



Н.И. Малик, ✉
Л.А. Маленкова,
Е.В. Малик,
И.А. Гулейчик,
Н.А. Чупахина,
И.А. Русанов,
Н.С. Самохвалова

Всероссийский государственный центр
качества и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов, Москва,
Российская Федерация

✉ nimalik@vgnki.ru

Поступила в редакцию:
01.10.2022

Одобрена после рецензирования:
30.12.2022

Принята к публикации:
30.01.2023



Nina I. Malik, ✉
Leah A. Malenkova,
Evgeny V. Malik,
Irina A. Guleychik,
Nataliya A. Chupahina,
Ivan A. Rusanov,
Nadezhda S. Samohvalova

The Russian State Center for Animal Feed and
Drug Standardization and Quality, Moscow,
Russian Federation

✉ nimalik@vgnki.ru

Received by the editorial office:
01.10.2022

Accepted in revised:
30.12.2022

Accepted for publication:
30.01.2023

Идентификация капсульного типа штаммов *P. multocida* фенотипическими методами в сравнении с методом мультиплексной ПЦР

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Пастереллез (pasteurellosis) — группа зоонозных инфекционных болезней, вызываемых *Pasteurella multocida*. По антигенному составу *P. multocida* разделена на пять серогрупп (A, B, D, F и E). Патогенные и вирулентные свойства различных серогрупп и серотипов возбудителя у различных видов животных колеблются в широких пределах и являются маркером для определения их роли в развитии болезни. Типирование штаммов *P. multocida* по капсульным группам является важным условием для комплексной оценки эпизоотической ситуации, в том числе для решения вопроса о специфической профилактике болезней.

Методы. В работе использовали 82 штамма *P. multocida* из коллекции ФГБУ «ВГНКИ», выделенных в разные годы от различных животных. Фенотипическое типирование штаммов пастерелл по капсульным группам по Картеру проводили в тесте на выявление гиалуроновой кислоты в капсуле пастерелл и по типу реакции в трипафлавиновой пробе. Штаммы, дающие положительную реакцию с гиалуронидазой стафилококка, относили к капсульной группе A. Если испытуемая культура не относилась к группе A, но была положительной при исследовании в трипафлавиновой пробе, ее относили к капсульной группе D.

Результаты. Установлены несовпадения результатов фенотипического типирования штаммов пастерелл по капсульным группам и методом ПЦР. Не совпали результаты типирования между ПЦР и типированием по Картеру по капсульной группе A в отношении 25 штаммов, по капсульной группе D в отношении 5 штаммов и по капсульной группе B в отношении 5 штаммов. Количество нетипируемых или сомнительных по фенотипическим свойствам штаммов пастерелл составило 29,73%, нетипируемых методом ПЦР — 2,46%. Гиалуронидазный и акрифлавиновые тесты, в отличие от метода ПЦР, не дают возможности для типирования пастерелл групп E и F.

Ключевые слова: пастереллез, *P. multocida*, капсульные группы, фенотипическое типирование, мультиплексная ПЦР.

Для цитирования: Малик Н.И., Маленкова Л.А., Малик Е.В., Гулейчик И.А., Чупахина Н.А., Русанов И.А., Самохвалова Н.С. Идентификация капсульного типа штаммов *P. multocida* фенотипическими методами в сравнении с методом мультиплексной ПЦР. *Аграрная наука*. 2023; 367(2): 54–63. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-54-63>

© Малик Н.И., Маленкова Л.А., Малик Е.В., Гулейчик И.А., Чупахина Н.А., Русанов И.А., Самохвалова Н.С.

Identification of the capsule type of *P. multocida* strains by phenotypic methods in comparison with the multiplex PCR-method

ABSTRACT

Relevance. Pasteurellosis is a group of zoonotic infectious diseases caused by *Pasteurella multocida*. According to the antigenic composition, *P. multocida* is divided into 5 serogroups (A, B, D, F and E). Pathogenic and virulent properties of various serogroups and serotypes of the pathogen in different animal species vary widely and are a marker for determining their role in the development of the disease. Typing of *P. multocida* strains by capsule groups is an important condition for a comprehensive assessment of the epizootic situation, including for solving the issue of specific disease prevention.

Methods. 82 strains of *P. multocida* from the collection of FGBI «VGNKI», isolated in different years from various animals, were used in the work. Phenotypic typing of pasteurilla strains by capsule groups according to Carter was carried out in a test for the detection of hyaluronic acid in a pasteurilla capsule and by the type of reaction in a tripaflavin sample. Strains giving a positive reaction with staphylococcus hyaluronidase were assigned to capsule group A. If the test culture did not belong to group A, but was positive when examined in a tripaflavin sample, it was assigned to capsule group D.

Results. Discrepancies between the results of phenotypic typing of pasteurilla strains by capsule groups and by PCR were established. The results of typing did not coincide between PCR and Carter typing for capsule group A with respect to 25 strains, for capsule group D with respect to 5 strains and for capsule group B with respect to 5 strains. The number of untyped or doubtful phenotypic properties of pasteurilla strains was 29.73%, untyped by PCR 2.46%. Hyaluronidase and acriflavin tests, unlike the PCR-method, do not provide an opportunity for typing pasteurilla groups E and F.

Key words: pasteurellosis, *P. multocida*, capsule groups, phenotypic typing, multiplex PCR.

For citation: Malik N.I., Malenkova L.A., Malik E.V., Guleychik I.A., Chupahina N.A., Rusanov I.A., Samohvalova N.S. Identification of the capsule type of *P. multocida* strains by phenotypic methods in comparison with the multiplex PCR-method. *Agrarian science*. 2023; 367 (2): 54–63. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-54-63> (In Russian).

© Malik N.I., Malenkova L.A., Malik E.V., Guleychik I.A., Chupahina N.A., Rusanov I.A., Samohvalova N.S.

Введение / Introduction

Pasteurella multocida является возбудителем множества различных патологических форм пастереллезной инфекции, которые оказывают большое экономическое воздействие на животноводство во всем мире [1–4]. Впервые *P. multocida* была показана как возбудитель птичьей холеры Л. Пастером в 1881 г., который получил микроорганизм в чистой культуре и разработал активную специфическую профилактику. Выделенный микроорганизм назван в честь Л. Пастера *Pasteurella multocida*, а вызываемое им заболевание — пастереллезом. К пастереллезу восприимчивы крупный рогатый скот, лошади, мелкий рогатый скот, буйволы, свиньи, грызуны, кошки, собаки, дикие животные, домашние и дикие птицы [5].

При благоприятных условиях пастереллез развивается и распространяется среди здоровых животных [6]. В качестве патогена человека *P. multocida* приобретает все большее значение, вызывая раневые инфекции и даже септицемию, менингит и эндокардит [7].

В «Руководстве по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных (млекопитающих, птиц и пчел)» приводятся различные нозологии, вызываемые *Pasteurella multocida*, в частности геморрагическую септицемию крупного рогатого скота, атрофический ринит свиней, холеру птиц [8].

Болезнь характеризуется при остром течении признаками геморрагической септицемии, крупозным воспалением и отеком легких, плевритом, а при хроническом течении — гнойно-некротической пневмонией, артритом, маститом, кератоконъюнктивитом, атрофическим ринитом, тонзиллитом, менингитом, энцефалитом, эндометритом, иногда энтеритом и абортами у разнообразных домашних и диких животных [9–13].

Все нозологические формы заболеваний связаны с определенными капсульными и соматическими антигенами *P. multocida* [14–17]. Капсула и липополисахарид (ЛПС) являются основными компонентами поверхности бактериальной клетки *P. multocida* и играют ключевую роль в ряде взаимодействий между бактериями и хозяевами, которых они колонизируют или заражают [18].

Еще в 1933 г. Y. Ochi исследовал штаммы *P. multocida*, выделенные от различных видов животных с признаками геморрагической септицемии. На основе серологических, иммунологических и патогенных свойств он смог разделить эти пастереллы на четыре группы, которые были обозначены буквами латинского алфавита в порядке возрастания: *A*, *B*, *C* и *D*.

Изоляты пастерелл, выделенные от птиц, были в группе *A*, изоляты крупного рогатого скота, буйволов и свиней — в группе *B*, изоляты овец, мышей и свиней — в группе *C*, некоторые изоляты овец — в группе *D*. Эти исследования заложили основу для дальнейшей типизации пастерелл по капсульным группам в реакциях агглютинации с типовыми сыворотками [19].

