

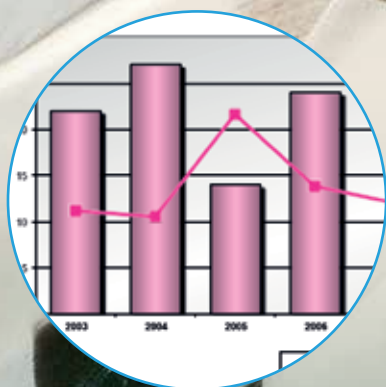
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ
ЖУРНАЛ

VETERINARY TODAY

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL



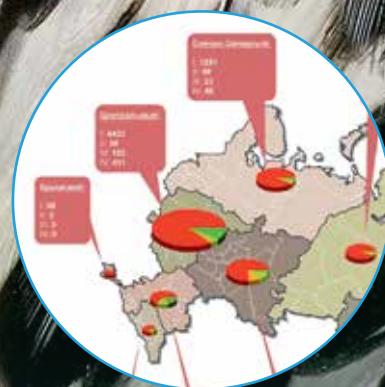
ОБ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ
ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ
ПТИЦ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА
ДАННЫХ ВЕТЕРИНАРНОЙ
ОТЧЕТНОСТИ стр. 18

EPIZOOTIC SITUATION ON
INFECTIOUS AVIAN DISEASES
BASED ON ANALYSIS OF DATA
FROM VETERINARY REPORTS
p. 24



ПЕРВОЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ
ПОДТВЕРЖДЕНИЕ НОДУЛЯРНОГО
ДЕРМАТИТА НА ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
стр. 43

THE FIRST OFFICIAL CONFIRMATION
OF IUMPY SKIN DISEASE
OCCURRENCE IN THE RUSSIAN
FEDERATION TERRITORY
p. 43



ЗОНИРОВАНИЕ ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ПО АФРИКАНСКОЙ
ЧУМЕ СВИНЕЙ
стр. 61

AFRICAN SWINE FEVER
ZONING OF THE RUSSIAN
FEDERATION TERRITORY
p. 61

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



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

• Референтная лаборатория по бешенству в РФ Международные статусы ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

• Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ

• Испытательный центр

Деятельность осуществляется в соответствии с межгосударственными стандартами (идентичные международным) ГОСТ ISO 9001–2011 (ISO 9001:2008), ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 (ISO/IEC 17025:2005) и национальным стандартом (идентичным правилам GMP Европейского Союза) ГОСТ Р 52249–2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств»

• Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья

• Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру

• Референтный центр FAO по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии

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

Ветеринария сегодня №4 (15) 2015 научный журнал



Главный редактор:

Лозовой Дмитрий Анатольевич – кандидат ветеринарных наук, исполняющий обязанности директора ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, тел./факс. 8-4922-26-15-73, e-mail: losovoy@arriah.ru

Шеф-редактор: Юлия Мелано

Выпускающие редакторы: Ольга Борисова, Ольга Лесных, Юлиана Бададгулова
e-mail: veterinarytoday@yandex.ru, тел.: +7 915 477 78 36
borisova@arriah.ru; 8 (4922) 26 15 12, доп. 22-27

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:



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



Василевич Ф.И. – ректор Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина, доктор ветеринарных наук, академик РАН, профессор кафедры паразитологии и инвазионных болезней животных



Власов Н.А. – доктор биологических наук, профессор, зам. руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору, г. Москва;



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



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



Исаева Г.С. – д.ф.н., к.с.-х.н., вице-министр Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан;



Ирза В.Н. – доктор ветеринарных наук, главный эксперт ФГБУ «ВНИИЗЖ»;



Красочко П.А. – доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор, академик РАЕН, директор РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь;



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



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



Непоклонов Е.А. – доктор биологических наук, профессор, зам. руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору; г. Москва;



Пивовар В.П. – директор Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия, главный государственный инспектор Республики Беларусь, г. Минск;



Плющиков В.Г. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, декан РУДН, г. Москва;



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



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



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



Самуйленко А.Я. – академик РАН, профессор, директор ФГБНУ ВНИТИБП, г. Щелково;



Сисягин П.Н. – член-корреспондент РАН, профессор, директор ФГБНУ НИВИ НЗ России, г. Нижний Новгород;



Старов С.К. – кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ» – зам. главного редактора;



Шахов А.Г. – член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, ГНУ ВНИИВФТИ Россельхозакадемии, г. Воронеж.

Дизайн и верстка: Мария Поваляева

Корректор: Лариса Грибникова

Менеджер по подписке и дистрибуции: Игорь Алпатов +7 (925) 357 20 61

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

Научный журнал «Ветеринария сегодня» включен в информационно-аналитическую систему – Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU.

Тираж 2000 экземпляров. Цена свободная.

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

Издатель: ООО «Успех»

105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д.13, оф. 402

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

Типография: ООО «Юнион Принт», 603022, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, Окский Съезд, д. 2, тел.: (831) 439-44-99

Подписано в печать 27 ноября 2015 года

Дата выхода 02.12.2015

СОДЕРЖАНИЕ

НОВОСТИ

5

О.А. Борисова, Л.Б. Прохвятилова, А.М. Рахманов
Заслуженное признание

8

ФГБУ «ВНИИЗЖ»
на выставке «Золотая осень – 2015»

10

ФГБУ «ВНИИЗЖ»
на выставке Agro Food Drink Tech Expo в Грузии

БОЛЕЗНИ ПТИЦ

11

А.В. Варкентин, М.С. Волков, А.С. Старова, В.Н. Ирза
Анализ эпизоотической ситуации по notiфицируемому гриппу птиц в мире за 2014 г. и первый квартал 2015 г. Новые угрозы

18

А.Н. Спиридонов, О.Н. Петрова, В.Н. Ирза, А.К. Караулов, В.В. Никифоров
Об эпизоотической ситуации по инфекционным болезням птиц на основе анализа данных ветеринарной отчетности

29

К.Ю. Федосеев, М.С. Кукушкина, В.Ю. Кулаков, Л.В. Малахова
Иммунобиологические свойства культуральных вариантов вируса оспы птиц

БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

36

А.С. Яковлева, А.В. Каньшина, А.В. Щербачков, Е.С. Орлова
Разработка и валидация тест-системы ЗАВ-ИФА для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного и мелкого рогатого скота

43

М.В. Бирюченкова, А.М. Тимина, Н.Г. Зиняков, А.В. Щербачков
Результаты генодиагностики нодулярного дерматита в Дагестане и Чеченской Республике – первое официальное подтверждение болезни на территории Российской Федерации

46

С.А. Чупин, М.И. Доронин, Е.В. Чернышова, М.И. Шулпин
Генетическая характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области

49

Д.С. Большаков, Т.Б. Никешина
Биохимические показатели сыворотки крови сельскохозяйственных животных

БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

57

А.А. Варенцова, А.А. Елсукова, Н.Г. Зиняков, А.С. Иголкин, Н.Н. Власова
Геномные aberrации в ДНК вируса африканской чумы свиней, циркулирующего на территории Российской Федерации

61

В.В. Никифоров, А.Н. Спиридонов, А.К. Караулов, Ф.И. Коренной
Зонирование территории Российской Федерации по африканской чуме свиней

БОЛЕЗНИ РЫБ

66

А.А. Пичуева, М.И. Доронин
Вспышка весенней виремии карповых рыб в Приволжском федеральном округе РФ в 2014 году

CONTENTS

AVIAN DISEASES

15

A.V. Varkentin, M.S. Volkov, A.S. Starova, V.N. Irza
Analysis of global epidemic situation on notifiable avian influenza for 2014 and for the first quarter of 2015. New risks

24

A.N. Spiridonov, O.N. Petrova, V.N. Irza, A.K. Karaulov, V.V. Nikoforov
Epizootic situation on infectious avian diseases based on analysis of data from veterinary reports

32

K.Yu. Fedoseyev, M.S. Kukushkina, V.Yu. Kulakov, L.V. Malakhova
Immunobiological properties of fowlpox virus cultural variants

CATTLE DISEASE

36

A.S. Yakovleva, A.V. Kanshina, A.V. Scherbakov, Ye.S. Orlova
Development and validation of ЗАВ-ELISA test-system for detection of antibodies to FMD virus nonstructural proteins in blood sera from cattle and small ruminants

43

M.V. Biryuchenkova, A.M. Timina, N.G. Zinyakov, A.V. Scherbakov
Results of gene diagnosis of lumpy skin disease in the Dagestan and Chechen Republics – the first official confirmation of the disease occurrence in the Russian Federation territory

46

S.A. Chupin, M.I. Doronin, Ye.V. Chernyshova, M.I. Shulpin
Genetic characterization of rabies virus isolates detected in the territory of the Vladimir oblast

49

D.S. Bolshakov, T.B. Nikeshina
Biochemical values of blood sera from farm animals

SWINE DISEASE

57

A.A. Varentsova, A.A. Yelsukova, N.G. Zinyakov, A.S. Igolkin, N.N. Vlasova
Genomic aberrations in DNA of African swine fever virus circulating in the territory of the Russian Federation

61

V.V. Nikiforov, A.N. Spiridonov, A.K. Karaulov, F.I. Korennoy
African swine fever zoning of the Russian Federation territory

FISH DISEASES

66

A.A. Pichueva, M.I. Doronin
Outbreak of spring viraemia of carp in Privolzhsky Federal District in 2014

НОВОСТИ

УДК 619:061:001.89

ЗАСЛУЖЕННОЕ ПРИЗНАНИЕ

О.А. Борисова¹, Л.Б. Прохвятилова², А.М. Рахманов³¹ ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: borisovaoa@arriah.ru² начальник отдела, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: prohvatilova@arriah.ru³ доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

Приведены материалы о занесении по итогам научно-производственной деятельности за 2014 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» на «Галерею Славы» Владимирской области. Представлены основные результаты исследований сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» по проведению эпизоотологического и серологического мониторинга особо опасных и экономически значимых инфекционных болезней животных, по разработке средств и методов диагностики, профилактики и мер борьбы с ними, по производству и применению диагностикумов и вакцин.

Ключевые слова: ФГБУ «ВНИИЗЖ», научно-производственная деятельность, инфекционные болезни животных, эпизоотологический и серологический мониторинг, диагностикумы, вакцины, международное сотрудничество.

UDC 619:061:001.89

WELL-DESERVED RECOGNITION

O.A. Borisova¹, L.B. Prokhvatilova², A.M. Rakhmanov³¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine)

FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: borisovaoa@arriah.ru

² Head of Department, Candidate of Science (Biology),

FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: prohvatilova@arriah.ru

³ Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBI «ARRIAH», Vladimir

SUMMARY

Data on placing the FGBI «ARRIAH» in the Vladimir Regional «Hall of Fame» based on the results of its scientific and production activities in 2014 are given. Main outcomes of research activities performed by the FGBI «ARRIAH» staff members in the field of epidemiological and serological monitoring of highly dangerous and economically important infectious animal diseases as well as development of methods and means for animal disease diagnosis, prevention and control and diagnosticum and vaccine production and application are presented.

Key words: FGBI «ARRIAH», scientific and production activities, infectious animal diseases, epidemiological and serological monitoring, diagnostica, vaccines, international cooperation.

3 сентября 2015 г. в администрации Владимирской области состоялась торжественная церемония вручения свидетельств о занесении на областную «Галерею Славы» лучших предприятий (организаций) и тружеников земли Владимирской. При подведении итогов учитывался вклад коллективов и отдельных работников в развитие и достижение результатов в экономической, социальной и культурной сферах деятельности области в прошедшем году. В числе 14 организаций, удостоенных этой чести по итогам 2014 г., отмечено и ФГБУ «ВНИИЗЖ».

В 2014 г. в соответствии с указом губернатора Владимирской области за достигнутые успехи ФГБУ «ВНИИЗЖ» и 12 сотрудников награждены юбилейными медалями «70 лет Владимирской области».

ФГБУ «ВНИИЗЖ» является победителем в конкурсе «Лучшие организации Владимирской области», награждено Почетным дипломом в номинации «Лучший экспортер Владимирской области», отмечено дипломом победителя конкурса «Владимирская марка».

В настоящее время федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), подведомственное Федеральной службе по ветеринарному и фитосанитарному надзору МСХ РФ, является одним из ведущих научно-производственных учреждений в области инфекционной патологии животных, пользуется заслуженной научной репутацией не только в Российской Федерации, но и в мире. Основным направлением работы института является разработка методов и средств диагностики инфекционных болезней животных, профилактики и мер борьбы с ними. В нем трудится свыше 800 сотрудников, среди которых 14 докторов наук и 110 кандидатов наук. Общая стоимость основных фондов в 2014 г. достигла 3775 млн рублей, что составляло 153,4% к предыдущему году.

В 2014 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводило научные исследования и осуществляло напряженную производственную деятельность по государственным заданиям и федеральным программам по утвержденным темам и договорам.

Проводились научные исследования по 13 темам, в том числе в рамках государственной программы «Развитие сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013–2020 гг.» по теме «Исследование



факторов патогенности возбудителя африканской чумы свиней (АЧС), циркулирующего на территории Российской Федерации, усовершенствование методов диагностики АЧС».

В рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности РФ на 2009–2014 гг.» осуществлялась работа по созданию новых защитных препаратов на основе циркулирующих и выделенных на территории РФ штаммов различных вирусов, в том числе ящура, гриппа птиц и ньюкаслской болезни.

Разрабатывалась тема, посвященная актуальному вопросу — определению методических подходов идентификации, анализа и управления рисками при импорто-экспортных мероприятиях с животными и животноводческой продукцией и оценке возможности заноса на территорию РФ особо опасных инфекций, вероятных масштабов их распространения.

Выполнение работ по созданию научно обоснованной системы идентификации рисков загрязнения пищевых продуктов и кормов остаточными количествами ксенобиотиков завершилось разработкой программного модуля (Кассандра), интегрированного с прикладными системами Россельхознадзора.

Проводимые в течение 5 лет работы по изучению первичной структуры геномов вновь выделяемых эпизоотических штаммов возбудителей особо опасных инфекций животных завершились созданием генетического банка «База данных нуклеотидных последовательностей геномов патогенных микроорганизмов, определенных в ФГБУ «ВНИИЗЖ»».

Осуществлялись работы в рамках государственных заданий, которые предусматривали проведение лабораторных исследований по мониторингу особо опасных болезней животных и остатков запрещенных и вредных веществ в организме животных, продукции животного происхождения и кормах для животных на территории Российской Федерации, разработку новых тест-систем, вакцин, а также совершенствование методов контроля карантинных и экономически значимых болезней животных. Перечень изучаемых инфекций насчитывает более 70 инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии животных и водной фауны.

Для определения конкретных направлений и задач научно-исследовательской работы, в том числе в области диагностики и контроля болезней животных, необходимо постоянное изучение эпизоотической

ситуации не только на такой огромной территории, как Российская Федерация, но и в сопредельных странах. Большой объем работы предусматривался также и в соответствии с планом государственного лабораторного мониторинга особо опасных болезней животных для обеспечения выполнения соответствующих международных требований и обязательств.

В течение 2014 г. проведена большая работа по доработке сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» ранее подготовленного по поручению Межправительственного совета по сотрудничеству в области ветеринарии СНГ проекта «Комплекс совместных мер государств — участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 г.».

После согласования текста Комплекса совместных мер с правительствами государств — участников СНГ документ был утвержден решением Совета глав правительств СНГ 30 мая 2014 г. Следует подчеркнуть, что другого подобного документа в области ветеринарии, который утверждался бы главами правительств СНГ, не существует. Координатором работ и мероприятий по Комплексу совместных мер было определено ФГБУ «ВНИИЗЖ», которое имеет международные статусы Региональной референтной лаборатории МЭБ по ящуру и Центра МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья, а также Референтного центра ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии.

Одновременно с этим ФГБУ «ВНИИЗЖ» осуществляет функции референтного центра по научному и методическому обеспечению деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных ему организаций в области ветеринарии. Учреждение выполняет и координирует работы, направленные на обеспечение биобезопасности и благополучия страны по особо опасным и карантинным болезням животных. В связи с этим в 2014 г. было проведено около 800 тыс. диагностических исследований материалов на карантинные и особо опасные болезни животных из различных регионов РФ, а также из Казахстана, Киргизии, Узбекистана, Грузии, что составило 110,4% к объему исследований в 2013 г.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» создан и функционирует аккредитованный Испытательный центр, который ежегодно проводит исследования более 80 тыс. образцов пищевой и животноводческой продукции, кормов, кормовых добавок, биологических препаратов, объектов окружающей среды из различных субъектов РФ и зарубежных стран.

Высоким показателем качества работы Центра является сертификация контроля качества лекарственных средств для ветеринарного применения, который соответствует требованиям ГОСТ Р 522494-2009 (GMP) и системы менеджмента качества на соответствие национальному и международному стандартам ISO 9001-2011.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» входит в число лучших организаций Владимирской области как крупнейшее научно-производственное учреждение, стоящее на страже биобезопасности России. ФГБУ «ВНИИЗЖ» является передовым разработчиком и производителем вакцин и диагностикумов ветеринарного назначения, которые составляют важный элемент импортозамещения на рынке диагностических и профилактических препаратов для животных. Биопрепараты ФГБУ «ВНИИЗЖ»



пользуются широким спросом в нашей стране и во многих государствах мира. Разработки Центра позволяют осуществлять в больших объемах производство около 100 видов вакцин и 50 наименований диагностических наборов.

К примеру, в 2014 г. было произведено вакцин против ящура 47 188 тыс. доз, что составило 110,2% к предыдущему году.

В 2014 г. осуществлялись поставки вакцин и диагностикумов, а также оказание помощи при проведении противоэпизоотических мероприятий другим странам. ФГБУ «ВНИИЗЖ» поставило для профилактической вакцинации животных в больших объемах различные противоящурные вакцины в Армению, Таджикистан, Узбекистан, Монголию, Афганистан, Иорданию, Саудовскую Аравию, Тайвань и др.

Диагностикумы для ИФА-исследований поставлялись в Россию, Белоруссию, Казахстан, Киргизию, Азербайджан, Армению, Молдавию, Таджикистан, Узбекистан, Украину. Высокое качество разработанных и выпускаемых вакцин и диагностических тест-систем ежегодно подтверждается на различных отечественных и международных выставках и конкурсах. Ветеринарные препараты производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (вакцины, диагностикумы) в 2014 г. были отмечены дипломом Международной выставки «Зеленая неделя — 2014» (г. Берлин) и тремя медалями выставки «Золотая осень — 2014» (г. Москва).

В 2014 г. за достижения в научно-исследовательской деятельности и вклад в работу Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору ФГБУ «ВНИИЗЖ» отмечено почетной медалью к 10-летию Россельхознадзора, а 98 сотрудников были награждены почетными грамотами Минсельхоза РФ, Россельхознадзора и ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Работы, проводимые в нашем Центре, привлекают внимание многих исследователей. Так, в 2014 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» посетило свыше 70 иностранных специалистов из 16 европейских, африканских и азиатских стран. Из ФГБУ «ВНИИЗЖ» около 90 сотрудников выезжали в 28 европейских, азиатских и американских стран для участия в различных семинарах, симпозиумах, конференциях, конгрессах, для стажировок, для согласования и выполнения совместных научных исследований по имеющимся или планируемым программам (Армения, Азербайджан, Казахстан, Киргизия, Китай, Таиланд, Таджикистан, Вьетнам, Индия, Монголия, Ирландия, Испания, Италия, Польша, Франция, Эстония, Литва, Вен-

грия, Германия, Голландия, Сербия, Черногория, США, ЮАР и др.)

Осуществлялось международное научно-техническое сотрудничество ФГБУ «ВНИИЗЖ» по договорам и соглашениям с международными ветеринарными организациями, зарубежными учреждениями и институтами из разных стран (Белоруссия, Бельгия, Великобритания, Казахстан, Польша, США, Таджикистан, Украина, Швейцария, Финляндия, Франция и др.).

Сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» совершено 84 командировки в различные субъекты Российской Федерации и 5 командировок в Казахстан, Киргизию и Таджикистан для изучения эпизоотической ситуации, обучения ветеринарных специалистов, для консультаций и оказания помощи в диагностике болезней, в планировании и проведении противоэпизоотических мероприятий, особенно при возникновении таких особо опасных болезней, как ящур животных и африканская чума свиней.

Осуществлялось обучение ветеринарных специалистов России и других государств — участников СНГ по вопросам диагностики, современным методам профилактики и борьбы с инфекционными болезнями животных на семинарах, курсах повышения квалификации и индивидуально (прошли обучение свыше 1670 специалистов).

В 2014 г. было проведено обучение методам лабораторной диагностики ящура сотрудников РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии» МСХ РК (г. Астана) как на базе ФГБУ «ВНИИЗЖ», так и непосредственно в РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии».

В масштабах Владимирской области ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводит мониторинговые исследования на ряд опасных и особо опасных болезней, таких как ящур, бешенство, губкообразная энцефалопатия, болезнь Шмалленберга, классическая и африканская чума свиней, грипп птиц и др. Постоянно оказывается методическая и организационная помощь Департаменту сельского хозяйства и продовольствия и Департаменту ветеринарии, различным организациям.

В заключение следует подчеркнуть, что все запланированные на 2014 г. исследования и задания ФГБУ «ВНИИЗЖ» были выполнены в полном объеме и с положительными результатами. Не менее сложная, большая по объему и разносторонняя предстоит работа коллективу и в ближайшие годы в соответствии с государственными заданиями о приоритетных направлениях развития науки, технологий и техники в Российской Федерации.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» НА ВЫСТАВКЕ «ЗОЛОТАЯ ОСЕНЬ – 2015»

С 8 по 11 октября 2015 г. специалисты подведомственного Россельхознадзора ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» приняли участие в XVII Российской агропромышленной выставке «Золотая осень – 2015», проходившей на территории МВЦ «Крокус Экспо», г. Москва.

«Золотая осень» является главной выставкой достижений в отрасли сельского хозяйства. Экспоненты представили продукцию, которая является региональным брендом и имеет потенциал для продвижения на внутреннем и внешнем рынках.

В процессе мероприятия выставочный стенд ФГБУ «ВНИИЗЖ» посетил руководитель Россельхознадзора Сергей Данкверт и поблагодарил делегацию за участие в форуме. Также стенд Центра посетили руководители и представители крупнейших аграрных холдингов. Специалисты подведомственного Россельхознадзора ФГБУ

«Федеральный центр охраны здоровья животных» поделились своими достижениями и опытом работы, представили новинки продукции. Большим интересом пользовалось издание Центра – научный журнал «Ветеринария сегодня», включенный в Перечень рецензируемых научных изданий.

