

УДК: 619:616.99:636.4(470.2)

DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.68

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
CRYPTOSPORIDIUM SCROFARUM В СВИНОВОДЧЕСКИХ
ХОЗЯЙСТВАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ
СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РФ**

Кряжев А.Л.* – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры эпизоотологии и микробиологии (ORCID 0000-0001-7015-8063); **Новиков А.С.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства. (ORCID 0000-0002-6919-8524)

ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина

*kamarnett@mail.tu

Ключевые слова: криптоспоридиоз, *Cryptosporidium scrofarum*, ооцисты, ПЦР, ДНК, секвенирование, 18S рРНК, поросята, Вологодская область, Российская Федерация

Key words: cryptosporidiosis, *Cryptosporidium scrofarum*, oocysts, PCR, DNA, sequencing, ASV, amplicon sequence variant, 18S rRNA, piglets, the Vologda region, the Russian Federation

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00002, <https://rscf.ru/project/22-26-00002/>. Молекулярно-генетические исследования выполнены с использованием оборудования с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Поступила: 10.10.2023

Принята к публикации: 17.11.2023

Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Криптоспоридиоз – зооноз, имеющий глобальное распространение, вызываемый протистами рода *Cryptosporidium*. К настоящему времени с применением в исследованиях молекулярно-генетических методов идентифицировано 44 вида и 120 генотипов представителей рода *Cryptosporidium*. У свиней выделено тринадцать различных видов/генотипов с доминированием *Cryptosporidium suis* и *Cryptosporidium scrofarum*. В РФ идентификация видов криптоспоридий у поросят при помощи молекулярно-генетических методов ранее не проводилась. Целью данных исследований было выявление, идентификация, анализ и изучение особенностей распространения *Cryptosporidium scrofarum* у свиней в хозяйствах Вологодской области СЗФО РФ. Впервые в РФ на примере Вологодской области СЗФО в свиноводческих хозяйствах различного типа с применением ранее разработанных, а также в результате собственных разработок новейших молекулярно-генетических методик, а именно – NGS секвенирования ампликонов фрагментов гена 18S рРНК, полученных в результате проведения вложенной ПЦР, нами установлено паразитирование *C. scrofarum* у свиней всех возрастных групп. Инвазированность животных, содержащихся в свинокомплексах составила 34%, в фермерских хозяйствах – 32,4%. Наиболее подвержены заражению поросята, находящиеся на откорме в возрасте 13-24 недель.

Анализ таксономической принадлежности ASV проведенный с помощью филогенетического анализа, дополненного анализом с использованием алгоритма blastn в базе данных GenBank, показал, что суммарно во всех исследованных образцах присутствуют 10 ASV-типов (amplicon sequence variant), имеющих высокое сходство с последовательностями, депонированными в GenBank, как фрагменты гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum*. Установлено, что типы ASV1 и ASV2, выявляемые в различных географических регионах мира от Португалии и Великобритании до Китая, Индии и Австралии, идентифицированы во всех обследуемых хозяйствах, хотя и в существенно различных количествах. Остальные ASV присутствуют в значительно меньшем количестве и не повторяются от хозяйства к хозяйству. Вероятно, эти последовательности принадлежат местным популяциям подвидов *Cryptosporidium scrofarum*. Интересным представляется обнаружение уникальной последовательности рода *Cryptosporidium* типа ASV8, который в последствии может быть описан как новый вид.

Обнаруженные нами нуклеотидные последовательности являются уникальными. Каждая из них была депонирована в GenBank с присвоением идентификаторов (Sequence ID: OR649139, OR654022, OR654023, OR661243, OR661244, OR654051, OR654052, OR654083, OR654084, OR654106).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Криптоспориоз – болезнь животных и человека, имеющая глобальное распространение, вызываемая простейшими рода *Cryptosporidium* [1, 2, 3, 4 и др.].

У поросят криптоспориоз впервые обнаружены в 1977 г. [5], в России в 1984 г. [6]. В условиях северо-запада РФ криптоспориоз у поросят были выявлены нами [7, 8], изучен ряд вопросов эпизоотологии, клинического проявления, терапии и профилактики данной болезни.