В дальнейшем на основе серологического типирования в реакции агглютинации с типовыми сыворотками были идентифицированы пять различных капсульных групп пастерелл, которые обозначили как *A*, *B*, *D*, *E*, *F* [20].

G. Carter [20, 21] типировал *P. multocida* различными методами, включая осаждение, набухание капсул и непрямую гемагглютинацию, и предположил, что несерологические методы могут заменить серологические процедуры типирования пастерелл по капсульным группам. G. Carter и E. Annau [22] были первыми, кто продемонстрировал, что основным компонентом капсулы *P. multocida* типа *A* является гиалуроновая кис-

лота. Затем было обнаружено, что штаммы пастерелл серологической группы *A* содержат гиалуроновую кислоту, а также типоспецифичный капсульный антиген [23]. Капсулярная гиалуроновая кислота этих штаммов может быть деполимеризована нативной или стафилококковой гиалуронидазой [24].

Позднее K. Pandit и J. Smith [25] посредством очистки, химических и иммунологических анализов подтвердили наличие гиалуроновой кислоты в капсуле *P. multocida* типа *A*.

G. Carter и P. Subronto [26] также сообщили, что биологические особенности штаммов *P. multocida* типа *D* позволяют им вызывать характерную крупную флокуляцию при суспендировании в растворе акрифлавина. Вещество, окрашивающееся генциановым синим, устойчивое к гиалуронидазе, с близкими хроматографическими свойствами, обнаруженное в экстрактах капсул штаммов типа *D*, считается кислым полисахаридом, отличным от гиалуроновой кислоты типа *A*. Ни гиалуроновая кислота, ни вещество, устойчивое к гиалуронидазе типа *D*, не были обнаружены в штаммах типа *B* или *E* [25, 27].

P. DeAngelis и др. [28] определили, что основными компонентами капсульных полисахаридов *P. multocida* типа *D* и *F* являются немодифицированный гепарин (гепаросан) и хондроитин соответственно.

Широко задокументирована взаимосвязь между типом капсул, патогенезом и восприимчивостью хозяина к инфицированию возбудителем определенной капсульной группы [3, 9, 12, 15, 29, 30].

Как геморрагическая септицемия, так и респираторные заболевания, включая пневмонию, являются распространенными инфекциями, связанными с *P. multocida* у крупного рогатого скота [3, 15]. Было отмечено, что штаммы *P. multocida* серотипа *B* обычно ответственны за геморрагическую септицемию, в то время как штаммы капсульной группы *A* чаще связаны с респираторными заболеваниями крупного рогатого скота [31–35].

A. Kumar и др. [36] исследовали распространенность серотипов *P. multocida* в образцах биоматериала от различных видов животных в Индии. Изоляты *P. multocida*, обнаруженные в патматериале от крупного рогатого скота, относились преимущественно к типу *A3*, что находится в соответствии с результатами, описанными выше.

Исследования, выполненные S. Dabo и др. [37], показали, что 80% изолятов *P. multocida* от КРС с пневмонией относились к серотипу *A*. В более позднем исследовании до 92% *P. multocida*, выделенные от крупного рогатого скота, также оказались серогруппой *A*.

Изучение случаев пастереллеза крупного рогатого скота в Белоруссии показало, что у 16,56% телят, больных септической формой, выделяли *P. multocida* типа *B*, у 4,46% больных животных — тип *D*. От животных с признаками пневмонии выделяли в основном серотипы *D* (26,11%) и *A* (19,74%), реже тип *B* (2,23%) [17].

Примерно такие же результаты получены в исследовании F. Blanco-Viera и др. [38], в котором 61% и 25% *P. multocida*, выделенных при легочных поражениях телят, относились к капсульным группам *A* и *D* соответственно.

P. multocida капсульной группы *A* (и в меньшей степени группы *D*) вызывают холеру у птиц [39–41]. Для получения информации о распределении капсульных серогрупп в стадах птицы K. Rhoades и R. Rimler [42] исследовали птичьи штаммы *P. multocida*, выделенные от различных видов птицы и различного географическо-

го местоположения. Из 246 исследованных штаммов *P. multocida* 166 штаммов были капсульной группы А, 4 — группы В, 4 — группы D, 14 — группы F. 58 штаммов были некапсулированными, следовательно, не поддавались серогруппировке.

Атрофический ринит и пневмония, в первую очередь свиней, связаны с токсигенными штаммами серогруппы D и серогруппы А соответственно [43, 44]. Мониторинговые исследования, выполненные в Японии [45], Дании [46], Англии [47], Германии [48], Австралии [49], Корею [50], Венгрии [51], Китае [52–54] и России [55], показали, что в большинстве случаев вспышки пневмонии были связаны с нетоксигенными штаммами *P. multocida* капсульного типа А и капсульного типа D, тогда как вспышки атрофического ринита у свиней были связаны с токсигенными вариантами (*toxA*) *P. multocida* капсульного типа D.

Капсульное и соматическое серотипирование 79 культур *P. multocida* от кроликов показало, что 74 были капсульного типа А, как определено с помощью теста на деполимеризацию капсулы гиалуронидазой стафилококка, а 5 — типа D (определено с помощью теста на флокуляцию акрифлавина) [56].

По данным Y. Lu и др. [57], основными серотипами изолятов *P. multocida*, полученных от кроликов с ринитом, пневмонией, конъюнктивитом или кожными абсцессами, были серотипы А.

Штаммы *P. multocida* капсульной группы F преимущественно изолировали от больных домашних птиц [41, 42], однако известны случаи выделения штаммов группы F от кроликов [58] и телят, павших с картиной фибринозного перитонита [59].

Связь между определенными заболеваниями или хозяевами и капсульной серогруппой, как описано выше, указывает на важность точной идентификации капсульных групп изолятов *P. multocida* для изучения патогенеза и эпизоотологии пастереллеза, а также для изучения разнообразия изолятов *P. multocida*, выделенных от разных видов животных.

К сожалению, непрямой тест на гемагглютинацию с гомологичными сыворотками для идентификации капсульной группы пастерелл по G. Carter [21] технически сложен, требует много времени для выполнения и может завершиться неудачей вследствие неспецифических перекрестных реакций [42, 47], в связи с чем не нашел широкого применения в лабораторной практике.

G. Carter (23, 25) разработал и предложил метод несерологического типирования пастерелл, основанный на выявлении гиалуронової кислоты в капсуле пастерелл капсульной группы А с последующей дифференциацией капсульных типов В и D по типу реакции в триафлавиновой пробе. Эти два теста рекомендованы МЭБ [8] и используются в нашей стране для типирования пастерелл по капсульным группам (Методические указания по лабораторной диагностике пастереллезоз животных и птиц, утв. 20.08.1992 № 22-7/82 Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства РФ).

К недостаткам способов несерологического типирования пастерелл относятся низкая специфичность, невозможность типирования пастерелл капсульных групп E и F, вероятность возникновения спонтанных мутаций, приводящих к появлению бескапсульных вариантов бактерии, что приводит к невозможности их типирования по данному способу.

В последние годы для выявления *P. multocida* и генотипирования ее капсульных групп разработано несколько

тест-систем на основе ПЦР с электрофоретической детекцией результатов исследований [60–64].

Во Всероссийском государственном центре качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ») разработана мультиплексная система для типирования пяти капсульных групп *P. multocida*. В качестве генов-мишеней были выбраны гены капсульных полисахаридов *hyaD*, *fcuD*, *dcbF*, *bcuD*, *ecbJ* — уникальные для каждой капсульной группы гены, кодирующие белки, которые вовлечены в синтез группоспецифичных капсульных полисахаридов.

Цель данного исследования — сравнение результатов несерологического типирования штаммов *P. multocida* по капсульным группам фенотипическим методом и мультиплексной ПЦР для идентификации капсульных генов, специфичных для пяти капсульных групп *P. multocida*.

Материалы и методы исследования/ Materials and methods

В работе использовали штаммы *P. multocida* из коллекции ФГБУ «ВГНКИ», выделенные в разные годы от различных животных. Эталонные штаммы *P. multocida* ATCC 43137 (капсульный тип А), ATCC Kobe 6 (27883) (капсульный тип D), ATCC R-473 (капсульный тип В) были выбраны в качестве положительного контроля для фенотипических тестов и мультиплексной ПЦР, тест-культура *Staphylococcus aureus* 12600 ATCC — для теста на гиалуронидазу.