В ходе программы исполняющий обязанности директора ФГБУ «ВНИИЗЖ» Дмитрий Лозовой дал интервью общероссийскому информационно-просветительскому телеканалу «Агро-ТВ», подробно осветив деятельность Центра, изложив задачи и проблемы, с которыми приходится сталкиваться специалистам ФГБУ «ВНИИЗЖ». Дмитрий Лозовой рассказал журналистам, что учреждение является участником выставки не первый год. Ежегодно в области разработок и производства Центр получает дипломы и медали. В этом году специалисты ФГБУ «ВНИИЗЖ» участвуют



в номинациях за разработку и производство вакцины против ящура и вакцины против ньюкаслской болезни для голубей.

По итогам форума состоялась торжественная церемония награждения победителей конкурса по различным номинациям при поддержке Департамента ветеринарии Минсельхоза России.

В награждении приняли участие представители федеральных и региональных органов, общественных организаций, экспертного и научного сообщества, а также средств массовой информации.

В рамках участия в конкурсе за работу и достижения подведомственный Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» был отмечен дипломами и медалями.

В номинации «За разработку, производство и внедрение высокоэффективных ветеринарных

препаратов, эффективное проведение противоэпизоотических мероприятий на территории субъекта Российской Федерации и ликвидацию заразных болезней животных» ФГБУ «ВНИИЗЖ» был награжден золотыми медалями «За разработку и производство вакцины против ньюкаслской болезни инактивированной эмульсионной для голубей "ГОЛУБЬ-НБ"» и «За разработку и производство вакцины против ящура инактивированной эмульсионной "АРРИАХ-ВАК"».

Кроме того, Центр был удостоен золотой медали «За разработку и внедрение программ по продвижению российских ветеринарных препаратов в сельском хозяйстве Российской Федерации».

Как отметили организаторы мероприятия, последняя номинация вызвала наибольший интерес среди конкурсантов.



ФГБУ «ВНИИЗЖ» НА ВЫСТАВКЕ AGRO FOOD DRINK TECH EXPO В ГРУЗИИ

С 18 по 20 ноября 2015 года в Тбилиси (Грузия) в выставочном центре Expo Georgia состоялась 15-я Международная сельскохозяйственная выставка Agro Food Drink Tech Expo. Мероприятие было организовано при поддержке Министерства сельского хозяйства Грузии, Агентства по управлению сельскохозяйственными проектами Грузии (АРМА) и Ассоциации фермеров.

В выставке Agro Food Drink Tech Expo Georgia 2015 приняли участие сельскохозяйственные производители Грузии, представители международных отраслевых компаний и профильных учреждений.

На выставке участники представили различную сельскохозяйственную технику, семена, удобрения и химикаты, перерабатывающие и упаковочные технологии, новейшие оросительные системы, образцы пищевой промышленности, новые технологические подходы к содержанию, кормлению, лечению и уходу за животными.

Специалисты подведомственного Россельхознадзора ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» приняли активное участие в мероприятии. В рамках первого выставочного дня сотрудники Центра организовали и провели научную конференцию, осветив в своих лекциях следующие темы:

- Диагностика и профилактика вирусных болезней птиц (современные средства диагностики и профилактики);

Открытие выставки министром сельского хозяйства Грузии Отаром Дanelия

- Оспа овец и оспа коз (распространение, диагностика, идентификация возбудителей и профилактика);
- Эпизоотология вирусных болезней птиц в современном промышленном птицеводстве (факторы распространения и клиническое проявление основных вирусных болезней в промышленном птицеводстве);
- Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире;
- Нодулярный дерматит, современная эпизоотическая ситуация, профилактика и меры борьбы;
- Бешенство: ситуация в мире, меры борьбы.

Присутствие ФГБУ «ВНИИЗЖ» на выставке вызвало огромный интерес у участников, посетителей мероприятия, а также представителей местных СМИ. В процессе участия специалисты обсудили вопросы научного сотрудничества с коллегами из разных стран.

Оказание консультативной помощи ветеринарным врачам Грузии сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ»



БОЛЕЗНИ ПТИЦ
AVIAN DISEASES

УДК 619:616.98:578.822.1:636.5:639.12:616-036.22

АНАЛИЗ ЭПИЗОТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО НОТИФИЦИРУЕМОМУ ГРИППУ ПТИЦ В МИРЕ ЗА 2014 г. И ПЕРВЫЙ КВАРТАЛ 2015 г. НОВЫЕ УГРОЗЫ

А.В. Варкентин¹, М.С. Волков², А.С. Старова³, В.Н. Ирза⁴

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

² заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

³ заместитель начальника отдела, Россельхознадзор, г. Москва

⁴ главный эксперт, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: irza@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлен анализ эпизоотической ситуации по notiфицируемому гриппу птиц за 2014 г. и первый квартал 2015 г. на основе данных Всемирной организации здравоохранения животных. В настоящее время ситуация по гриппу птиц остается напряженной в связи с распространением вируса подтипов H5N1, H5N2, H5N3, H5N6 и H5N8, последний из которых, начиная с 2014 г., широко распространился как в популяции домашних, так и диких птиц. С учетом начала весенних и предстоящих осенних миграций птиц повышается угроза заноса и распространения вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: Всемирная организация здравоохранения животных, высокопатогенный грипп птиц, низкопатогенный грипп птиц, домашние и дикие птицы.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), грипп птиц определяется как инфекция домашних птиц, вызываемая вирусом гриппа типа А.

С учетом патогенности вируса заболевание разделяют на две категории — высокопатогенный и низкопатогенный грипп птиц. К вирусам высокопатогенного гриппа птиц (ВПГП) относят вирусы любого подтипа, у которых индекс внутривенной патогенности равен и выше 1,2, или вирусы, вызывающие при заражении птиц их гибель (более 75%); с наличием базовых аминокислот в сайте разрезания гемагглютинаина. А к вирусам

низкопатогенного гриппа птиц (НПГП) — вирусы подтипов H5 и H7, не отвечающие критериям, характерным для ВПГП [6].

В настоящее время вирусы гриппа птиц (ВГП) разделяют на 16 подтипов по гемагглютинуину (H1–H16) и 9 подтипов по нейраминидазе (N1–N9) [4]. Также признано существование новых подтипов вируса гриппа типа А — H17N10 и H18N11, выделенных от рукокрылых в Гватемале [3, 7].

Вирусы гриппа обладают огромной экологической пластичностью за счет высоких темпов эволюции, связанных с изменчивостью их генома. Основным

резервуаром ВГП в природе являются дикие птицы, и их взаимоотношение существенно не отражается на состоянии популяции хозяев. Но занос вируса в неадаптированные популяции сельскохозяйственных птиц приводит к тяжелым эпизоотиям с колоссальным экономическим ущербом. Прежде всего это относится к ВГП подтипов H5, H7 и H9.

Возникшая эпизоотия вируса гриппа H5N1 в 2003–2012 гг. нанесла серьезный урон мировому сельскому хозяйству, в результате в этот период погибло и было уничтожено более 300 млн гол. домашних птиц [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время грипп птиц продолжает оставаться одной из основных проблем промышленного птицеводства и представляет опасность для здоровья людей. Согласно требованиям Кодекса МЭБ по наземным животным каждая страна при обнаружении нотицируемого вируса гриппа птиц должна представлять срочный отчет об инциденте (табл. 1 и 2) [10–12].

Таблица 1
Эпизоотическая ситуация по ВПГП в мире за 2014 г. (по данным МЭБ)

Подтип вируса гриппа птиц	Страна	Пораженная популяция птиц
H5N1	Вьетнам	домашняя
	Индия	домашняя и дикая
	Камбоджа	домашняя
	Китай	домашняя
	Ливия	домашняя
	Непал	домашняя
	Россия	домашняя
	Северная Корея	домашняя
	Индонезия	домашняя
H5N2	Китай	домашняя
	Канада	домашняя
	Тайвань	домашняя
	США	дикая
H5N3	Китай	домашняя
H5N6	Китай	домашняя
	Вьетнам	домашняя
	Лаос	домашняя
H5N8	Южная Корея	домашняя
	Япония	домашняя и дикая
	Великобритания	домашняя
	Китай	домашняя
	Германия	домашняя и дикая
	Голландия	домашняя
	США	дикая
	Италия	домашняя
	Канада	домашняя
	Россия	дикая

В 2014 г., помимо ВПГП (табл. 1), у домашних птиц регистрировали случаи НППГ следующих подтипов: H5N1 — в Германии и Голландии; H5N2 — в Тайване, ЮАР, Германии и Голландии; H5N6 — в Лаосе; H5N8 — в США; H7 — во Вьетнаме, H7N1 — в ЮАР; H7N3 — в Мексике и США; H7N7 — в ЮАР, H7N9 — в Гонконге. По официальным данным системы WAHID, в Италии выявлены три случая НППГ подтипов H7N1, H5 и H7. НППГ также зарегистрирован в Доминиканской Республике, Гаити, Палестинской национальной автономии [12].

Во всех неблагополучных странах проведен комплекс противоэпизоотических мероприятий: карантин, зонирование, скрининг, контроль вируса в дикой фауне, депопуляция, дезинфекция, контроль перемещения продукции внутри страны. В отдельных странах проводится профилактическая вакцинация против гриппа птиц. В КНР, в дополнение к плановой тотальной вакцинации, проведена вынужденная иммунизация в следующих провинциях: Unnan — 9 791 300 гол., Hubei — 426 000 гол., Anhui — 6 865 гол. [11].

В 2015 г. нотицированы случаи НППГ H5N2 в Белизе и ЮАР, H7N9 — в Гонконге, H7N7 — в Англии, Германии и Голландии, H7N3 — в США в популяциях домашних птиц [11].

По данным табл. 1 и 2 видно, что эпизоотическая ситуация по гриппу птиц остается напряженной. Ранее преобладающее место по нотицированию гриппа птиц занимал ВГП подтипа H5N1, а в настоящее время, помимо данного подтипа, выявляют ВГП H5N2, H5N3, H5N6 и H5N8, последний из которых, начиная с 2014 г., широко распространился как в популяциях домашних, так и диких птиц.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2014 г. декларировано 46 случаев заражения человека гриппом H5N1 в Египте, Индонезии, Китае, Вьетнаме и Камбодже, 18 из которых закончились летальным исходом (Вьетнам, Индонезия, Египет, Камбоджа). На 3 марта 2015 г. зарегистрировано 89 инцидентов заболевания людей в Египте и Китае, причем из 88 случаев в Египте 26 закончились летальным исходом [5]. Следует отметить случаи заболевания и гибели тигров в зоопарке Китая (табл. 2).

Вирус ВПГП подтипа H5N8 продолжает распространяться среди домашних и диких птиц в мире (евразийский (EA) H5N8 реассортант, клада 2.3.4.4) [9]. Ранее его выделяли в Китае, Японии и Южной Корее. Далее вирус данного подтипа был нотицирован в странах Европы (Великобритания, Германия, Голландия, Италия, Россия (дикие птицы)) и Северной Америки (Канада и США) (табл. 1 и 2) [9, 11]. В США при мониторинговых исследованиях в штате Вашингтон в 2014 г. от диких птиц выявили ВГП H5N8. При анализе генов (гемагглютинина — Н и нейраминидазы — N) выяснилось, что H5 на 99% идентичен гемагглютинину H5 вируса A/Coot/Korea/H81/2014 H5N8, а N8 на 99% идентичен нейраминидазе идентифицированного вируса A/Baikal teal/Korea/H41/2014 H5N8 [11].

Также происходит процесс реассортации ВГП подтипа H5N2, обнаруженного в США, который имеет нуклеотидные последовательности гена гемагглютинина H5 от корейских вирусов (A/Beau goose/Korea/H40/2014 H5N8), а N2 от североамериканских вирусов (A/American green-winged teal/California/HKW609/2007). Аналогичная ситуация отмечена с вирусом H5N2 в Тайване. По данным тайваньских коллег, данный вирус является новым для страны, однако он на 99% схож с ВГП

Таблица 2
Эпизоотическая ситуация по ВПГП в мире за первый квартал 2015 г. (по данным МЭБ)

Подтип вируса гриппа птиц	Страна	Пораженная популяция птиц	Примечание
H5N1	Болгария	дикая и домашняя	3 случая среди диких птиц <i>Pelecanus crispus</i> (кудрявый пеликан), <i>Columba livia</i> (сизый голубь) и <i>Larus ridibundus</i> (озерная чайка) и 1 среди домашней птицы
	Вьетнам	домашняя	3 случая среди домашних птиц
	Израиль	домашняя	8 случаев среди домашних птиц
	Индия	домашняя и дикая	2 случая среди домашних птиц и 2 случая среди диких птиц <i>Corvus splendens</i> (блестящий ворон)
	Канада	домашняя	
	Китай	дикая и домашняя	1 случай среди домашней и 1 среди дикой птицы — пало 93 гол.: <i>Aythya ferina</i> (красноголовый нырок), <i>Cygnus cygnus</i> (лебедь-кликун), <i>Aythya marila</i> (морская чернеть)
	Китай		1 случай в зоопарке, пало 2 тигра (<i>Panthera tigris</i>)
	Мьянма	домашняя	3 случая
	Румыния	дикая	1 случай среди диких птиц <i>Pelecanus crispus</i> (кудрявый пеликан)
	Палестинская национальная автономия	домашняя	4 случая
	Нигерия	домашняя	54 случая
	США	дикая	1 случай в дикой фауне <i>Anas carolinensis</i> (зеленокрылый нырок)
	H5N2	Тайвань	домашняя и дикая
Канада		домашняя	
США		домашняя и дикая	33 случая, из них 20 случаев среди диких птиц: <i>Anas platyrhynchos</i> (кряква); <i>Anas acuta</i> (шилохвость); <i>Falco peregrinus</i> , (сапсан); <i>Buteo jamaicensis</i> (краснохвостый канюк); <i>Cooper's Hawk</i> (ястреб Купера); <i>Aix sponsa</i> (каролинка); <i>Anas clypeata</i> (широконоска); <i>Bubo virginianus</i> (виргинский филин); <i>Branta Canadensis</i> (канадская казарка); 13 случаев среди домашних птиц (куры, утки, гуси, фазаны, индейки)
H5N3	Тайвань	домашняя и дикая	24 случая среди гусиных ферм и 1 среди дикой авифауны <i>Pycnonotus sinensis</i> (китайский бульбуль)
H5N6	Китай	домашняя	3 случая на фермах по содержанию перепелов и гусей
	Вьетнам	домашняя	
H5N8	Венгрия	домашняя	1 случай
	Германия	домашняя и дикая	3 случая, из них 2 — в зоопарке, 1 — среди домашних птиц
	США	домашняя и дикая	18 случаев, из них 2 среди домашних птиц, 16 среди диких птиц: <i>Anas americana</i> (американская свистуха); <i>Falco rusticolus</i> (кречет); <i>Anas platyrhynchos</i> (кряква); <i>Falco peregrinus</i> (сапсан); <i>Haliaeetus leucoccephalus</i> (белоголовый орлан); <i>Anas platyrhynchos</i> (кряква), <i>Anas carolinensis</i> (зеленокрылый нырок)
	Тайвань	домашняя	280 случаев, преимущественно на гусеводческих фермах
	Швеция	дикая	2 случая среди лебедей <i>Cygnus olor</i> (лебедь-шипун)
	Япония	домашняя и дикая	5 случаев, из них 3 — среди дикой орнитофауны: <i>Grus monacha</i> (черный журавль) и <i>Anas platyrhynchos</i> (кряква)
	Южная Корея	домашняя	84 случая среди домашних птиц

подтипа H5N8 по гену H5, выделенному в Южной Корее в 2014 г., а по гену N2 — на 96% с вирусами H5N2, выделенными на фермах в Китае в 2011 г.

Помимо ВГП подтипов H5N2 и H5N8, отмечен случай выявления вируса подтипа H5N1 среди диких птиц, который также представляет собой реассортант. Данный вирус был выделен в США от зеленокрылого нырка и отличался от вирусов, изолированных в Азии. При филогенетическом анализе установлено, что основные гены (PB2, H5, NP, MP) на 99% идентичны вирусу A/gyrfalcon/WA/41088/2014 H5N8, ген PB1 относится к се-

вероамериканской линии, на 98% идентичен вирусу A/Northern pintail/Washington/40964/2014, а гены PA, N1 и NS — от вируса НППГ североамериканской линии, выделенного от диких птиц. Американские коллеги связывают появление данных вирусов с миграцией диких птиц по тихоокеанскому миграционному пути [11].

В настоящее время ВГП (подтипы H5N8, H5N2, H5N3) создает серьезные проблемы для эффективного развития птицеводческой отрасли Тайваня. Общее количество очагов — 778, преимущественно в гусеводческих хозяйствах. В результате эпизоотии погибло более

980 тыс. гол. и уничтожено 1660 тыс. гол. Зарегистрированы единичные случаи выделения вируса от диких птиц (табл. 2). По данным последних отчетов, представленных в МЭБ, отмечается микс-инфицирование, когда на одной ферме выявляют одновременную циркуляцию двух возбудителей, например, H5N3 и H5N2, H5N8 и H5N2.

Аналогичная ситуация отмечалась в Южной Корее в 2014–2015 г. (табл. 1 и 2), где было зарегистрировано более 100 случаев заболевания среди домашних птиц, обусловленного вирусом H5N8 [11].

Согласно данным корейских исследователей (H.M. Kang, E.K. Lee и др.), в 2014 г. от зимующих водоплавающих птиц (*Anas platyrhynchos* (кряква), *Anas formosa* (чирок-клоктуна) был выделен ВГП подтипа H5N8, впоследствии данный вирус был выделен от домашних уток на фермах во время вспышки. При изучении возбудителя было отмечено, что он интенсивно накапливается в организме уток и передается горизонтально [8].

В Российской Федерации при мониторинговых исследованиях, проводимых Роспотребнадзором, от клинически здоровой дикой утки (*Anas penelope*) в Республике Саха был выделен вирус гриппа H5N8, что свидетельствует о циркуляции вируса данного подтипа в популяции диких птиц на территории России [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регистрация случаев ВГП подтипов H5N1, H5N2, H5N3 и H5N8 среди диких птиц в местах зимовок создает определенную угрозу риска заноса инфекции в промышленные птицеводческие предприятия Российской Федерации во время миграционных перемещений (через территорию России пролегают 8 миграционных путей из 14 общеизвестных) перелетных птиц — вирусносителей [1]. В связи этим специалистам территориальных управлений Россельхознадзора, ветеринарной службы субъектов Российской Федерации и руководителям птицеводческих предприятий необходимо поддерживать высокий уровень биологической защиты птицефабрик, которая остается основной превентивной мерой, направленной на предотвращение заноса вируса. А охотникам при разделке диких водоплавающих птиц соблюдать личную гигиену и не скармливать необезвреженные остатки внутренних органов домашней птице и животным. Важнейшим звеном в системе профилактических мероприятий является просветительская работа с населением, особенно — персоналом промышленных птицеводческих хозяйств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дудников С.А., Гуленкин В.М. Концепция природной очаговости и грипп птиц // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2006. — Т. 4. — С. 248–280.
2. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Иванковского» Минздрава России; ред. Д.К. Львов. — М.: Мед. информ. агентство, 2013. — 1197 с.
3. A distinct lineage of influenza A virus from bats / S. Tong, Y. Li, P. Rivailler [et al.] // Proc Natl. Acad. Sci. USA. — 2012. — Vol 109, № 11. — P. 4269–4274.
4. Avian influenza // OIE. Terrestrial Manual. — 2015. — Vol. 1, Chap. 2.3.4. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.04_AI.pdf (дата обращения: 20.03.15).
5. Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A (H5N1) reported to WHO / WHO. — URL: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/ (дата обращения: 22.03.15).
6. Infection with avian influenza viruses // OIE. Terrestrial Animal Health Code. — 2014. — Chap.10.4. — URL: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online> (дата обращения: 20.03.15).
7. New world bats harbordiverse influenza A viruses / S. Tong, X. Zhu, Y. Li [et al.] // PLoS Pathog. — 2013. — Vol. 9, № 10: e1003657. — 12 p.
8. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses among inoculated domestic and wild ducks, South Korea, 2014 / H.M. Kang, E.K. Lee, B.M. Song [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2015. — Vol. 21, № 2. — P. 298–304.
9. Situation Report and Guidance for H5N8 and other Eurasian H5 clade 2.3.4.4 28 January 2015 // OFFLU OIE/FAO. — URL: http://www.offlu.net/fileadmin/home/en/resourcecentre/pdf/H5N8_OFFLU_Statement_revised_28jan.pdf (дата обращения: 22.03.15).
10. Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7). — URL: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2015/> (дата обращения: 22.03.15).
11. Weekly Disease Information // WAHID. — URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI (дата обращения: 27.03.15).
12. World Animal Health Information Database (WAHID). — URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home (дата обращения: 22.03.15).

UDC 619:616.98:578.822.1:636.5:639.12:616-036.2

ANALYSIS OF GLOBAL EPIDEMIC SITUATION ON NOTIFIABLE AVIAN INFLUENZA FOR 2014 AND FOR THE FIRST QUARTER OF 2015. NEW RISKS

A.V. Varkentin¹, M.S. Volkov², A.S. Starova³, V.N. Irza⁴

¹ Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: varkent@arriah.ru

² Head of the laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

³ Deputy Head of the Department, the Rosselkhoznadzor, Moscow

⁴ Chief expert, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: irza@arriah.ru

SUMMARY

The following paper provides the analysis of epidemic situation on notifiable avian influenza for 2014 and for the first quarter of 2015 based on the OIE data. Today the AI situation remains tense due to the spread of AIV subtypes H5N1, H5N2, H5N3, H5N6 and H5N8. The latter became widely spread both in domestic and wild birds starting from 2014. Taking into account spring the upcoming autumn bird migration, the risk of AI virus introduction and spread in the territory of the Russian Federation increases.

Key words: World Organization for Animal Health, highly pathogenic avian influenza, low pathogenic avian influenza, domestic and wild birds.

INTRODUCTION

According to the World Organization for Animal Health (OIE), avian influenza is defined as the infection of domestic birds caused by influenza virus type A.