К настоящему времени с применением в исследованиях молекулярно-генетических методов идентифицировано 44 вида и 120 генотипов представителей рода *Cryptosporidium* [9]. У свиней было выделено тринадцать различных видов/генотипов *Cryptosporidium*, а именно *Cryptosporidium scrofarum* (ранее *Cryptosporidium*, генотип свиньи II), *Cryptosporidium suis* (ранее *Cryptosporidium*, генотип свиньи I), *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium tyzzeri* (ранее генотип I мыши *Cryptosporidium*), *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium andersoni*, *Cryptosporidium struthioni*, генотип *Cryptosporidium* крысы, *Cryptosporidium* sp. Генотип Eire w65.5 и неизвестный генотип *Cryptosporidium* из навозной жижи свиней [10, 11, 12, 13]. Более 90% случаев криптоспори-

оза у свиней вызывается видами *Cryptosporidium suis* и *Cryptosporidium scrofarum* [14], также сообщается о потенциальной опасности заражения ими человека [11, 15].

Ранее нами при помощи молекулярно-генетических исследований было проведено изучение таксономической принадлежности криптоспориозов свиней в условиях СЗФО РФ и установлен вид *Cryptosporidium scrofarum* [16].

Целью данных исследований было выявление, идентификация, анализ и изучение особенностей распространения *Cryptosporidium scrofarum* у свиней в хозяйствах Вологодской области СЗФО РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Данные исследования в Российской Федерации были выполнены впервые.

Исследования проводились в условиях промышленных свинокомплексов и частных фермерских хозяйств Вологодской области СЗФО РФ с января 2022 по октябрь 2023 г. Фекалии для исследования отбирали от поросят различных возрастов, проводили их первоначальное обследование путем микроскопии окрашенных мазков по методике Циля-Нильсена [17] с целью обнаружения криптоспориозов и установления интенсивности заражения.

Далее пробы замороженные образцы проб направляли в г. Пушкин, Санкт-

Петербург для дальнейших исследований. Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Идентификация криптоспоридий до вида в образцах фекалий сельскохозяйственных животных проводилась по ранее разработанной нами методике [16] с помощью двух раундов NGS секвенирования ампликонов фрагментов гена 18S рРНК, полученных в результате проведения nested (вложенной) ПЦР с использованием специализированных методов [18, 19] с последующим демультимплексированием образцов, «деноизинга», объединения последовательностей (перекрытие минимум в 12 нуклеотидов), восстановления исходных филотипов (ASV, (Amplicon sequence variant)) и удаления химерных прочтений [20]. Таксономическая принадлежность последовательностей определялась с помощью blastn в базе данных GenBank [16].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием компьютерной программы STATISTICA 10.

Всего исследованию подверглись пробы от 650 животных. Таксономическая принадлежность ASV определена при помощи филогенетического анализа 53 проб.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенных исследований представители рода *Cryptosporidium* выявлены у животных всех возрастов. Следует отметить, что они присутствовали как у животных с диареей, так и у поросят без проявления клинических симптомов нарушения пищеварения. Общая инвазированность свиней в свинокомплексах составила 34%, а в частных фермерских хозяйствах – 32,4%. Поросята-сосуны (до 5-недельного возраста) в условиях свинокомплексов были заражены криптоспоридиями в 40% случаев, интенсивность криптоспоридиозной инвазии была преимущественно сильной (+++), встречалась в 20% случаев. Средняя (++) и слабая (+) степени выделения ооцист

также имели место в 3% случаев каждая. В фермерских хозяйствах зараженность поросят-сосунов составила 24%, интенсивность выделения ооцист была преимущественно слабой (+), встречалась в 32% случаев. Средняя (++) степень выделения ооцист составила 16% случаев. Поросята-отъемыши (5-12-недельного возраста) в условиях свинокомплексов были инвазированы криптоспоридиями на 33,3%, наиболее часто встречалась сильная (+++) степень криптоспоридиозной инвазии 26,7% против 10 % средней (++) и 3,3% слабой (+). Поросята этой же возрастной группы, содержащиеся в частных фермерских хозяйствах, были заражены криптоспоридиями на 42%, регистрировали преимущественно среднюю (++) степень выделения ооцист, она составила 70% против 14 % слабой (+). Наиболее инвазированы криптоспоридиями поросята-откормочники (13-24 недель), инвазированность этих животных, содержащихся на свинокомплексах составила 60 %. Интенсивность выделения ооцист была преимущественно средней (++) – 26,7% и сильной – 23,3%. В 13,3% случаев встречалась слабая (+) степень инвазии. Инвазированность данной группы поросят, содержащихся в фермерских хозяйствах, составила 72%. Степень выделения ооцист была средней (++) – 42% и слабой (+) – 30%. Животные старше 24 недель в условиях свинокомплексов инвазированы криптоспоридиями в 20% случаев. Степень инвазии у них была средняя (++) – 13,3% и сильная (+++) – 6,7%. Содержащиеся в фермерских хозяйствах поросята данной возрастной группы инвазированы криптоспоридиями на 10%. У них регистрировали слабую (+) – 4 и среднюю (++) – 6% степень криптоспоридиозной инвазии. Свиноматки промышленного способа содержания также инвазированы ооцистами криптоспоридий на 16,7% достаточно слабой (+) степени инвазии. Зараженность криптоспоридиями свиноматок, содержащихся у фермеров составила 14%, также при слабой (+) степени инвазии (табл. 1).

