

Дубаневич О.В., старший научный сотрудник
Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук, доцент
Васюкевич Т.А., химик

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

МОНИТОРИНГ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ПЦР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В БЕЛАРУСИ

Резюме

В статье представлены результаты мониторинга пневмоэнтеритов крупного рогатого скота в Республике Беларусь за 2024–2025 гг., анализ циркуляции возбудителей за период 2020–2025 гг. и оценка экономической эффективности внедрения отечественных тест-систем ПЦР. Установлена статистически значимая тенденция к росту доли ассоциативных форм инфекции, вызванной вирусом диареи, с 63 % до 77 % ($p < 0,05$). Подтверждена высокая рентабельность применения разработанных диагностических средств (экономический эффект – 5,1 руб. на 1 руб. затрат).

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, диагностика, пневмоэнтериты, вирус диареи, инфекционный ринотрахеит, парагрипп-3, ротавирус, коронавирус, экономическая эффективность, ассоциативные инфекции, доверительный интервал.

Summary

The article presents the results of monitoring bovine pneumoenteritis in the Republic of Belarus in 2024–2025, an analysis of the dynamics of pathogen circulation over the period 2020–2025, and an assessment of the economic efficiency of implementing domestic PCR test systems. A statistically significant trend towards an increase in the proportion of associative forms of infection caused by bovine viral diarrhea virus from 63 % to 77 % has been established ($p < 0,05$). The high cost-effectiveness of the developed diagnostic tools is confirmed (economic benefit of 5,1 rubles per 1 ruble spent).

Keywords: polymerase chain reaction, diagnostics, pneumoenteritis, bovine viral diarrhea virus, infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza-3, rotavirus, coronavirus, cost-effectiveness, associative infections, confidence interval.

Поступила в редакцию 03.12.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Смешанные пневмоэнтериты молодняка крупного рогатого скота (КРС) представляют собой одну из наиболее сложных и экономически значимых проблем современного животноводства Беларуси [2, 6, 7]. Эти заболевания традиционно ассоциируются с комплексом вирусных патогенов, среди которых доминируют вирусы вирусной диареи (ВД), инфекционного ринотрахеита (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3), а также рота- и коронавирусных инфекций [1, 3, 8]. В предыдущих исследованиях нами было установлено, что данные инфекции в стационарно неблагополучных хозяйствах часто протекают в субклинической или ассоциативной форме, что существенно затрудняет их своевременную диагностику и эффективный контроль [6, 7]. В связи с этим для

снижения падежа животных важно постоянно отслеживать, какие именно возбудители вызывают болезни. Для этого необходимо использовать современные методы лабораторной диагностики [2].

В условиях импортозамещения особенно актуальны отечественные диагностикумы. Ранее нами были разработаны и зарегистрированы тест-системы для ПЦР-детекции основных вирусных патогенов [5].

Целью настоящей работы стал анализ динамики за 2020–2025 гг. состава возбудителей при пневмоэнтеритах КРС, а также оценка практической и экономической эффективности применения разработанных тест-систем для молекулярно-генетической диагностики в современных эпизоотических условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мониторинговые исследования проводили в 2024–2025 гг. Для детекции генетических маркеров возбудителей инфекций КРС применяли молекулярно-генетические методы исследований, при этом использовали следующее оборудование и материалы:

а) приборы и расходные материалы: ламинар, бытовой холодильник, термостат, микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия), амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», «BIO-RAD» (США), паровые автоклавы, микроцентрифуга высокоскоростная (14000 об/мин), «Jouan» (Франция), комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария) 0,1–2,0 мкл, 0,5–10,0 мкл, 20,0–200,0 мкл, 100,0–1000,0 мкл, 1,0–10,0 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров), пробирки типа «Эппендорф» вместимостью 0,5 и 1,5 мл, вортекс «BIOSAN» (Латвия), пробирки для ПЦР 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler», система для электрофореза «Consort» (Бельгия), Gel Doc XR и программа imageLab Software, «BIO-RAD» (США), весы RADWAG AS 220/X (Польша).

