: получение биомассы вакцинного штамма *Cl.perfringens*; инактивация и контроль биомассы; получение инактивированной вакцины; расфасовка, этикетирование, упаковка; контроль. Для инактивации культуры *Cl.perfringens* использовали препараты А-24 (теотропин) или димер аминоэтилэтиленмина (АЭЭИ). Для получения готовой формы вакцины использовали полученную биомассу, 2% раствор гидроксида алюминия (ГОА) и стерильный физраствор. ГОА вносили от 5 до 10% от общего объема готового продукта. Контроль вакцины проводили на

стерильность, безвредность и иммуногенные свойства. Исследования на стерильность проводили методом посева на питательные среды, на безвредность и активность – путем вакцинации и последующего заражения цыплят. Схематично стадии технологического процесса создания вакцины против анаэробной энтеротоксемии птиц представлены на рисунке 3.



Рисунок 3 – Стадии технологического процесса создания вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц

2.2.5.2 Контроль стерильности вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц

Для определения стерильности препарата образцы исследовали согласно ГОСТ 28085-2013 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения» путем высевы на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновым маслом, бульон и агар Сабура (для контроля на грибы). Рост микроорганизмов ни на одной из сред с посевами и пересевами не был отмечен в течение 10 дней наблюдения. Вакцина стерильна.

2.2.5.3 Контроль безвредности вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц

Безвредность вакцины проверяли в соответствии с ГОСТ 31926-2013 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Методы определения безвредности» на клинически здоровых цыплятах яйценоского кросса 28-дневного возраста и 20-дневных цыплятах-бройлерах путем внутримышечного введения ее в каждое крыло между локтевой и лучевой костями в дозе 2,0 см³ – 4-х-кратная доза.

Цыплята оставались живыми и клинически здоровыми в течение 10-ти дней наблюдения, хорошо поедали корм, пили воду. Местной реакции в точке введения (припухлости, покраснения, повышения температуры, болезненности и т.п.) не наблюдали. При вынужденном убое по окончании опыта макроскопических изменений во внутренних органах и на месте введения вакцины не обнаружено.

2.2.5.4 Отработка моделей заражения цыплят культурами *Clostridium perfringens* для контроля эффективности вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц

С целью дальнейшего контроля эффективности вакцины против АЭ птиц проводили отработку моделей внутримышечного и перорального (per os) заражения цыплят культурами *Cl.perfringens*. При заражении цыплят 35-дневного возраста внутримышечно (в грудную мышцу) культурой клостридий в дозе 0,5 см³ суточной бульонной культуры у птицы наблюдался разлитой некроз мышц на месте введения культуры, дуоденит, энтериты. При заражении перорально в дозе 1,0 см³ суточной бульонной культуры клостридий контроль проводили с использованием прижизненного метода исследования проб помета. У зараженных птиц выделяли культуру заражающего штамма на среде Вильсона-Блера.

2.2.5.5 Контроль иммуногенной активности вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии на яйценокоской птице

Контроль иммуногенной активности вакцины проводили на клинически здоровых цыплятах 28-дневного возраста яйценокоского кросса Ломанн белый. Всего в опыте использовали 40 голов птиц (4 группы-аналога по 10 голов в каждой). Вакцину цыплятам подопытной группы вводили внутримышечно в крыло между локтевой и лучевой костями в дозе 0,5 см³. Цыплят контрольных групп не вакцинировали. Через 21 день после вакцинации вся подопытная птица и контроль были заражены оттитрованной дозой вирулентной культуры *Cl.perfringens* внутримышечно в грудную мышцу в дозе 0,5 см³. За подопытной птицей вели ежедневное наблюдение в течение 14 дней.

В группе контроля заражения в течение четырех суток пали три цыпленка. У павших цыплят на вскрытии отмечены патологоанатомические признаки АЭ – геморрагический дуоденит и энтерит, изменения в печени. От павших цыплят выделена культура заражающего штамма *Cl.perfringens* из двенадцатиперстной, тощей и слепой кишок. Вакцинированные цыплята подопытной группы, а также групп контроль введения и чистый контроль оставались живыми и клинически здоровыми на протяжении всего срока наблюдения. По окончании опыта все выжившие цыплята были убиты, вскрыты, проведены патологоанатомическое и бактериологическое исследования. У контрольных цыплят на вскрытии отмечены патологоанатомические признаки, характерные для АЭ, – разной степени интенсивности дуоденит, энтерит, многочисленные точечные кровоизлияния на двенадцатиперстной и тощей кишках. У вакцинированных цыплят признаки АЭ не выявлены (рисунки 4-5).



Рисунки 4-5 – Геморрагический дуоденит павшей курицы контрольной группы (не-вакцинированная) и отсутствие патологических изменений двенадцатиперстной кишки убитой курицы опытной группы (вакцинированная), зараженных *Clostridium perfringens*

2.2.5.6 Контроль иммуногенной активности вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц на цыплятах-бройлерах

Контроль иммуногенной активности вакцины на бройлерах проводили на 40 цыплятах 20-дневного возраста (4 группы по 10 голов). Вакцинацию и заражение проводили аналогично контролю на яйценокоской птице. Цыплята всех групп оставались живыми на протяжении всего срока наблюдения. У зараженных невакцинированных цыплят отмечено заметное отставание в росте и развитии, недобор массы тела. При убое по окончании опыта на вскрытии у контрольных цыплят отмечены патологоанатомические признаки, характерные для АЭ, – дуоденит, энтерит, многочисленные точечные кровоизлияния на двенадцатиперстной и тощей кишках. У вакцинированных цыплят патологические признаки АЭ отсутствовали. Из проб кишечника контрольных цыплят выделены культуры заражающего штамма *Cl.perfringens*, из проб подопытных вакцинированных цыплят клостридии не выделены.

2.2.5.7 Разработка проекта нормативной документации на вакцину инактивированную сорбированную против анаэробной энтеротоксемии птиц

В результате проведенных исследований разработан опытный образец вакцины инактивированной сорбированной против анаэробной энтеротоксемии птиц, отработаны методы контроля вакцины. Испытания опытного образца с положительным результатом проведены в условиях лаборатории и вивария института на яйценокоской птице и бройлерах. В результате работы подготовлен проект нормативной документации на инактивированную сорбированную вакцину против анаэробной энтеротоксемии птиц: стандарт, инструкция по применению, дизайн этикетки.

2.2.6 Создание и испытание препарата специфической профилактики сальмонеллеза птиц – вакцины инактивированной эмульгированной

2.2.6.1 Подбор штаммов *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium*, выбор и отработка метода инактивации их биомассы

Для создания лекарственной композиции с новым антигенным дизайном для специфической профилактики сальмонеллеза птиц мы разработали двухкомпонентную инактивированную вакцину, включающую наиболее распространенные в настоящее время в птицеводствах серотипы *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium*. Для проведения исследований были отобраны по три ранее выделенных в птицеводствах РФ изолята *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium*. В качестве инактивантов использовали формалин и АЭЭИ. При отработке режимов инактивации выбирали то наименьшее количество инактиванта, которое при заданных температурных и временных параметрах гарантированно инактивировало культуру сальмонелл.