Таблица 1 – Распространение *Cryptosporidium scrofarum* среди различных возрастных групп свиней при разных технологиях содержания в условиях Вологодской области

Возрастные группы обследованных животных	Поросята, инвазированные <i>C. scrofarum</i> (ЭИ, %)		Интенсивность выделения ооцист (%)					
			слабая +		средняя ++		сильная +++	
	В свино-комплексах	В фермерских хозяйствах	В свино-комплексах	В фермерских хозяйствах	В свино-комплексах	В фермерских хозяйствах	В свино-комплексах	В фермерских хозяйствах
Поросята- сосуны (до 5 недель)	40	24	3	32	3	16	20	–
Поросята-отъемыши (5-12 недель)	33,3	42	3,3	14	10	70	26,7	–
Поросята-откормочники (13-24 недель)	60	72	13	30	26,7	42	23,3	–
Поросята старше 24 недель	20	10	–	4	13,3	6	6,7	–
Свиноматки	16,7	14	100	100	–	–	–	–
Всего	34	32,4	8,7	18,8	12	26,8	15,3	–

Таким образом нами установлено, что наиболее инвазированы ооцистами криптоспоридий поросята, находящиеся на откорме в возрасте 13-24 недель. Зарубежные же исследователи из Европы [21, 22, 15], Америки [23] и Австралии [24] в большинстве сообщают о наибольшем инвазировании животных 4-12-недельного возраста.

Мы не обнаружили статистически значимых различий в зараженности криптоспоридиями животных при разных технологиях и способах содержания, но в то же время прослеживается определенная закономерность в инвазированности различных возрастных групп (свиньи, принадлежащие к одним возрастным группам при различных технологиях выращивания инвазированы криптоспоридиями в одних и тех же пределах, разница в анализе инвазированности статистически не значима).

Также важным на наш взгляд является тот факт, что зачастую криптоспоридии

обнаруживаются у животных всех возрастных групп без каких-либо клинических признаков проявления диареи. Разница между инвазированной группой животных с проявлением диареи и без нее является статистически значимой в сторону клинически здоровых животных. Об этом же факте сообщает группа китайских ученых, по результатам математического мета-анализа литературных данных [10]. Таким образом, предполагается актуальность рассмотрения теории об оппортунистической роли криптоспоридий у свиней.

Далее наши исследования показали, что в условиях изучаемого региона у всех животных был идентифицирован единственный вид – *Cryptosporidium scrofarum*. Похожие данные опубликованы учеными из Китая [25]. В то время, как ряд ученых пишут о присутствии у поросят 13 различных видов криптоспоридий [10, 11, 12, 13], однако доминирующими видами во всем мире все же явля-

ются такие как *C. suis* и *C. scrofarum* [14, 10].

Интересно также и то, что мы регистрировали инвазированность поросят-сосунов *C. scrofarum* в то время, как многие авторы из разных стран пишут об инвазированности данным видом криптоспоридий животных более старшего возраста [11, 26, 27, 15]. Однако существуют и другие публикации, свидетельствующие о результатах исследований, совпадающих с нашими [4, 28, 13].

Выявленные нами криптоспоридии у подсосных свиноматок, идентифицированы как *C. scrofarum*, что свидетельствует о прямой роли этих животных в качестве источника возбудителя для поросят-сосунов.