Taking into account the virus pathogenicity the disease is classified into 2 categories: highly pathogenic and low pathogenic avian influenza. Highly pathogenic avian influenza (HPAI) involves viruses of any subtype which have an intravenous pathogenicity index equal or higher than 1,2 or viruses lethal for birds (more than 75% mortality); which have basic amino acids in the haemagglutinin cleavage site. Low pathogenic avian influenza (LPAI) viruses comprise virus subtypes H5 and H7 which do not meet the criteria typical for HPAI [6].

Today avian influenza viruses are classified into 16 haemagglutinin (H1–H16) and nine neuraminidase (N1–N9) subtypes [4]. Also, new subtypes of AI virus type A have been identified – H17N10 and H18N11 isolated from Chiroptera in Guatemala [3, 7].

Influenza viruses are characterized by high ecological flexibility due to high evolution rates associated with their genomic variability. The major AIV natural reservoir is wild birds and their interrelations do not affect host population significantly. However, the introduction of AI virus into the non-vaccinated poultry population results in severe epidemics with great economic losses. It mainly concerns AIV subtypes H5, H7 and H9.

The epidemic of avian influenza virus H5N1 which occurred in 2003–2012 seriously affected world agriculture. More than 300 million poultry died and was destroyed [2].

RESULTS AND DISCUSSIONS

Today avian influenza remains one of the major problems in commercial poultry production and poses threat to public health. According to the OIE Terrestrial Code requirements any country detecting notifiable avian influenza must immediately report the case (Table 1 and 2) [10–12].

In 2014, in addition to HPAI (Table 1), LPAIV of the following subtypes was registered in poultry: H5N1 – in Germany and the Netherlands; H5N2 – in Taiwan, the Republic of South Africa, Germany and the Netherlands; H5N6 – in Laos; H5N8 – in the USA; H7 – in Vietnam, H7N1 – the Republic of South Africa; H7N3 – in Mexico and the USA; H7N7 – in the Republic of South Africa, H7N9 – in Hong Kong. According to the WAHID official data 3 cases of LPAIV subtypes H7N1, H5 and H7 were detected in Italy. LPAI was also registered in the Dominican Republic, Haiti, National Palestinian Autonomous Territories [12].

A set of anti-epidemic measures was taken in all the infected countries: quarantine, zoning, screening, virus control in wild fauna, depopulation, disinfection, control of product movement within the country. Preventive AI vaccination is performed in some countries. As for the People's Republic of China, in addition to scheduled mass vaccination emergency immunization was carried out in the following provinces: Unnan – 9 791 300 heads, Hubei – 426 000 heads, Anhui – 6 865 heads [11].

In 2015 LPAIV H5N2 was notified in poultry populations in Belize and the RSA, H7N9 in Hong Kong, H7N7 – in England, Germany and the Netherlands, H7N3 – in the USA [11].

According to the data provided in Table 1 and 2 it is obvious that the epidemic situation on AI remains tense. H5N1 used to be the most frequently registered AIV subtype but today in addition to this the following AIV subtypes are detected: H5N2, H5N3, H5N6 and H5N8, the latter being widely spread both in poultry and wild birds starting from 2014.

According to the data provided by the World Health Organization (WHO) 46 human cases of H5N1 were registered in Egypt, Indonesia, China, Vietnam and Cambodia in 2014. 18 cases resulted in death (Vietnam, Indonesia, Egypt, Cambodia). As of March 3, 2015, 89 human cases

Table 1
Global epidemic situation on HPAI for 2014 (according to the OIE)

Avian influenza virus subtype	Country	Affected population of birds
H5N1	Vietnam	domestic
	India	domestic and wild
	Cambodia	domestic
	China	domestic
	Libya	domestic
	Nepal	domestic
	Russia	domestic
	North Korea	domestic
	Indonesia	domestic
	Egypt	domestic
H5N2	China	domestic
	Canada	domestic
	Taiwan	domestic
	USA	wild
H5N3	China	domestic
H5N6	China	domestic
	Vietnam	domestic
H5N8	Laos	domestic
	South Korea	domestic
	Japan	domestic and wild
	Great Britain	domestic
	China	domestic
	Germany	domestic and wild
	Netherlands	domestic
	USA	wild
	Italy	domestic
	Canada	domestic
Russia	wild	

were registered in Egypt and China. Out of 88 cases reported in Egypt 26 were lethal [5]. All cases in tigers and their death in the Chinese Zoo should also be mentioned (Table 2).

HPAI virus subtype H5N8 continues to spread in poultry and wild birds around the world (Eurasian (EA) reassortant H5N8, clade 2.3.4.4) [9]. Previously it was detected in China, Japan and South Korea. Later this virus subtype was notified in Europe (Great Britain, Germany, the Netherlands, Italy, Russia (wild birds) and North America (Canada and the USA) (Table 1 and 2) [9, 11]. During the monitoring tests conducted in the state of Washington, the USA, in 2014 AIV H5N8 was detected in wild birds. Gene analysis (haemagglutinin – H and neuraminidase – N) showed 99% identity between H5 and haemagglutinin H5 of A/Coot/Korea/H81/2014 H5N8, as well as 99% identity between N8 and neuraminidase of the identified virus A/Baikal teal/Korea/H41/2014 H5N8 [11].

Also AIV subtype H5N2 detected in the USA having nucleotide sequences of haemagglutinin H5 gene typical for Korean viruses (A/Bean goose/Korea/H40/2014 H5N8) and N2 typical for North American viruses (A/American green-winged teal/California/HKWF609/2007) is reasserting. Analogous situation is observed regarding H5N2 in

Taiwan. According to the data obtained from Taiwanese colleagues this virus is novel for the country, however, it has 99% identity with H5 gene of AIV subtype H5N8, isolated in South Korea in 2014 and 96% identity with N2 gene of H5N2 viruses isolated on the Chinese farms in 2011.

In addition to AIV subtypes H5N2 and H5N8 there was a case of H5N1 detection in wild birds, which is also a reassortant. This virus was isolated in the USA from a green-eyed pochard and it was different from the viruses isolated in Asia. Phylogenetic analysis showed that the major genes (PB2, H5, NP, MP) had 99% identity with A/gyrfalcon/WA/41088/2014 H5N8, that gene PB1 belonged to the North American lineage and it had 98% identity with A/Northern pintail/Washington/40964/2014, and genes PA, N1 and NS originated from the North American lineage of LPAIV isolated from wild birds. American colleagues associate the emergence of these viruses with wild bird migration along the Pacific migration route [11].

Today AIV (subtypes H5N8, H5N2, H5N3) poses a serious problem for the effective poultry farming development in Taiwan. The total number of outbreaks is 778 and they are mainly in goose breeding farms. More than 980 birds died and 1,669 birds were slaughtered as the result of the epidemics. Single cases of virus isolation in wild birds were registered (Table 2). According to the data from the latest reports submitted to the OIE mix-infection, that is the simultaneous circulation of two agents (e.g. H5N3 and H5N2, H5N8 and H5N2) on a farm is registered.

Analogous situation was observed in South Korea in 2014–2015 (Table 1 and 2) where more than 100 disease cases caused by H5N8 were registered in poultry [11].

According to Korean researches (H.M. Kang, E.K. Lee et al.), AIV subtype H5N8 was isolated from winter waterfowl (*Anas platyrhynchos* (mallard), *Anas formosa* (Baikal teal)) in 2014. Later this virus was isolated from farmed ducks during the outbreak. When the agent was studied it was noted that the virus intensively accumulates in ducks and it is transferred horizontally [8].

During the monitoring tests carried out by the Rospotrebnadzor in the Russian Federation AIV H5N8 was isolated in clinically healthy wild duck (*Anas penelope*) in the Republic of Sakha, which speaks of the circulation of this virus subtype in wild bird populations in the territory of the Russian Federation [11].

CONCLUSION

Registration of AIV subtypes H5N1, H5N2, H5N3 and H5N8 in wild birds in wintering areas poses a certain risk of disease introduction into Russian commercial poultry farming during the migration of migratory birds-carriers (8 out of 14 commonly known migration routes go through the territory of the Russian Federation) [1]. In this regard specialists of the Rosselkhozadzor Territorial Administrations, of Veterinary Services of the RF Subjects as well as heads of poultry producing establishments should maintain high biosecurity level of poultry producing establishments which remains the basic preventive measure aimed at prevention of virus introduction. Hunters should practice personal hygiene when cutting wild waterfowl and should not feed poultry and domestic animals with untreated offal remains. One of the most important elements in the system of preventive measures is public awareness campaigns, especially those involving commercial poultry farm staff members.

Table 2
Global epidemic situation on HPAI in the first quarter of 2015 (according to the OIE)

AIV subtype	Country	Affected bird population	Remarks
H5N1	Bulgaria	wild	3 cases in wild birds <i>Pelecanus crispus</i> (dalmatian pelican) and <i>Columba livia</i> (rock pigeon) <i>Larus ridibundus</i> (black-headed gull) and 1 case in poultry
	Vietnam	domestic	3 cases in poultry
	Israel	domestic	8 cases in poultry
	India	domestic	2 cases in poultry and 2 cases in wild birds <i>Corvus splendens</i> (house crow)
	Canada	domestic	
	China	wild and domestic	1 case in poultry and 1 case in wild birds – 93 birds died: <i>Aythya ferina</i> (Common pochard), <i>Cygnus Cygnus</i> (whooper), <i>Aythya marila</i> (bluebill)
	China		1 case in a Zoo, 2 tigers died (<i>Panthera tigris</i>)
	Myanmar	domestic	3 cases
	Romania	wild	1 case in wild birds <i>Pelecanus crispus</i> (dalmatian pelican)
	National Palestinian Autonomous Territories	domestic	4 cases
	Nigeria	domestic	54 cases
	USA	wild	1 case in wild fauna <i>Anas carolinensis</i> (green-winged pochard)
	H5N2	Taiwan	wild and domestic
Canada		domestic	
H5N3	Taiwan	wild and domestic	473 cases 1 of which in wild birds: <i>Nycticorax nycticorax</i> (night heron), the rest 472 cases mainly on goose raising farms
	Canada	domestic	
H5N6	USA	wild and domestic	33 cases 20 of which in wild birds: <i>Anas platyrhynchos</i> (mallard); <i>Anas acuta</i> (pintail); <i>Falco peregrinus</i> (peregrin); <i>Buteo jamaicensis</i> (red-tailed buzzard); <i>Cooper's Hawk</i> (Cooper's hawk); <i>Aix sponsa</i> (Carolina duck); <i>Anas clypeata</i> (shoveler); <i>Bubo virginianus</i> (great horned owl); <i>Branta Canadensis</i> (Canada goose); 13 cases in poultry (chicken, ducks, geese, pheasants, turkeys)
	Taiwan	domestic	24 cases on goose farms and 1 case in avifauna <i>Pycnonotus sinensis</i> (Chinese bulbul)
H5N8	China	domestic	3 cases in quail and goose farms
	Vietnam	domestic	
	Hungary	domestic	1 case
	Germany	domestic and wild	3 cases: 2 in a Zoo, 1 – in poultry
	USA	domestic and wild	18 cases: 2 in poultry and 16 in wild birds: <i>Anas americana</i> (American wigeon); <i>Falco rusticolus</i> (gyrfalcon); <i>Anas platyrhynchos</i> (mallard); <i>Falco peregrinus</i> (peregrin); <i>Haliaeetus leucocephalus</i> (American eagle); <i>Anas platyrhynchos</i> (mallard), <i>Anas carolinensis</i> (green-winged pochard)
	Taiwan	domestic	280 cases mainly in goose breeding farms
	Sweden	wild	2 cases in swans <i>Cygnus olor</i> (mute swan)
	Japan	domestic and wild	5 cases, 3 of them being in wild avifauna: <i>Grus monacha</i> (hooded crane) and <i>Anas platyrhynchos</i> (mallard)
	South Korea	domestic	84 cases in poultry

REFERENCES

- Dudnikov S.A., Gulenkin V.M. Concept of the natural nidality and avian influenza // Proceedings of the Federal Centre for Animal Health. – Vladimir, 2006. – Vol. 4. – P. 248–280.
- Manual on virology. Viruses and viral infections of humans and animals / FGBI «Scientific research institute for virology n.a. D.I. Ivanovsky» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; ed. D.K. Lvov. – M.: Med. Inform. Agency, 2013. – 1197 p.
- A distinct lineage of influenza A virus from bats / S. Tong, Y. Li, P. Rivaille [et al.] // Proc Natl. Acad. Sci. USA. – 2012. – Vol 109, № 11. – P. 4269–4274.
- Avian influenza // OIE. Terrestrial Manual. – 2015. – Vol. 1, Chap. 2.3.4. – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.04_AI.pdf (access date: 20.03.15).
- Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A (H5N1) reported to WHO/ WHO. – URL: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/ (access date: 22.03.15).
- Infection with avian influenza viruses // OIE. Terrestrial Animal Health Code. – 2014. – Chap.10.4. – URL: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online> (access date: 20.03.15).
- New world bats harbordiverse influenza A viruses / S. Tong, X. Zhu, Y. Li [et al.] // PLoS Pathog. – 2013. – Vol. 9, № 10: e1003657. – 12 p.
- Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses among inoculated domestic and wild ducks, South Korea, 2014 / H.M. Kang, E.K. Lee, B.M. Song [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2015. – Vol. 21, № 2. – P. 298–304.
- Situation Report and Guidance for H5N8 and other Eurasian H5 clade 2.3.4.4 28 January 2015 // OFFLU OIE/FAO. – URL: http://www.offlu.net/fileadmin/home/en/resourcecentre/pdf/H5N8_OFFLU_Statement_revised_28jan.pdf (access date: 22.03.15).
- Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7). – URL: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2015/> (access date: 22.03.15).
- Weekly Disease Information // WAHID. – URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI (access date: 27.03.15).
- World Animal Health Information Database (WAHID). – URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home (access date: 22.03.15).

УДК 619:616.98:578:636.5

ОБ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ ПТИЦ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ДАННЫХ ВЕТЕРИНАРНОЙ ОТЧЕТНОСТИ

А.Н. Спиридонов¹, О.Н. Петрова², В.Н. Ирза³, А.К. Караулов⁴, В.В. Никифоров⁵¹ младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: spiridonov@arriah.ru² заведующий сектором, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: petrova@arriah.ru³ главный эксперт, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: irza@arriah.ru⁴ руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: karaulov@arriah.ru⁵ заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: nikiforov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлен анализ данных ветеринарной отчетности Российской Федерации по инфекционным болезням птиц за 2009–2014 гг. В результате ранжирования заболеваний выявлено, что в птицеводческих хозяйствах наиболее часто регистрируются болезни бактериального характера, нежели инфекционные заболевания, представляющие скрытые угрозы. Из результатов анализа данных по инфекционным заболеваниям птиц установлено, что вакцинопрофилактика является одним из методов борьбы с инфекционными болезнями, но не гарантирует отсутствия циркуляции вирусов в популяции восприимчивой птицы и искоренения заболевания. Своевременное осуществление комплекса превентивных мероприятий по обеспечению биобезопасности позволяет снизить риски возникновения инфекционных болезней.

Ключевые слова: птицеводство, инфекционные заболевания, анализ.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные болезни являются сдерживающим фактором для динамичного развития птицеводческой отрасли Российской Федерации. Информация об их распространении и преобладании отдельных нозодиниц в этиологической структуре в силу ряда причин не отличается объективностью.

Целью этого исследования является определение основных угроз ветеринарному благополучию промышленного птицеводства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы сведения ветеринарной отчетности (форма № 1-вет — информация о заразных болезнях птиц), предоставляемые Министерством сельского хозяйства Российской Федерации [7], и методы ретроспективного анализа [5].

С целью унификации и проведения сравнения обработанных данных использованы следующие показатели: количество неблагополучных пунктов и заболеваемость (показатель охвата популяции животных болезнью).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью выявления значимых проблем птицеводства в стране проведён анализ ветеринарной отчетности в Российской Федерации, предоставленной ФГБУ «Центр ветеринарии», за 5 лет (2009–2014 гг.) [2]. Затем осуществлено ранжирование заболеваемости сельскохозяйственной птицы за 2014 г. (рис. 1).

На основании полученных данных (рис. 1) очевидно, что наибольшую часть в структуре неблагополучия и заболеваемости занимают бактериальные болезни (сальмонеллёз, колибактериоз, орнитоз, пастереллёз). В большинстве случаев к их возникновению приводят нарушения, связанные с технологией содержания и кормления птицы. Однако важно понимать, что выявление случаев факторных бактериальных болезней может быть следствием скрытой циркуляции вирусных инфекций, поскольку бактериальная микрофлора

зачастую является вторичным фактором в развитии инфекции и обостряет течение инфекционного процесса [1].

При проведении бактериологических лабораторных исследований проб патологического материала от больной птицы имеется высокая вероятность идентификации микроорганизмов нормофлоры, но не выявление истинного инфекционного агента, вызвавшего заболевание. Например, самый распространённый диагноз — «колибактериоз» — может являться сопутствующим заболеванием при инфекционном процессе и, как следствие, причиной гибели птицы.

Таким образом, сведения ветеринарной отчетности могут не отражать действительную эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням птиц, поскольку вирусные заболевания, протекающие в вакцинированном поголовье, не всегда диагностируются своевременно, при нарушении ветеринарно-санитарных правил содержания, некачественно проведённой вакцинации или при воздействии стрессовых факторов могут приводить к массовому проявлению вторичных бактериальных инфекций.

На втором этапе работы, для выявления не менее значимых проблем птицеводства в стране по инфекционным болезням птиц, был осуществлён анализ ветеринарной отчетности в Российской Федерации с 2009 по 2014 гг. (рис. 2).

Из полученных данных видно, что основной процент неблагополучных пунктов приходился на: ньюкаслскую болезнь (НБ) — 62,7%, грипп птиц — 2,4%, болезнь Марека — 9,6%, лейкоз — 8,4%, оспу — 6%, инфекционный ларинготрахеит (ИЛТ) — 3,6%, инфекционную бурсальную болезнь (ИББ), инфекционный бронхит кур (ИБК) и гидроперикардит — по 2,4%.

Несмотря на то, что на территории Российской Федерации случаи болезни Марека, ИББ, ИБК, ИЛТ и оспы птиц в 2014 г. не регистрировались, ретроспективный анализ по этим заболеваниям также необходим, поскольку они способны наносить хозяйствам значительный экономический ущерб.

Ньюкаслская болезнь. Случаи заболевания домашних птиц ежегодно регистрируются в различных регионах Российской Федерации (рис. 3) [7]. В 2014 г. срочные отчёты о случаях НБ поступили из Саратовской, Ивановской, Псковской, Калужской, Пензенской областей и Республики Дагестан. Большинство случаев заболевания выявлено в популяции голубей. В Республике Дагестан заболевание возникло у птиц, содержащихся в личном подсобном хозяйстве, то есть это единственный случай регистрации НБ у домашних птиц. В промышленном поголовье птицефабрик НБ не регистрировали.

Из анализируемой ежеквартальной динамики неблагополучия по НБ следует, что, несмотря на то, что заболевание на территории страны присутствует, нисходящий тренд даёт прогноз на улучшение эпизоотической ситуации (рис. 4).

Результаты мониторинговых исследований (сельскохозяйственной, дикой и синантропной птицы) на территории России свидетельствуют о том, что среди вирулентных вирусов НБ наибольшее распространение имеют генотипы VI и VII [3, 6]. Среди птиц, содержащихся в птицеводческих хозяйствах закрытого типа, установлена высокая серопревалентность к вирусу НБ, вызванная эффективным использованием живых и инактивированных вакцин. Обнаружение антител

к вирусу НБ у невакцинированных птиц, содержащихся в мелкотоварных хозяйствах, в популяциях дикой и синантропной птицы, вызывает настороженность и свидетельствует о циркуляции вирусов НБ в этих популяциях птиц.

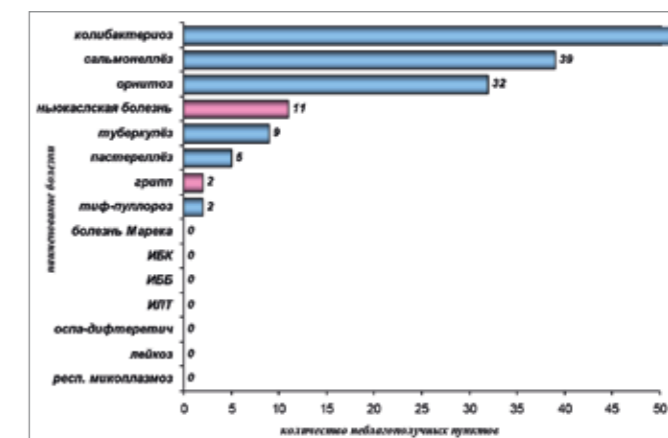
Иммунизация всех видов домашних птиц в мелкотоварных и личных подсобных хозяйствах с последующим контролем напряжённости поствакцинального иммунитета может значительно улучшить эпизоотическую ситуацию.

Грипп птиц. Согласно данным ветеринарной отчетности, за период с 2005 г. по первое полугодие 2008 г. государственной ветеринарной службой было зарегистрировано 179 неблагополучных пунктов [2]. Благодаря комплексу проведённых противоэпизоотических мероприятий, в том числе вакцинации птиц в угрожаемых зонах и своевременным диагностическим исследованиям, с 2009 г. территория Российской Федерации является относительно благополучной по гриппу птиц. Ежегодно проводятся мониторинговые исследования на наличие антител и циркуляцию вируса гриппа подтипов H5, H7 и H9 в популяциях домашних, синантропных и диких птиц. В 2014 г. на территории Алтайского края выявлено 2 неблагополучных пункта по высокопатогенному гриппу подтипа H5N1 среди домашних птиц личных подворных хозяйств.

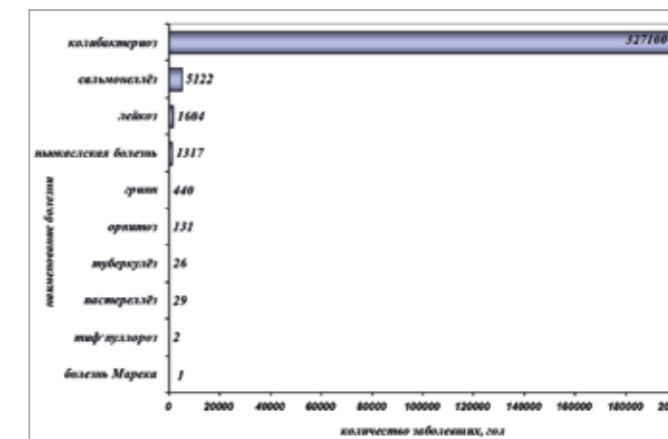
Угрозы возможного возникновения очагов инфекции на территории страны во многом обусловлены

Рис. 1. Количество неблагополучных пунктов и заболеваемость птиц сельскохозяйственного назначения в 2014 г.