2.2.6.2 Оценка антигенных свойств *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium*

Антигенные свойства продуцентов оценивали в сравнительном аспекте по уровню вырабатываемых антител после иммунизации птицы инактивированными продуктами исследуемых изолятов. Инактивированную как формалином, так и АЭЭИ микробную биомассу каждого изолята в концентрации 10^8 КОЕ/см³ использовали для иммунизации цыплят яйценокоского кросса 90-дневного возраста. Исследования показали, что титры антител сыворотки крови от цыплят, иммунизированных изолятами культур, инактивированных АЭЭИ, в 1,8–2,1 раз выше, чем титры антител сывороток от цыплят, иммунизированных теми же изолятами, но инактивированных формалином. По результатам оценки титров антител из 6 изолятов были выбраны по одному каждого серотипа в качестве продуцентов биомассы для дальнейших работ по изготовлению вакцины.

2.2.6.3 Отработка методов контроля полноты инактивации *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium*

Для контроля полноты инактивации *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* отобранные из инактивированной биомассы пробы высевали на питательные среды.

2.2.6.4 Разработка компонентного состава и лекарственной формы вакцины инактивированной эмульгированной против сальмонеллеза птиц

Для определения адъювантной формы препарата один и тот же антиген *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* в одинаковых количествах, составляющих 10^8 КОЕ в дозе вакцины, заключали в адъювантную форму, используя «Монтанид ISA-70» и ГОА. Эмульсию получали путем медленного внесения водного компонента (антигенов сальмонелл) в масляный адъювант в процессе их гомогенизации при 3 тыс. об/мин в течение 2 мин, а затем при 12 тыс. об/мин в течение 3 мин. Соотношение «масляный адъювант – антиген» составляло 70:30. При изготовлении образцов сорбентвакцины на базе ГОА использовали мелкодисперсную 2% суспензию, которую вводили в антигены в количестве 10%. Антигенные свойства образцов вакцин оценивали по уровню вырабатываемых у птицы антител через 30 дней после их иммунизации. Наиболее высокий иммунный ответ был получен после применения вакцин, изготовленных на базе масляного адъюванта.

Для определения оптимального количества антигена в одной дозе препарата, объем которой равнялся $0,5 \text{ см}^3$, на базе масляного адъюванта «Монтанид ISA-70» были изготовлены образцы вакцин против *S. Enteritidis* и против *S. Typhimurium* с различным количеством антигена в одной дозе: $10,0^7$ КОЕ, $10,0^{7,7}$ КОЕ, $10,0^8$ КОЕ, $10,0^{8,7}$ КОЕ и $10,0^9$ КОЕ. Антигенные свойства полученных таким образом образцов вакцин также оценивали по уровню вырабатываемых у птицы антител через 30 дней после иммунизации. Результаты представлены на рисунке 6. Оптимальное количество антигена в дозе вакцины находится в области $10,0^8$ КОЕ как для антигена *S. Enteritidis*, так и для *S. Typhimurium*. Дальнейшее увеличение количества антигена в дозе вакцины уже не столь значительно повышает титры антител после иммунизации.

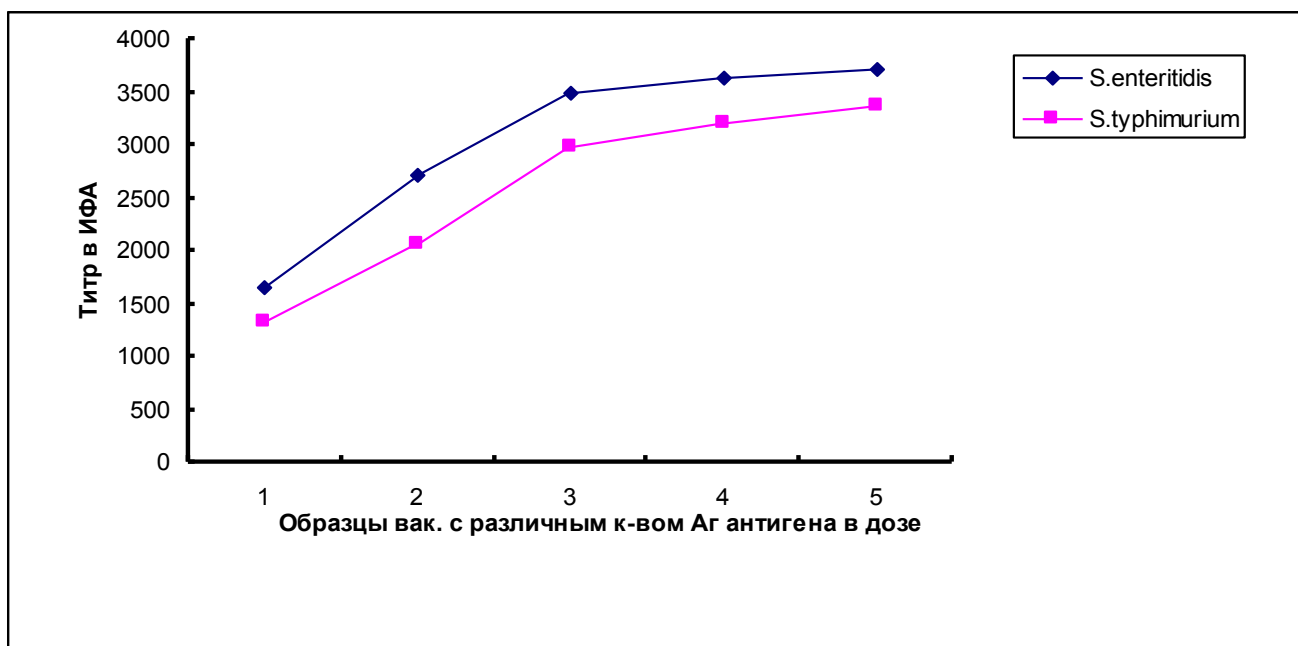


Рисунок 6 – Уровень титров антител, выявленных в ИФА, после иммунизации цыплят моновалентными образцами вакцин против *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* с различным количеством антигена в дозе ($10,0^7$ КОЕ, $10,0^{7,7}$ КОЕ, $10,0^8$ КОЕ, $10,0^{8,7}$ КОЕ, $10,0^9$ КОЕ)

2.2.6.5 Изготовление образцов вакцины, отличающихся по компонентному составу

Далее изготовлено 4 образца вакцин, отличающихся по компонентному составу: образец № 1 – моновалентная инактивированная масляно-эмульсионная вакцина против *S.Enteritidis*, № 2 – моновалентная инактивированная масляно-эмульсионная вакцина против *S.Typhimurium*, № 3 – бивалентная инактивированная масляно-эмульсионная вакцина против *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium*, № 4 – бивалентная инактивированная масляно-эмульсионная вакцина *S.Enteritidis* + *S.Typhimurium* + Иммуномодулятор.