На втором этапе исследований из 53 образцов фекалий свиней, выращиваемых в удалённых друг от друга хозяйствах, была выделена тотальная ДНК, которая использовалась для приготовления библиотек фрагментов гена 18S рРНК с использованием ранее разработанной методики с применением специфических праймеров.

В результате для каждого образца было получено от 20 до 100 тысяч нуклеотидных последовательностей (прочтений), после обработки которых суммарно было выявлено 2372 ASV (amplicon sequence variant).

Анализ таксономической принадлежности ASV проведённый с помощью филогенетического анализа, дополненного анализом с использованием алгоритма blastn в базе данных GenBank, показал, что суммарно во всех исследованных образцах присутствуют только 10 ASV (amplicon sequence variant), имеющих высокое сходство с последовательностями, депонированными в GenBank, как фрагменты гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum*. Эти 10 ASV, однако, составляют 40,6 % от всех (944917) прочтений, полученных в результате анализа 53 образцов.

Результаты анализа показали, что только ASV1 и ASV2 полностью идентичны последовательностям присутствующим

в GenBank, остальные различаются в разной степени, что, учитывая высокую консервативность гена 18S рРНК, говорит о таксономических различиях между представителями рода *Cryptosporidium*, выявленных в образцах фекалий. Особенно это касается ASV8, сходство которого с ближайшим родственником рода *Cryptosporidium* составляет всего 91.47%, и может свидетельствовать о довольно удалённом таксономическом родстве, вплоть до нового вида.

Все идентифицированные ASV (ASV1... ASV10), а также несколько последовательностей гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum* взятые из GenBank'a (Sequence ID: MT071828, ON14980, KF597533. MN243610, MN243595), были выравнены в программе MEGA с использованием алгоритма Muscle. Установлено, что ASV8 имеет большее количество нуклеотидных замен в последовательности амплифицированного участка гена 18S рРНК по сравнению с другими ASV, а также референсными последовательностями.

Установлено распределение различных ASV-типов *Cryptosporidium scrofarum* в различных свиноводческих хозяйствах с разными технологиями и способами содержания животных, на достаточно удалённом друг от друга расстоянии в разное время. Хорошо видно, что типы ASV1 и ASV2, выявляемые в различных географических регионах мира от Португалии и Великобритании до Китая, Индии и Австралии, идентифицированы во всех хозяйствах, хотя и в существенно разных количествах. Остальные ASV присутствуют в значительно меньшем количестве и не повторяются от хозяйства к хозяйству. Вероятно, эти последовательности принадлежат местным популяциям подвидов *Cryptosporidium scrofarum*.

Также установлен факт постоянной реинвазии животных различными типами ASV криптоспоридий, о чем говорит тот факт, что при исследовании одних и тех же животных в разное время в течение нескольких месяцев, обнаруженные и идентифицированные у них типы ASV не

являлись идентичными.

Интересным для науки представляется обнаружение уникальной последовательности рода *Cryptosporidium* типа ASV8, который в последствии может быть описан как новый вид.

Обнаруженные нами нуклеотидные последовательности являются уникальными. Каждая из них была депонирована в GenBank с присвоением идентификаторов (Sequence ID: OR649139, OR654022, OR654023, OR661243, OR661244, OR654051, OR654052, OR654083, OR654084, OR654106).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Впервые в Российской Федерации, в условиях северо-запада на примере Вологодской области в предприятиях по выращиванию свиней различного типа с использованием новейших молекулярно-генетических методик было установлено паразитирование *C. scrofarum* во всех возрастных группах поросят. Наиболее подвержены инвазии животные в возрасте 13-24 недель. Изучены особенности эпизоотологии данного вида криптоспоридий. Определены местные типы ASV, а также появились предпосылки для последующего описания нового вида рода *Cryptosporidium*.

MOLECULAR CHARACTERISTICS OF *CRYPTOSPORIDIUM SCROFARUM* IN PIG FARMS OF THE VOLOGDA OBLAST OF THE NORTH-WESTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION

Kryazhev A.L. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of Department of Epizootology and Microbiology (ORCID 0000-0001-7015-8063); **Novikov A.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of Department of Internal Non-Contagious Diseases, Surgery and Obstetrics, Ph.D (ORCID0000-0002-6919-8524).

FSBE Institution of Higher Education «Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin»

Funding and acknowledgements: The study was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation

No. 22-26-00002, <https://rscf.ru/project/22-26-00002/>. The study was carried out using the equipment of the resource center «Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology» of ARRIAM.