КОЛИЧЕСТВО НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПУНКТОВ



ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПТИЦЫ



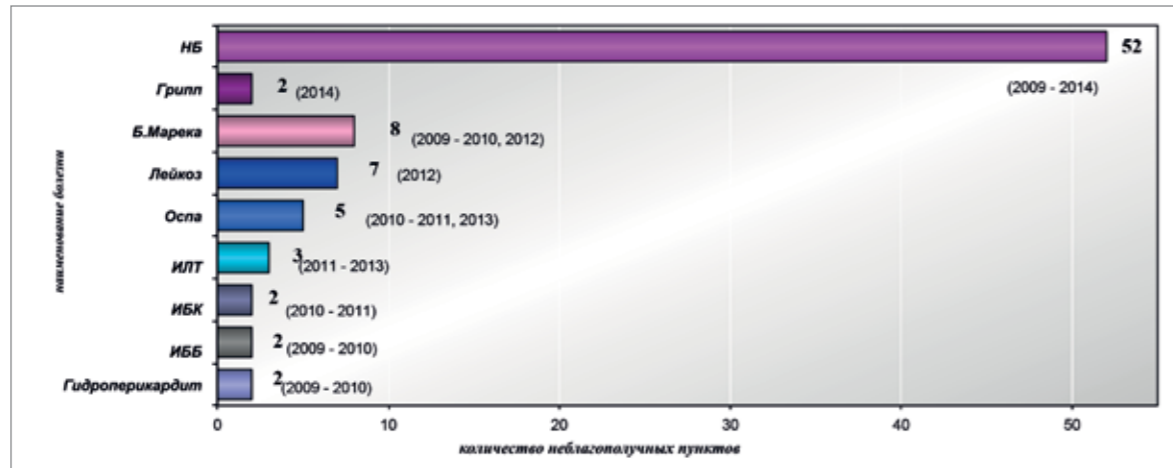
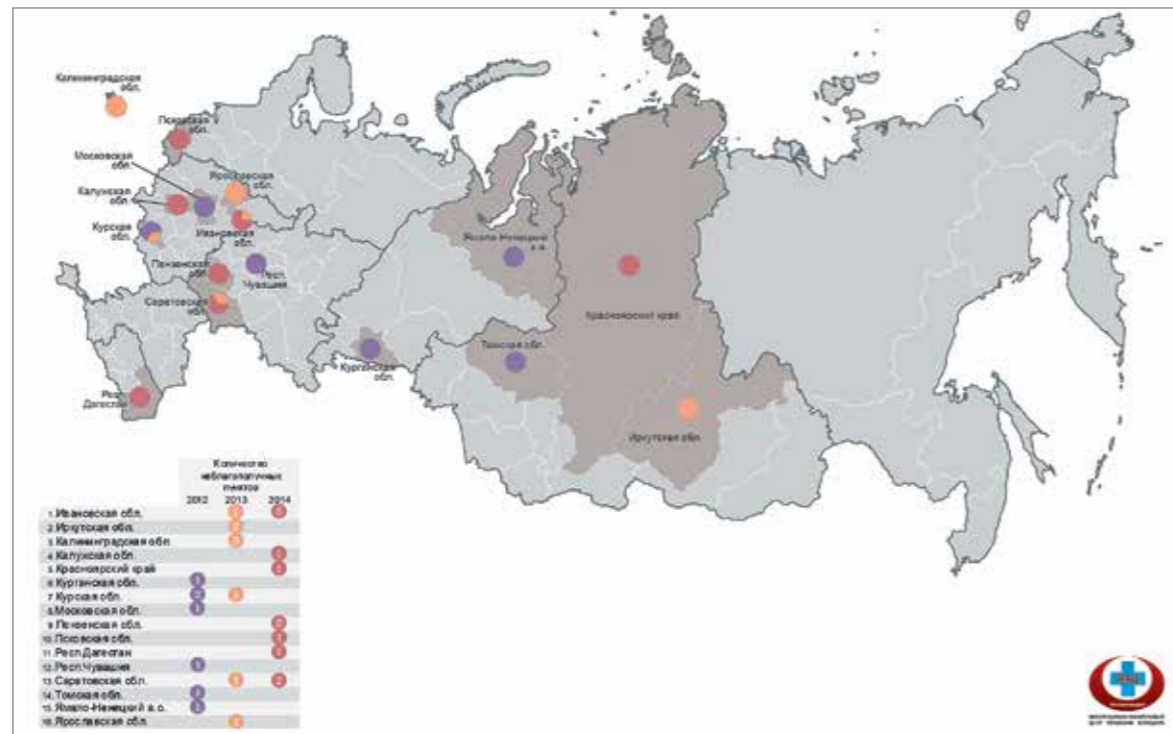


Рис. 2. Количество неблагоприятных пунктов по некоторым инфекционным заболеваниям птиц на территории РФ за 2009–2014 гг.

миграцией диких птиц и циркуляцией вирусов гриппа в дикой авифауне, что увеличивает риски заноса заболевания в популяции птиц личных подсобных хозяйств граждан и птицеводческие хозяйства.

На территории РФ по степени риска заноса и распространения высокопатогенного гриппа птиц можно выделить зону высокой степени риска: Приморский, Хабаровский, Забайкальский, Алтайский края; Республика Тыва, Новосибирская, Омская, Амурская области; регионы Южного и Северо-Кавказского федеральных округов. Поэтому вакцинация птиц выгульного содержания против гриппа проводится только в некоторых ранее неблагоприятных регионах Южного, Северо-Кавказского, Уральского, Сибирского и Дальневосточного федеральных округов [2, 7].

Рис. 3. Территории РФ, где регистрировали ИБ в популяциях домашних и диких (синантропных) птиц (данные за 2012–2014 гг.)



Болезнь Марека относится к группе наиболее опасных инфекционных заболеваний кур. Заболеваемость в невакцинированных стадах составляет от 25 до 60%. Полное искоренение болезни невозможно вследствие того, что вирус является высококонтагиозным, персистирует в организме птиц и долго сохраняется в птичниках [1]. Основу профилактики составляют вакцинация суточного молодняка и ветеринарно-санитарные мероприятия.

Проблема с болезнью Марека до 2007 г. у вакцинированных птиц была обусловлена распространением вирулентных штаммов и нарушениями технологии вакцинации и хранения вакцины (рис. 6). Заболевание было отмечено в следующих регионах страны: Ленинградская, Новгородская, Псковская, Свердловская, Нижегородская, Челябинская, Магаданская области, Республика Марий Эл, Республика Якутия, Краснодарский и Красноярский края [7].

Эффективная стратегия профилактических, противозооотических мероприятий с использованием вакцин на основе 1 серотипа вируса болезни Маре-

ка, в том числе производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» из всех трёх серотипов, привела к снижению интенсивности инфекционного процесса. Отсутствие случаев заболевания в 2013 и 2014 гг. может свидетельствовать об эффективной вакцинопрофилактике, но не исключает возможных рецидивов заболевания в ранее неблагополучных хозяйствах.

Инфекционная бурсальная болезнь (ИББ, болезнь Гамборо) — широко распространенная, высококонтагиозная вирусная болезнь цыплят в возрасте 20–30 сут., характеризующаяся поражением фабрициевой сумки, почек, внутримышечными кровоизлияниями и диареей. Болезнь протекает субклинически и в острой форме с выраженной клинической картиной и высокой смертностью. Кроме прямых экономических потерь, данное заболевание представляет серьезную опасность ввиду иммуносупрессивного влияния вируса на организм больной птицы [1].

Анализ эпизоотической ситуации на птицефабриках показал, что ИББ регистрировали во всех областях Российской Федерации (рис. 7). С целью профилактики данного заболевания с 1994–1996 гг. птицеводческие хозяйства осуществляют вакцинацию [7]. По имеющимся данным, в 2014 г. было вакцинировано более 3 552 689,78 млн гол. птицы.

Несмотря на то, что случаев заболевания в 2013–2014 гг. выявлено не было, в силу очень высокой устойчивости к факторам внешней среды вирус ИББ сохраняется в ранее неблагоприятных хозяйствах и продолжает циркулировать среди птиц, содержащихся в фермерских и личных хозяйствах граждан, не охваченных плановой вакцинацией [4].

Инфекционный бронхит кур является одной из наиболее распространенных болезней промышленного птицеводства, этому способствуют множественность серотипов (Массачусетс, QX, 793 B, D 274, B 1648 и др.) и высокая генетическая изменчивость вируса [1].

Анализ данных демонстрирует относительное благополучие по заболеванию, обусловленное эффективной профилактической программой, основанной на применении вакцин против ИБК. Спорадические случаи заболевания в 2010–2011 гг. также свидетельствуют о циркуляции полевых вирусов в птицеводческих хозяйствах (рис. 8) [1].

На распространение инфекции косвенное влияние оказывают коммерческие программы по вакцинации благополучных птицефабрик вариантными вакцинами.

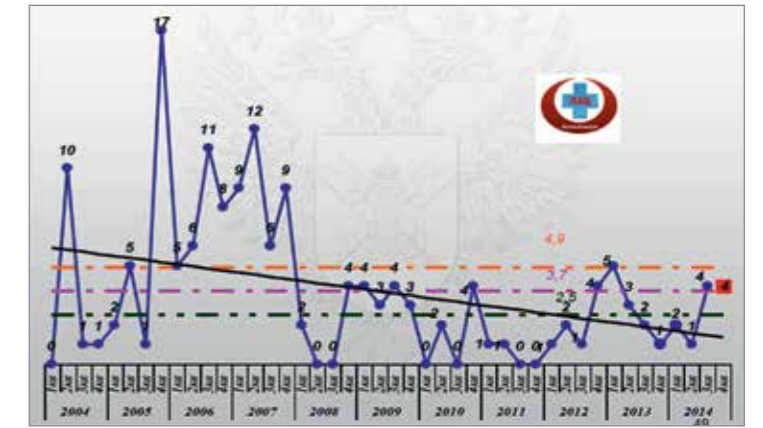


Рис. 4. Ежеквартальная динамика неблагоприятия по ИБ в РФ (2004–2014 гг.)

ми штаммами. Так, применение живых вакцин на основе разных серотипов вируса без диагностического обоснования приводит к рекомбинациям и появлению новых полевых вариантов штаммов, содержащих участки генома вакцинных и полевых вирусов. В таких условиях для надлежащей оценки эпизоотической ситуации, идентификации и дифференциации полевых изолятов от вакцинных штаммов необходимо проведение комплексных лабораторных исследований.

Оспа птиц — контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся пролиферативно-некротическими поражениями кожи и дифтеритическим воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей, ротовой полости и глаз. Заболевание распространено практически по всему миру, в том числе в странах СНГ: России, Казахстане и Украине.

С 2006 г. оспа птиц исключена МЭБ из списка болезней, подлежащих обязательной нотификации. Заболевание также не включено в «Перечень заразных, в том числе особо опасных болезней животных, по которым могут устанавливаться ограничительные мероприятия (карантин)» (утв. приказом МСХ РФ от 19.12.2011 г.). Тем не менее оспа птиц остаётся экономически значимой болезнью (рис. 9).

Заболеваемость птиц при вспышке оспы достигает 75%, при этом эпизоотический процесс носит характер энзоотии, реже спорадии. В период клинического

Рис. 5. Эпизоотическая ситуация на территории РФ по гриппу птиц с 2003 по 2014 гг.



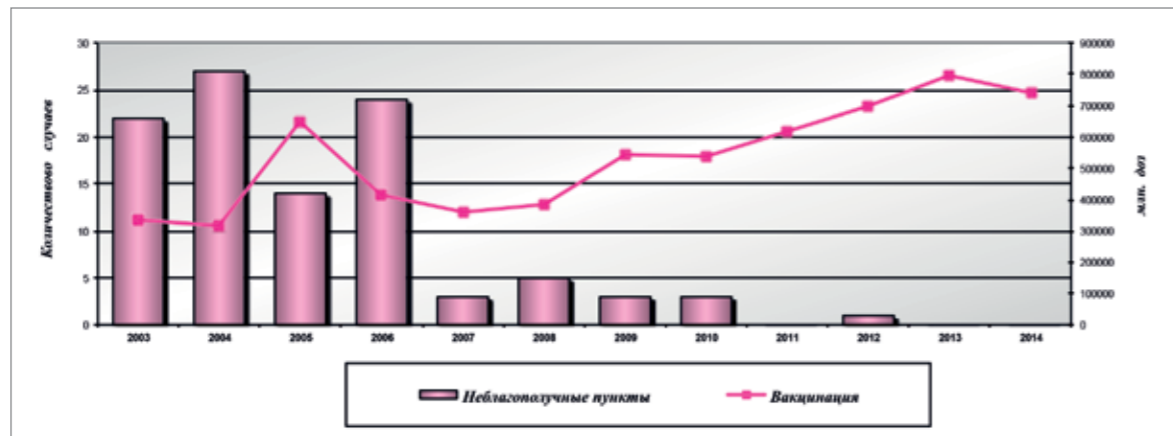


Рис. 6. Эпизоотическая ситуация по болезни Марек на территории РФ с 2003 по 2014 гг.

проявления болезни падение яичной продуктивности у заболевших кур достигает в течение полутора месяцев от 9 до 30%. Уровень смертности при кожной форме болезни может составлять не более 13%, а при дифтеритической до 50%.

В период с 2009 по 2012 гг. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» было выявлено одиннадцать случаев индикации генома вируса оспы птиц в пробах, отобранных от кур и голубей из птицефабрик Украины, Казахстана и России. В 2013 г. зарегистрировано два неблагополучных пункта по оспе птиц (Свердловская область и Приморский край).

Вакцинопрофилактика заболевания проводится в различных регионах страны в зависимости от эпизоотической ситуации в птицеводческих хозяйствах.

Инфекционный ларинготрахеит птиц — это контагиозная вирусная болезнь птиц, характеризующаяся поражением верхних дыхательных путей, глаз у кур, индеек и фазанов. Вирус обладает высоким тропизмом к клеткам слизистой оболочки трахеи, ротовой и носовой полостей и глаз. ИЛТ регистрируют на птицефабриках во все времена года, но наибольший экономический ущерб заболевание причиняет в периоды резких климатических колебаний. Инфицированная и переболевшая птица является источником вируса.

При проведении ФГБУ «ВНИИЗЖ» мониторинговых исследований 20 888 проб из 145 птицефабрик

в 2011 г. в сыворотках крови от невакцинированных птиц были выявлены антитела к вирусу ИЛТ, при этом титр антител колебался в пределах от 572 ± 43 до 1149 ± 123 на птицефабриках яичного направления и до 1631 ± 330 — в хозяйствах мясного направления. Отсутствие клинических признаков у невакцинированного поголовья свидетельствовало о циркуляции низковирулентных штаммов вируса. При исследовании сывороток от иммунизированного птицепоголовья яичного и мясного направления процент положительных проб сывороток крови к вирусу ИЛТ был значительно выше — от 78,9 до 94,7%. Увеличение титров антител у вакцинированных птиц с возрастом во многом было связано не с ревакцинацией, а с циркуляцией в стаде вирусов ИЛТ, в том числе вакцинных штаммов.

Ежегодные диагностические исследования и иммунизация восприимчивой птицы в неблагополучных птицеводческих хозяйствах позволяют сдерживать развитие эпизоотического процесса. Вакцинопрофилактика этого заболевания должна проводиться обязательно с учетом эпизоотической ситуации в птицеводческих хозяйствах и по результатам лабораторных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный анализ по некоторым значимым инфекционным болезням птиц подтверждает, что

Рис. 7. Эпизоотическая ситуация по ИББ на территории РФ с 2003 по 2014 гг.

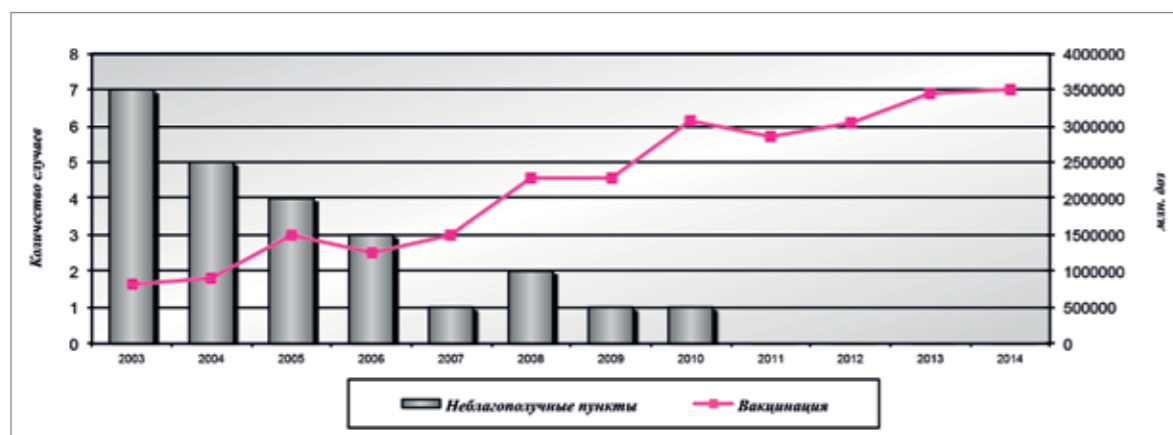


Рис. 8. Эпизоотическая ситуация по ИБК на территории РФ с 2003 по 2014 гг.

своевременное осуществление комплекса превентивных мероприятий по обеспечению биобезопасности позволяет снизить риски возникновения инфекционных болезней.

Первичная ветеринарная отчетность, предоставляемая последовательно в официальном порядке ветеринарной службой с мест в Министерство сельского хозяйства, зачастую может не отражать реальной эпизоотической ситуации в птицеводческой отрасли. Поэтому не стоит забывать о скрытых инфекционных угрозах.

Вакцинопрофилактика является одним из методов борьбы с инфекционными болезнями, но она не гарантирует отсутствия циркуляции вирусов в популяции, поэтому эффективна только в комплексе мероприятий по обеспечению благополучия хозяйства. Вакцинация должна проводиться с учетом эпизоотической ситуации в конкретном птицеводческом хозяйстве, результатов лабораторно-диагностических исследований и биологических свойств возбудителей.

Не менее важно добиваться соблюдения технологии выращивания, создания благоприятных условий содержания и обеспечения птиц полноценным кормом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / Америк. ассоц. патологов птиц; под ред. Б.У. Кэл-

нека; пер. с англ. — 10-е изд. — М.: Аквариум Бук, 2003. — 1232 с.

2. Ветеринарная отчетность 1-Вет. — URL: <http://vetkrs.ru/ot4et.php> (дата обращения: 29.06.2015).

3. Генетический анализ изолятов вируса ньюкаслской болезни, выявленных у домашних, синантропных и диких птиц на территории Российской Федерации и Украины (Крыма) / И.П. Пчелкина, С.Н. Колосов, Л.О. Щербакова [и др.] // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — 2007. — Т.5. — С. 162–175.

4. Ирза В.Н. Эпизоотическая ситуация по вирусным болезням птиц в современном промышленном птицеводстве // 8-й Международный ветеринарный конгресс по птицеводству, г. Москва, 19–22 апр. 2012 г. — М., 2012. — С. 38–41.

5. Методические указания по ретроспективному анализу эпизоотической ситуации (на примере отчетов об эпизоотической ситуации в Российской Федерации за год/полугодие/квартал) / О.Н. Петрова, Н.С. Бардина, Е.Е. Ерастова [и др.]; ФГБУ «ВНИИЗЖ». — Владимир, 2011. — 51 с.

6. Характеристика изолятов вируса ньюкаслской болезни птиц, выделенных на территории Российской Федерации в 2012 году / П.И. Репин, И.П. Пчелкина, И.А. Чвала [и др.] // Ветеринария и кормление. — 2013. — № 5. — С. 46–47.

7. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации. — URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/messages/>.

Рис. 9. Эпизоотическая ситуация по оспе птиц на территории РФ с 2003 по 2014 гг.



EPIZOOTIC SITUATION ON INFECTIOUS AVIAN DISEASES BASED ON ANALYSIS OF DATA FROM VETERINARY REPORTS

A.N. Spiridonov¹, O.N. Petrova², V.N. Irza³, A.K. Karaulov⁴, V.V. Nikoiforov⁵

¹ Junior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: spiridonov@arriah.ru

² Head of the Unit, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: petrova@arriah.ru

³ Chief Expert, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: irza@arriah.ru

⁴ Head of the Information and Analysis Centre, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: karaulov@arriah.ru

⁵ Head of the Unit, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: nikoiforov@arriah.ru

SUMMARY

The paper covers analysis of data from veterinary reports of the Russian Federation on infectious avian diseases for 2009–2014. The disease rating demonstrates that bacterial diseases are more frequently reported on commercial poultry farms, unlike infectious diseases posing latent risks. Based on the data analysis for avian infectious diseases, it is concluded that vaccine prophylaxis is just one of the tools for control of infectious diseases, but it does not guarantee the virus will stop circulating in the population of susceptible birds or the disease will be eradicated. Timely preventive measures ensuring biosafety help to mitigate the risks of emerging infectious diseases.

Key words: poultry farming, infectious diseases, analysis.

INTRODUCTION

Progress of commercial poultry farming in the Russia Federation is impeded by infectious diseases. Due to a number of reasons the information on the disease spread and on dominating nosounits in the etiology structure is not always objective.

The purpose of the research is to determine basic threats to the veterinary security of the commercial poultry farming.

MATERIALS AND METHODS

For the purposes of this research we used veterinary reports (Form No.1 – Information on Infectious Avian Diseases) provided by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation [7] and retrospective analysis [5].

In order to harmonize and compare the processed data, the following criteria were used: number of *affected sites* and *disease morbidity* (refers to an incidence of diseased animals in a population).

RESULTS AND DISCUSSION

The veterinary reports of the Russian Federation for 5 years (2009–2014) provided by the FGBI «Veterinary Centre» were used to determine significant problems of the national commercial poultry farming [2]. The morbidity data for a farm poultry population were processed for 2014 (Fig. 1).