б) реактивы: тест-системы для детекции геномов возбудителей пневмоэнтеритов КРС, разработанные в отделе молекулярно-генетической диагностики и генной инженерии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder», «Fermentas» (Литва), агароза, «Helicon», (Россия), бромистый этидий, «Sigma» (США), буфер для нанесения проб, праймеры (олигонуклеотиды), «Праймтех» (Республика Беларусь), ArtMix-RT ревертаза, ООО «Арт БиоТех» (Республика Беларусь), вода Milli-Q [6, 7].

Объектом исследований служили пробы биоматериала КРС с клиническими признаками пневмоэнтеритов (фекалии, назальные смывы, сыворотка крови, патологический материал). Для обеспечения репрезентативности выборка формировалась из хозяйств всех областей Беларуси. Всего за отчётный период исследовано 967 биологических проб. Диагностика была направлена на выявление широкого спектра вирусных (ВД, ИРТ, ПГ-3, рота-, коро-

на-, аденовирусы) и бактериальных (*Pasteurella* spp., *Mannheimia* spp., *Mycoplasma* spp., *Clostridium* spp.) патогенов.

Лабораторные исследования выполнены в отделе молекулярно-генетической диагностики и генной инженерии. Выделение нуклеиновых кислот проводили с использованием набора «АмплиПрайм РИБО-сорб» (Россия). Детекцию специфических генетических маркеров для выявления возбудителей болезней КРС осуществляли методом ОТ-ПЦР/ПЦР с применением разработанных и зарегистрированных нами тест-систем для выявления возбудителей: вируса ВД (ТУ ВУ 600049853.277-2015), коронавируса (ТУ ВУ 600049853.280-2015), вируса ПГ-3 (ТУ ВУ 600049853.279-2015), ротавируса (ТУ ВУ 600049853.278-2015) и вируса ИРТ (ТУ ВУ 600049853.281-2017) [5]. Амплификацию проводили с использованием универсальной смеси «ArtMix-RT» на термоциклере «С 1000 Thermal Cycler», «Bio-Rad» (США). В качестве положительных контролей использовали штаммы вирусов, депонированные в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»: вирус ВД – штамм «КМИЭВ-V120» и изолят ВД 2-го типа; коронавирус – штамм «КМИЭВ-V122»; вирус ПГ-3 – штамм «КМИЭВ-V124»; ротавирус – штамм «КМИЭВ-V116»; вирус ИРТ – штамм «КМИЭВ-V123». Все тест-системы показали высокую аналитическую чувствительность (1 ТЦД₅₀/мл).

Часть исследований проводилась в рамках заданий 3.15 и 3.20 ГПНИ, касающихся идентификации бактериальных изолятов и создания банка идентифицированных изолятов инфекционных биологических агентов. В результате молекулярно-генетическими и бактериологическими методами было выделено 5 изолятов, которые идентифицированы как *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma species*.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики. Для оценки количества положительных образцов рассчитали доверительный интервал (ДИ) по методу Клоппера-Пирсона – 95 %. Сравнение количества положительных образцов между периодами наблюдения

2020–2021 и 2024–2025 гг. выполняли с использованием непараметрических статистических методов с уровнем значимости $p < 0,05$.

Расчеты экономической эффективности применения тест-систем оценивали на основе анализа экспертиз в хозяйствах Республики Беларусь согласно рекомендациям [4] с учетом прямых затрат на диагностику и предотвращенного ущерба.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 2024–2025 гг. вирус ВД был обнаружен в 14,7 % от общего числа исследованных проб от КРС (ДИ 95 %: 12,5–17,2 %) – 142 случая из 967, что подтверждает его стабильно высокую циркуляцию в популяции КРС Беларуси. Положительные пробы регистрировались во всех исследованных областях Республики Беларусь. Эти результаты свидетельствуют не о спорадических случаях, а о повсеместной циркуляции вируса ВД, чему способствует персистенция вируса и формирование латентно инфицированного поголовья.