Все отобранные штаммы хранились в лиофилизированном состоянии при температуре 2–8 °С. Реактивация штаммов и предварительные испытания для подтверждения чистоты образцов *P. multocida* были выполнены в соответствии с МУК No22-7/82 от 20.08.1992 [60]. Штаммы реактивировали в бульоне Хоттингера (HiMedia), инкубировали при 37 ± 1 °С в течение 24 часов. По истечении этого периода выросшие культуры пересеивали на основу кровяного агара (HiMedia) с 5% дефибринированной крови барана и на агар Макконди (HiMedia) для контроля отсутствия роста *P. multocida* и помещали в термостат при 37 ± 1 °С на 24–36 часов.

Чистоту роста оценивали визуально по морфологии колоний, выросших на кровяном агаре. Колонии, предположительно относящиеся к *Pasteurella sp.*, окрашивали по Граму и исследовали под иммерсией на наличие биполярности и тестировали с использованием идентификационных тест-систем API-20NE и API-20E (Биомерье, Франция) в соответствии с инструкцией изготовителя с подтверждением видовой идентификации ПЦР-методом (RotorGene 6000 и RotorGene Q (Corbett Research, Австралия; Qiagen, Германия)).

Фенотипическое типирование штаммов пастерелл по капсульным группам в гиалуронидазной триафлавиновой пробе (несерологическое типирование)

Типирование штаммов пастерелл по капсульным группам в гиалуронидазной триафлавиновой пробе проводили в соответствии с МУК1 № 22-7/82 [60] и Руководством МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам [8]. Изучаемую 18-часовую бульонную культуру *P. multocida* высевали штрихами на чашку Петри с 1,5%-ным агаром Хоттингера, чтобы получить линии роста примерно 3–5 мм друг от друга. Одновременно вслед за этим посевом по диаметру чашки одной прямой линией высевали бактериологической петлей бульонную культуру *Staphylococcus aureus* (штамм 12600 ATCC), способную продуцировать фермент гиалуронидазу. Посевы инкубировали в течение 14–16 часов при

температуре 37 ± 1 °C и просматривали в косо проходящем свете.

Штаммы *P. multocida* группы *A* из-за расщепления гиалуронидазой стафилококка гиалуроновой кислоты в капсуле пастерелл вблизи (до 5 мм) от линии роста *S. aureus* образуют более мелкие колонии, в отличие от колоний пастерелл групп *B* и *D*.

Далее все испытуемые культуры, независимо от типа реакции с гиалуронидазой, исследовали в триафлавиновой (акрифлавиновой) пробе, для чего испытуемую культуру выращивали 24 часа при 37 ± 1 °C в 3–5 мл бульона Хоттингера, центрифугировали при 3000 об/мин, часть супернатанта (~4,5 см³) удаляли, осадок ресуспендировали в оставшейся жидкости и добавляли в пробирку 0,5 см³ свежеприготовленного раствора акрифлавина 1:1000. (*Sigma*). Компоненты перемешивали и выдерживали 10–20 мин. при комнатной температуре. Штаммы, относящиеся к группе *D*, в течение 10–15 мин. после добавления раствора акрифлавина образуют крупнохлопчатый неразбивающийся при встряхивании флоккулят. Штаммы *P. multocida*, не обладающие указанными выше свойствами, относили к группе *B*.

Полученные результаты сравнивали с результатами идентификации капсульных групп *P. multocida*, установленными методом мультиплексной ПЦР.

Результаты и обсуждения / Results and discussion

В таблице 1 представлены сравнительные результаты биохимического (несерологического) типирования штаммов пастерелл по капсульным группам в реакции с гиалуронидазой и в триафлавиновой пробе и методом ПЦР, между которыми была установлена значительная разница.

Анализ результатов типирования пастерелл по капсульной группе в тестах с акрифлавином и гиалуронидазой по Картеру показал, что к капсульной группе *A* было отнесено 34 штамма (41,46%), капсульной группе *D* — 9 штаммов (10,96%), к капсульной группе *B* — 16 штаммов (25,61%). Количество нетипируемых или сомнительных по биохимическим свойствам штаммов пастерелл — 17 штаммов (29,73%).

Результаты молекулярно-генетического типирования штаммов пастерелл методом ПЦР показали, что к капсульной группе *A* было отнесено 59 штаммов (72,67%), капсульной группе *D* — 4 штамма (4,93%), к капсульной группе *B* — 16 штаммов (19,71%), к капсульной группе *F* — 1 штамм (1,23%). Количество нетипируемых методом ПЦР штаммов пастерелл — 2 штамма (2,46%).

Из 82 штаммов не совпали результаты типирования между ПЦР и типированием по Картеру по капсульной группе *A* в отношении 25 штаммов, по капсульной группе *D* в отношении 5 штаммов и по капсульной группе *B* — в отношении 5 штаммов.

Помимо этого, установлено расхождение результатов фенотипического и молекулярного типирования части музейных штаммов пастерелл с капсульной группой по Картеру, указанной в паспорте на штамм. Тест на гиалуронидазу и акрифлавин не подтвердил капсульную группу 5 из 33 музейных штаммов пастерелл, ПЦР-типирование не подтвердило капсульную группу 8 из 33 музейных штаммов пастерелл. Наибольшее количество несовпадений между результатами биохимического (несерологического) типирования и типирования методом ПЦР установлено в отношении капсульной группы *A*.

Это исследование показало, что оба несерологических метода (тест на гиалуронидазу и акрифлавин)

для дифференциации пастерелл группы *A* и *D* имеют определенные ограничения. Основной проблемой, с которой сталкиваются при анализе итогов типизации, является интерпретация результатов. Общепринятое мнение состоит в том, что пастереллы капсульной группы *A* чувствительны к гиалуронидазе и не образуют крупные хлопья в среде с акрифлавином. На этом принципе основано чтение реакции — колонии пастерелл вблизи штриха тест-культуры либо не растут, либо образуют прореженный рост.

Химическое сходство полисахаридов, из которых состоит капсула пастерелл, может влиять на специфичность фенотипических тестов. Например, некоторые штаммы пастерелл капсульного типа *D* могут демонстрировать небольшое уменьшение размера колонии при выращивании вблизи тест-культуры *Staphylococcus aureus*, вследствие того что эти штаммы могут обладать небольшим количеством периферической гиалуроновой кислоты [24, 26]. Кроме штаммов *P. multocida* группы *D*, флоккулят могут образовывать диссоциированные культуры других групп, но в этом случае флоккулят мелкохлопчатый и легко разбивается при встряхивании. Различия в интерпретации для этих двух методов были отмечены в других исследованиях [15, 65].

Прямых сравнений традиционных несерологических методов капсульного типирования штаммов *P. multocida* и методов, основанных на ПЦР, проведено недостаточно, однако близкие к полученным нами результатам капсульного типирования 114 штаммов *P. multocida*, выделенных от различных животных фенотипическими и генотипическими методами, приводят N. Arumugam и др. [65]. Так, тест на гиалуронидазу дал расхождение с результатами ПЦР в отношении 38 штаммов, тест на флокуляцию акрифлавина ошибочно отнес 15 штаммов к серогруппе *D*, тогда как методом ПЦР-анализа было показано, что они относятся к серогруппе *A*.

Фенотипические тесты не смогли окончательно идентифицировать четыре из протестированных изолятов, даже несмотря на то что ПЦР идентифицировала их как тип *D*. Исследование показало, что 55 из 114 (48,24%) штаммов *P. multocida*, полученных от разных животных, были нетипированы с использованием только тестов на гиалуронидазу и акрифлавин. Однако в этом исследовании штаммы, классифицированные как нетипируемые, были отрицательными и по тесту на гиалуронидазу, и по тесту на акрифлавин, тогда как в нашем исследовании часть штаммов показали сомнительные или ложноположительные реакции на оба реагента.

Аналогичным образом было обнаружено, что 49 из 54 штаммов (90,74%), выделенных во время вспышки холеры у домашней птицы в Бразилии, при идентификации мультиплексной ПЦР были отнесены к группе *A*, и только два изолята (3,7%) не были идентифицированы. В отличие от этого, при использовании фенотипических тестов только 41 штамм (75,93%) был классифицирован как группа *A* и 11 образцов (20,37%) не поддавались идентификации. Из проанализированных штаммов 70,37% были отнесены к одной и той же серогруппе (*A*) фенотипическим и молекулярно-генетическими методами, однако коэффициент корреляции ($k = 0,017$) указывал на плохое соответствие между тестами [66].