Based on the data available (Fig. 1) it is evident that bacterial diseases (salmonellosis, colibacillosis, ornithosis, pasteurellosis) account for most outbreaks. In most cases the diseases are caused by violations of poultry management and feeding standards. However, it should be kept in mind that the detection of factorial bacterial diseases can result from latent circulation of viral infections, because bacterial microflora is the secondary factor in the infection development that aggravates the infection [1].

There is a high probability during bacteriological lab tests of pathological material from diseased poultry to detect normal microorganisms instead of the true infectious disease-causing agents. For example, the most spread diagnosis «Colibacteriosis» can simply accompany an infectious process and finally kill the diseased bird.

Thus, the data of the veterinary reports sometimes do not demonstrate the real epizootic situation on avian infectious diseases because the viral diseases circulating in the vaccinated population are not always diagnosed due to violations of animal management standards, low-efficient vaccination and stress factors that can lead to large-scale manifestation of secondary bacterial infections.

In order to detect other crucial problems with infectious avian diseases affecting national poultry farming, we analyzed veterinary reports of the Russian Federation from 2009 to 2014 at the second stage of our research (Fig. 2).

The data available demonstrate that the affected sites mostly include: Newcastle disease (ND) – 62,7%, AI – 2,4%, Marek's disease – 9,6%, leucosis – 8,4%; fowl pox – 6%, infectious laryngotracheitis (ILT) – 3,6%, infectious bursal disease (IBD), infectious bronchitis (IB) and hydropericarditis – 2,4%.

Despite the fact that no cases of Marek's disease, IBD, IB and ILT and fowl pox were reported in Russia in 2014, a retrospective analysis for these diseases is also required because they can cause significant economic losses.

Newcastle disease. The disease cases are annually reported in poultry in different regions of the Russian Federation (Fig. 3) [7]. In 2014 emergency reports on ND cases were provided from the Saratov, Ivanovo, Pskov, Kaluga, Penza Oblasts and the Republic of Dagestan. Most cases were detected in pigeon population. In the Republic of

Dagestan the disease affected backyard poultry, i.e. it was the only ND cases in poultry. No ND cases were registered in commercial poultry population.

The analysis of ND quarterly dynamics suggests a downward trend in the disease spread, despite it persists in the country, and improvement of the epizootic situation can be forecast (Fig. 4).

The RF monitoring test results suggest (agricultural, wild and synanthropic birds) Genotypes VI and VII are mostly spread among virulent ND viruses [3, 6]. High seroprevalence to ND virus was reported in poultry from closed-type commercial poultry farms and it was associated with the use of live and inactivated vaccines.

There are concerns about detection of antibodies to NDV in non-vaccinated poultry on small-scale poultry farms, in population of wild and synanthropic birds and it suggests that NDV circulates in these avian populations.

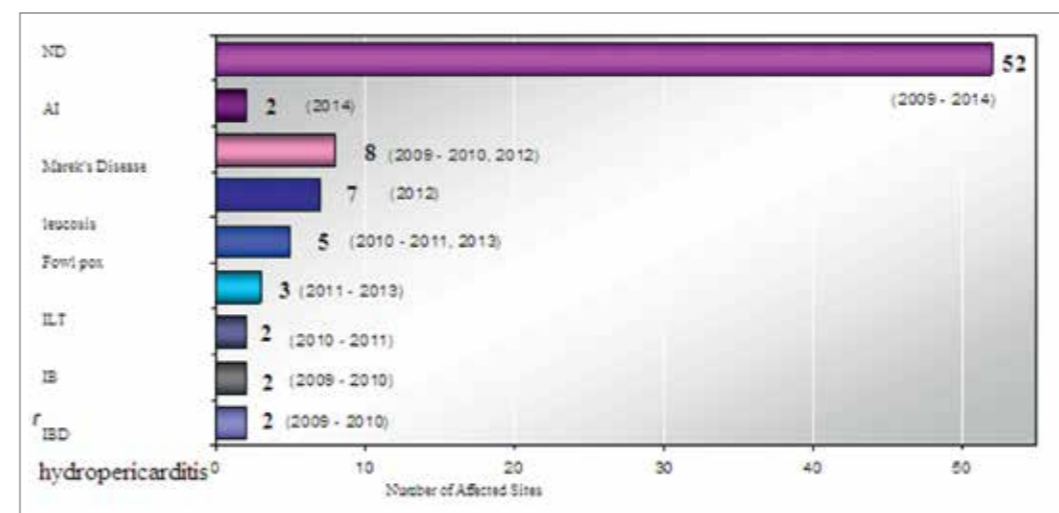
Vaccination of all the avian species on the small-scale farms and in the backyards followed by post-vaccination immunity control can significantly improve the epizootic situation.

Avian influenza. The veterinary reports for the period between 2005 and the first half of 2008 demonstrate that the national veterinary services registered 179 affected sites [2]. Due to a number of anti-epidemic measures including vaccination in the risk zones and timely diagnostic tests, the RF territory has been relatively free from AI since 2009. Annual monitoring tests are carried out to detect antibodies and determine circulation of AIV subtypes H5, H7 and H9 in poultry, wild and synanthropic birds. In 2014 2 outbreaks of HPAI H5N1 were detected in backyard poultry in the Altai Krai.

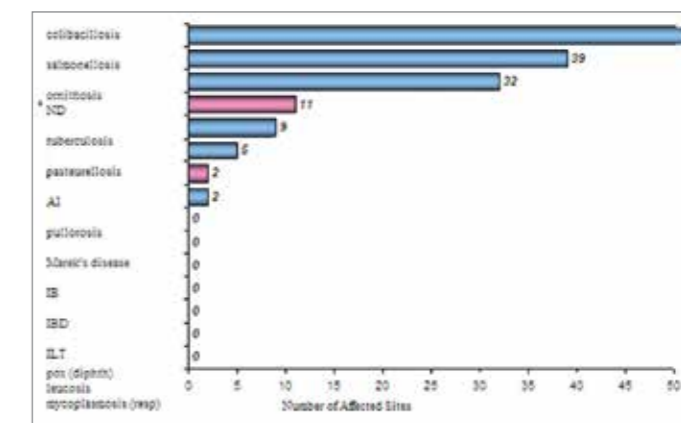
The risks of potential outbreaks in the country are mostly related to migration of wild birds and to circulation of AI viruses in the wild avifauna. These factors increase the risks of the disease introduction into the backyard population and into commercial poultry farms.

Based on the risks of HPAI introduction and spread in the RF territory a high risk zone can be identified: Primorsky, Khabarovsk, Zabaikalsky and Altai Krai; the Republic of Tyva, the Novosibirsk, Omsk, Amur Oblasts; regions in South and North Caucasian Federal District. Therefore, vaccination of free-ranging birds against AI is carried out only in some previously affected regions of the Southern, North-Caucasian, Ural, Siberian and Far East Federal Districts [2, 7].

Fig. 2. Number of affected sites for some infectious avian diseases reported in Russia between 2009–2014



NUMBER OF AFFECTED SITES



MORBIDITY OF POULTRY

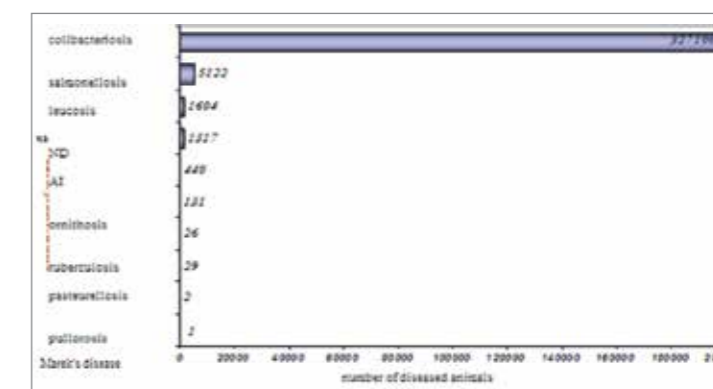


Fig. 1. Number of affected sites and morbidity of farm poultry in 2014

Marek's disease is one of the most dangerous infectious diseases of chickens. Morbidity in non-vaccinated herds ranges between 25 and 60%. The disease cannot be totally eradicated because the virus is highly contagious, persists in avian bodies and circulates for a long time in poultry houses [1]. Vaccination of day-old chicks and veterinary and sanitary measures are the basis of prophylaxis.

Problem of Marek's disease in vaccinated poultry before 2007 was associated with the spread of virulent strains and violations of vaccination procedures, improper vaccine storage (Fig. 6). The disease was detected in the following regions of the country: the Leningradskaya, Novgorod, Pskov, Sverdlovskaya, Nizhny Novgorod, Chelyabinsk,

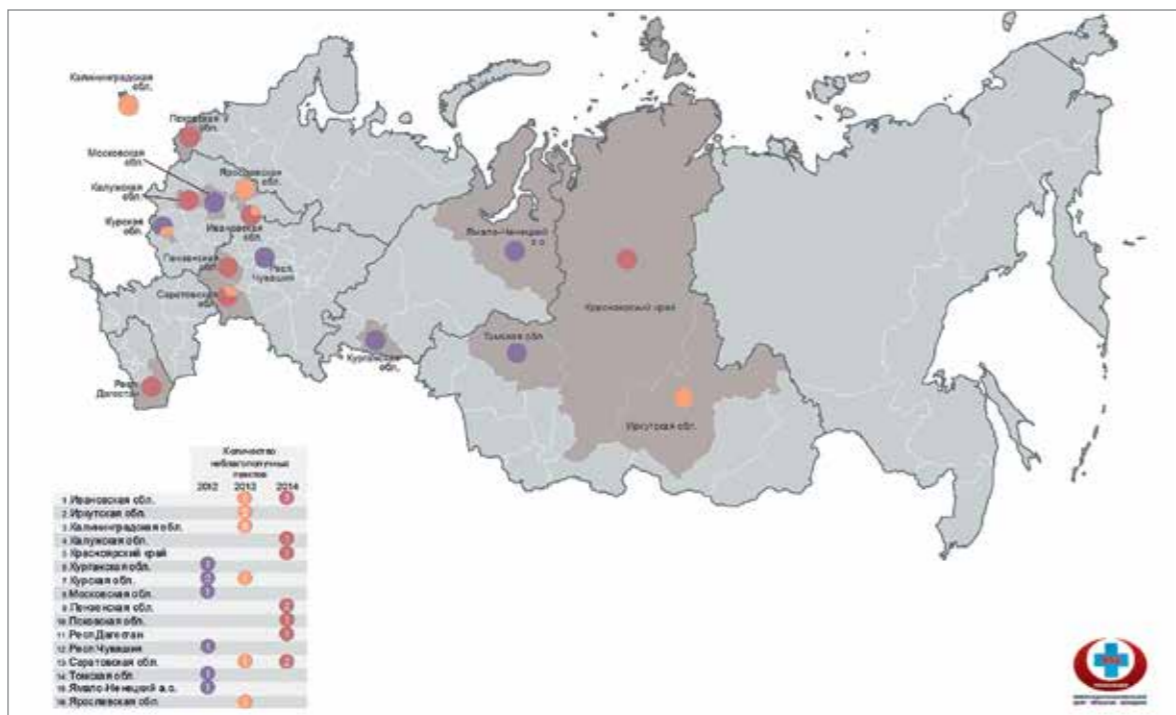


Fig. 3. The RF territory where ND cases were reported in poultry and wild (synanthropic) birds (data for 2012–2014)

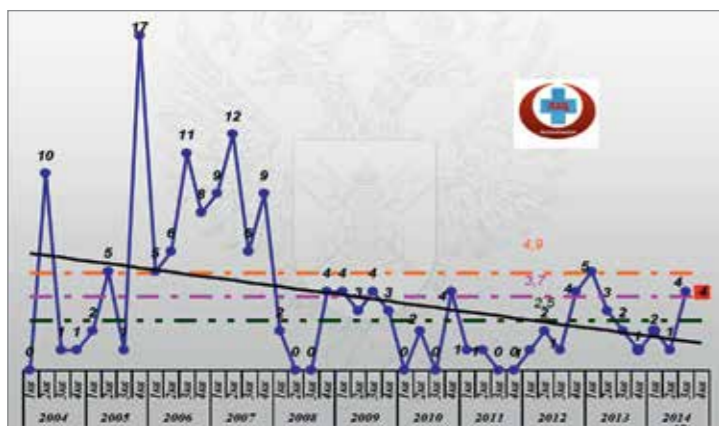
Magadan Oblasts, the Republic of Yakutia, the Krasnodar and Krasnoyarsk Krai [7].

Effective preventive strategy together with anti-epidemic measures including vaccination on the basis of Serotype 1 of Marek's disease virus (including the vaccine produced by the FGBI «ARRIAH» from three serotypes) reduced the intensity of infectious process. The fact that no cases were reported between 2013 and 2014 may suggest effective vaccine prophylaxis but does not exclude the disease reoccurrence on the previously affected farms.

Infectious bursal disease (IBD, Gumboro disease) – widely spread, highly contagious viral disease of 20–30-day-old chicks, affecting the bursa of Fabricius, kidneys, causing intra-muscular hemorrhages and diarrhea. The disease can be asymptomatic and its acute phase is characterized by vivid clinical signs and high mortality. In addition to direct economic losses the disease poses serious threat due to its immune suppressive impact on the diseased bird [1].

Analysis of the epizootic situation on the poultry farms demonstrated that IBD was reported in all the RF Oblasts (Fig. 7). In order to prevent the disease the poultry estab-

Fig. 4. Quarterly dynamics of ND in the RF (2004–2014)



lishments have implemented vaccination since 1994–1996 [7]. Based on the data available more than 3552689,78 mln poultry were vaccinated in 2014.

Despite the fact that no disease cases were reported in 2013–2014 and taking into account high stability of IBD virus to the environment, the virus persists on the earlier affected farms and keeps circulating on poultry farms and backyards that are not included into the planned vaccination campaign [4].

Infectious bronchitis (IB) is one of the most widely spread disease in poultry industry. The wide spread is explained by a great number of serotypes (Massachusetts, QX, 793 B, D 274, B 1648 and etc.) and by high genetic variability of the virus [1].

Data analysis demonstrates relative freedom from the disease due to effective prophylaxis campaign based on vaccination against IB. Sporadic cases of the disease reported in 2010–2011 also suggest circulation of field viruses on poultry farms (Fig. 8) [1].

Commercial vaccination on the disease-free poultry farms with variant vaccine strains indirectly facilitates the infection spread. Thus, the use of live vaccines from different virus serotypes with no diagnostic rationale behind it causes recombinations and occurrence of new field variant strains comprising genome segments of both vaccine and field strains. In order to adequately assess epizootic situation in this case, to identify and to differentiate field strains from vaccine strains, a set of complex lab tests is required.

Fowl pox is a contagious viral disease characterized by proliferative and necrotic skin lesions and diphtheritic inflammation of the mucosal surfaces of the upper respiratory tract, oral cavity and eyes. The disease is spread almost worldwide, including the CIS countries: Russia, Kazakhstan and Ukraine.

Since 2006 the disease has been excluded from the OIE list of notifiable diseases. It is neither on the «List of Infectious Diseases (including Highly Dangerous Animal Diseases) that shall be under Restrictions (Quarantine) (approved by Decree of the Ministry of Agriculture dd. 19.12.2011)». Nevertheless, fowl pox remains economically significant (Fig. 9).

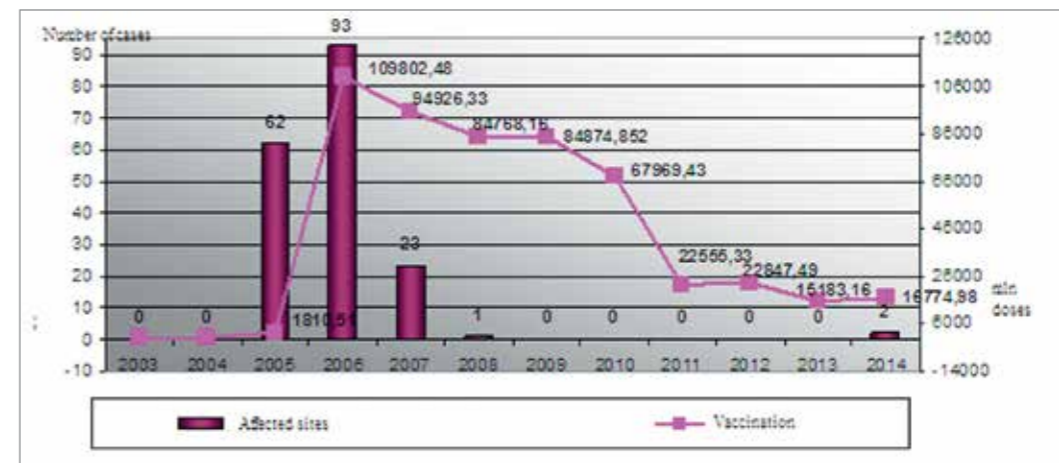


Fig. 5. Epizootic situation on AI in the Russian Federation between 2003 and 2014

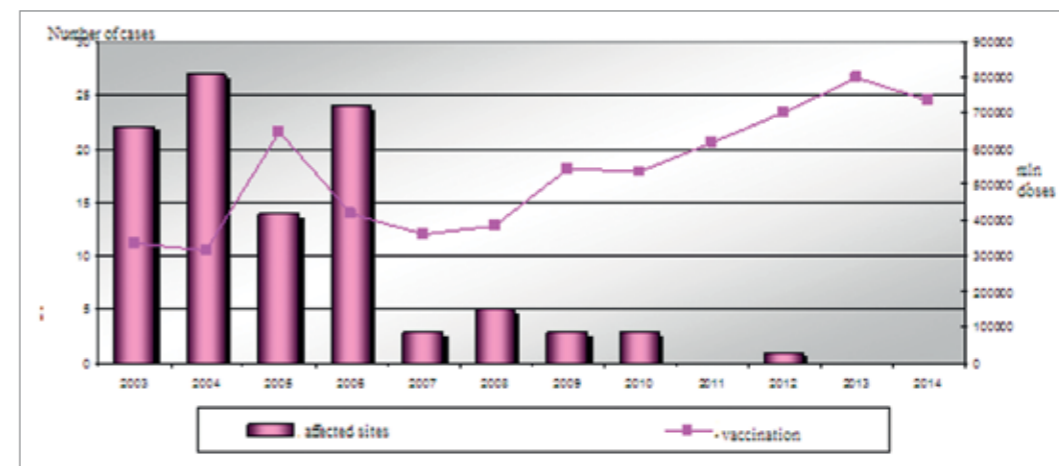


Fig. 6. Epizootic situation on Marek's disease in the RF between 2003 and 2014

Morbidity rate in birds affected by fowl pox reaches 75% and the epizootic process is enzootic and rarely sporadic. At the clinical stage the drop in egg production in affected layers can range between 9 and 30% within a month and a half. Mortality rate at the cutaneous form of the disease may reach maximum 13% and it goes up to 50% at the diphtheritic form.

Between 2009 and 2012 the FGBI «ARRIAH» detected fowl pox virus genome in 11 samples from chickens and pigeons from commercial poultry farms of Ukraine, Kazakhstan and Russia. In 2013 fowl pox was reported in two sites (the Sverdlovskaya Oblast and the Primorsky Krai).

Vaccine prophylaxis of the disease is carried out in different regions of the country depending on the epizootic situation on poultry farms.

Infectious laryngotracheitis (ILT) is a contagious avian disease characterized by lesions in the upper respiratory tract and eyes in chickens, turkeys and pheasants. The virus displays extensive tropism for mucosal cells of trachea, oral and nasal cavity and eyes. ILT is reported on commercial poultry farms in all seasons but the most severe economic damage is caused during large climatic fluctuations. The infected and convalescent poultry remain the source of infection.

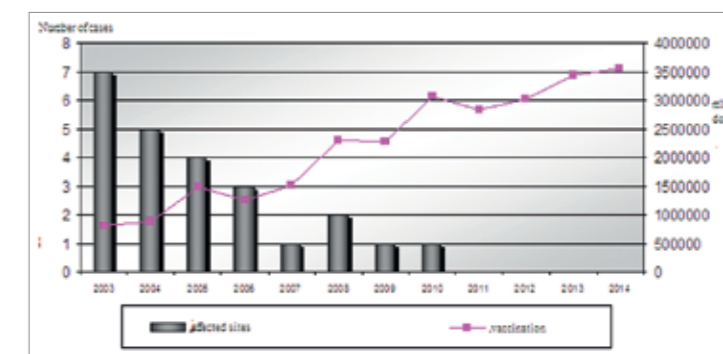
Monitoring tests carried out in 2011 by the FGBI «ARRIAH» revealed antibodies to ILT virus in 20 888 sera samples from non-vaccinated poultry from 145 poultry commercial farms and the antibody titre ranged between 572±43 and

1149±123 on the egg farms and grew up to 1631±330 on meat poultry farms.

The absence of clinical signs in non-vaccinated population suggested circulation of low virulent virus strains. The percent of positive sera to ILT virus was significantly higher in vaccinated egg and meat herds – between 78,9 and 94,7%. The increase in antibody titres in mature vaccinated poultry in most cases was not caused by re-vaccination but by circulation of ILT virus, including its vaccine strains, in the poultry herds.

Annual diagnostic tests and vaccination of susceptible animals on affected poultry farms help to contain the epizootological process. The vaccine prophylaxis shall be carried out in accordance with the epizootic situation on the poultry farms and based on the lab test results.

Fig. 7. Epizootic situation on IBD in the RF between 2003 and 2014



CONCLUSION

The analysis of these significant infectious avian diseases confirms that preventive measures taken timely to ensure biosafety will help to reduce the risks of their occurrence.

The initial veterinary reports continuously submitted by the local veterinary offices to the Ministry of Agriculture pretty frequently do not reflect the real epizootic situation in poultry industry. Therefore, one should keep in mind latent threats posed by the infections.

Vaccine prophylaxis is just one of the methods used to control infectious diseases but it does not guarantee that the virus no longer circulates in the population; therefore, it is effective only in a set of measures taken to ensure freedom of farms from the disease. Vaccination shall be carried out in accordance with the epizootic situation on a particular poultry farm and in accordance with the results of lab diagnostic tests and based on biological characteristics of the agents.

Compliance with the rearing standards shall be ensured, favourable management conditions shall as well as nutritionally complete poultry feed shall be provided on farms.