Из 142 проб, положительных на ВД, 39 проб – 27,5 % (ДИ-95 %: 20,3–35,8 %) – представляли собой ассоциации с другими вирусными или бактериальными патогенами. Таким образом, более четверти всех случаев инфицирования ВД КРС протекает в форме микс-инфекции, что существенно усложняет клиническую картину, патогенез и, как следствие, проведение лечебно-профилактических мероприятий.

Анализ этих ассоциаций позволил выявить наиболее распространенные комбинации возбудителей. Чаще всего выявлялась ассоциация «ВД + ротавирус» – в 19 пробах, что составляет 48,7 % от общего числа ассоциативных проб ($n=39$). Немного уступает ей по частоте сочетание «ВД + коронавируса» – 16 проб (41,0 %), ассоциация «ВД + клостридии» была обнаружена в 14 пробах (35,9 %). Реже встречались сочетания «ВД + ИРТ» – 7 проб, 17,9 % «ВД + ПГ-3» – 6 проб, 15,4 %.

Кроме ВД, среди вирусных патогенов наиболее часто встречались генетические маркеры ротавируса (44 пробы) и коронавируса (33 пробы), вируса ПГ-3 (22 пробы), аденовируса (9 проб) и вируса ИРТ (16 проб). Также регистрировались ассоциации с клостридиями (40 проб) и мико-

плазмами (*Mycoplasma species* – 33 пробы, *Mycoplasma bovis* – 8 проб). Также выявлялись *Mannheimia* spp. (11 проб), *Pasteurella* spp. (5 проб), *Salmonella species* (8 проб) и в единичном случае – *Chlamydia* spp. (1 проба).

Сравнение результатов исследований за периоды 2020–2021 гг. и 2024–2025 гг. [6, 7] выявило, что удельный вес ассоциативных форм среди всех случаев инфицирования вирусом ВД статистически значимо увеличился – с 63 % до 77 %.

Был проведен анализ данных в разрезе обследованных хозяйств. Первое место по масштабу распространения занимает клостридиоз. Признаки циркуляции данного возбудителя были обнаружены в 208 из 334 обследованных по этой нозологии хозяйств, что составляет 62,3 %.

Аналогично широкое распространение характерно для ротавирусной инфекции, выявленной в 47,8 % обследованных хозяйств. Особого внимания заслуживают микоплазменные инфекции (*Mycoplasma species*), которые были диагностированы в 54,7 % проверявшихся хозяйств.

ВД и ПГ-3, несмотря на относительно широкий охват хозяйств (27,9 % и 23,6 % соответственно), характеризуются низким процентом положительных проб – 15,1 % и 10,3 %. Это позволяет интерпретировать их распространение как спорадическое или связанное с наличием латентно инфицированных животных, у которых вирус выделяется непостоянно.

ИРТ выявлен в 26,9 % хозяйств при небольшой доле положительных проб – 10,5 %, что является классическим признаком латентной герпесвирусной инфекции.

Расчет экономического эффекта учитывал прямые затраты на проведение ПЦР-анализа, косвенные затраты, а также предотвращенный ущерб. Всего в 2024–2025 гг. с использованием разработанных тест-систем проведено 415 диагностических экспертиз. Исследования охватили 172 хозяйства из всех областей республики. Экономический эффект от применения отечественных тест-систем ПЦР составил 5,1 руб. на 1 руб. затрат.

Высокий показатель экономической эффективности подтверждает рентабельность внедрения разработанных тест-систем. Реальная отдача может быть выше при учете долгосрочных эффектов (улуч-

шение общего эпизоотического статуса стада, повышение конверсии корма и репродуктивных показателей).

Разработанные тест-системы успешно внедрены в ветеринарную диагностическую практику. Успешная коммерциализация патента ВУ 23273 [5] и его выход в финал конкурса «Лучший патент Беларуси 2024» подтверждают научную и практическую значимость разработок в условиях импортозамещения и их востребованность в ветеринарной практике.