K. Brogden и др. [67] исследовали 32 типоспецифические культуры, используемые в четырех системах типирования *P. multocida*, включая тесты на агглютинацию, реакцию декапсуляции гиалуронидазой и реакцию на акрифлавин, гель-диффузионный преципитационный тест Хеддлстона и заключили: когда эталонные культуры

Таблица 1. Результаты фенотипического типирования штаммов пастерелл по капсульным группам в гиалуронидазной, триафлавиновой пробе и методом ПЦР

Table 1. Results of phenotypic typing of pasteurilla strains by capsule groups in a hyaluronidase, triaflavin sample and by PCR

1	2	3	4	5	Капсульная группа		9
					6	7	
Номер штамма (изолята)	Источник выделения штамма (вид животного)	Тест на гиалуронидазу	Тест с акрифлавином	биохимический (по Картеру)	ПЦР	Группа по паспорту	
1.	<i>P. multocida</i> 14	Свинья	+	-	A	A	B
2.	<i>P. multocida</i> 656	Свинья	-	-	B	B	B
3.	<i>P. multocida</i> 9	Свинья	-	+	D	A	D
4.	<i>P. multocida</i> ATCC 43137	Свинья	±	-	н/т (A?)	A	A
5.	<i>P. multocida</i> № Kobe 6 (D:2)- ATCC	Свинья	-	±	н/т (D?)	D	D
6.	<i>P. multocida</i> TS8	Свинья	+	-	A	A	A
7.	<i>P. multocida</i> 877	Свинья	±	-	н/т (D?)	B	B
8.	<i>P. multocida</i> B-681	Поросенок	-	-	B	B	B
9.	<i>P. multocida</i> 1231	Поросенок	+	-	A	A	A
10.	<i>P. multocida</i> 216	Буйволенок	-	-	B	A	B
11.	<i>P. multocida</i> D	Буйволенок	-	-	B	B	B
12.	<i>P. multocida</i> 116	Буйволенок	-	-	B	B	B
13.	<i>P. multocida</i> Ф	Буйволенок	-	-	B	B	B
14.	<i>P. multocida</i> 796	Бык	-	-	B	B	B
15.	<i>P. multocida</i> R-473 ATCC	Корова	+	-	A	A	Отсутств.
16.	<i>P. multocida</i> 5264	Теленок	+	-	A	A	B
17.	<i>P. multocida</i> 217	Теленок	-	-	B	B	B
18.	<i>P. multocida</i> 115	Теленок	+	-	A	A	A
19.	<i>P. multocida</i> T-80	Ягненок	+	-	A	A	D
20.	<i>P. multocida</i> T-80 (D)	Ягненок	-	+	D	D	Отсутств.
21.	<i>P. multocida</i> смесь	Ягненок	-	-	B	B	Отсутств.
22.	<i>P. multocida</i> 24	Овца	+	-	A	A	Отсутств.
23.	<i>P. multocida</i> 4519	Овца	-	-	B	B	Отсутств.
24.	<i>P. multocida</i> 4519 серия 3, контроль 3	Овца	-	+	D	A	Отсутств.
25.	<i>P. multocida</i> 8683	Овца	+	-	A	A	Отсутств.
26.	<i>P. multocida</i> 2395	Норка	±	-	н/т (A?)	F/A	Отсутств.
27.	<i>P. multocida</i> 2394	Норка	-	+	D	A	Отсутств.
28.	<i>P. multocida</i> 515	Норка	+	-	A	A	Отсутств.
29.	<i>P. multocida</i> 6011	Норка	-	+	D	A	Отсутств.
30.	<i>P. multocida</i> 6012	Норка	-	-	B	A	Отсутств.
31.	<i>P. multocida</i> 514	Норка	-	-	B	F	Отсутств.
32.	<i>P. multocida</i> Норка ГНКИ-72 (норка)	Норка	±	-	н/т (A?)	A	Отсутств.
33.	<i>P. multocida</i> 1015 нутрия	Нутрия	+	-	A	A	Отсутств.
34.	<i>P. multocida</i> ГНКИ-71	Нутрия	-	-	B	A	Отсутств.
35.	<i>P. multocida</i> «Нутрия» 1015, «Северинский»	Нутрия	+	-	A	A	Отсутств.
36.	<i>P. multocida</i> 550	Кролик	+	-	A	A	Отсутств.
37.	<i>P. multocida</i> 15	Кролик	±	-	н/т (A?)	A	Отсутств.
38.	<i>P. multocida</i> 16	Кролик	-	-	B	B	Отсутств.
39.	<i>P. multocida</i> 17	Кролик	-	-	B	B	Отсутств.
40.	<i>P. multocida</i> 5	Кролик	+	-	A	A	B
41.	<i>P. multocida</i> Smoll	Кролик	-	-	B	B	Отсутств.
42.	<i>P. multocida</i> 2	Кролик	±	-	A	A	Отсутств.
43.	<i>P. multocida</i> 1718	Утка	±	-	н/т (A?)	A	Отсутств.
44.	<i>P. multocida</i> 396	Утка	+	-	A	A	Отсутств.

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	Капсульная группа		9
					6	7	
Номер штамма (изолята)	Источник выделения штамма (вид животного)	Тест на гиалуронидазу	Тест с акрифлавином	биохимический (по Картеру)	ПЦР	Группа по паспорту	
45.	<i>P. multocida</i> 1931	Утка	+	-	A	A	Отсутств.
46.	<i>P. multocida</i> 606	Гусь	+	-	A	A	Отсутств.
47.	<i>P. multocida</i> 712	Курица	+	-	A	A	A
48.	<i>P. multocida</i> X73 (ATCC 11039)	Курица	-	+	D	A	Отсутств.
49.	<i>P. multocida</i> 915	Курица	±	-	н/т (A?)	A	Отсутств.
50.	<i>P. multocida</i> AB	Получен путем биологического ослабления вирулентного шт. B	±	-	н/т (A?)	A	A
51.	<i>P. multocida</i> K	Получен путем биологического ослабления вирулентного шт. 126	±	±	н/т	A	A
52.	<i>P. multocida</i> 1277/79 тип 3	Неизвестен	-	+	D	D	Отсутств.
53.	<i>P. multocida</i> 078-P	Неизвестен	±	±	н/т	A	B
54.	<i>P. multocida</i> 1041	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
55.	<i>P. multocida</i> 1059	Индейка	+	-	A	A	A
56.	<i>P. multocida</i> 1394	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
57.	<i>P. multocida</i> 1581	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
58.	<i>P. multocida</i> 2095	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
59.	<i>P. multocida</i> 2100	Неизвестен	-	±	н/т (D?)	A	Отсутств.
60.	<i>P. multocida</i> 2225	Неизвестен	+	-	A	A	A
61.	<i>P. multocida</i> 2225 тип 14	Неизвестен	+	-	A	A	A
62.	<i>P. multocida</i> 2241	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
63.	<i>P. multocida</i> 2723	Неизвестен	±	±	н/т	A	Отсутств.
64.	<i>P. multocida</i> 2723 тип 16	Неизвестен	+	-	A	A	A
65.	<i>P. multocida</i> 49	Неизвестен	-	+	D	A	Отсутств.
66.	<i>P. multocida</i> 604	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
67.	<i>P. multocida</i> 713	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
68.	<i>P. multocida</i> 9	Неизвестен	-	+	D	A+D	D
69.	<i>P. multocida</i> II авирулентный	Неизвестен	±	-	н/т (A?)	A	A
70.	<i>P. multocida</i> Elefant	Неизвестен	-	-	B	B	B
71.	<i>P. multocida</i> Liver	Индейка	+	-	A	A	Отсутств.
72.	<i>P. multocida</i> Liver-P1380 (A:9)	Индейка	+	-	A	A	A
73.	<i>P. multocida</i> P1059, ATCC 15742	Неизвестен	+	-	A	A	A
74.	<i>P. multocida</i> TS9	Неизвестен	-	+	D	B	D
75.	<i>P. multocida</i> 3397	Неизвестен	-	-	B	D	A
76.	<i>P. multocida</i> 989	Неизвестен	±	-	н/т (A?)	A	(B:11) (E:11)
77.	<i>P. multocida</i> VAS	Неизвестен	-	-	B	A	Отсутств.
78.	<i>P. multocida</i> B-6	Неизвестен	-	-	B	B	B
79.	<i>P. multocida</i> Д-71	Неизвестен	-	±	н/т (D?)	A	Отсутств.
80.	<i>P. multocida</i> ИВ	Неизвестен	-	-	B	A	Отсутств.
81.	<i>P. multocida</i> Коломенский	Неизвестен	+	-	A	A	Отсутств.
82.	<i>P. multocida</i> Т-72	Неизвестен	±	+	н/т	A	Отсутств.