REFERENCES

1. Diseases of Poultry / American Association of Avian Pathologists; ed. B.W.Calnek; translation from English. – 10th ed. – M.: Aquarium Book, 2003. – 1232 p.
2. Veterinary Reports 1 Vet. – URL: <http://vetkrs.ru/ot4et.php> (application date: 29.06.2015).
3. Genetic Analysis of NDV Isolates Recovered in Poultry, Synanthropic and Wild Birds in the RF and Ukraine (Crimea) / I.P. Pchelkina, S.N. Kolosov, L.O. Scherbakova [et al.] // Proceedings of the Federal Centre for Animal Health. – 2007. – Vol. 5. – P. 162-175.
4. Irza V.N. Epizootic Situation on Viral Avian Diseases in Modern Poultry Industry // The 8th International Veterinary Congress on Poultry Industry, Moscow, 19-22 April, 2012. – M., 2012. – P. 38-41.
5. Methodical Guidelines on Retrospective Analysis of Epizootic Situation in the RF (year/half a year/quarter) / O.N. Petrova, N.S. Bardina, Ye.Ye. Yerastova [et al.]; FGBI «ARRIAH». – Vladimir, 2011. – 51 p.
6. Characteristics of NDV Isolates Recovered in the RF in 2012 / P.I. Repin, I.P. Pchelkina, I.A. Chvala [et al.] // Veterinary Issues and Feeding. – 2013. – № 5. – P. 46-47.
7. Epizootic Situation in the RF. – URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/messages/>.

Fig. 8. Epizootic situation on IB in the RF between 2003 and 2014

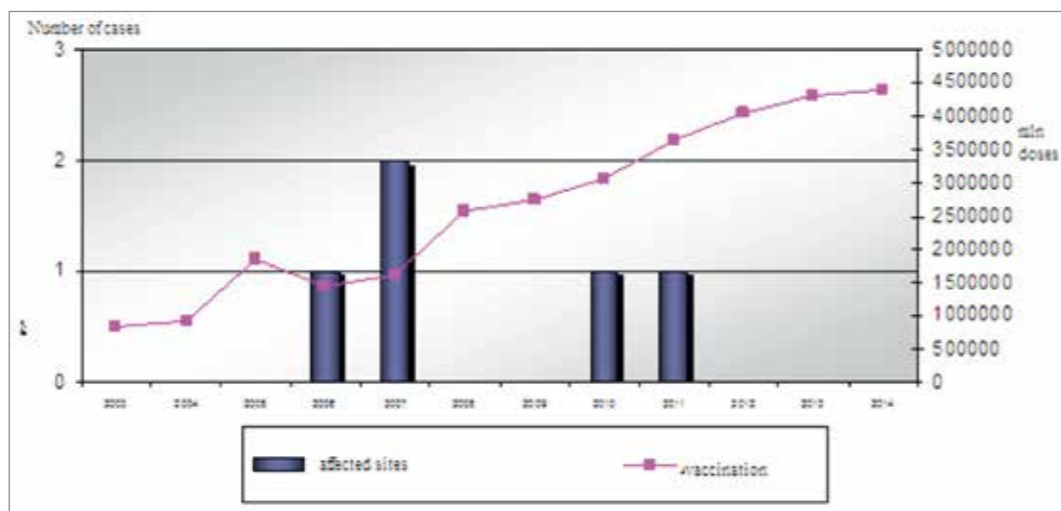
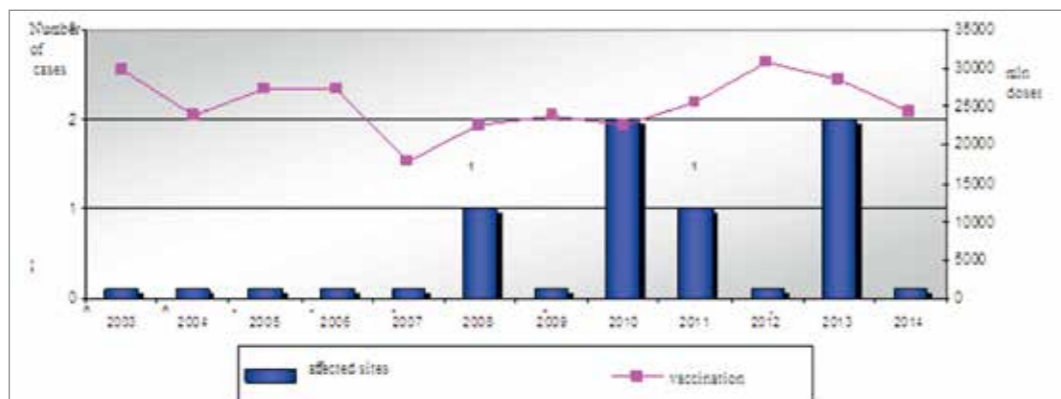


Fig. 9. Epizootological situation on fowl pox in the Russian Federation between 2003 and 2014



УДК 619:578.821.21:636.52/58:57.082.26:615.371

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ВИРУСА ОСПЫ ПТИЦ

К.Ю. Федосеев¹, М.С. Кукушкина², В.Ю. Кулаков³, Л.В. Малахова⁴

¹ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mail@arriah.ru
² старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kukushkina@arriah.ru
³ ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kulakov@arriah.ru
⁴ старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: burdeynaya@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены экспериментальные данные по изучению иммунобиологических свойств культуральных вариантов вируса оспы птиц, адаптированных к первичной культуре клеток фибробластов эмбрионов кур «F» и первичной культуре клеток дермы куриных эмбрионов «D». Установлено, что данные штаммы сохраняют дерматропный фенотип, проявляющийся в виде характерных для семейства *Avipoxvirus* локальных поражений кожи цыплят. Также они обладают иммуногенным действием, выражающимся в протективном эффекте после вакцинации гомологичным вирусом. Для обоих исследованных вариантов вируса были установлены величины прививных доз, которые обеспечивали защиту 95% вакцинированных птиц. Указанные величины составили 14,6 и 6,97 ИД₅₀ для штаммов «F» и «D» соответственно.

Ключевые слова: вирус оспы птиц, культивирование, инфекционная активность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали: 1. Атенуированный лабораторный штамм вируса оспы кур (обозначен как штамм «F»), адаптированный к первичной культуре клеток фибробластов эмбрионов кур в составе культуральной жидкости (рН 7,2–7,4). Средний титр инфекционного вируса 6,17±0,25 Ig ЭИД₅₀/см³. 2. Атенуированный лабораторный штамм вируса оспы кур (обозначен как штамм «D»), адаптированный к первичной культуре клеток дермы куриных эмбрионов в составе культуральной жидкости (рН 7,2–7,4). Средний титр инфекционного вируса 6,25±0,14 Ig ЭИД₅₀/см³.

Подопытная птица. Для проведения исследований использовали неиммунных к вирусу оспы цыплят яичного кросса Hisex white в возрасте 30–45 суток. Птиц содержали в виварии по 10–20 голов в клетках, оборудованных кормушками и поилками. Рацион кормления, температурный режим и освещенность помещений соответствовали зоогигиеническим нормам содержания птиц данной возрастной категории [4].

Вакцинация птиц. Использовали интрадермальный способ введения вирусного материала с помощью двухигольного инъектора-перфоратора. Иглы инъектора кратковременно погружали в вирусную суспензию. Инъекцию проводили путем сквозного прокола неоперенного участка кожной перепонки с внутренней стороны крыла птицы. Данный вариант инъектора обеспечивал прививной объем 0,004 см³.

Статистическая обработка результатов. Использовали стандартные методы обработки выборок варьирующих переменных [1, 3], а также элементы корреляционно-регрессионного анализа [5]. Вычислительные операции и графические построения выполняли с помощью приложения Microsoft Office Excel.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусным материалом для изготовления живых вакцин против оспы птиц, как правило, служит ткань хориоаллантоисных оболочек (ХАО) инфицированных эмбрионов кур или культуральная жидкость после расщепления вируса в различных культурах клеток.

Достоинством культуральных вариантов вируса является их технологичность по показателям выхода вирусосодержащего сырья [6, 7]. Известны препараты для профилактики оспы птиц на основе культуральных вариантов вакцинных штаммов, которые могут быть использованы методом выпойки цыплятам [2, 8, 10]. Одним из эффективных вариантов культуральных вакцин является поливалентная вирусвакцина против оспы кур и болезни Марекка, которая применяется для иммунизации суточных цыплят [9].

Представленная информация позволяет считать актуальным исследование иммунобиологических свойств новых культуральных вариантов вируса оспы птиц с целью создания на их основе эффективных вирусвакцин.

Таблица 1
Инфекционная активность вируса оспы кур штаммов «F» и «D» для цыплят
n=3

Штамм вируса	№ опыта	Десятичный логарифм величины разведения			lg ИД ₅₀ /0,004 см ³
		3	4	5	
«F»	1	10/10*	5/10	1/10	4,1**
	2	10/10	6/10	1/10	4,2
	3	10/10	5/10	0/10	4,0
Среднее значение (x±m)***					4,1±0,041
«D»	1	10/10	6/10	2/10	4,4
	2	10/10	7/10	2/10	4,6
	3	10/10	7/10	1/10	4,5
Среднее значение (x±m)					4,5±0,041

* в числителе указано число положительных реакций, в знаменателе — общее число испытанных тест-объектов;

** величина титра, рассчитанная по Керберу;

*** стандартная ошибка среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование инфекционной активности вирусных материалов на птице. Было сформировано три группы птиц: две опытные (по 30 голов) для испытания вирусных материалов и контрольная (10 голов). Готовили разведения вирусосодержащих материалов, которые вводили интрадермально соответственно образованным опытным группам («F» и «D»). В контрольной группе интрадермально вводили физиологический раствор. Продолжительность опыта составляла 14 суток. Испытание каждого штамма вируса проводили параллельно в трех повторностях.

В течение всего эксперимента за птицей был установлен ежедневный клинический контроль. Установили, что на 5–7 сутки после инъекции во всех опытных группах у части птиц возникли характерные для инфекции вируса оспы локальные воспалительные процессы. На месте прививки отмечали покраснение кожи (образование розеолы), отек и последующее уплотнение (стадия папулы). Наличие вирусобусловленных кожных поражений считали положительной реакцией. В контрольной группе воспалительные реакции отсутствовали.

Соответственно испытанным разведениям вирусных материалов установили долю положительных реакций. На основании полученных данных через 14 суток определяли инфекционный титр вируса. Расчет величины титра производили по Керберу [1]. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Результаты, представленные в таблице, демонстрируют, что исследуемые штаммы вируса были инфекционны для цыплят. Средние значения инфекционных титров составили 4,1±0,041 и 4,5±0,041 lg ИД₅₀/0,004 см³ для штаммов «F» и «D» соответственно. При этом штамм «D» был более активен (p≥0,05).

Исследование иммуногенного действия штаммов вируса. Для изучения иммуногенного действия вирусных штаммов были использованы птицы, на которых проводили титрование. На основании данных титрования определили значения доз инфекционного вируса, находящихся в прививном объеме. Был принят показатель d (ИД₅₀/0,004 см³) как оценка величины иммунизирующей дозы в разведенных материалах. Соот-

ветствующие значения lg d составили 1,1; 0,11; 0,011 для штамма «F» и 1,5; 0,15; 0,015 — для штамма «D».

В качестве теста, оценивающего напряженность иммунитета птиц, использовали метод «повторной прививки». Через 21 сутки опытным и контрольным птицам провели интрадермальную инъекцию гомологичных штаммов. Прививная доза обоих штаммов составила 3,0 lg ИД₅₀/0,004 см³. Прививку выполняли двухигольным инъектором-перфоратором в крыло, противоположное тому, которое было использовано для предыдущей инъекции. За птицей был установлен ежедневный клинический контроль.

Установили, что на 5–7 сутки после инъекции в опытных группах у части птиц возникли характерные для инфекции вируса оспы локальные воспалительные процессы. В контрольной группе воспалительные процессы были у всех птиц.

Отсутствие локальных поражений кожи у птиц в опытных группах считали показателем протективного эффекта, который явился следствием иммунной реакции на данную дозу вируса.

Оценка протективного эффекта соответственно испытанным иммунизирующим дозам вируса (d) после повторной прививки представлена в табл. 2.

Исследовали связь между прививной дозой и иммунизирующим действием вируса. В качестве оценки напряженности иммунитета приняли долю защищенных птиц, установленную для каждой испытанной дозы:

$$C = a/b,$$

где a — количество защищенных особей;

b — общее число птиц в подопытной группе.

Соответственно штаммам вируса были построены модели типа «доза–эффект», где величина дозы являлась фиксированным параметром. Использовали регрессионный анализ. Для приближения моделей к линейному виду экспериментальные значения C преобразовывали в логит-эквиваленты по Берксону [1] вида $Y = \lg[(1-C)/C]$. Данное преобразование считается одним из наиболее точных линеаризующих приближений для нормально распределенных совокупностей, где точкой симметрии является 50% эффект. При этом, в целях более осторожного прогноза, значения C=1 и C=0 принимали как C=0,99 и C=0,01 соответственно.

Полученные результаты представлены в виде диаграммы на рисунке.

Таблица 2
Иммуногенное действие различных доз вируса оспы кур штаммов «F» и «D» для цыплят

Штамм вируса	№ опыта	lg d, ИД ₅₀ /0,004 см ³		
		1,1	0,11	0,011
«F»	1	10/10*	3/10	0/10
	2	8/10	2/10	0/10
	3	8/10	3/10	0/10
		1,5	0,15	0,015
«D»	1	10/10	4/10	1/10
	2	10/10	3/10	0/10
	3	10/10	5/10	0/10

* в числителе указано число положительных реакций, в знаменателе — общее число испытанных тест-объектов.

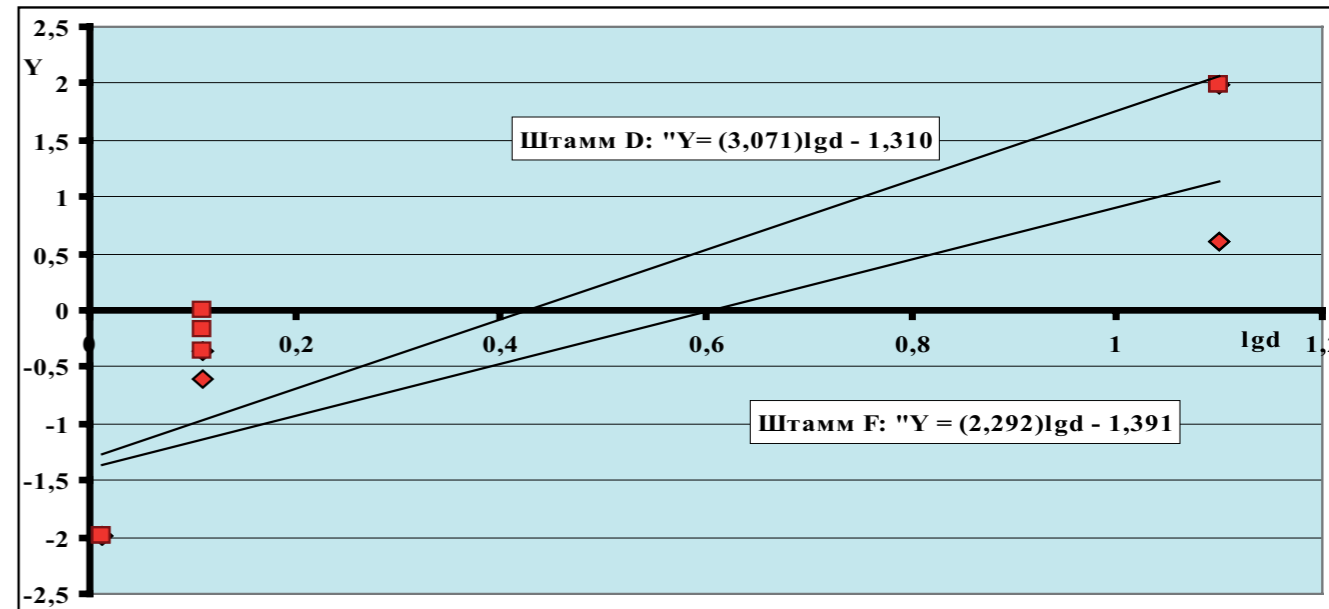


Рис. Зависимость показателя протективного эффекта (Y) от величины прививной дозы (d) вируса оспы кур штамма «F» (▲) и штамма «D» (■) у цыплят
Представлены диаграммы значений $Y = \lg[(1-C)/C]$, а также регрессионные модели для штамма «F» и штамма «D».

Данные, приведенные на рисунке, демонстрируют устойчивую связь между протективным эффектом и величиной использованной иммунизирующей дозы, установленную для обоих вирусных штаммов. Коэффициенты корреляции между значениями lg d и Y для штаммов «D» и «F» составили 0,924±0,102 и 0,861±0,112 соответственно. Для обоих вариантов вируса были построены регрессионные модели, имеющие вид:

$$\text{штамм «F»}: \quad Y = (2,292) \lg d - 1,391, \quad (1)$$

$$\text{штамм «D»}: \quad Y = (3,071) \lg d - 1,310, \quad (2)$$

где Y — прогнозируемый линейный эквивалент C для заданного значения lg d.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение иммунобиологических свойств культуральных вариантов вируса оспы кур штаммов «F» и «D» позволило сделать ряд заключений:

- оба штамма, будучи адаптированными к культуре клеток, сохранили дерматропный фенотип, свойственный семейству *Aviropoxvirus*, демонстрируя характерные локальные поражения кожи цыплят. Были определены соответствующие оценки инфекционности (lg ИД₅₀/0,004 см³) культуральных расщепов штаммов. При этом накопление вируса штамма «D» было в 2,5 раза выше;
- исследуемые штаммы обладали иммуногенным действием, выражающимся в протективном эффекте после повторной прививки гомологичным вирусом.

На основании регрессионного анализа в системе «прививная доза → протективный эффект» установлено, что протективная функция иммунитета зависела от величины прививной дозы. Соответствующие коэффициенты корреляции были достоверны (p≥0,05). Следует отметить, что указанная зависимость для изученных штаммов имела различия. На основании уравнений (1) и (2) было определено, что для обеспечения 95% протективного эффекта было необходимо в среднем 14,6 ИД₅₀ вируса штамма «F», при этом для вируса штам-

ма «D» указанный эффект мог быть достигнут при введении 6,97 ИД₅₀.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ван дер Варден Б.Л. Математическая статистика: пер. с нем. — М.: Иностранная литература, 1960. — 436 с.
2. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / ред. Л.П. Дьяконов. — 2-е изд., доп. — М.: Спутник+, 2009. — 656 с.
3. Закс Л. Статистическое оценивание (теория и методы): пер. с нем. — М.: Статистика, 1976. — 598 с.
4. Зипер А.Ф. Справочник зоотехника: практическое пособие. — М.: АСТ, 2007. — 446 с.
5. Мисюк Н.С., Мастыкин А.С., Кузнецов Г.П. Корреляционно-регрессионный анализ в клинической медицине. — М.: Медицина, 1975. — 192 с.
6. Сохраняемость сухих живых противопастереллезных вакцин, изготовленных из культур с добавкой ионов магния в процессе культивирования / Г.П. Дубинина, А.А. Раевский, М.Я. Ярцев [и др.] // Разработка технологических процессов изготовления биопрепаратов для профилактики и диагностики болезней сельскохозяйственных животных: сб. научных трудов. — М.: ВНИТИБП, 1991. — С. 20–26.
7. Eidson C.S., Villegas P., Kleven S.H. Efficacy of turkey herpesvirus vaccine when administered simultaneously with fowl pox vaccine // Poultry Sci. — 1975. — Vol. 54, № 6. — P. 1975–1981.
8. Mayr A., Danner K. Oral immunization against pox. Studies on fowlpox as a model // Dev. Biol. Stand. — 1976. — Vol. 33. — P. 249–259.
9. Preparation of fowl pox vaccine on chicken-embryo-dermis cell culture / A. El-Zein [et al.] // Avian Dis. — 1974. — Vol. 18, № 4. — P. 495–506.
10. Vaccination of 1-day-old chicks with fowlpox virus by the aerosol, drinking water, or cutaneous routes / É. Nagy, A.D. Maeda-Machang'u, P.J. Krell, J.B. Derbyshire // Avian Dis. — 1990. — Vol. 34, № 3. — P. 677–682.

IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF FOWLPOX VIRUS CULTURAL VARIANTS

K.Yu. Fedoseyev¹, M.S. Kukushkina², V.Yu. Kulakov³, L.V. Malakhova⁴

¹ Senior Researcher, Candidate of Sciences (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: mail@arriah.ru

² Senior Researcher, Candidate of Sciences (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: kukushkina@arriah.ru

³ Senior Researcher, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: kulakov@arriah.ru

⁴ Senior Researcher, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: burdeynaya@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents experimental data of immunobiological properties of fowl pox virus cultural variants adapted in «F» CEF primary culture and «D» chicken embryo dermal primary cell culture.

It was established that the strains retain dermatotropic phenotype manifested as local skin lesions in chicks, typical for *Avipoxvirus* family. They are also immunogenic and that is demonstrated as a protection after the vaccination with a homologous virus.

The immunization doses were determined for both studied virus variants which ensured 95% protection of vaccinated birds. The doses were 14,6 и 6,97 ID₅₀ for «F» and «D» correspondingly.

Key words: fowl pox virus, culture, infectivity.

INTRODUCTION

Chorioallantoic membrane (CAM) tissue of infected chicken embryos or culture fluid prepared by virus propagation in different cell cultures are used as a rule as a viral material for the production of live vaccines against fowl pox.

The advantage of virus cultural variants is their production effectiveness, i.e. the amount of yielded virus-containing raw material [6, 7]. There are some fowl pox-preventive preparations based on cultural variants of vaccine strains which can be used in drinking water for chicks [2, 8, 10]. One of the most effective cultural vaccines is a polyvalent viral vaccine against fowl pox and Marek's disease used for immunization of day-old chicks [9].

The presented information suggests the vitality of the immunological property study of new fowl pox virus cultural variants for the development of effective viral vaccines.

MATERIALS AND METHODS

Virus. The following viruses were used:

1. Culture fluid (pH 7,2–7,4) containing attenuated laboratory fowl pox virus strain (named as «F» strain), adapted in CEF primary culture. Average titre of infectious virus was 6,17±0,25 lg EID₅₀/cm³.