2.2.6.6 Изучение иммуногенной активности образцов инактивированных вакцин против сальмонеллеза птиц

Образцы вакцин исследовали по следующим параметрам: внешний вид, стерильность, стабильность эмульсии, вязкость, безвредность, иммуногенная активность. Из четырех образцов вакцин по иммуногенным свойствам выделялся образец № 4 – бивалентная инактивированная масляно-эмульсионная вакцина (*S.Enteritidis* + *S.Typhimurium* + Иммуномодулятор), представляющая собой эмульсию, дисперсная фаза которой содержит антигены *S.Enteritidis* и *S.Typhimurium* по $10,0^8$ КОЕ каждого в одной дозе и иммуномодулятор, а дисперсионная среда – масляный адьювант «Монтанид ISA-70». Такой компонентный состав и композиция вакцины были приняты для проведения последующих исследований. В качестве иммуномодулятора был использован полиоксидоний – высокомолекулярный препарат с широким спектром фармакологического действия. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Иммуногенная активность изготовленных образцов вакцин

Образец вакцины	Иммуногенная активность вакцины против <i>S.Enteritidis</i> (%)	Иммуногенная активность вакцины против <i>S.Typhimurium</i> (%)
№ 1 против <i>S.Enteritidis</i>	83,3	–
№ 2 против <i>S.Typhimurium</i>	–	80,0
№ 3 против <i>S.Enteritidis</i> + <i>S.Typhimurium</i>	80,0	83,3
№ 4 против <i>S.Enteritidis</i> + <i>S.Typhimurium</i> + Иммуномодулятор	90,0	86,7
Контрольные группы	Выделение <i>S.Enteritidis</i> (%)	Выделение <i>S.Typhimurium</i> (%)
Контроль 1 заражение <i>S.Enteritidis</i>	100	–
Контроль 2 заражение <i>S.Typhimurium</i>	–	93,3
Контроль 3 заражение <i>S.Enteritidis</i> + <i>S.Typhimurium</i>	100	100

В программах вакцинаций на птицефабриках для достижения высокого эффекта используются схемы применения сначала живой вакцины, а затем по созданному иммунному фону – инактивированной, или двукратное применение инактивированной. Поэтому в следующие исследования была включена двукратная вакцинация цыплят.

2.2.6.7 Изучение иммуногенной активности образца вакцины инактивированной эмульгированной против сальмонеллеза птиц в сравнении с референс-препаратами (вакцинами зарубежного производства)

Следующую серию экспериментов по оценке иммуногенных свойств образца вакцины № 4 проводили в сравнительном аспекте с инактивированными вакцинами импортного производства, которые были приняты как референс-препараты. В первом

опыте цыплят 10-дневного возраста разделили на 3 группы по 60 голов в каждой: две подопытные группы и одна – контроль заражения. Цыплят 1-й подопытной группы вакцинировали изготовленным нами образцом вакцины, цыплят 2-й – вакциной импортного производства, третью группу цыплят оставляли интактной. Через 30 дней после вакцинации по 30 голов цыплят из каждой группы отсаживали и проводили пероральное заражение штаммами *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium*. На 1-е, 2-е и 3-и сутки после заражения по 10 голов цыплят каждой группы убивали и проводили бактериологическое исследование паренхиматозных органов, содержимого тонкого отдела кишечника и желчного пузыря. Оставшихся цыплят двух подопытных групп вакцинировали повторно. Через 30 дней после повторной вакцинации проводили пероральное заражение штаммами *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* всех цыплят. Далее исследования проводили так же, как и в первой части опыта. В результате разработанный нами образец вакцины по своим иммуногенным параметрам не уступает вакцине импортного производства. Результаты исследований приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Иммуногенная активность изготовленного образца вакцины в сравнении с референс-препаратом

Образец вакцины	Иммуногенная активность вакцины против <i>S. Enteritidis</i> (%)	Иммуногенная активность вакцины против <i>S. Typhimurium</i> (%)
Однократная вакцинация		
Образец вакцины против <i>S. Enteritidis</i> + <i>S. Typhimurium</i> + Иммуномодулятор	93,3	86,7
Импортная вакцина	86,7	83,3
Контроль заражения (% выделения сальмонелл)	100	-
Двукратная вакцинация		
Образец вакцины против <i>S. Enteritidis</i> + <i>S. Typhimurium</i> + Иммуномодулятор	100	100
Импортная вакцина	100	100
Контроль заражения (% выделения сальмонелл)	100	100

Во втором опыте изучали иммуногенные свойства образца вакцины № 4 в сравнении с двумя разными референс-препаратами зарубежного производства. В опыте использовали 40 цыплят (4 группы по 10 голов). Цыплята 1-й, 2-й и 3-й подопытных групп были провакцинированы референс-препаратами и вакциной «Сальмокрон». Контрольных цыплят не вакцинировали. Через 3 недели после вакцинации всех цыплят заражали перорально смесью культур сальмонелл в дозе 1 см³. Эффективность вакцинации оценивали по выделению сальмонелл из помета и трупов (при убое). Пробы помета отбирали ежедневно, убой проводили на 3-й, 5-й и 8-й дни. На протяжении опыта от цыплят 1-й группы выделены 7 культур сальмонелл: 5 из помета, 2 из трупов. От цыплят 2-й группы – 3 культуры из помета. От цыплят 3-й группы («Сальмокрон») – ни одна культура сальмонелл не выделена. От контрольных цыплят выделены 15 культур сальмонелл: 12 из помета, 3 из трупов.

В результате вакцина «Сальмокрон» в сравнении с референс-препаратами показала наилучшие результаты и выраженные антиинвазивные свойства.

2.2.6.8 Разработка технологического процесса изготовления вакцины инактивированной эмульгированной против сальмонеллеза птиц

Нами разработаны этапы технологического процесса изготовления инактивированной вакцины против сальмонеллеза птиц, технические требования к составу, технологическим операциям, технологической документации, качеству производственного процесса, эксплуатации, удобству технического обслуживания, безопасности и сырью.

2.2.6.9 Разработка нормативной документации на вакцину инактивированную эмульгированную против сальмонеллеза птиц «Сальмокрон»

Для создания специфической биологической защиты птицеводств и охраны здоровья людей создана вакцина «Сальмокрон» против сальмонеллеза птиц инактивированная эмульгированная. Разработаны этапы технологического процесса изготовления вакцины, компонентный состав и лекарственная форма, отработаны методы контроля. Вакцина изготовлена из культур *Salmonella Enteritidis* (SE), *Salmonella Typhimurium* (ST), инактивированных димером аминоксилэтиленимина (АЭЭИ) с добавлением масляного адьюванта «Монтанид ISA-70», содержит один из инактивированных антигенов SE, ST или их смесь. В одной иммунизирующей дозе содержится не менее 8,5 Ig инактивированных клеток каждого из штаммов *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*. Вакцина расфасована по 50 см³ (100 доз), 100 см³ (200 доз), 200 см³ (400 доз), 250 см³ (500 доз), 450 см³ (900 доз). Вакцина предназначена для профилактики сальмонеллеза птиц в племенных и товарных птицеводческих хозяйствах различного направления. Способствует получению здорового потомства и обеспечивает продолжительный однородный иммунитет в течение всего периода выращивания. Антиинвазивные свойства вакцины препятствуют распространению возбудителя в организме инфицированных птиц. Вакцина после однократного введения на 21–28 сутки после вакцинации вызывает формирование специфического иммунного ответа, который сохраняется не менее 12 месяцев. Вакцина безвредна, лечебными свойствами не обладает, не вызывает поствакцинальных реакций. Реализация столового и инкубационного яйца проводится без ограничений, независимо от срока вакцинации.