Широкие доверительные интервалы для некоторых показателей (например, для доли ассоциаций среди ВД-положительных проб – 20,3–35,8 %) отражают вариабельность эпизоотического процесса в разных хозяйствах, что подчеркивает необходимость индивидуального диагностического подхода.

Низкий процент положительных проб при широком охвате хозяйств для ВД, ИРТ и ПГ-3 статистически подтверждает наличие латентного носительства, при котором вирус циркулирует в популяции, создавая постоянный фон риска возникновения вспышек при действии стресс-факторов.

Доминирование ассоциаций «ВД + ротавирус» и «ВД + коронавирус» указывает на синергизм патогенов, поражающих желудочно-кишечный тракт, что может приводить к более тяжелому течению энтеритов. Высокий удельный вес ассоциации с клостридиями (35,9 %) свидетельствует о важности условно-патогенной микрофлоры, активизирующейся на фоне вирусного иммуносупрессивного действия.

Данные наших исследований подтверждают, что смешанные вирусно-бактериальные инфекции – характерная черта пневмоэнтеритов КРС в Беларуси [6, 7]. Это требует пересмотра подходов к диагностике и профилактике. Эффективный контроль должен быть направлен на комплексное выявление и мониторинг ключевых патогенных ассоциаций.

Распространенность клостридиоза, рота- и коронавирусной инфекций в хозяйствах требует усиления мер профилактики именно против этих патогенов.

Следующим логичным шагом, диктуемым результатами мониторинга, является создание мультиплексных ПЦР-систем, ориентированных на выявление конкретных ассоциаций («ВД + ротавирус», «ВД + клостридии»). Согласно нашим расчетам, такой переход может повысить экономическую эффективность диагностики еще на 25–35 % за счет сокращения затрат и реактивов на одно комплексное исследование, одновременно повышая его диагностическую полноту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований обосновывают необходимость регулярного мониторинга изменчивой этиологической структуры пневмоэнтеритов КРС и применения комплексной ПЦР-диагностики.

Установлена стабильно высокая циркуляция вируса ВД КРС в Беларуси с достоверной тенденцией к росту доли ассоциативных форм инфекции – с 63 % до 77 % за период 2020–2025 гг. ($p < 0,05$), где под долей ассоциативных форм подразумевается процент проб, в которых вирус ВД был обнаружен в ассоциации с другими патогенами, от общего числа положительных на ВД проб. Ведущую роль в ассоциациях, наряду с рота- и коронавирусами, играют бактериальные патогены (клостридии, микоплазмы).

Доказан высокий экономический эффект применения отечественных тест-систем ПЦР для диагностики пневмоэнтеритов – 5,1 руб. на 1 руб. затрат. Высокая экономическая эффективность подтверждает правильность выбранной стратегии разработки и внедрения собственных диагностических средств, что способствует повышению эпизоотического благополучия и экономической устойчивости животноводства Республики Беларусь.