2. Culture fluid (pH 7,2–7,4) containing attenuated laboratory fowl pox virus strain (named as «D» strain), adapted in chicken embryo dermal primary culture. Average titre of infectious virus was 6,25±0,14 lg EID₅₀/cm³.

Test poultry. 30–45 day-old Hisex white chicks, non-immune to fowl pox virus, were used in tests. The poultry were kept in the animal facilities, 10–20 birds per cage, equipped with feeders and drinking cups. The diet, temperature conditions and illumination were in compliance with the animal hygienic requirements to the management of poultry of the concerned age [4].

Poultry vaccination. Viral material was injected intradermally using a two-needle injector. Injector needles were shortly immersed into the viral suspension. The inoculation was performed by a through perforation of a feather-free site of the skin membrane on the internal part of the wing. The inoculation dose was 0,004 cm³.

Statistical processing of the results. Standard methods for variables sampling processing [1, 3], as well as some elements of the correlation and regression analysis [5] were used. Calculations and graphical layouts were made using Microsoft Office Excel software.

RESULTS AND DISCUSSION

Viral infectivity test in poultry. Three poultry groups were made: two test groups (30 birds per each) for viral material testing and one control group (10 birds). Virus-containing solutions were injected intradermally to corresponding test groups («F» and «D»). The birds in the control group were inoculated intradermally with saline solution. The test lasted for 14 days. Viral strains were tested concurrently in triplicate.

The poultry were daily observed for clinical signs. It was established that 5–7 days post inoculation some birds in both test groups showed local inflammatory reactions typical for fowl pox virus infection. Skin reddening (roseola formation), swelling and subsequent induration (papule stage) were noted at the injection site. The presence of virus-caused skin lesions was considered to be a positive reaction. No inflammatory reactions were detected in the control group.

The percentage of positive reactions to tested viral material solutions was calculated. Based on the data obtained the virus infectious titre was determined in 14 days. The titre was calculated using Karber's formula [1]. The results are shown in Table 1.

The results presented in the table suggest that tested strains were infectious for the chicks. The mean values of in-

fectious titres were 4,1±0,041 и 4,5±0,041 lg ID₅₀/0,004 cm³ for «D» and «F» strains correspondingly. D strain was more active (p≥0,05).

Viral strain immunogenicity test. The immunogenicity test was carried out in the birds used for titration. Based on the titration data infectious doses in the inoculum were determined. Value d (ID₅₀/0,004 cm³) denoted the amount of immunizing dose in diluted materials. The corresponding lg d values were 1,1; 0,11; 0,011 for «F» strain and 1,5; 0,15; 0,015 for «D» strain.

The revaccination method was used for testing of immunity level in the poultry. In 21 days tests and control birds were inoculated with homologous strains intradermally. The inoculation dose for both strains was 3,0 lg ID₅₀/0,004 cm³. The inoculation was performed using a two-needle injector into the wing, not previously injected. The poultry were daily observed for clinical signs.

It was established that 5–7 days post inoculation some birds in both test groups showed local inflammatory reactions typical for fowl pox virus infection. Inflammatory reactions were noted in all birds of the control group.

The absence of local skin lesions in the test birds was considered to be a protective effect factor resulted from the immune response to the given virus dose.

The evaluation of the protective effect against tested immunizing doses of the virus (d) after revaccination is shown in Table 2.

The association between the given dose and the virus immunizing effect was studied. The immunity level was defined as the proportion of protected birds determined for every tested dose:

$$C = a/b,$$

where a – number of protected birds;

b – total number of birds in the test group.

Dose-effect models were constructed for every virus strain where a dose value was a fixed value. The regression analysis was used. To approximate the models to the linear form C test values were transformed into Berkson-logit equivalents [1] of $Y = \lg[(1-C)/C]$ type. Such a transformation is one of the most accurate linearizing approximations for normal distributions with 50% effect as a symmetric point. Moreover, for the purposes of a more careful prognosis values of C=1 and C=0 were taken as C=0,99 и C=0,01 correspondingly.

The obtained results are shown in the following diagram.

The data shown in the figure demonstrate a stable association between the protective effect and the amount of the used immunizing dose determined for both viral strains. The correlation coefficients between lg d and Y for «D» and «F» strains were 0,924±0,102 and 0,861±0,112 correspondingly. The following regression models were developed:

$$\text{Strain «F»}: \quad "Y=(2,292)\lg d-1,391, \quad (1)$$

$$\text{Strain «D»}: \quad "Y=(3,071)\lg d-1,310, \quad (2)$$

Where Y is an expected linear equivalent C for lg d set value.

CONCLUSIONS

The study of the immunobiological properties of «F» and «D» fowl pox virus strain cultural variants led to the following conclusions:

– Both strains being adapted in cell culture retained the dermatropic phenotype typical for *Avipoxvirus* family demonstrating typical local skin lesions in chicks. The

Table 1
Infectivity of «F» and «D» fowl pox virus strains for chicks
n=3

Virus strain	Trial No.	Log10 values of solutions			lg ID ₅₀ /0,004 cm ³
		3	4	5	
«F»	1	10/10*	5/10	1/10	4,1**
	2	10/10	6/10	1/10	4,2
	3	10/10	5/10	0/10	4,0
Mean value (x±m)***					4,1±0,041
«D»	1	10/10	6/10	2/10	4,4
	2	10/10	7/10	2/10	4,6
	3	10/10	7/10	1/10	4,5
Mean value (x±m)					4,5±0,041

* the numerator shows the number of positive reactions, the denominator shows the number of tested objects;

** titre value calculated by Karber's formula;

*** standard error of the mean.

Table 2
Immunogenicity of different doses of «F» and «D» fowl pox virus strains for chicks

Virus strain	Trial No.	lg d, ID ₅₀ /0,004 cm ³		
		1,1	0,11	0,011
«F»	1	10/10*	3/10	0/10
	2	8/10	2/10	0/10
	3	8/10	3/10	0/10
		1,5	0,15	0,015
«D»	1	10/10	4/10	1/10
	2	10/10	3/10	0/10
	3	10/10	5/10	0/10

* the numerator shows the number of positive reactions, the denominator shows the number of tested objects..

infectivity values (lg ID₅₀/0,004 cm³) of culture seed virus were determined. At that, the harvest of «D» strain was 2,5 higher;

– The tested strains were immunogenic with the protective effect manifested after the revaccination with a homologous virus.

Based on the results of the regression analysis within the «inoculation dose → protective effect» system it was established that the immunity protective function correlated with the inoculation dose amount. The corresponding correlation coefficients were reliable (p≥0,05). It should be noted that the said correlation was different for the studied strains. Based on equations (1) and (2) it was determined that in average 14,6 ID₅₀ of «F» virus strain was necessary to ensure 95% protection and herewith the same protection could be reached by inoculation of only 6,97 ID₅₀ of «D» strain.

REFERENCES

- Van der Waerden B.L. Mathematical Statistics: translation from German. – M.: Inostrannaya literatura, 1960. – 436 p.
- Animal cell in culture: (Methods and use of biotechnology) / ed. L.P. Diakonov. – 2 ed., add. – M.: Sputnik+, 2009. – 656 p.

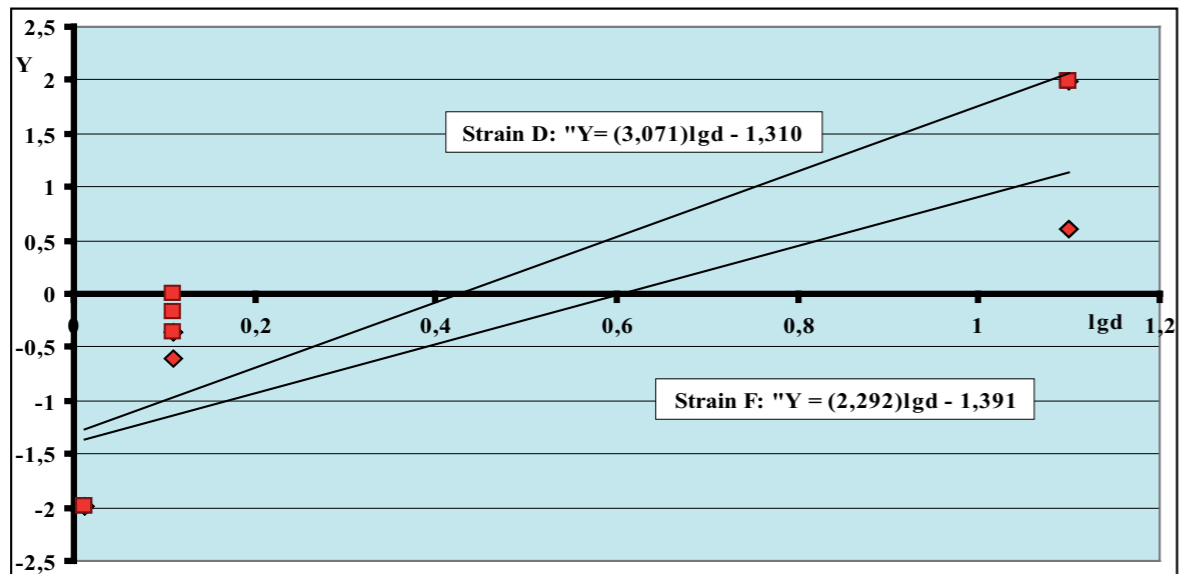


Figure: Protective effect (Y) dependence on the inoculation dose amount (d) of «F» (▲) and «D» (■) fowl pox virus strains in chicks
Diagrams for $Y = \lg[(1-C)/C]$ values and regression models for «F» and «D» strains are presented.

3. Sachs L. Methods of statistical evaluation (theory and methods): translation from German. – M.: Statistika, 1976. – 598 p.
4. Ziper A.F. Manual of a zootechnician: practical guide. – M.: AST, 2007. – 446 p.
5. Misyuk N.S., Mastynkin A.S., Kuznetsov G.P. Correlation and regression analysis in clinical medicine. – M.: Meditsina, 1975. – 192 p.
6. Stability of dry live vaccines against pasterellosis produced from cultures with magnesium ions added in the course of cultivation / G.P. Dubinina, A.A. Rayevsky, M.Ya. Yartsev [et.al.] // Development of technological pro-

- cesses for the production of biological preparations for the prevention and diagnostics of farmed animals: Proceedings – M.: VNITIBP, 1991. – P. 20-26.
7. Eidson C.S., Villegas P., Kleven S.H. Efficacy of turkey herpesvirus vaccine when administered simultaneously with fowl pox vaccine // Poult. Sci. – 1975. – Vol. 54, № 6. – P. 1975-1981.
8. Mayr A., Danner K. Oral immunization against pox. Studies on fowlpox as a model // Dev. Biol. Stand. – 1976. – Vol. 33. – P. 249-259.
9. Preparation of fowl pox vaccine on chicken-embryo-dermis cell culture / A. El-Zein [et al.] // Avian Dis. – 1974. – Vol. 18, № 4. – P. 495-506.
10. Vaccination of 1-day-old chicks with fowlpox virus by the aerosol, drinking water, or cutaneous routes / É. Nagy, A.D. Maeda-Machang'ú, P.J. Krell, J.B. Derbyshire // Avian Dis. – 1990. – Vol. 34, № 3. – P. 677-682.

ОСПА ПТИЦ – широко распространенная контагиозная вирусная болезнь домашних, декоративных и диких птиц, характеризующаяся пролиферативно-некротическими поражениями кожи (чаще всего неоперенных участков головы) и дифтеритическим воспалением слизистых оболочек ротовой полости, верхних дыхательных путей и глаз. Наносимый заболеванием ущерб складывается из прямого ущерба (снижение яичной продуктивности от 5 до 30%, повышение падежа птиц (5-8%) и последующая выбраковка, снижение привесов) и косвенных затрат, связанных с проведением противоэпизоотических мероприятий (выбраковкой, специфической профилактики, ужесточением ветеринарно-санитарного контроля и т.д.).

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ
Оспа птиц распространена по всему миру, в т.ч. в Российской Федерации (Европейская часть и Дальний Восток), Казахстане и Украине. Источником возбудителя оспы являются больные птицы и вирусносители в инкубационном периоде и после клинического выздоровления. Из организма больных животных вирус выделяется с экссудатом из носа, глаз, рта с отпавшими оспинками (отшелушенный детрит). Факторами передачи могут быть предметы ухода, корма, подстилка, транспорт, трупы, перья, пух и пр.

ПАТОГЕНЕЗ ОСПЫ ПТИЦ
При окулярной форме болезни инкубационный период составляет 4-6 суток. Наблюдается серозный конъюнктивит, переходящий в фибринозный. Распространение поражений вокруг глаз приводит к частичному или к полному закрытию просвета глаз. При кожной форме болезни инкубационный период также составляет 5-6 суток. На месте инокуляции наблюдают развитие пролиферативно-некротического воспаления перьевых фолликулов.

ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЯ
Диагноз на оспу птиц устанавливают на основании совокупности клинико-эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
Во ВНИИЗЖ проводят лабораторную диагностику оспы птиц, которая основана на 3 основных этапах:
· индикация вируса,
· вирусвыделение,
· идентификация вируса.
Для профилактики данной болезни ФГБУ «ВНИИЗЖ» выпускает Эмбрион-вакцину против оспы птиц из штамма «КЭМ-7» с разбавителем Штамм/серотип: КЭМ-7

Вид: Живая сухая
Фасовка:
флакон с вакциной 2 см3 по 500 доз,
флакон с разбавителем 6 см 3
СТО: 00495527-0175-2012.

ОПИСАНИЕ
Эмбрион-вакцина по внешнему виду представляет собой сухую пористую однородную массу бежевого цвета, разбавитель — прозрачный раствор красного цвета.

СПОСОБ ВАКЦИНАЦИИ
Вакцинации подлежат клинически здоровые куры в возрасте старше 25 суток. Вакцину применяют однократно методом внутрикожной инъекции в перепонку крыла с помощью двухигольного инъектора.

ИММУНИТЕТ
Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у кур против оспы птиц через 14 суток после однократного применения, продолжительностью не менее 12 месяцев.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ
Эмбрион-вакцину и разбавитель хранят и транспортируют в сухом темном месте при температуре от 2°C до 8°C.



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

Здоровье людей через здоровье животных!



- разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоэффективных лечебно-профилактических и диагностических препаратов против болезней птиц (моно- и поливалентные; живые и инактивированные, сорбированные и эмульсионные): Гамборо, Ньюкасла, бронхита, Марека, ССЯ-76, инфекционного ларинготрахеита, инфекционного энцефаломиелита, реовирусного теносиновита, гидроперикардита, микоплазмоза, оспы, гепатита утят, метапневмовирусной инфекции птиц и тд)
- проведение молекулярно-биологических, серологических и вирусологических исследований болезней птиц. Центр проводит диагностические исследо-



вания более чем 50 инфекционных заболеваний вирусной и микробной этиологии сельскохозяйственных животных и птиц, оказывает широкий спектр ветеринарных услуг.

· оказание консультативной помощи высококвалифицированными специалистами Центра при поставке препаратов: специалисты ФГБУ «ВНИИЗЖ» осуществляют эпизоотический мониторинг, по запросу с мест выезжают в птицеводческие хозяйства различных регионов страны для анализа риска болезней, оказывают консультативную помощь в организации мероприятий по ликвидации вспышек инфекционных заболеваний птиц.

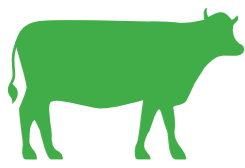
600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Тел.: (4922) 26-15-12

Тел./факс: (4922) 52-99-62

Сектор продаж ветеринарных препаратов на территории РФ:

тел. (4922) 26-15-25, 26-15-51, 52-99-24



РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ЗАВ-ИФА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ К НЕСТРУКТУРНЫМ БЕЛКАМ ВИРУСА ЯЩУРА В СЫВОРОТКАХ КРОВИ КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА

А.С. Яковлева¹, А.В. Каньшина², А.В. Щербakov³, Е.С. Орлова⁴

¹ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: as_yakovleva@arriah.ru

² старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kanshina@arriah.ru

³ заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

⁴ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: orlova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Проведена валидация тест-системы ЗАВ-ИФА, предназначенной для выявления антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного и мелкого рогатого скота. Установлено, что сходимость и воспроизводимость реакции превышают 90%, диагностическая специфичность составляет 99,8%, диагностическая чувствительность 96,6%. Высокая специфичность и чувствительность ЗАВ-ИФА подтверждена в международных слепых испытаниях по диагностике ящура и при проведении рутинных диагностических и мониторинговых исследований.

Ключевые слова: вирус ящура, неструктурные белки, иммуноферментный анализ, валидация.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ЗАВ-ELISA TEST-SYSTEM FOR DETECTION OF ANTIBODIES TO FMD VIRUS NONSTRUCTURAL PROTEINS IN BLOOD SERA FROM CATTLE AND SMALL RUMINANTS

A.S. Yakovleva¹, A.V. Kanshina², A.V. Scherbakov³, Ye.S. Orlova⁴

¹ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: as_yakovleva@arriah.ru

² Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: kanshina@arriah.ru

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

⁴ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: orlova@arriah.ru

SUMMARY

The ЗАВ-ELISA test-system for detection of antibodies to FMD virus nonstructural proteins in blood sera from cattle and small ruminants was validated. It was discovered that the reaction repeatability and reproducibility exceeded 90%, diagnostic specificity constituted 99,8%, diagnostic sensitivity came up to 96,6%. The high specificity and sensitivity of the ЗАВ-ELISA test-system was confirmed by international proficiency testings as far as FMD diagnostics and by routine diagnostic and monitoring studies.

Key words: FMD virus, nonstructural proteins, enzyme-linked immunosorbent assay, validation.

ВВЕДЕНИЕ

Ящур — высококонтагиозное вирусное заболевание домашних и диких парнокопытных животных. Относится к категории трансграничных болезней, способных преодолевать границы между государствами, вызывать эпизоотии и наносить большой экономический ущерб животноводству.

Возбудителем болезни является безоболочечный РНК-содержащий вирус ящура, представитель рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*. Различают семь серотипов вируса: О, А, С, Азия-1, SAT-1, SAT-2, SAT-3. В пределах каждого типа существует множество генетических и антигенных вариантов вируса.

В России ящур не эндемичен, однако существует постоянная угроза заноса этой болезни из соседних азиатских стран, прежде всего из Китая. Вспышки ящура, вызванные заносом инфекции извне, регистрировались в современной России в 1995, 2000, 2004–2006 и 2010–2014 гг. [12, 13].

В Российской Федерации применяется стратегия профилактики и борьбы с ящуром, которая предполагает недопущение возникновения и распространения болезни на территории страны. В регионах с высокой степенью риска заноса и распространения ящура создана буферная зона, в которой крупный и мелкий рогатый скот вакцинируется против ящура.

При наличии противоящурной буферной зоны необходимо на регулярной основе проводить мониторинг с целью выявления возможной циркуляции вируса ящура на вакцинированном поголовье. В настоящее время наиболее эффективной технологией обнаружения инфицированных животных среди вакцинированного поголовья является иммуноферментный анализ (ИФА) по обнаружению антител к неструктурным белкам вируса ящура. Антитела к неструктурным белкам вируса ящура выявляются у инфицированных животных и не обнаруживаются у вакцинированных при условии применения очищенных вакцин, соответствующих требованиям Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) [3, 8].

Ранее нами были получены рекомбинантные неструктурные белки ЗА, ЗВ и ЗАВ вируса ящура [1] и на их основе разработаны две иммуноферментные тест-системы для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура. Первая тест-система, разработанная в 2004 г., позволяла исследовать сыворотки крови только крупного рогатого скота (КРС) [2]. В данной работе представлены результаты валидации второй тест-системы — ЗАВ-ИФА, предназначенной для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови как крупного (КРС), так и мелкого рогатого скота (МРС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антиген. В качестве антигена использовали рекомбинантный белок ЗАВ, полученный экспрессией в *E. coli*. Условия экспрессии и очистки описаны ранее [1].

Сыворотки крови животных. В качестве положительного контроля использовали референтную сыворотку крови КРС, экспериментально зараженного вирусом ящура типа А. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотку крови КРС, не имеющего антител к вирусу ящура. В качестве слабopоложительной сыворотки использовали сыворотку крови

КРС, отобранной на 8 день после инфицирования (ДПИ) вирусом ящура типа А. Данные сыворотки были проверены на наличие антител к неструктурным белкам вируса ящура в ИФА с коммерческим набором PrioCHECK FMDV NS FMDV antibody test kit, ELISA (Prionics, Швейцария).

Для установления рабочего разведения сывороток, позитивно-негативного порога, диагностической чувствительности и специфичности реакции использовали сыворотки крови от КРС и МРС с известным инфекционным статусом. В качестве заведомо положительных проб были использованы 309 сывороток крови КРС, экспериментально зараженного вирусом ящура, отобранные на 8–17 ДПИ, и 13 сывороток крови МРС, экспериментально зараженного вирусом ящура, отобранные на 5–10 и 30 ДПИ. В качестве заведомо отрицательных проб использовали сыворотки крови КРС и МРС, отобранные в Северо-Западном федеральном округе РФ, свободном от ящура.

Конъюгат антивидовых антител. В работе использовали коммерческий пероксидазный конъюгат моноклональных антител к иммуноглобулинам G овец и коз (Sigma), который также имеет сродство к IgG КРС.

Имуноферментный анализ. Разработка ЗАВ-ИФА являлась предметом исследований и описана в разделе «Результаты». ИФА с коммерческим набором PrioCHECK FMDV NS FMDV antibody test kit, ELISA (Prionics, Швейцария) проводили в соответствии с инструкцией к набору.

Статистическую обработку результатов ИФА проводили согласно рекомендациям МЭБ [9, 10].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Валидацию ЗАВ-ИФА проводили в соответствии с рекомендациями МЭБ [9, 10]. Процесс включал несколько этапов.

Оптимизация реагентов и протокола реакции. В ходе выполнения этого этапа были установлены рабочие разведения антигена и антивидового конъюгата, оптимальный состав блокирующего раствора, температурно-временной режим для каждого этапа ИФА, допустимые значения оптической плотности контрольных сывороток.

Для определения оптимального рабочего разведения сывороток тестировали 30 сывороток крови КРС и 30 сывороток крови МРС с различным уровнем антител методом последовательных разведений в четырех различных разведениях: 1:25, 1:50, 1:100, 1:200. Для каждого разведения сывороток определяли величину (S/P) по формуле:

$$S/P = (OP - NC_x) / (PC_x - NC_x),$$

где ОП — средняя оптическая плотность исследуемой сыворотки;

NC_x — средняя оптическая плотность отрицательной контрольной сыворотки;

PC_x — средняя оптическая плотность положительной контрольной сыворотки.