ABSTRACT

The purpose of these studies was to identify, identify, analyze and study the distribution of *Cryptosporidium scrofarum* in pigs in the farms of the Vologda Region of the Northwestern Federal District of the Russian Federation.

For the first time in the Russian Federation, using the example of the Vologda Oblast of the Northwestern Federal District in pig farms of various types using the latest molecular genetic methods, namely using high-throughput sequencing of amplicon libraries of fragments of the 18S rRNA gene obtained because of nested PCR, we have established the infection of *C. scrofarum* in all age groups of examined animals. The contamination of animals kept in pig farms was 34%, in farms - 32.4%. Animals that are fattened at the age of 13-24 weeks are most susceptible to infection.

Analysis of ASV taxonomic affiliation using phylogenetic analysis, supplemented by analysis using the blastn algorithm in the GenBank database, showed that a total of 10 ASV types (amplicon sequence variant) are present in all tested samples, which have high similarity to sequences deposited in GenBank as fragments of the 18S p gene *Cryptosporidium scrofarum* RNA. It has been established that the types of ASV1 and ASV2 detected in various geographical regions of the world from Portugal and Great Britain to China, India and Australia are identified in all examined farms, although in significantly different quantities. The remaining ASVs are present in much smaller numbers and do not repeat from farm to farm. These sequences probably belong to local populations of subspecies *Cryptosporidium scrofarum*. It is interesting to find a unique sequence of the genus *Cryptosporidium* of type ASV8, which can later be described as a new species.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Snelling, W. J. Cryptosporidiosis in developing countries / W. J. Snelling, L. Xiao, G. Ortega-Pierres, C. J. Lowery, J. E. Moore, J. R. Rao, & J. S. Dooley // *The Journal of Infection in Developing Countries*. – 2007. – Vol. 1(03). – P. 242-256. – DOI 10.3855/jidc.360
2. Kotloff, K.L. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study / K.L. Kotloff, J.P. Nataro, W.C. Blackwelder, D. Nasrin, T.H. Farag, S. Panchalingam,... & M.M. Levine // *The Lancet*. – 2013. – Vol. 382(9888). – P. 209-222. – DOI 10.1016/S0140-6736(13)60844-2
3. Striepen, B. Parasitic infections: time to tackle cryptosporidiosis / B. Striepen // *Nature News*. – 2013. – Vol. 503(7475). – P. 189-191. – DOI 10.1038/503189a
4. Wang, R. Prevalence and molecular identification of *Cryptosporidium* spp. / R. Wang, S. Qiu, F. Jian, S. Zhang, Y. Shen, L. Zhang, C. Ning, J. Cao, M. Qi, L. Xiao // *Parasitol Res*. – 2010. – Vol. 107. – P. 1489-1494. – DOI 10.1007/s00436-010-2024-6
5. Kennedy, G. A. Cryptosporidiosis in three pigs / G.A. Kennedy, G.L. Kreitner, A.C. Straffuss // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 1977. – Т. 170. – №. 3. – С. 348-350.
6. Горбов, Ю.К. Распространение ассоциативных заболеваний с/х животных и опыт борьбы с ними в Мордовской АССР / Ю.К. Горбов, А.П. Мачинский // *Паразитозы и ассоциативные болезни*. М., – 1984. – С. 235-252.
7. Кряжев, А.Л. Эпизоотологическая ситуация по криптоспоридиозу поросят в промышленном свиноводстве Вологодской области / А.Л. Кряжев, А.С. Новиков, В.Ф. Никитин. // *Ветеринария*. – 2020. – №1. – С. 30-34. – DOI 10.30896/0042-4846.2020.23.1.30-34
8. Новиков, А.С. Криптоспоридиоз поросят в условиях северо-западного Нечерноземья РФ / А.С. Новиков, А.Л. Кряжев // *Монография // Вологда–Молочное: Вологодская ГМХА*. – 2022. – 112 с.
9. Ryan, U.M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia*—a 50-year perspective (1971–2021) / U.M. Ryan, Y. Feng, R. Fayer, L. Xiao // *International Journal for Parasitology*. – 2021. – Т. 51. – №. 13-14. – С. 1099-1119. – DOI 10.1016/j.ijpara.2021.08.007
10. Chen, Y. Global prevalence of *Cryptosporidium* spp. in pigs: a systematic review and meta-analysis / Y. Chen, H. Qin, Y. Wu, H. Xu, J. Huang, J. Li, L. Zhang // *Parasitology*. – 2023. – С. 1-38 – DOI 10.1017/S0031182023000276
11. Němejc, K. Occurrence of *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium scrofarum* on commercial swine farms in the Czech Republic and its associations with age and husbandry practices / K. Němejc, B. Sak, D. Květoňová, N. Kernerová, M. Rost, V.A. Cama, M. Kváč // *Parasitology research*. – 2013. – Vol. 112(3). – P. 1143-1154. – DOI 10.1007/s00436-012-3244-8
12. Wang, W. Prevalence of *Cryptosporidium* in pigs in China: A systematic review and meta-analysis / Wang W., Gong Q. L., Zeng A., Li M. H., Zhao Q., & Ni H. B. // *Transboundary and Emerging Diseases*. – 2021. – Т. 68. – №. 3. – С. 1400-1413. – DOI 10.1111/tbed.13806
13. Wang, P. The infection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in diarrheic pigs in southern China / P. Wang, S. Li, Y. Zou, Z.C. Du, D. P. Song, P. Wang, X.Q. Chen // *Microbial Pathogenesis*. – 2022. – Т. 165. – С. 105459. – DOI 10.1016/j.micpath.2022.105459
14. Feng, Y. Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium* / Y. Feng, U.M. Ryan, L. Xiao // *Trends in parasitology*. – 2018. – Т. 34. – №. 11. – С. 997-1011. – DOI 10.1016/j.pt.2018.07.009
15. Pettersson, E. Detection and molecular characterisation of *Cryptosporidium* spp. in Swedish pigs / E. Pettersson, H. Ahola, J. Frössling, P. Wallgren, K. Troell // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 2020. – Vol. 62(1). – P. 1-7. – DOI 10.1186/s13028-020-00537-z
16. Кряжев, А.Л. Идентификация таксономической принадлежности криптоспоридий у поросят в условиях северо-запада