Учитывая, что более 70 % случаев пневмоэнтеритов обусловлено смешанной инфекцией, важным направлением является развитие мультиплексной ПЦР-диагностики для одновременного выявления основных патогенов, что повысит оперативность и эффективность контроля заболеваний.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек КРС / А. Г. Глотов [и др.]; РАСХН, Сиб. отделение, ГНУ ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2006. – 28 с.
2. Дубаневич, О. В. Вирусные пневмоэнтериты крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / О. В. Дубаневич, Ю. И. Тяпша // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2022. – № 2. – С. 35–41.
3. Инфекционные болезни животных / В. А. Кузьмин, А. С. Алиев, Ю. Ю. Данко [и др.]. – СПб.: Лань, 2007. – С. 198–202.
4. Лазовский, В. А. Определение экономической эффективности ветеринарных мероприятий: рекомендации / В. А. Лазовский, Д. Д. Морозов; М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Витеб. гос. акад. ветеринар. медицины. – Витебск: УО ВГАВМ, 2019. – 48 с.
5. Патент ВУ 23273. Синтетические олигонуклеотидные праймеры и способ диагностики вирусной диареи крупного рогатого скота: № а20180323: заявл. 06.07.2018: опубл. 26.11.2020 / О. В. Дубаневич, Ю. И. Тяпша.
6. Современные методы диагностики и этиологическая роль *Mannheimia haemolytica* в респираторной патологии крупного рогатого скота / Ю. И. Тяпша, О. В. Дубаневич, Н. Ю. Аникевич, Н. О. Малащенко // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2024. – № 2. – С. 27–33.
7. Тяпша, Ю. И. Мониторинг респираторной патологии крупного рогатого скота в Республике Беларусь / Ю. И. Тяпша, О. В. Дубаневич, Н. О. Малащенко // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2025. – № 1. – С. 31–36.
8. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction / E. Peterhans, C. Bachofen, H. Stalder, M. Schweizer // Vet Res. 2010 Nov-Dec; 41(6): 44.

ТЕСТ-СИСТЕМЫ

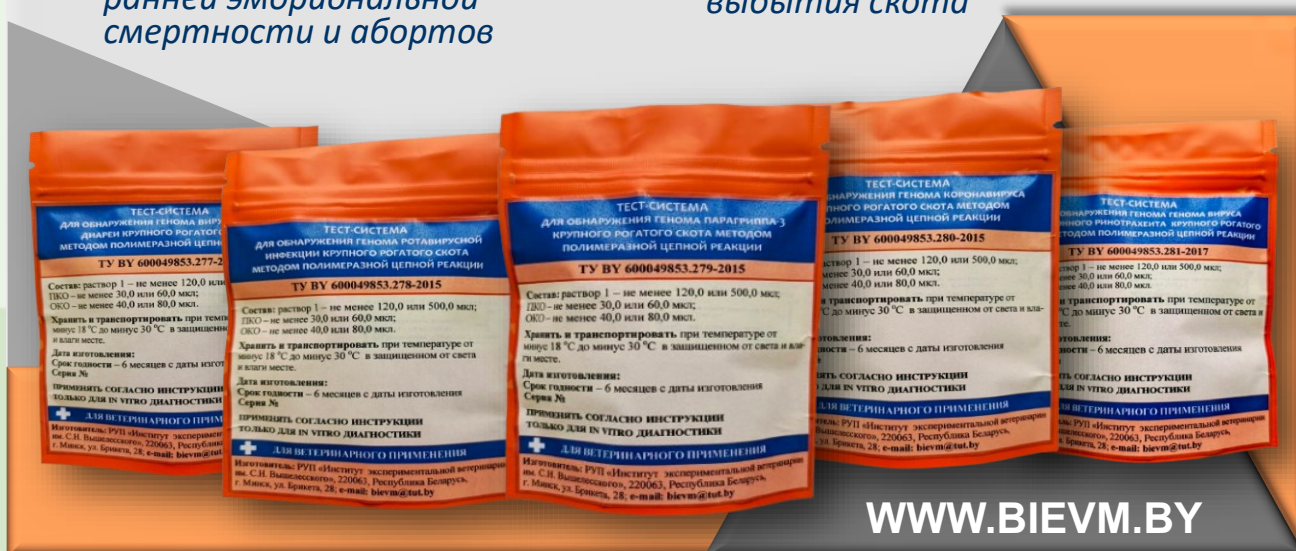
ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ГЕНОМОВ ВИРУСОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА:

- ▶ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ;
- ▶ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ;
- ▶ ПАРАГРИППА-3;
- ▶ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА;
- ▶ РОТА- И КОРОНАВИРУСОВ

– постановка
достоверного диагноза
в течение 5–8 ч

– предупреждение
пневмоэнтеритов, бесплодия,
ранней эмбриональной
смертности и аборт

– значительное снижение
непроизводительного
выбытия скота



WWW.BIEVM.BY