Подготовлена нормативная документация на инактивированную эмульгированную вакцину против сальмонеллеза птиц «Сальмокрон»: регламент изготовления, стандарт, инструкция по применению, дизайн этикетки. Вакцина зарегистрирована в Федеральной службе по ветеринарному и фитосанитарному надзору, регистрационное удостоверение выдано бессрочно. Применение в птицеводствах вакцины «Сальмокрон» позволяет создать стабильное благополучие в отношении сальмонеллеза, что также обеспечивает охрану здоровья людей от этой инфекции.

2.2.6.10 Технико-экономические исследования эффективности внедрения разработки вакцины против сальмонеллеза птиц

Из расчета следует, что стоимость 1 тыс. доз инактивированной вакцины против сальмонеллеза птиц составляет 4367,00 руб. Рыночная цена вакцины зарубежного производства – 6500,00 руб. за 1 тыс. доз. Техническая возможность института позволяет выпускать не менее 1200,0 тыс. доз вакцины в год. Анализ рынка инактивированных вакцин против сальмонеллеза птиц показал, что созданная вакцина обладает преимуществом в цене реализации по сравнению с существующими аналогами, не уступая им в качественных характеристиках. Годовой экономический эффект (определенный по формуле) от применения вакцины против сальмонеллеза птиц «Сальмокрон» составит 2 559 600 руб. Промышленное производство новой отечественной вакцины позволит достичь увеличения годового экономического эффекта в 10–15 раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. При изучении биоразнообразия патогенной микрофлоры, выделяемой от сельскохозяйственной птицы, установлено, что спектр микроорганизмов, циркулирующих на птицефабриках различного технологического направления, достаточно широк, зависит от вида птицы и технологии содержания. Доминирующими являются *Escherichia coli*, удельный вес – 45,1%, кокковая микрофлора – 27,2%, *Proteus* – 14,2%. Видовой состав выделяемой микрофлоры специфичен для каждого отдельного хозяйства. Во всех случаях отмечали развитие смешанных инфекций (в т.ч. с вирусными и паразитарными болезнями).

2. Усовершенствованная и модифицированная методика выделения клостридий *Clostridium perfringens* из патологического материала – метод двойной индикации с промежуточным накоплением – дает возможность быстрого выделения чистой культуры возбудителя анаэробной энтеротоксемии птиц. Методика типирования культур полевых изолятов *Clostridium perfringens* в реакции нейтрализации с сыворотками антитоксическими Клостридиум перфрингенс типов А, С, D диагностическими на модели развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) 7-суточного срока инкубации позволяет определить вид и тип возбудителя по основному летальному токсину.

3. Универсальный способ быстрого генотипирования микроорганизмов с использованием метода двойного расщепления и избирательного мечения (ДРИМ) с унификацией используемых ферментов для идентификации штаммов патогенных культур микроорганизмов, выделенных от птиц, позволяет выявить пути распространения инфекции и локализации источника патогена бактериальной природы.

4. Средства неспецифической профилактики на основе органических кислот КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо положительно влияют на продуктивность цыплят-бройлеров, эффективны для профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц, в том числе при заражении *Clostridium perfringens*.

5. Кормовые добавки на основе органических кислот Сальмоцил FL и Сальмоцил F обладают высокой бактериостатической (в концентрациях 0,20–0,25%) и бактерицидной (0,39–0,30%) активностью в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц, оптимальны для подавления и препятствия росту и активному размножению патогенной и условно-патогенной микрофлоры в воде и кормах.

6. Вакцина против анаэробной энтеротоксемии птиц обладает выраженными иммуногенными и антиинвазивными свойствами, позволяет профилактировать анаэробную энтеротоксемию в птицеводстве, снижая экономические потери от этой инфекции.

7. Применение в птицеводствах вакцины «Сальмокрон» позволяет создать стабильное благополучие в отношении сальмонеллеза. Годовой экономический эффект от ее применения составит 2 559 600 руб. Промышленное производство новой отечественной вакцины позволит достичь увеличения годового экономического эффекта в 10–15 раз.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании результатов проведенных исследований для внедрения в ветеринарную практику предложен препарат специфической профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц – вакцина инактивированная сорбированная. Разработаны нормативные документы, регламентирующие изготовление, контроль и применение данного биопрепарата. Внедрение в практику вакцины против анаэробной энтеротоксемии птиц позволит профилактировать эту инфекцию в птицеводстве, благодаря чему будут

уменьшены или исключены потери продукции, ею вызванные. Разработанная вакцина позволит контролировать эпизоотическую ситуацию в отношении анаэробной энтеротоксемии птиц в птицеводствах, снижая экономические потери от этой инфекции.

Для создания стабильного эпизоотического благополучия в отношении сальмонеллеза в промышленном птицеводстве рекомендуем применение в птицеводствах инактивированной эмульгированной вакцины «Сальмокрон». Регулярная вакцинация будет способствовать получению безопасной доброкачественной продукции, свободной от сальмонелл. Создание специфической защиты против сальмонеллеза птиц обеспечивает охрану здоровья людей от этой инфекции.

Для снижения бактериальной инфицированности, увеличения продуктивности птицы, профилактики бактериальных болезней рекомендуем применять кормовые добавки отечественного производства (ООО «Инновационное предприятие «Апекс Плюс») с торговой маркой «КЛИМ». Для снижения и предотвращения обсеменения кормов патогенной и условно-патогенной микрофлорой с целью создания эпизоотического благополучия хозяйства в отношении сальмонеллезов и получения безопасной продукции, свободной от зоопатогенной и эпидемиологически опасной микрофлоры, рекомендуем подкислители отечественного производства Сальмоцил FL и Сальмоцил F (ООО «ИП «Апекс Плюс»).

Разработанный метод генотипирования ДРИМ позволяет выявить пути распространения патогенных штаммов микроорганизмов в полевых условиях. Метод можно рекомендовать для решения вопросов эпидемиологии и эпизоотологии, генетической паспортизации бактериальных штаммов. Предложенный метод носит универсальный характер, так как может быть адаптирован практически к любому микроорганизму. Предлагаемый метод технически несложен и может выполняться в обычных молекулярно-генетических и микробиологических лабораториях.