- РФ при помощи молекулярно-генетических методов / А.Л. Кряжев, А.С. Новиков // Российский паразитологический журнал. – 2023. – Т. 17. – №. 1. – С. 84-90. – DOI 10.31016/1998-8435-2023-17-1-84-90
- 17.Pavlásek, I. Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment / I. Pavlásek // *Remedia Klin. Mikrobiol.* – 1999. – Vol. 3. – P. 290-301.
- 18.Rahimah, A. B. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA / A.B. Rahimah, S.C. Cheah, S. Rajinder // *J. Oil Palm Res.* – 2006. – Vol. 18. – P. 296-304.
- 19.Zheng, S. Molecular identification and epidemiological comparison of *Cryptosporidium* spp. among different pig breeds in Tibet and Henan, China / S. Zheng, D. Li, C. Zhou, S. Zhang, Y. Wu, Y. Chang, ... & L. Zhang // *BMC veterinary research.* – 2019. – Vol. 15. – №. 1. – P. 1-8. – DOI 10.1186/s12917-019-1847-3
- 20.Callahan, B.J. H. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B.J. Callahan, P.J. McMurdie, M.J. Rosen, A.W. Han, A.J.A. Johnson, S.P. Holmes // *Nature methods.* – 2016. – 13. – P. 581-583. – DOI 10.1038/nmeth.3869
- 21.Maddox-Hyttel, C. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs-Occurrence and management associated risk factors / C. Maddox-Hyttel, R. Langkjær, H. Enemark, H. Vigre // *Vet Parasitol.* – 2006. – Vol. 141. – P. 48-59. – DOI 10.1016/j.vetpar.2006.04.032
- 22.Hamnes, I. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in suckling piglets in Norway / I. Hamnes, B. Gjerde, T. Forberg, L. Robertson // *Vet Parasitol.* – 2007. – Vol. 144. – P. 222-33. – DOI 10.1016/j.vetpar.2006.10.011
- 23.Guselle, N. Biology of *Cryptosporidium parvum* in pigs: from weaning to market / N. Guselle, A. Appelbee, M. Olson // *Vet Parasitol.* – 2003. – Vol. 113(1). – P. 7-18. – DOI 10.1016/S0304-4017(03)00039-6
- 24.Johnson, J. Prevalence of *Cryptosporidium* genotypes in pre- and post-weaned pigs in Australia / J. Johnson, R. Buddle, S. Reid, A. Armson, U. Ryan // *Exp Parasitol.* – 2008. – Vol. 119. – P. 418-421. – DOI 10.1016/j.exppara.2008.04.009
- 25.Zou, Y. Prevalence and risk factors of *Cryptosporidium* infection in farmed pigs in Zhejiang, Guangdong, and Yunnan provinces, China / Y. Zou, J.G. Ma, D.M. Yue, W.B. Zheng, X.X. Zhang, Q. Zhao, X.Q. Zhu // *Tropical animal health and production.* – 2017. – Vol. 49(3). – P. 653-657. – DOI 10.1007/s11250-017-1230-y
- 26.Yin, J. H. Age-related Infection with *Cryptosporidium* Species and Genotype in Pigs in China[J]. / J.H. Yin, Z.Y. Yuan, H.X. Cai, Y.J. Shen, Y.Y. Jiang, J. Zhang, Y.J. Wang, J.P. Cao // *Biomedical and Environmental Sciences.* – 2013. – Vol. 26(6). – P. 492-495. – DOI 10.3967/0895-3988.2013.06.010
- 27.Kváč, M. Age related susceptibility of pigs to *Cryptosporidium scrofarum* infection / M. Kváč, K. Němejc, M. Kestránová, D. Květoňová, P. Wagnerová, M. Kotková, M. Rost et al. // *Vet Parasitol.* – 2014. – Vol. 202(3-4). – P. 330-334. – DOI 10.1016/j.vetpar.2014.02.012
- 28.Zhang, W. Prevalence and genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp in pre-weaned and post-weaned piglets in Heilongjiang Province, China / W. Zhang, F. Yang, A. Liu, R. Wang, L. Zhang, Y. Shen et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – P. e67564. – DOI 10.1371/journal.pone.0067564