Примечание: (±) — реакция слабая или сомнительная; (н/т) — не типизируется.

исследовались с помощью метода типирования, исходя из которого они были описаны, результаты, как правило, коррелировали с полученными результатами. Однако капсульные типы, определенные одной системой типирования, обычно не коррелировали с таковыми, определенными другой системой, из-за чего невозможно установить надежную корреляцию между результатами капсульного типирования *P. multocida*, определенными с помощью различных систем типирования.

Использованные нами в работе гиалуронидазные и акрифлавиновые тесты, в отличие от метода ПЦР, не дают возможности для типирования пастерелл групп *E* и *F*, но и капсульная группа некоторых штаммов *P. multocida* методом ПЦР также не установлена.

Таким образом, мультиплексная ПЦР является более точным методом капсульного типирования *P. multocida*, поскольку позволяет провести одновременное и быстрое типирование штаммов пастерелл по пяти капсульным группам, но в ряде случаев не дает однозначного ответа на принадлежность штамма к определенной капсульной группе.

Выводы / Conclusions

Проведено исследование 82 штаммов *P. multocida* коллекции ФГБУ «ВГНКИ» по капсульной группе биохимическими и молекулярно-генетическими метода-

ми. Выявлено несовпадение результатов типирования между ПЦР и типированием по Картеру: по капсульной группе *A* в отношении 25 штаммов, по капсульной группе *D* в отношении 6 штаммов и по капсульной группе *B* в отношении 5 штаммов.

Наибольшее количество несовпадений результатов типирования пастерелл по капсульным группам по Картеру и методом ПЦР установлено для капсульной группы *A*, что может быть связано, с одной стороны, низкой чувствительностью штаммов к гиалуронидазе и субъективной оценкой величины образующихся хлопьев в акрифлавиновой пробе, а с другой — вероятностью возникновения спонтанных мутаций, приводящих к появлению бескапсульных вариантов бактерии, и способствует невозможности типирования или получению ложноположительных результатов.

Фенотипический метод не дает возможности для типирования пастерелл групп *E* и *F*, тогда как метод ПЦР позволяет типировать все капсульные группы (*A*, *B*, *D*, *E*, *F*).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что использование молекулярно-генетических методов капсульного типирования пастерелл повышает специфичность идентификации, но в ряде случаев не дает однозначного ответа на принадлежность штамма пастерелл к определенной капсульной группе.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Душук Р.В. Респираторные болезни свиней. Москва: Колос. 1982; 242–250.
2. Панин А.Н., Душук Р.В. Пастереллез животных. *Ветеринария*. 2012; 6: 3–8.
3. Wilkie I., Harper M., Boyce J., Adler B. *Pasteurella multocida*: diseases and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2012; 361: 1–22. doi:10.1007/82-2012-216
4. Glisson J.R., Saif Y.M., Fadly A.M., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D.E. *Diseases of Poultry. Wiley-Blackwell 12th edition*. 2008; 1352: 739–758. ISBN 978-0813807188
5. Harper M., Boyce J.D., Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*. 2006; 265(1): 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00442.x>
6. Колосов А.А. Пастереллезы животных, принципы контроля их эпизоотических процессов. *РАСХН. ГНУ ИЭВСидВ*. 2007; 206. eLIBRARY ID: 19511423. EDN: QKZENL
7. Arashima Y., Kumasaka K. *Pasteurellosis as zoonosis. Intern Med*. 2005; 44(7): 692–693. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.44.692>
8. OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. World Organization for Animal Health*. 2021; 1343. <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>
9. Biberstein E.L., Hirsh D.C. *Pasteurella. Veterinary Microbiology*. 1999; 135.
10. Орынбаев М., Султанкулова К., Сансызбай А., Рыстаева Р., Шораева К., Намет А. Биологическая характеристика *Pasteurella multocida*, присутствующей в популяции сайгака. *БМС Микробиол*. 2019; 19(1): 37. doi:10.1186/s12866-019-407-9
11. Baalsrud K.J. Atrophic rhinitis in goats in Norway. *Vet Rec*. 1987; 121(15): 350–353. doi:10.1136/vr.121.15.350
12. Джупина С.И., Колосов А.А. Особенности эпизоотологии, клинического проявления и диагностики пастереллеза сельскохозяйственных животных в Новосибирской области. 1984; 15–22.
13. Шегидевич Э.А. Роль пастерелл в респираторной патологии овец и крупного рогатого скота Автореферат диссертации д-ра вет. наук. 1993; 52.

REFERENCES

1. Dushuk R.V. *Respiratory diseases of pigs*. Moscow: Kolos. 1982; 242–250 (In Russian).
2. Panin A.N., Dushuk R.V. *Pasteurellosis of animals. Veterinary medicine*. 2012; 6: 3–8 (In Russian).
3. Wilkie I., Harper M., Boyce J., Adler B. *Pasteurella multocida*: diseases and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2012; 361: 1–22. doi:10.1007/82-2012-216
4. Glisson J.R., Saif Y.M., Fadly A.M., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D.E. *Diseases of Poultry. Wiley-Blackwell 12th edition*. 2008; 1352: 739–758. ISBN 978-0813807188
5. Harper M., Boyce J.D., Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*. 2006; 265(1): 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00442.x>
6. Kolosov A.A. *Pasteurellosis of animals, principles of control of their epizootic processes. RASKHN. GNU IEVSiDV*. 2007; 206 (In Russian). eLIBRARY ID: 19511423. EDN: QKZENL
7. Arashima Y., Kumasaka K. *Pasteurellosis as zoonosis. Intern Med*. 2005; 44(7): 692–693. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.44.692>
8. OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. World Organization for Animal Health*. 2021; 1343. <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>
9. Biberstein E.L., Hirsh D.C. *Pasteurella. Veterinary Microbiology*. 1999; 135.
10. Orynbayev M., Sultankulova K., Sansyzbai A., Rysaeva R., Shoraeva K., Namet A. *Bio-logical characteristics of Pasteurella multocida present in the saiga population. BMS Microbiol*. 2019; 19(1): 37 (In Russian). doi:10.1186/s12866-019-407-9
11. Baalsrud K.J. *Atrophic rhinitis in goats in Norway. Vet Rec*. 1987; 121(15): 350–353. doi:10.1136/vr.121.15.350
12. Dzhupina S.I., Kolosov A.A. *Features of epizootology, clinical manifestation and diagnosis of pasteurellosis of agricultural animals in the Novosibirsk region*. 1984; 15–22 (In Russian).
13. Shegidevich E.A. *The role of pasteurella in respiratory pathology of sheep and cattle. Dissertation abstract of Doctor of Veterinary Sciences*. 1993; 52 (In Russian).

14. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T., Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Ir Vet J.* 2017; 70: 2. doi:10.1186/s13620-016-0080-7
15. Ewers C., Lübke-Becker A., Bethe A., Kiebling S., Filter M., Wieler L.H. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet Microbiol.* 2006; 114(3-4): 304–317. doi:10.1016/j.vetmic.2005.12.012
16. Ewers C., Lübke-Becker A., Wieler L.H. *Pasteurella*: insights into the virulence deter-minants of a heterogenous bacterial type. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2004; 117(9-10): 367–386. PMID: 15495927
17. Лях Ю.Г., Крот Л.А. Патологоанатомическая картина при пастереллезе, вызванном *Pasteurella multocida* сероваров А и D. *Ученые записки. Витебская государственная академия ветеринарной медицины.* 2006; 42(2-2): 145–147.
18. Boyce J.D., Adler B. The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). *Infection and Immunity.* 2000; 68: 3463–3468. doi:10.1128/IAI.68.6.3463-3468.2000
19. Ochi Y. Studies on hemorrhagic septicemia organisms, especially on their variability. 4 Reports. *J. Jap. Soc. Vet. Sci.* I–III: 1931; 1: 331–366; IV; 1933; 1: 47–52; V: 1933; 1: 185–199
20. Carter G.R. The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida*. *Canadian Journal of Medical Sciences.* 1952; 30(1): 48–53. doi:10.1139/cjms52-008
21. Carter G.R. Studies on *Pasteurella multocida* I.A haemagglutination test for the identification of serological types. *Am J. Vet Res.* 1955; 16: 481–484. PMID:13238757
22. Carter G.R., Annau E. Isolation of capsular polysaccharides from colonial variants of *Pasteurella multocida*. *Am J. Vet Res.* 1953; 14: 475–478. PMID:13065665
23. Carter G.R. Some characteristics of type A strains of *Pasteurella multocida*. *Brit Vet J.* 1958; 114: 356, 357.
24. Carter G.R., Rundell S.W. Identification of type A strains of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Veterinary Records.* 1975; 96: 343. doi:10.1136/vr.96.15.343
25. Pandit K.K., Smith J.E. Capsular hyaluronic acid in *Pasteurella multocida* type A and its counterpart in type D. *Res Vet Sci.* 1993; 1: 20–24. doi:10.1016/0034-5288(93)90005-z
26. Carter G.R., Subronto P. Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* using acriflavine. *Am J. Vet Res.* 1973; 34: 293–295. PMID:4685553
27. Watt J.M., Swiatlo E., Wade M.M., Champlin F.R. Regulation of capsule biosynthesis in serotype A strains of *Pasteurella multocida*. *FEMS Microbiol Lett.* 2003; 225: 9–14. eLIBRARY ID: 4702436. doi:10.1016/S0378-1097(03)00437-3
28. DeAngelis P.L., Gunay N.S., Toida T., Mao W.J., Linhardt R.J. Identification of the capsular polysaccharides of type D and F *Pasteurella multocida* as unmodified heparin and chondroitin, respectively. *Carbohydr Res.* 2002; 337(17): 1547–1552. doi:10.1016/S0008-6215(02)00219-7
29. Boyce J.D., Chung J.Y., Adler B. *Pasteurella multocida* capsule: composition, function and genetics. *J. Biotechnol.* 2000; 83(1-2): 153–160. doi:10.1016/S0168-1656(00)00309-6
30. Chung J.Y., Wilkie I., Boyce J.D., Townsend K.M., Frost A.J. Role of capsule in the pathogenesis of fowl cholera caused by *Pasteurella multocida* serogroup A. *Infect Immun.* 2001; 69: 2487–2492. doi:10.1128/IAI.69.4.2487-2492.2001
31. Hotchkiss E.J., Hodgson J.C., Lainson F.A., Zadoks R.N. Multi-locus sequence typing of a global collection of *Pasteurella multocida* isolates from cattle and other host species demonstrates niche association. *BMC Microbiol.* 2011; 11: 115. doi:10.1186/1471-2180-11-115
32. Shivachandra S.B., Viswas K.N., Kumar A.A. A review of hemorrhagic septicemia in cattle and buffalo. *Anim Heal Res Rev.* 2011; 12: 67–82. doi:10.1017/S146625231100003X
33. Breen D., Schonell M., Au T., Reiss-Levy E. *Pasteurella multocida*: a case report of bacteremic pneumonia and 10-year laboratory review. *Pathology.* 2000; 32(2): 152, 153. https://doi.org/10.1080/003130200104448
34. De Alwis M.C. Haemorrhagic Septicaemia, *ACIAR Monograph No. 57. Australian Center for International Agricultural Research:* Canberra, Australia. 1999.
35. Kabeta T., Fikadu T., Zenebe T., Kebede G. Review on the Pneumonic Pasteurellosis of Cattle. *Acad. J. Anim. Dis.* 2015; 4(3): 177–184. doi:10.5829/idosi.ajad.2015.4.3.9674
36. Kumar A.A., Shivachandra S.B., Biswas A., Singh V.P., Srivastava S.K. Prevalent serotypes of *Pasteurella multocida* isolated from different animal and avian species in India. *Veterinary Research Communications.* 2004; 28: 657–667. https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000045959.36513.e9
14. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T., Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Ir Vet J.* 2017; 70: 2. doi:10.1186/s13620-016-0080-7
15. Ewers C., Lübke-Becker A., Bethe A., Kiebling S., Filter M., Wieler L.H. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet Microbiol.* 2006; 114(3-4): 304–317. doi:10.1016/j.vetmic.2005.12.012
16. Ewers C., Lübke-Becker A., Wieler L.H. *Pasteurella*: insights into the virulence deter-minants of a heterogenous bacterial type. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2004; 117(9-10): 367–386. PMID: 15495927
17. Lyakh Yu.G., Mole L.A. Pathoanatomic picture in pasteurellosis caused by *Pasteurella multocida* serovar A and D. *Scientific notes. Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine.* 2006; 42(2-2): 145–147 (In Russian).
18. Boyce J.D., Adler B. The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). *Infection and Immunity.* 2000; 68: 3463–3468. doi:10.1128/IAI.68.6.3463-3468.2000
19. Ochi Y. Studies on hemorrhagic septicemia organisms, especially on their variability. 4 Reports. *J. Jap. Soc. Vet. Sci.* I–III: 1931; 1: 331–366; IV; 1933; 1: 47–52; V: 1933; 1: 185–199.
20. Carter G.R. The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida*. *Canadian Journal of Medical Sciences.* 1952; 30(1): 48–53. doi:10.1139/cjms52-008
21. Carter G.R. Studies on *Pasteurella multocida* I.A haemagglutination test for the identification of serological types. *Am J. Vet Res.* 1955; 16: 481–484. PMID:13238757
22. Carter G.R., Annau E. Isolation of capsular polysaccharides from colonial variants of *Pasteurella multocida*. *Am J. Vet Res.* 1953; 14: 475–478. PMID:13065665
23. Carter G.R. Some characteristics of type A strains of *Pasteurella multocida*. *Brit Vet J.* 1958; 114: 356, 357.
24. Carter G.R., Rundell S.W. Identification of type A strains of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Veterinary Records.* 1975; 96: 343. doi:10.1136/vr.96.15.343
25. Pandit K.K., Smith J.E. Capsular hyaluronic acid in *Pasteurella multocida* type A and its counterpart in type D. *Res Vet Sci.* 1993; 1: 20–24. doi:10.1016/0034-5288(93)90005-z
26. Carter G.R., Subronto P. Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* using acriflavine. *Am J. Vet Res.* 1973; 34: 293–295. PMID:4685553
27. Watt J.M., Swiatlo E., Wade M.M., Champlin F.R. Regulation of capsule biosynthesis in serotype A strains of *Pasteurella multocida*. *FEMS Microbiol Lett.* 2003; 225: 9–14. eLIBRARY ID: 4702436 doi: 10.1016/S0378-1097(03)00437-3
28. DeAngelis P.L., Gunay N.S., Toida T., Mao W.J., Linhardt R.J. Identification of the capsular polysaccharides of type D and F *Pasteurella multocida* as unmodified heparin and chondroitin, respectively. *Carbohydr Res.* 2002; 337(17): 1547–1552. doi:10.1016/S0008-6215(02)00219-7
29. Boyce J.D., Chung J.Y., Adler B. *Pasteurella multocida* capsule: composition, function and genetics. *J. Biotechnol.* 2000; 83(1-2): 153–160. doi:10.1016/S0168-1656(00)00309-6
30. Chung J.Y., Wilkie I., Boyce J.D., Townsend K.M., Frost A.J. Role of capsule in the pathogenesis of fowl cholera caused by *Pasteurella multocida* serogroup A. *Infect Immun.* 2001; 69: 2487–2492. doi:10.1128/IAI.69.4.2487-2492.2001
31. Hotchkiss E.J., Hodgson J.C., Lainson F.A., Zadoks R.N. Multi-locus sequence typing of a global collection of *Pasteurella multocida* isolates from cattle and other host species demonstrates niche association. *BMC Microbiol.* 2011; 11: 115. doi:10.1186/1471-2180-11-115
32. Shivachandra S.B., Viswas K.N., Kumar A.A. A review of hemorrhagic septicemia in cattle and buffalo. *Anim Heal Res Rev.* 2011; 12: 67–82. doi:10.1017/S146625231100003X
33. Breen D., Schonell M., Au T., Reiss-Levy E. *Pasteurella multocida*: a case report of bacteremic pneumonia and 10-year laboratory review. *Pathology.* 2000; 32(2): 152, 153. https://doi.org/10.1080/003130200104448
34. De Alwis M.C. Haemorrhagic Septicaemia, *ACIAR Monograph No. 57. Australian Center for International Agricultural Research:* Canberra, Australia. 1999.
35. Kabeta T., Fikadu T., Zenebe T., Kebede G. Review on the Pneumonic Pasteurellosis of Cattle. *Acad. J. Anim. Dis.* 2015; 4(3): 177–184. doi:10.5829/idosi.ajad.2015.4.3.9674
36. Kumar A.A., Shivachandra S.B., Biswas A., Singh V.P., Srivastava S.K. Prevalent serotypes of *Pasteurella multocida* isolated from different animal and avian species in India. *Veterinary Research Communications.* 2004; 28: 657–667. https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000045959.36513.e9