Разработанные методические положения «Контроль сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц» и «Диагностика, профилактика и меры борьбы с анаэробной энтеротоксемией птиц» и учебно-методическое пособие «Выявление и генотипирование возбудителей сальмонеллеза птиц (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*) молекулярно-биологическими методами» могут быть использованы в работе врачами-бактериологами лабораторий птицефабрик и бактериологических отделов ветеринарных лабораторий. На основе результатов диссертационного исследования усовершенствована лабораторная диагностика клостридий. Эти разработки целесообразно использовать с диагностической целью в птицеводческих хозяйствах, в ветеринарных лабораториях.

Предложенные нами методы лабораторной диагностики и средства неспецифической и специфической профилактики характеризуются высоким уровнем технического решения задачи контроля болезней птиц бактериальной этиологии и рекомендованы к использованию на практике. Все рекомендуемые нами препараты показали свою высокую эффективность и безопасность во время доклинических и клинических испытаний и могут быть использованы в практической работе ветеринарными врачами.

Основные научные положения диссертационной работы и ее практические результаты использованы при издании двух монографий, методических положений, учебно-методического пособия и рекомендуются к применению при написании, подготовке учебников, учебных пособий и монографий по микробиологии, эпизоотологии, иммунологии для студентов вузов по специальностям «Ветеринария», «Зоотехния» и направлениям подготовки «Биоэкология», «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

Материалы, изложенные в диссертации, рекомендуется использовать в учебном и научно-исследовательском процессе на ветеринарных факультетах при чтении лекций и

проведении лабораторно-практических занятий по микробиологии, эпизоотологии со студентами, аспирантами и научными работниками, а также на курсах повышения квалификации ветеринарных врачей, врачей-бактериологов, при проведении научно-исследовательских работ в НИИ и вузах ветеринарного профиля.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективно дальнейшее повсеместное внедрение и использование в практике нового способа генотипирования бактериальных изолятов, основанного на методе двойного расщепления и избирательного мечения фрагментов ДНК (ДРИМ) для идентификации микроорганизмов с целью поиска путей передачи инфекции и выявления источника патогена, а также для решения других вопросов эпидемиологии и эпизоотологии, генетической паспортизации штаммов.

Изученные и внедренные в производство средства неспецифической и специфической профилактики открывают перспективу дальнейшего расширения спектра противобактериальных препаратов, а также создания комбинированных препаратов и способов профилактики и лечения бактериальных болезней птиц. Поскольку разработка вакцины против анаэробной энтеротоксемии птиц востребована в яичном и бройлерном птицеводстве, видится перспективным продолжить подобные исследования по болезням других видов сельскохозяйственных птиц – индеек, перепелов, гусей.

В соответствии с требованием международного Кодекса здравоохранения наземных животных ветеринарная служба каждой страны должна иметь и осуществлять программу эпизоотологического надзора за сальмонеллезом в хозяйствах. Наличие такой программы – одно из условий мировой торговли птицеводческой продукцией. Весьма перспективно включение вакцины «Сальмокрон» в эту программу.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ

1. Борисенкова, А.Н. Бактериофаг против сальмонеллеза птиц / А.Н. Борисенкова, С.В. Цыганова, О.Б. Новикова // Животноводство России. – 2008. – № 5. – С. 13-14.
2. Новикова, О.Б. Проблема анаэробной энтеротоксемии птиц в промышленном птицеводстве / О.Б. Новикова, А.Н. Древило // Ветеринарная практика. – 2009. – № 4 (47). – С. 13-17.
3. Джавадов, Э.Д. Изучение иммуногенной активности образцов инактивированных вакцин против сальмонеллеза птиц / Э.Д. Джавадов, А.С. Дубовой, М.Е. Дмитриева, О.Б. Новикова // Международный вестник ветеринарии. – 2010. – № 2. – С. 8-13.
4. Джавадов, Э.Д. Разработка инактивированной вакцины против сальмонеллеза птиц / Э.Д. Джавадов, А.С. Дубовой, М.Е. Дмитриева, О.Б. Новикова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2010. – № 2. – С. 45-48.
5. Борисенкова, А.Н. Эффективность применения новых антибактериальных средств в промышленном птицеводстве / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова, А.В. Варюхин // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С. 18-19.
6. Борисенкова, А.Н. Флорфеникол в птицеводстве / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова, П. Оконеvский // Птицеводство. – 2012. – № 3. – С. 43-45.
7. Борисенкова, А.Н. Кормовые добавки для профилактики колибактериоза и сальмонеллеза у бройлеров / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова, Р.Р. Абдрахимов // Комбикорма. – 2013. – № 5. – С. 95-96.

8. Терлецкий, В.П. Эффективный молекулярно-генетический метод идентификации штаммов сальмонелл и протей / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – № 5. – С. 60-63.
9. Новикова, О.Б. Диагностика и профилактика анаэробной энтеротоксемии птиц в промышленном птицеводстве / О.Б. Новикова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 4. – С. 58-61.
10. Новикова, О.Б. *Clostridium perfringens* – эпидемиологически опасный микроорганизм, выделяемый от птиц / О.Б. Новикова // Птица и птицепродукты. – 2015. – № 6. – С. 37-38.
11. Терлецкий, В.П. Молекулярно-генетический анализ микроорганизмов как инструмент в системе профилактики инфекционных заболеваний животных / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. – № 7. – С. 58-62.
12. Новикова, О.Б. Подкислители против возбудителей болезней / О.Б. Новикова // Комбикорма. – 2016. – № 1. – С. 115-116.
13. Джавадов, Э.Д. Инфекционная патология в промышленном птицеводстве: реалии и перспективы / Э.Д. Джавадов, М.Е. Дмитриева, Б.Б. Трефилов, О.Б. Новикова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2016. – № 2. – С. 24-27.
14. Дмитриева, М.Е. Российское промышленное птицеводство – актуальные проблемы и их решение / М.Е. Дмитриева, Б.Б. Трефилов, О.Б. Новикова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 2. – С. 23-28.
15. Новикова, О.Б. Актуальные болезни птиц бактериальной этиологии / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2017. – № 4 (6). – С. 40-44.
16. Новикова, О.Б. Система контроля бактериальных болезней птиц в современных условиях промышленного птицеводства / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2017. – № 4 (16). – С. 151-157.
17. Терлецкий, В.П. Генотипирование микроорганизмов – инструмент контроля эпизоотической ситуации, путей распространения и источников возбудителя инфекции / В.П. Терлецкий, С.В. Щепеткина, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2017. – № 4 (16). – С. 184-192.
18. Новикова, О.Б. Контроль бактериальных болезней на индейководческих предприятиях / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Птица и птицепродукты. – 2017. – № 6. – С. 22-24.
19. Дмитриева, М.Е. Исследования и разработки Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства / М.Е. Дмитриева, Б.Б. Трефилов, О.Б. Новикова [и др.] // «Ветеринария и кормление». – 2018. – № 2. – С. 33-36.
20. Новикова, О.Б. Микрофлора, выделяемая в птицеводствах различного технологического направления и контроль бактериальных болезней / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 34-36.
21. Терлецкий, В.П. Двойное расщепление и избирательное мечение фрагментов ДНК (ДРИМ) как метод быстрой идентификации штаммов патогенных микроорганизмов, актуальных в промышленном птицеводстве / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 7. – С. 35-43.