REFERENCES

- 1.Snelling WJ, Xiao L, Ortega-Pierres G, Lowery CJ, Moore JE, Rao JR, Dooley JS. Cryptosporidiosis in developing countries. *The Journal of Infection in Developing Countries.* 2007;1(03):242-256. doi:10.3855/jidc.360
- 2.Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, Levine MM. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *The Lancet.* 2013;382(9888):209-222. doi:10.1016/S0140-6736(13)60844-2

3. Striepen B. Parasitic infections: time to tackle cryptosporidiosis. *Nature News*. 2013;503(7475):189-191. doi:10.1038/503189a
4. Wang R, Qiu S, Jian F, Zhang S, Shen Y, Zhang L, Ning C, Cao J, Qi M, Xiao L. Prevalence and molecular identification of *Cryptosporidium* spp. *Parasitol Res*. 2010; 107: 1489-1494. doi:10.1007/s00436-010-2024-6
5. Kennedy GA, Kreitner GL, Straffuss AC. Cryptosporidiosis in three pigs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1977 Feb;170(3):348-350. PMID: 833036.
6. Gorbov YuK, Machinsky AP. The spread of associative diseases of agricultural animals and the experience of combating them in the Mordovian Autonomous Soviet Socialist Republic Parasitocenoses and associative diseases. M., 1984;235-252 [in Russ.]
7. Kryazhev AL, Novikov AS, Nikitin VF. Epizootological situation on cryptosporidiosis of piglets in industrial pig breeding in the Vologda region. *Veterinary*. 2020; 1:30-34. doi:10.30896/0042-4846.2020.23.1.30-34 [in Russ.]
8. Novikov AS, Kryazhev AL. Cryptosporidiosis of piglets in the conditions of the north-western non-Chernozem region of the Russian Federation. *Monograph Vologda-Molochnoe: Vologda GMHA*. 2022;112. [in Russ.]
9. Ryan UM, Feng Y, Fayer R, Xiao L. Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* - a 50-year perspective (1971-2021). *Int J Parasitol*. 2021 Dec;51(13-14):1099-1119. doi:10.1016/j.ijpara.2021.08.007.
10. Chen Y, Qin H, Wu Y, et al. Global prevalence of *Cryptosporidium* spp. in pigs: a systematic review and meta-analysis. *Parasitology*. 2023;150(6):531-544. doi:10.1017/S0031182023000276
11. Němejč K, Sak B, Květoňová D, Kernerová N, Rost M, Cama VA, Kváč M. Occurrence of *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium scrofarum* on commercial swine farms in the Czech Republic and its associations with age and husbandry practices. *Parasitology research*. 2013;112(3):1143-1154. doi:10.1007/s00436-012-3244-8
12. Wang W, Gong QL, Zeng A, et al. Prevalence of *Cryptosporidium* in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021 May;68(3): 1400-1413. doi:10.1111/tbed.13806
13. Wang P, Li S, Zou Y, et al. The infection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in diarrheic pigs in southern China. *Microbial Pathogenesis*. 2022 Apr; 165:105459. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105459
14. Feng Y, Ryan UM, Xiao L. Genetic Diversity and Population Structure of *Cryptosporidium*. *Trends in Parasitology*. 2018 Nov;34(11):997-1011. doi:10.1016/j.pt.2018.07.009.