37. Dabo S.M., Taylor J.D., Confer A.W. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev.* 2007; 8(2): 129–150. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001399>
38. Blanco-Viera F.J., Trigo F.J., Jaramillo-Meza L., Aguilar-Romero F. Serotypes of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* isolated from pneumonic lesions in cattle and sheep from Mexico. *Rev Latinoam Microbiol.* 1995; 37: 121–126.
39. Heddieston K.L., Gallagher J.E., Rebers P.A. Fowl cholera: Gel diffusion precipitin test for sero-typing *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Diseases.* 1972; 16: 925–936.
40. Christensen J.P., Bisgaard M. Fowl cholera. *Rev Sci Tech.* 2000; 19(2): 626–637. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1236>
41. Davies R.L., MacCorquodale R., Caffrey B. Diversity of avian *Pasteurella multocida* strains based on capsular PCR typing and variation of the OmpA and OmpH outer membrane proteins. *Vet Microbiol.* 2003; 91(2-3): 169–182. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00300-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00300-0)
42. Rhoades K.R., Rimler R.B. Capsular Groups of *Pasteurella multocida* Isolated from Avian Hosts. *Avian Diseases.* 1987; 31(4): 895–898.
43. Ross R.F. *Pasteurella multocida* and its role in porcine pneumonia. *Anim Health Res Rev.* 2006; 7(1-2): 13–29. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001211>
44. Прутин П.И. Инфекционный атрофический ринит. *Болезни свиней.* Москва: Колос. 1970; 50.
45. Sakano T., Taneda A., Okada M., Ono M., Hayashi Y., Sato S. Toxigenic type A *Pasteurella multocida* as a causative agent of nasal turbinate atrophy in swine. *J. Vet Med Sci.* 1992; 54: 403–407. <https://doi.org/10.1292/jvms.54.403>
46. Pors S.E., Hansen M.S., Bisgaard M., Jensen H.E. Occurrence and associated lesions of *Pasteurella multocida* in porcine bronchopneumonia. *Vet. Microbiol.* 2011; 150: 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.01.005>
47. Davies R.L., MacCorquodale R., Baillie S., Caffrey B. Characterization and comparison of *Pasteurella multocida* strains associated with porcine pneumonia and atrophic rhinitis. *J. Med Microbiol.* 2003; 52(1): 59–67. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05019-0>
48. Bethé A., Wieler L.H., Selbitz H.J., Ewers C. Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine. *Vet. Microbiol.* 2009; 139: 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.04.027>
49. Blackall P.J., Pahoff J.L., Bowles R. Phenotypic characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from Australian pigs. *Vet. Microbiol.* 1997; 57: 355–356. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(97\)00111-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00111-9)
50. Kim J., Kim J.W., Oh S.I. et al. Characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from pigs with pneumonia in Korea. *BMC Vet Res.* 2019; 15: 119. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1861-5>
51. Varga Z., Sellyei B., Magyar T. Phenotypic and genotypic characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Hungary. *Acta Vet. Hung.* 2007; 55: 425–434. <https://doi.org/10.1556/avet.55.2007.4.2>
52. Peng Z., Wang H., Liang W., Chen Y., Tang X., Chen H. et al. A capsule/lipopolysaccharide/MLST genotype D/L6/ST11 of *Pasteurella multocida* is likely to be strongly associated with swine respiratory disease in China. *Arch. Microbiol.* 2018; 200: 107–118. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1421-y>
53. Tang X., Zhao Z., Hu J., Wu B., Cai X., He Q. et al. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47: 951–958. <https://doi.org/10.1128/JCM.02029-08>
54. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T., Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Ir. Vet. J.* 2017; 70: 2. <https://doi.org/10.1186/s13620-016-0080-7>
55. Прудников В.С., Долженков В.А. Риниты свиней (распространение, патоморфология, диагностика). *Ученые записки УО ВГАВМ.* 2017; 53(3): 71–74. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/2332>
56. Chengappa M.M., Myers R.C., Carter G.R. Capsular and somatic types of *Pasteurella multocida* from rabbits. *Can J. Comp Med.* 1982; 46(4): 437–439. PMID:6816462; PMC1320313
57. Lu Y.S., Pakes S.P., Stefanu C. Capsular and somatic serotypes of *Pasteurella multocida* isolates recovered from healthy and diseased rabbits in Texas. *J. Clin Microbiol.* 1983; 18(2): 292–295. <https://doi.org/10.1128/jcm.18.2.292-295.1983>
58. Jaqlic Z., Kucerova Z., Ned-balcova K., Hlozek P., Bartos M. Identification of *Pasteurella multocida* serogroup F isolates in rabbits. *J. Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004; 51: 467–469. PubMed <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00807>
59. Catry B., Chiers K., Schwarz S., Kehrenberg C. Fatal peritonitis caused by *Pasteurella multocida* capsular type F in calves. *J. Clin Microbiol.* 2005; 43(3): 1480–1483. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-26>
37. Dabo S.M., Taylor J.D., Confer A.W. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev.* 2007; 8(2): 129–150. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001399>
38. Blanco-Viera F.J., Trigo F.J., Jaramillo-Meza L., Aguilar-Romero F. Serotypes of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* isolated from pneumonic lesions in cattle and sheep from México. *Rev Latinoam Microbiol.* 1995; 37: 121–126.
39. Heddieston K.L., Gallagher J.E., Rebers P.A. Fowl cholera: Gel diffusion precipitin test for sero-typing *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Diseases.* 1972; 16: 925–936.
40. Christensen J.P., Bisgaard M. Fowl cholera. *Rev Sci Tech.* 2000; 19(2): 626–637. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1236>
41. Davies R.L., MacCorquodale R., Caffrey B. Diversity of avian *Pasteurella multocida* strains based on capsular PCR typing and variation of the OmpA and OmpH outer membrane proteins. *Vet Microbiol.* 2003; 91(2-3): 169–182. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00300-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00300-0)
42. Rhoades K.R., Rimler R.B. Capsular Groups of *Pasteurella multocida* Isolated from Avian Hosts. *Avian Diseases.* 1987; 31(4): 895–898.
43. Ross R.F. *Pasteurella multocida* and its role in porcine pneumonia. *Anim Health Res Rev.* 2006; 7(1-2): 13–29. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001211>
44. Pritulin P.I. Infectious atrophic rhinitis. *Pig diseases.* Moscow: Kolos. 1970; 50 (In Russian).
45. Sakano T., Taneda A., Okada M., Ono M., Hayashi Y., Sato S. Toxigenic type A *Pasteurella multocida* as a causative agent of nasal turbinate atrophy in swine. *J. Vet Med Sci.* 1992; 54: 403–407. <https://doi.org/10.1292/jvms.54.403>
46. Pors S.E., Hansen M.S., Bisgaard M., Jensen H.E. Occurrence and associated lesions of *Pasteurella multocida* in porcine bronchopneumonia. *Vet. Microbiol.* 2011; 150: 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.01.005>
47. Davies R.L., MacCorquodale R., Baillie S., Caffrey B. Characterization and comparison of *Pasteurella multocida* strains associated with porcine pneumonia and atrophic rhinitis. *J. Med Microbiol.* 2003; 52(1): 59–67. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05019-0>
48. Bethé A., Wieler L.H., Selbitz H.J., Ewers C. Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine. *Vet. Microbiol.* 2009; 139: 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.04.027>
49. Blackall P.J., Pahoff J.L., Bowles R. Phenotypic characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from Australian pigs. *Vet. Microbiol.* 1997; 57: 355–356. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(97\)00111-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00111-9)
50. Kim J., Kim J.W., Oh S.I. et al. Characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from pigs with pneumonia in Korea. *BMC Vet Res.* 2019; 15: 119. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1861-5>
51. Varga Z., Sellyei B., Magyar T. Phenotypic and genotypic characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Hungary. *Acta Vet. Hung.* 2007; 55: 425–434. <https://doi.org/10.1556/avet.55.2007.4.2>
52. Peng Z., Wang H., Liang W., Chen Y., Tang X., Chen H. et al. A capsule/lipopolysaccharide/MLST genotype D/L6/ST11 of *Pasteurella multocida* is likely to be strongly associated with swine respiratory disease in China. *Arch. Microbiol.* 2018; 200: 107–118. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1421-y>
53. Tang X., Zhao Z., Hu J., Wu B., Cai X., He Q. et al. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47: 951–958. <https://doi.org/10.1128/JCM.02029-08>
54. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T., Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Ir. Vet. J.* 2017; 70: 2. <https://doi.org/10.1186/s13620-016-0080-7>
55. Prudnikov V.S., Dolzhenkov V.A. Rhinitis of pigs (distribution, pathomorphology, diagnostics). Scientific notes of the UO VGAVM. 2017; 53(3): 71–74. <https://repo.vsavm.by/handle/123456789/2332>
56. Chengappa M.M., Myers R.C., Carter G.R. Capsular and somatic types of *Pasteurella multocida* from rabbits. *Can J. Comp Med.* 1982; 46(4): 437–439. PMID:6816462; PMC1320313
57. Lu Y.S., Pakes S.P., Stefanu C. Capsular and somatic serotypes of *Pasteurella multocida* isolates recovered from healthy and diseased rabbits in Texas. *J. Clin Microbiol.* 1983; 18(2): 292–295. <https://doi.org/10.1128/jcm.18.2.292-295.1983>
58. Jaqlic Z., Kucerova Z., Ned-balcova K., Hlozek P., Bartos M. Identification of *Pasteurella multocida* serogroup F isolates in rabbits. *J. Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004; 51: 467–469. PubMed <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00807>
59. Catry B., Chiers K., Schwarz S., Kehrenberg C. Fatal peritonitis caused by *Pasteurella multocida* capsular type F in calves. *J. Clin Microbiol.* 2005; 43(3): 1480–1483. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-26>