22. Новикова, О.Б. Контроль и профилактика бактериальных болезней водоплавающей птицы / О.Б. Новикова, Н.В. Никитина, М.А. Павлова [и др.] // Птицеводство. – 2019. – № 11-12. – С. 93-99.

23. Терлецкий, В.П. Генотипирование патогенных бактерий – инструмент контроля эпизоотической ситуации / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Аграрная Россия. – 2020. – № 8. – С. 3-8.

24. Терлецкий, В.П. Молекулярно-генетическая идентификация штаммов бактерий трех видов, выделенных от индеек и кур / В.П. Терлецкий, О.Б. Новикова, В.И. Тыщенко [и др.] // Journal of Agriculture and Environment. – 2020. – № 4. – С. 3-8.

25. Рождественская, Т.Н. Респираторный синдром – открытые ворота для инфекции / Т.Н. Рождественская, С.В. Панкратов, А.В. Рузина, О.Б. Новикова // Птица и птицепродукты. – 2020. – № 6. – С. 40-42.

Публикации, индексируемые в Web of Science

26. Терлецкий, В.П. Эффективный метод идентификации штаммов *Escherichia coli*, выделенных из различных органов домашней птицы (*Gallus gallus domesticus*) / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 3. – С. 270-276.

27. Terletsy, V.P. An efficient method for identifying *Escherichia coli* strains isolated from various (*Gallus gallus domesticus*) organs / V.P. Terletsy, V.I. Tyshchenko, O.B. Novikova [et al.] // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 314-320.

Патенты

28. Патент на изобретение Ru 2342429 C1 «Штамм бактериофага Bacteriophage Salmonella IBP-1, обладающий лизирующей активностью по отношению к *S. enteritidis*» / Цыганова С.В., Гончаров А.Е., Новикова О.Б., Борисенкова А.Н.; номер заявки: 2007118802/13; дата регистрации: 21.05.2007; дата публикации: 27.12.2008.

29. Патент на полезную модель Ru 173791 «Чашка Петри» / Щепеткина С.В., Новикова О.Б.; номер заявки: 2016152298/16; дата регистрации: 28.12.2016; дата публикации: 11.09.2017.

Монографии

30. Современные принципы антибиотикотерапии в птицеводстве. Монография / С.В. Щепеткина, О.Б. Новикова, А.В. Забровская [и др.]. – Санкт-Петербург, 2015. – 148 с.

31. Организация системы контроля инфекционных болезней, применения антимикробных препаратов и выпуска безопасной продукции птицеводства. Коллективная монография / Сост. С.В. Щепеткина. – Санкт-Петербург, 2018 – 536 с.

Статьи в отраслевых журналах, материалах международных и всероссийских конференций, сборниках научных трудов и других научно-практических изданиях

32. Рождественская, Т.Н. О выделении *Salmonella Enteritidis* от птиц / Т.Н. Рождественская, А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова [и др.] // Материалы I Международного конгресса по птицеводству. – Москва, 2005 – С. 170-174.

33. Рождественская, Т.Н. Зоопатогенные и эпидемиологически опасные микроорганизмы, выделяемые от птицы в хозяйствах промышленного типа / Т.Н. Рождественская, А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2005. – № 4. – С. 37-38.

34. Рождественская, Т.Н. Контроль и возможности снижения контаминации тушек зоопатогенной и эпидемиологически опасной микрофлорой / Т.Н. Рождественская, А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // В сборнике: Новые мировые тенденции в производстве продуктов из мяса птицы и яиц. Материалы международной научно-практической конференции. Российская академия сельскохозяйственных наук; Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности. – 2006. – С. 202-205.

35. Борисенкова, А.Н. Особенности эпизоотологии пастереллеза птиц в современных условиях / А.Н. Борисенкова, А.И. Лебедева, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова // Материалы научно-практической конференции, посвященной памяти академика Россельхозакадемии Р.Н.Коровина «Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние и стратегия борьбы» (5-6 июня 2007). – Санкт-Петербург, 2007. – С. 202-207.

36. Забровская, А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и птиц и из продуктов животного происхождения в Северо-Западном регионе РФ / А.В. Забровская, Л.А. Кафтырева, Л.В. Селиванова, А.Н. Борисенкова, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова // Материалы научно-практической конференции, посвященной памяти академика Россельхозакадемии Р.Н.Коровина «Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние и стратегия борьбы» (5-6 июня 2007). – Санкт-Петербург, 2007. – С. 207-209.

37. Борисенкова, А.Н. Бактериологическое исследование помета птиц как метод контроля на носительство кампилобактерий / А.Н. Борисенкова, А.Н. Рождественская, О.Б. Новикова // Материалы международной конференции Инновационные решения в яичном птицеводстве. – Геленджик, 2007. – С. 328-335.

38. Борисенкова, А.Н. Микробиологический контроль родительского стада на птицефабрике по производству мяса бройлеров / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова, И.Н. Кузьмина [и др.] // Материалы научно-практической конференции «Новое в диагностике и профилактике болезней птиц». – Санкт-Петербург, 2008. – С. 162-166.

39. Борисенкова, А.Н. Методы специфической и неспецифической защиты от сальмонеллеза птиц / А.Н. Борисенкова, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова [и др.] // Материалы V Международного ветеринарного конгресса по птицеводству (21-24 апреля 2009). – Москва, 2009. – С. 140-145.

40. Борисенкова, А.Н. Особенности бактериальных болезней птиц на современном этапе развития промышленного птицеводства / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц. – Екатеринбург, 2010. – Вып. 3. – С. 85-92.

41. Древилло, А.Н. Усовершенствование лабораторной диагностики анаэробной энтеротоксемии (некротического энтерита) птиц / А.Н. Древилло, О.Б. Новикова // Материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и наука XXI века». Том III «Актуальные вопросы микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и биотехнологии. – УГСХА, Ульяновск, 2010. – С. 21-24.

42. Борисенкова, А.Н. Программа профилактики и оздоровления хозяйств от сальмонелла-энтеритидис – инфекции птиц / А.Н. Борисенкова, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова [и др.] // НПП АВИБАК – 20 лет на благо промышленного птицеводства. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 85-93.

43. Борисенкова, А.Н. Сальмонеллез птиц – эпизоотология и меры борьбы / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // Сборник научных трудов «Основные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины в обеспечении животноводства прикаспийского региона Российской Федерации». – Махачкала, 2010. – С. 72-76.