15. Pettersson E, Ahola H, Frössling J, Wallgren P, Troell K. Detection and molecular characterisation of *Cryptosporidium* spp. in Swedish pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2020; 62(1):1-7. doi:10.1186/s13028-020-00537-z
16. Kryazhev AL, Novikov AS. Identification of the taxonomic affiliation of cryptosporidium in piglets in the north-west of the Russian Federation using molecular genetic methods. *Russian Journal of Parasitology*. 2023; 17(1):84-90. doi:10.31016/1998-8435-2023-17-1-84-90 [in Russ.]
17. Pavlásek I. Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment *Remedia Klin. Mikrobiol*. 1999; 3: 290-301.
18. Rahimah AB, Cheah SC, Rajinder S. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA. *J. Oil Palm Res*. 2006; 18: 296-304.
19. Zheng S, Li D, Zhou C, Zhang S, Wu Y, Chang Y, Zhang L. Molecular identification and epidemiological comparison of *Cryptosporidium* spp. among different pig breeds in Tibet and Henan, China. *BMC veterinary research*. 2019; 15(1):1-8. doi:10.1186/s12917-019-1847-3
20. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*. 2016 Jul;13(7):581-583.

- doi:10.1038/nmeth.3869.
21. Maddox-Hyttel C, Langkjær R, Enemark H, Vigre H. Cryptosporidium and Giardia in different age groups of Danish cattle and pigs—Occurrence and management associated risk factors. *Vet Parasitol.* 2006; 141:48-59. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.04.032
22. Hannes I, Gjerde B, Forberg T, Robertsson L. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in suckling piglets in Norway. *Vet Parasitol.* 2007;144: 222-33. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.10.011
23. Guselle N, Appelbee A, Olson M. Biology of Cryptosporidium parvum in pigs: from weaning to market. *Vet Parasitol.* 2003;113 (1):7-18. doi:10.1016/S0304-4017(03)00039-6
24. Johnson J, Buddle R, Reid S, Armson A, Ryan U. Prevalence of Cryptosporidium genotypes in pre- and post-weaned pigs in Australia. *Exp Parasitol.* 2008; 119: 418-421. doi: 10.1016/j.exppara.2008.04.009
25. Zou Y, Ma JG, Yue DM, Zheng, WB, Zhang XX, Zhao Q, Zhu XQ. Prevalence and risk factors of Cryptosporidium infection in farmed pigs in Zhejiang, Guangdong, and Yunnan provinces, China. *Tropical animal health and production.* 2017; 49(3):653-657. doi:10.1007/s11250-017-1230-y
26. Yin JH, Yuan ZY, Cai HX, Shen YJ, Jiang YY, Zhang J, Wang YJ, Cao JP. Age-related infection with Cryptosporidium species and genotype in pigs in China. *Biomed Environ Sci.* 2013 Jun;26(6):492-5. doi: 10.3967/0895-3988.2013.06.010.
27. Kváč M, Němejc K, Kestřánová M, Květoňová D, Wagnerová P, Kotková M, Rost M, et al. Age-related susceptibility of pigs to Cryptosporidium scrofarum infection. *Vet Parasitol.* 2014;202(3-4):330-334. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.02.012
28. Zhang W, Yang F, Liu A, Wang R, Zhang L, Shen Y, et al. Prevalence and genetic characterizations of Cryptosporidium spp in pre-weaned and post-weaned piglets in Heilongjiang Province, China. *PLoS One.* 2013;8:e67564. doi: 10.1371/journal.pone.0067564