60. Методические указания по лабораторной диагностике пастереллезов животных и птиц (утв. 20.08.1992 № 22-7/82 Главным управлением ветеринарии МСХ РФ). Режим доступа: <http://www.garant.ru/>
61. May B.J., Zhang Q., Li L.L., Paustian M.L., Whittam T.S., Kapur V. Complete genomic sequence of *Pasteurella multocida*, Pm70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98: 3460–3465. <https://doi.org/10.1073/pnas.051634598>
62. Wilson B.A., Ho M. *Pasteurella multocida*: from zoonosis to cellular microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 26: 631–655. <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-13>
63. Gautam R., Kumar A.A., Singh V.P., Singh V.P., Dutta T.K., Shivachandra S.B. Specific identification of *Pasteurella multocida* serogroup A isolates by PCR assay. *Res Vet Sci*. 2004; 76: 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2003.10.005>
64. Townsend K.M., Frost A.J., Lee C.W., Papadimitriou J.M., Dawkins H.J. Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J. Clin Microbiol*. 1998; 36: 1096–1100. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.4.1096-1100.1998>
65. Arumugam N.D., Ajam N., Blackall P.J., Asiah N.M., Ramlan M., Maria J., Yuslan S., Thong K.L. Capsular serotyping of *Pasteurella multocida* from various animal hosts – a comparison of phenotypic and genotypic methods. *Trop Biomed*. 2011; 28: 55–63. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160231-36>
66. Furian T.Q., Borges K.A., Pilatti R.M., Almeida C., do Nascimento V.P., Salle C.T.P., de S. Moraes H.L. Identification of the capsule type of *Pasteurella multocida* isolates from cases of fowl cholera by multiplex PCR and comparison with phenotypic methods. *Braz. J. Poultry Sci*. 2014; 16(2): 31–36. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160231-36>
67. Brogden K.A., Packer R.A. Comparison of *Pasteurella multocida* serotyping systems. *Am J. Vet Res*. 1979; 40(9): 1332–1335. PMID:118694
60. Guidelines for laboratory diagnostics of pasteurellosis of animals and birds (approved 20.08.1992 No. 22-7/82 by the Main Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation) (In Russian). Available from: <http://www.garant.ru/>
61. May B.J., Zhang Q., Li L.L., Paustian M.L., Whittam T.S., Kapur V. Complete genomic sequence of *Pasteurella multocida*, Pm70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98: 3460–3465. <https://doi.org/10.1073/pnas.051634598>
62. Wilson B.A., Ho M. *Pasteurella multocida*: from zoonosis to cellular microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 26: 631–655. <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-13>
63. Gautam R., Kumar A.A., Singh V.P., Singh V.P., Dutta T.K., Shivachandra S.B. Specific identification of *Pasteurella multocida* serogroup A isolates by PCR assay. *Res Vet Sci*. 2004; 76: 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2003.10.005>
64. Townsend K.M., Frost A.J., Lee C.W., Papadimitriou J.M., Dawkins H.J. Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J. Clin Microbiol*. 1998; 36: 1096–1100. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.4.1096-1100.1998>
65. Arumugam N.D., Ajam N., Blackall P.J., Asiah N.M., Ramlan M., Maria J., Yuslan S., Thong K.L. Capsular serotyping of *Pasteurella multocida* from various animal hosts — a comparison of phenotypic and genotypic methods. *Trop Biomed*. 2011; 28: 55–63. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160231-36>
66. Furian T.Q., Borges K.A., Pilatti R.M., Almeida C., do Nascimento V.P., Salle C.T.P., de S. Moraes H.L. Identification of the capsule type of *Pasteurella multocida* isolates from cases of fowl cholera by multiplex PCR and comparison with phenotypic methods. *Braz. J. Poultry Sci*. 2014; 16(2): 31–36. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160231-36>
67. Brogden K.A., Packer R.A. Comparison of *Pasteurella multocida* serotyping systems. *Am J. Vet Res*. 1979; 40(9): 1332–1335. PMID:118694

ОБ АВТОРАХ:

Нина Ивановна Малик,
доктор биологических наук, профессор
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: nimalik@vgnki.ru

Лия Андреевна Маленкова,
научный сотрудник
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: malenkova@vgnki.ru

Евгений Васильевич Малик,
кандидат ветеринарных наук,
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: evmalik@vgnki.ru

Ирина Александровна Гулейчик,
кандидат биологических наук,
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: i.guleichyk@vgnki.ru

Наталья Александровна Чупахина,
кандидат биологических наук,
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: n.chupahina@vgnki.ru

Иван Анатольевич Русанов,
кандидат ветеринарных наук,
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: rusanov@vgnki.ru

Надежда Сергеевна Самохвалова,
научный сотрудник,
Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Звенигородское шоссе 5, Москва, 123022, Российская Федерация
E-mail: n.samokhvalova@vgnki.ru

ABOUT THE AUTHORS:

Nina Ivanovna Malik,
Doctor of Biological Sciences, Professor,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, 5, Zvenigorodskoye shosse, osw, 123022, Russian Federation
E-mail: nimalik@vgnki.ru

Liya Andreevna Malenkova,
Researcher,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: malenkova@vgnki.ru

Evgeny Vasilevich Malik,
Candidate of Veterinary Sciences,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, 5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: evmalik@vgnki.ru

Irina Aleksandrovna Guleychik,
Candidate of Biological Sciences,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: i.guleichyk@vgnki.ru

Nataliia Aleksandrovna Chupahina,
Candidate of Biological Sciences,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: n.chupahina@vgnki.ru

Ivan Anatolevich Rusanov,
Candidate of Veterinary Sciences,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: rusanov@vgnki.ru

Nadezda Sergeevna Samokhvalova,
Researcher,
The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
5, Zvenigorodskoye shosse, Moscow, 123022, Russian Federation
E-mail: n.samokhvalova@vgnki.ru