44. Борисенкова, А.Н. Особенности эпизоотологии анаэробной энтеротоксемии птиц / А.Н. Борисенкова, А.Н. Древилло, О.Б. Новикова // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве. Материалы XVII Международной конференции ВНАП. – Сергиев Посад, 2012. – С. 514-517.
45. Новикова, О.Б. Применение препаратов Клим для профилактики бактериальных болезней птиц / О.Б. Новикова, Р.Р. Абдрахимов // РацВетИнформ. – 2013. – № 5. – С. 19-21.
46. Борисенкова, А.Н. Проблема сальмонеллеза на современном этапе развития промышленного птицеводства / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // РацВетИнформ. – 2013. – № 9. – С. 13-15.
47. Новикова, О.Б. Диагностика и профилактика анаэробной энтеротоксемии птиц / О.Б. Новикова, А.Н. Борисенкова // Труды ВИЭВ. Материалы Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России», посвященной 115-летию со дня основания института (3-4 октября 2013). – Москва, 2013. – Т. 77. – С. 134-138.
48. Терлецкий, В.П. Экспресс-метод генотипирования бактериальных штаммов / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Материалы I Кавказского международного экологического форума / Отв. ред. Б.И. Кочуров. – Грозный, 2013. – С. 44-48.
49. Терлецкий, В.П. Разработка эффективного экспресс-метода идентификации патогенных штаммов кишечной палочки, выделенной из различных органов кур / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова // Современные подходы к решению актуальных ветеринарно-санитарных и зоотехнических проблем в птицеводстве. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2013. – С. 42-47.
50. Новикова, О.Б. Применение антистрессового препарата Климтермо в птицеводстве / О.Б. Новикова // РацВетИнформ. – 2014. – № 1. – С. 25-28.
51. Борисенкова, А.Н. О контроле бактериальных болезней птиц / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // Сельскохозяйственные вести. – 2014. – № 4. – С. 57.
52. Терлецкий, В.П. Универсальный метод генотипирования патогенных микроорганизмов птиц / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Молекулярная диагностика. Сборник трудов. – Москва, 2014. – С. 479-480.
53. Новикова, О.Б. Об анаэробной энтеротоксемии птиц / О.Б. Новикова // Тваринництво сьогодні. – 2014. – № 8. – С. 2-6.
54. Новикова, О.Б. Актуальные болезни птиц в промышленном птицеводстве. Диагностика, лечение, профилактика / О.Б. Новикова, А.Н. Борисенкова // Материалы X Балтийского форума ветеринарной медицины и продовольственной безопасности (18-20 сентября 2014). – Санкт-Петербург, 2014. – С. 171-172.
55. Новикова, О.Б. Усовершенствование лабораторной диагностики анаэробной энтеротоксемии птиц / О.Б. Новикова // Материалы 18-ой Международной научно-методической конференции по патологической анатомии животных «Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных. – Москва, 2014. – С. 64-67.
56. Забровская, А.В. Распространенность в промышленном птицеводстве штаммов микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам / А.В. Забровская, О.Б. Новикова, Н.А. Антипова [и др.] // Материалы международной научно-практической конференции «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве», посвященной 50-летию института. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 63-67.

57. Новикова, О.Б. Контроль бактериальных болезней птиц с использованием препаратов разных классов / О.Б. Новикова, А.Н. Борисенкова, Р.Р. Абдрахимов // Материалы международной научно-практической конференции «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве», посвященной 50-летию института. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 134-140.

58. Новикова, О.Б. Контроль бактериальных болезней птиц с применением новых препаратов неспецифической профилактики / О.Б. Новикова, Р.Р. Абдрахимов // Материалы юбилейной конференции «Учёные - животноводству», посвященной 85-летию доктора сельскохозяйственных наук, профессора П.П.Царенко. – Санкт-Петербург: СПбГАУ, 2014. – С. 120-123.

59. Новикова, О.Б., Бартенев А.А. Проблема колибактериоза в птицеводстве / О.Б. Новикова, А.А. Бартенев // Современные тенденции развития науки и технологий. Сборник научных трудов по материалам VIII Международной научно-практической конференции. – 2015. – № 8-4. – С. 35-37.

60. Новикова, О.Б. Инфекция сальмонелла-энтеритидис / О.Б. Новикова, А.Н. Борисенкова // БИО. – 2015. – № 3. – С. 20-24.

61. Новикова, О.Б. Надежное обеззараживание кормов и воды / О.Б. Новикова // Животноводство России. – 2015. – № S4. – С. 17-19.

62. Новикова, О.Б. Анаэробная энтеротоксемия птицы / О.Б. Новикова // Животноводство России. – 2015. – № S4. – С. 25-26.

63. Новикова, О.Б. О проблеме анаэробной энтеротоксемии птиц в промышленном птицеводстве / О.Б. Новикова // Материалы II Международного Ветеринарного Конгресса VETistanbul Group-2015 (7-9 апреля 2015). – Санкт-Петербург, 2015. – С. 314-315.

64. Борисенкова, А.Н. Комплексный подход к системе контроля бактериальных болезней птиц – основа благополучия птицеводств и безопасности выпускаемой продукции / А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова, С.В. Щепеткина // Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России. Материалы XVIII Международной конференции. Всемирная научная ассоциация по птицеводству (ВНАП). – Сергиев Посад, 2015. – С. 449-451.

65. Терлецкий, В.П. Разработка эффективного и быстрого метода идентификации патогенных штаммов кишечной палочки, выделенной из различных органов кур / В.П. Терлецкий, О.Б. Новикова // «Исследования в области естественных наук». – 2015. – № 6 (42). – С. 16-21.

66. Терлецкий, В.П. Возможность одновременного генотипирования полевых изолятов сальмонелл и кишечной палочки с целью выявления путей распространения патогена в условиях птицефабрик / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова // Сельское, лесное и водное хозяйство. – 2015. – № 6 (45). – С. 34-36.

67. Новикова, О.Б. Правильный подход к антибиотикотерапии – залог здоровья птицы, безопасности и качества выпускаемой продукции / О.Б. Новикова, С.В. Щепеткина, О.А. Ришко // БИО. – 2015. – № 7-8. – С. 22-24.

68. Терлецкий, В.П. Генотипирование микроорганизмов как инструмент контроля над распространением патогенов в окружающей среде / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Материалы II Кавказского экологического форума. Сборник материалов. – Грозный: ФГБОУ «Чеченский государственный университет, 2015. – С. 164-168.

69. Новикова, О.Б. *Clostridium perfringens* – эпидемиологически опасный микроорганизм, выделяемый от сельскохозяйственной птицы разных видов / О.Б. Новикова // Тваринництво сьогодні. – 2016. – № 3. – С. 2-5.

70. Новикова, А.Ф. Смешанное течение респираторных бактериальных болезней птиц (пастереллез, гемофилез) в птицеводствах промышленного типа / А.Ф. Новикова, О.Б. Новикова // БИО. – 2016. – № 3. – С. 8-9.
71. Новикова, О.Б. Анаэробная энтеротоксемия птиц в промышленном птицеводстве / О.Б. Новикова // Эффективное животноводство. – 2016. – № 8 (129). – С. 56-57.
72. Новикова, О.Б. Контроль эпидемиологически опасной микрофлоры, выделяемой от птиц / О.Б. Новикова // Технологии. Корма. Ветеринария (приложение к журналу «Птицепром»). – 2016. – С. 35.
73. Новикова, О.Б. Сальмонеллезы птиц / О.Б. Новикова, Р.Р. Абдрахимов // Тваринництво сьогодні. – 2017. – № 5. – С. 64-67.
74. Терлецкий, В.П. Генотипирование изолятов *Clostridium perfringence* – возбудителя некробактериоза кур / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». – 2017. – Т. 2. – С. 376-377.
75. Терлецкий, В.П. Молекулярно-генетическая идентификация штаммов *Escherichia coli*, выделенных из органов больных и павших кур / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». – 2017. – Т. 2. – С. 378-379.
76. Терлецкий, В.П. Генотипирование полевых бактериальных изолятов методом двойного расщепления и избирательного мечения (ДРИМ) / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова [и др.] // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». – 2017. – Т. 2. – С. 379-380.
77. Новикова, О.Б. Псевдомоноз птиц / О.Б. Новикова, М.А. Павлова, А.А. Бартенев // Тваринництво сьогодні. – 2018. – № 7. – С. 67-69.
78. Новикова, О.Б. Эпидемиологически опасная микрофлора, выделяемая от птиц / О.Б. Новикова // I-й Российский Микробиологический конгресс. Сборник тезисов / Под ред. Т.А. Решетиловой. – Москва, 2017. – С. 66-67.
79. Новикова, О.Б. Кампилобактериоз – болезнь, общая для человека и животных / О.Б. Новикова // Тваринництво сьогодні. – 2018. – № 9. – С. 2-4.
80. Терлецкий, В.П. Генотипирование как метод в превентивной ветеринарии / В.П. Терлецкий, О.Б. Новикова, В.И. Тыщенко // Эффективное животноводство. – 2018. – № 2 (141). – С. 44-45.
81. Новикова, О.Б. Контроль сальмонеллеза в птицеводстве / О.Б. Новикова // Сфера. Птицеводство. – 2018. – № 2 (39). – С. 40-43.
82. Новикова, О.Б. Респираторный микоплазмоз птиц / О.Б. Новикова // «Тваринництво сьогодні». – 2018. – № 3. – С. 61-65.
83. Новикова, О.Б. Актуальные и новые болезни бактериальной этиологии в промышленном птицеводстве / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Материалы XIX Международной конференции «Мировые и российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего» / Российское отделение Всемирной научной ассоциации по птицеводству (ВНАП). – Сергиев Посад, 2018. – С. 666-669.
84. Новикова, О.Б. О проблеме колибактериоза в птицеводстве / О.Б. Новикова, М.А. Павлова, А.А. Бартенев // Эффективное животноводство. – 2018. – № 6 (145). – С. 64-66.

85. Семина, А.Н. Изучение генома сальмонелл для специфического определения *S.Enteritidis*, *S.Infantis* и *S.Typhimurium* / А.Н. Семина, О.Б. Новикова, С.Р. Абгарян // Эффективное животноводство. – 2018. – № 9 (148). – С. 82-83.
86. Новикова О.Б. Контроль болезней птицы бактериальной этиологии с использованием современных препаратов // Ценовик. – 2018. – № 12. – С. 56-60.
87. Новикова, О.Б. Стафилококкоз птиц / О.Б. Новикова, М.А. Павлова, В.В. Крюкова // Тваринництво сьогодні. – 2018. – № 9. – С. 52-56.
88. Новикова, О.Б. Кампилобактериоз / О.Б. Новикова, Т.Н. Рождественская, Н.Л. Крохин [и др.] // Птица и птицепереработка. – 2019. – № 1. – С. 34-37.
89. Новикова, О.Б. Кормовые добавки для профилактики бактериальных болезней в птицеводстве / О.Б. Новикова, А.П. Сафонов // Эффективное животноводство. – 2019. – № 4 (152). – С. 57-60.
90. Новикова, А.Ф. Изучение орнитобактериоза птиц в экспериментальных условиях / А.Ф. Новикова, О.Б. Новикова, М.А. Павлова [и др.] // Эффективное животноводство. – 2019. – № 4 (152). – С. 70-72.
91. Новикова, О.Б. Инновационные препараты для борьбы с обсемененностью кормов / О.Б. Новикова, А.П. Сафонов // Ценовик. – 2019. – № 4. – С. 46-47.
92. Новикова, О.Б. Респираторный синдром птиц бактериальной этиологии / О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Животноводство России. – 2019. – № 6. – С. 9-11.
93. Новикова, О.Б. Микробиологический мониторинг вывода цыплят – эффективный метод контроля бактериальных болезней птиц / О.Б. Новикова, М.А. Павлова, А.А. Бартенев // Тваринництво сьогодні. – 2019. – № 7. – С.60-63.
94. Порин, А.А. Распространенность кампилобактеров среди бройлеров при напольном содержании / А.А. Порин, О.Б. Новикова // Материалы научно-практических конференций в рамках V Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2019). Сборник тезисов. – Москва, 2019. – С. 157.
95. Порин, А.А. Инфицированность бройлеров термотолерантными кампилобактерами при использовании различных технологий содержания птицы / А.А. Порин, О.Б. Новикова, М.А. Павлова // Материалы V национального конгресса бактериологов (16-17 сентября 2019 года). – Москва, 2019. – С. 85.
96. Джавадов, Э.Д. Круглый стол: Клостридиозы / Э.Д. Джавадов, О.Б. Новикова, Н.И. Женихова [и др.] // БИО. – 2020. – № 6. – С. 25-32.
97. Новикова, О.Б. Продукция птицеводства и пищевые интоксикации / О.Б. Новикова // Сфера. Птицепром. – 2020. – № 2 (47). – С. 44-46.
98. Новикова, О.Б. Биоразнообразие патогенной микрофлоры, выделяемой от птиц разных видов в хозяйствах различного технологического направления / О.Б. Новикова, О.С. Карпова, М.А. Ладанова // Мировое и российское птицеводство: состояние, динамика развития, инновационные перспективы. Материалы XX Международной конференции. Российское отделение Всемирной научной ассоциации по птицеводству (ВНАП РФ); НП «Научный центр по птицеводству». – Сергиев Посад, 2020. – С. 657-661.
99. Семина, А.Н. Циркуляция возбудителей бактериальных респираторных болезней в птицеводческих хозяйствах / А.Н. Семина, О.Б. Новикова // Эффективное животноводство. – 2020. – № 7 (164). – С. 106-107.
100. Новикова, О.Б. Микрофлора, выделяемая от перепелок и контроль бактериальных болезней в перепеловодческих птицеводческих хозяйствах / О.Б. Новикова // Эффективное животноводство. – 2020. – № 9. – С. 66-69.