Затем рассчитывали Ig S/P и Ig T для каждого разведения. Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы STATISTICA. В результате были определены коэффициент корреляции и стандартная ошибка (табл. 1).

Таблица 1
Значения коэффициента корреляции и стандартной ошибки для различных разведений сывороток

Разведение	Коэффициент корреляции	Стандартная ошибка
1:25	0,87	0,66646
1:50	0,86	0,70599
1:100	0,86	0,70029
1:200	0,57	0,75733

Как видно из таблицы, наибольший коэффициент корреляции R=0,87 при наименьшей стандартной ошибке 0,66646 получили при разведении сывороток 1:25. В связи с этим данное разведение было выбрано в качестве рабочего.

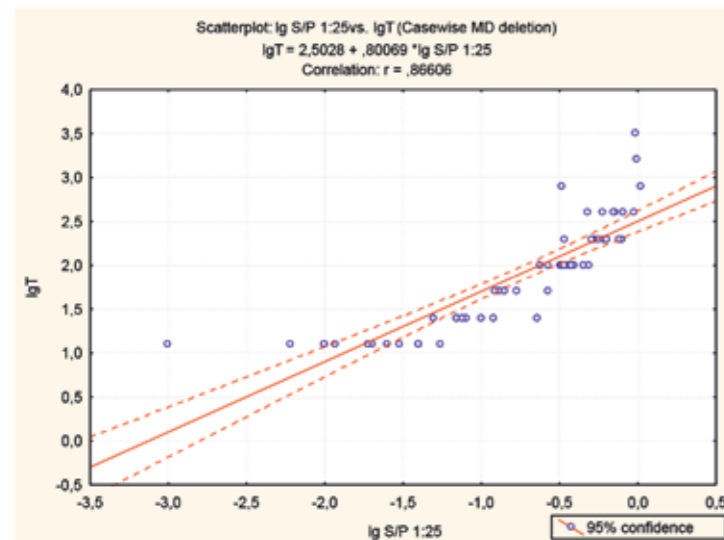
Уравнение линейной регрессии для разведения сывороток 1:25 имело вид: $Ig T = 2,5028 + 0,80069 \times Ig S/P$, где 2,5028 и 0,80069 — коэффициенты A и B соответственно.

На рис. 1 представлен график зависимости $Ig S/P$ от $Ig T$ для рабочего разведения сывороток 1:25.

В результате оптимизации всех параметров была принята следующая схема постановки ЗАВ-ИФА. В каждую лунку планшета вносили по 50 мкл рекомбинантного белка в рабочем разведении в 0,05М карбонатно-бикарбонатном буфере (рН 9,6) и инкубировали 16–18 ч при 4°C. Затем в лунки планшета вносили по 50 мкл блокирующего раствора (ТБСТ, 10% лошадиная сыворотка, рН 7,6) и инкубировали 1 ч при 37°C. После отмывания планшетов раствором ТБСТ тестируемые сыворотки, разведенные 1:25 в блокирующем буфере, вносили в объеме 50 мкл на лунку и инкубировали в термостатируемом шейкере 1 ч при 37°C. Повторяли отмывку планшетов, вносили конъюгат в рабочем разведении и инкубировали в тех же условиях. После отмывки вносили субстрат АВТС, через 10–15 мин останавливали реакцию добавлением 1%-ного раствора додецилсульфата натрия и учитывали результаты реакции на спектрофотометре при длине волны 405 нм.

Оценка сходимости и воспроизводимости результатов реакции. Для оценки сходимости результатов

Рис. 1. График зависимости Ig титра антител в ИФА от $Ig S/P$, определенного в рабочем разведении сывороток 1:25



реакции положительную и слабopоложительную сыворотки крови КРС в рабочем разведении вносили в лунки планшета и после проведения реакции высчитывали процент позитивности (ПП) для каждой повторности (табл. 2). Коэффициент вариации рассчитывали по формуле:

$$C = (\delta / \bar{x}) \times 100\%$$

где δ — среднее квадратичное отклонение, \bar{x} — среднее арифметическое.

При исследовании положительной сыворотки на одном планшете коэффициент вариации составил 4,1%, при исследовании слабopоложительной сыворотки на одном планшете коэффициент вариации составил 2,7%, что указывает на хорошую сходимость реакции (табл. 2).

Для оценки воспроизводимости реакции исследовали положительную и слабopоложительную сыворотки крови КРС в разных условиях (в течение 10 дней, на разных термощейкерах, два оператора). Результаты представлены в табл. 3.

При исследовании положительной и слабopоложительной сывороток в разных условиях коэффициент вариации составил менее 10%, что указывает на хорошую воспроизводимость реакции.

Определение аналитической специфичности реакции. Для определения аналитической специфичности исследовали 10 гетерологичных сывороток крови КРС, содержащих антитела против вируса лейкоза КРС, вируса чумы КРС, и 10 сывороток МРС, содержащих антитела против вирусов чумы мелких жвачных и оспы овец и коз. Активность антигена с гетерологичными сыворотками не превышала фоновый уровень, полученный в реакции с неиммунной сывороткой.

Определение аналитической чувствительности реакции. Аналитическую чувствительность определяли тестированием в трех повторностях серии 2-кратных последовательных разведений референтной сыворотки крови КРС, содержащей антитела против вируса ящура. Данная сыворотка предварительно тестировалась в жидкофазном блокирующем варианте ИФА (LPBE). Титр антител в данной реакции составил 1:618. При исследовании в ЗАВ-ИФА конечное разведение тестируемой сыворотки составляло 1:1600.

Определение позитивно-негативного порога реакции. Для определения позитивно-негативного порога (ПНП) исследовали 96 заведомо отрицательных сывороток крови МРС и 96 отрицательных сывороток крови КРС. ПНП определяли, вычисляя средние значения оптической плотности отрицательных сывороток и прибавляя три значения среднего квадратичного отклонения. Среднее значение оптической плотности отрицательных сывороток с утроенным значением среднего квадратичного отклонения составило 0,216 для КРС и 0,318 для МРС. Граница ПНП при исследовании сывороток крови КРС и МРС соответствовала проценту позитивности, равному 25 и 30% соответственно. Значение ПНП, равное 30%, было принято за расчетное для исследований сывороток крови как КРС, так и МРС. Сыворотки крови КРС и МРС с ПП ниже 30% считались отрицательными, с ПП равным или большим 30% — положительными.

Определение диагностической специфичности реакции. Диагностическую специфичность ЗАВ-ИФА определяли путем тестирования 1280 заведомо отрицательных сывороток крови КРС (640) и МРС (640)

Таблица 2
Оценка сходимости ЗАВ-ИФА

Характеристика сыворотки крови	Минимальное значение ПП, % (x_{min})	Максимальное значение ПП, % (x_{max})	Среднее значение ПП, % (\bar{x})	Среднее квадратичное отклонение, (δ)	Коэффициент вариации, % (C)
Положительная сыворотка	90,22	107,57	96,19	3,943	4,1
Слабopоложительная сыворотка	45,08	50,97	48,40	1,318	2,7

Таблица 3
Оценка воспроизводимости ЗАВ-ИФА

Характеристика сыворотки крови	Минимальное значение ПП, % (x_{min})	Максимальное значение ПП, % (x_{max})	Среднее значение ПП, % (\bar{x})	Среднее квадратичное отклонение, (δ)	Коэффициент вариации, % (C)
Положительная сыворотка	95,60	106,27	101,21	3,464	3,4
Слабopоложительная сыворотка	49,34	61,95	53,32	4,094	7,7

из Новгородской области. При этом было получено 3 ложноположительных результата. Таким образом, на данной панели сывороток крови специфичность реакции составляла 99,8%.

Определение диагностической чувствительности реакции. Для оценки диагностической чувствительности ЗАВ-ИФА использовали сыворотки крови КРС и МРС, экспериментально инфицированного вирусом ящура. 16 голов КРС были заражены вирусом ящура типа А, 10 — типа О, 5 — типа Азия-1. Кровь отбиралась до заражения, а также с 8 по 17 ДПИ. У МРС кровь была отобрана на 5–10 и 30 ДПИ.

Все сыворотки крови, отобранные до заражения, были серонегативными в ЗАВ-ИФА (табл. 4). Антитела к вирусу ящура были обнаружены в 21 из 31 сыворотки крови КРС, отобранной на 8 ДПИ, в 29 из 31 сыворотки на 9 ДПИ и во всех сыворотках, отобранных на 10–17 ДПИ, т.е. ЗАВ-ИФА определил как положительные 298 из 309 проб от КРС. Все 13 сывороток крови от МРС, экспериментально зараженного ящуром, были положительными.

Таким образом, на данной панели сывороток диагностическая чувствительность ЗАВ-ИФА составила 96,6%.

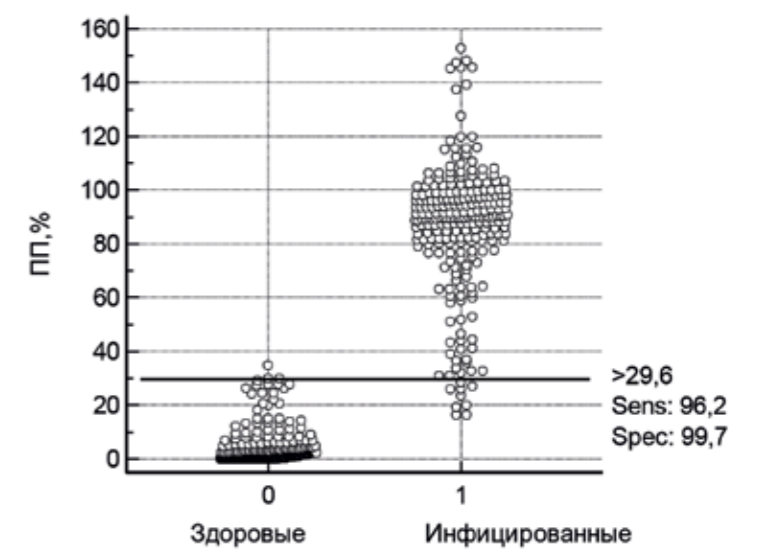
Дополнительно были исследованы 7 референтных сывороток от КРС, экспериментально зараженного вирусом ящура семи серотипов. Антитела к вирусу ящура были выявлены во всех пробах. Это доказывает, что ЗАВ-ИФА способен выявлять антитела ко всем серотипам вируса ящура.

ROC-анализ. Полученные в процессе определения диагностической чувствительности и специфичности данные были использованы для проведения ROC-анализа. ROC-анализ проводили с помощью программы MedCalc. На рис. 2 приведена точечная диаграмма, отражающая распределение результатов исследования в ИФА сывороток крови от здоровых и инфицированных животных. В результате анализа данных программа установила, что оптимальный баланс специфичности (99,7%) и чувствительности (96,2%) достигается при ПНП в 29,6%. Таким образом, значение ПНП, полученное с помощью ROC-анализа, практически совпадает со значением ПНП, определенного на панели отрицательных сывороток крови (30%).

ROC-кривая, отражающая соотношение специфичности и чувствительности ЗАВ-ИФА, показана на рис. 3. Визуальный анализ ROC-кривой показывает, что она проходит очень близко к верхнему левому углу графика, где доля истинно положительных проб составляет 100% (идеальная чувствительность), а доля ложноположительных проб равна 0 (идеальная специфичность). Вычисление показало, что AUC (площадь под кривой) составила 0,999. Качество модели (теста) интерпретируется как «отличное» при значениях AUC в пределах 0,9–1,0. Таким образом, проведенный ROC-анализ подтверждает высокую прогностическую способность ЗАВ-ИФА.

Выявление антител к неструктурным белкам вируса ящура у вакцинированных животных. Способность ЗАВ-ИФА дифференцировать инфицированных и вакцинированных животных была изучена на сыворотках крови от КРС, вакцинированного против ящура в экспериментальных условиях. Сыворотки крови были предоставлены сотрудниками лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ». В соответствии с рекомендац

Рис. 2. Точечная диаграмма результатов в ЗАВ-ИФА для здоровых (код-0) и инфицированных (код-1) животных



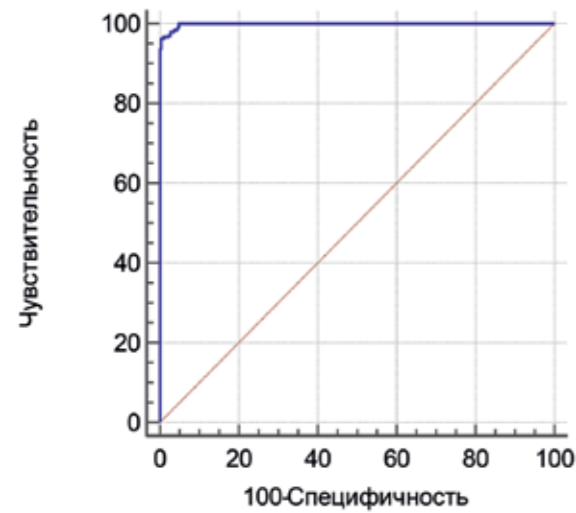


Рис. 3. ROC-кривая выявления антител к неструктурным белкам вируса ящура методом ЗАВ-ИФА

ями МЭБ [12] животные были вакцинированы трижды с интервалом в 1 месяц. Кровь отбиралась до вакцинации и через 21–28 сут. после каждой вакцинации. Все 32 исследованных образца показали в ЗАВ-ИФА отсутствие антител к неструктурным белкам вируса ящура (табл. 5). При этом даже после третьей вакцинации ПП был далек от ПНП (30%) и соответствовал фоновому уровню.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ЗАВ-ИФА способен выявлять антитела к вирусу ящура у инфицированных животных, тогда как вакцинированные против ящура животные определяются в этом тесте как серонегативные.

Интерпретация результатов ЗАВ-ИФА: ПП≥30% — положительный результат, ПП<30% — отрицательный результат.

Оценка реакции в международных сличительных испытаниях. В 2009–2014 гг. ЗАВ-ИФА применялся в международных сравнительных испытаниях по диагности-

ке ящура, организованных Всемирной референтной лабораторией по ящуру (Пирбрайт, Великобритания). В ходе испытаний был правильно определен статус всех закодированных проб сывороток крови, что подтверждает специфичность и чувствительность ЗАВ-ИФА.

Оценка реакции при проведении рутинных диагностических и мониторинговых исследований. В период 2009–2014 гг. ЗАВ-ИФА применялся в диагностических и мониторинговых исследованиях ящура. Исследования проводились в соответствии с правилами, принятыми во Всемирной референтной лаборатории по ящуру. Сначала пробы исследовались в скрининговой тест-системе, а затем все сыворотки крови, показавшие положительный результат, повторно тестировались в подтверждающей тест-системе. ЗАВ-ИФА применялся в качестве скрининговой тест-системы, как подтверждающий тест использовался коммерческий набор PrioCHECK FMDV NS FMDV antibody test kit, ELISA (Prionics, Швейцария).

В 2013–2014 гг. в рамках государственного мониторинга особо опасных болезней на наличие антител к вирусу ящура было исследовано 11 488 сывороток крови КРС и МРС из Северо-Западного федерального округа Российской Федерации, где ящур никогда не регистрировался. В ЗАВ-ИФА было получено 32 положительных результата, которые не подтвердились при перепроверке в тест-системе PrioCHECK FMDV NS FMDV antibody test kit, ELISA (Prionics, Швейцария). Таким образом, при проведении мониторинговых исследований диагностическая специфичность ЗАВ-ИФА составляла 99,7%.

В ряде случаев ЗАВ-ИФА применялся для тестирования животных из очагов ящура с целью подтверждения клинического диагноза на заболевание. На наличие антител к вирусу ящура было исследовано 27 проб сывороток крови от КРС из п. Молодежный Забайкальского края, где в марте 2013 г. был зарегистрирован ящур. Положительными в ЗАВ-ИФА были 12 из 17 проб, отобранных 17 марта 2013 г. (начало вспышки), и 10 из 10 проб, отобранных 10 апреля 2013 г. В подтверждающем тесте положительными были 13 из 17 проб от 17.03.2013 и 10 из 10 проб — от 10.04.2013.

В июне 2014 г. в с. Гродеково Амурской области в очаге ящура были отобраны 8 проб сывороток крови. Из них 6 показали в ЗАВ-ИФА положительный результат. В подтверждающем тесте положительными были также 6 из 8 проб.

ОБСУЖДЕНИЕ

Валидация ЗАВ-ИФА была проведена в соответствии с рекомендациями МЭБ, т.е. были проведены все требуемые процедуры: оптимизированы реагенты и протокол реакции, оценена воспроизводимость результатов реакции, определены аналитическая и диагностическая специфичность и чувствительность метода, проведена оценка реакции при проведении рутинных диагностических исследований.

Проведенные исследования показали, что в оптимизированном варианте ЗАВ-ИФА обеспечивает высокий уровень сходимости и воспроизводимости результатов: коэффициент вариации составлял менее 10%.

Диагностическая специфичность ЗАВ-ИФА на панели из 1280 сывороток крови составляла 99,8%, что сравнимо с зарубежными тест-системами для выявления антител к неструктурным белкам вируса ящура [5–7, 11].

Диагностическая чувствительность ЗАВ-ИФА на панели из 322 сывороток крови от КРС и МРС, экспери-

ментально инфицированного ящуром, составила 96,6%. Данный (не идеальный) показатель чувствительности объясняется тем, что в панель были включены сыворотки крови, отобранные на ранних сроках после инфицирования (8–9 ДПИ). Строго говоря, такие сыворотки крови могут считаться заведомо положительными весьма условно и обычно при определении чувствительности ИФА не применяются. Так, A. Dekker с соавт. (2008) и С. Не с соавт. (2010) при валидации NSP-ИФА использовали как заведомо положительные сыворотки крови, отобранные на 21 ДПИ [4, 11]. Если сыворотки крови, отобранные на 8–9 ДПИ, исключить из панели заведомо положительных проб, чувствительность ЗАВ-ИФА будет составлять 100%.

ROC-анализ, проведенный с использованием программы MedCalc, подтвердил правильность выбранного значения ПНП реакции и высокую прогностическую способность ЗАВ-ИФА.

Способность выявлять антитела ко всем серотипам вируса ящура — не единственное преимущество ИСП-ИФА перед традиционным типоспецифическим ИФА. Эта технология при определенных условиях позволяет дифференцировать инфицированных и вакцинированных животных. Пригодность для этих целей ЗАВ-ИФА была продемонстрирована на сыворотках от КРС, вакцинированного в экспериментальных условиях в соответствии с рекомендациями МЭБ по контролю «чистоты» вакцины. Все животные после 3-кратной вакцинации были серонегативными в ЗАВ-ИФА.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что ЗАВ-ИФА способен с высокой специфичностью и чувствительностью выявлять антитела к вирусу ящура у инфицированных животных, тогда как вакцинированные против ящура животные определяются в этом тесте как серонегативные. Это подтверждает возможность использования ЗАВ-ИФА в качестве DIVA-теста, т.е. для дифференциации инфицированных вирусом ящура животных от вакцинированных. Необходимо отметить, однако, что это возможно только при условии, что применявшаяся противоящурная вакцина соответствует требованиям МЭБ на отсутствие неструктурных белков вируса ящура в своем составе.

Согласно международным требованиям валидация диагностического метода не должна ограничиваться серией экспериментов, оценка метода проводится все время, пока он применяется в исследованиях. В наших условиях такая постоянная оценка ЗАВ-ИФА проводилась в ежегодных международных сличительных испытаниях по диагностике ящура и в рутинных диагностических и мониторинговых исследованиях.

В ходе международных сличительных испытаний с применением ЗАВ-ИФА был правильно определен статус всех закодированных проб сывороток крови, что подтверждает высокую специфичность и чувствительность метода.

Рутинные диагностические исследования показали, что ЗАВ-ИФА позволяет выявлять животных, инфицированных ящуром в естественных условиях, в том числе уже переболевших животных. Результаты мониторинговых исследований 11 488 полевых сывороток крови от КРС и МРС из Северо-Западного федерального округа РФ подтвердили высокую диагностическую специфичность метода: в ЗАВ-ИФА было получено всего 32 ложноположительных результата, т.е. специфичность реакции составляла 99,7%. Этот показатель

Таблица 5
Результаты исследования в ЗАВ-ИФА сывороток крови КРС, вакцинированного против ящура

Сроки отбора крови	№ пробы	Результаты ЗАВ-ИФА (ПП), %
до вакцинации	1	0%
	2	0%
	3	0%
	4	0%
	5	0%
	6	0%
	7	0%
	8	0%
21 день после первой вакцинации	9	0%
	10	0%
	11	0%
	12	0%
	13	0,78%
	14	0%
	15	0%
	16	1,37%
27 дней после второй вакцинации	17	0,3%
	18	2,93%
	19	1,73%
	20	0%
	21	0%
	22	1,02%
	23	3,41%
	24	0%
28 дней после третьей вакцинации	25	1,02%
	26	0%
	27	0,06%
	28	0,78%
	29	1,37%
	30	0,30%
	31	1,14%
	32	0%

Интерпретация результатов ЗАВ-ИФА: ПП≥30% — положительный результат, ПП<30% — отрицательный результат.

был очень близок к значению диагностической специфичности, установленному на этапе разработки метода (99,8%).

Таким образом, в процессе рутинных диагностических исследований подтвердились характеристики ЗАВ-ИФА (высокая чувствительность и специфичность), установленные на этапе разработки метода.

Таблица 4
Результаты исследований в ЗАВ-ИФА сывороток крови КРС, экспериментально зараженного вирусом ящура

Дни после инфицирования	Результаты ЗАВ-ИФА (положит./исследован.)			
	тип А	тип О	тип Азия-1	Всего
0	0/16	0/10	0/5	0/31
8	11/16	5/9	5/5	21/30
9	16/16	8/10	5/5	29/31
10	16/16	10/10	5/5	31/31
11	16/16	10/10	5/5	31/31
12	16/16	10/10	5/5	31/31
13	16/16	10/10	5/5	31/31
14	16/16	10/10	5/5	31/31
15	16/16	10/10	5/5	31/31
16	16/16	10/10	5/5	31/31
17	16/16	10/10	5/5	31/31

ВЫВОДЫ

1. Проведена валидация ЗАВ-ИФА, предназначенного для выявления антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного и мелкого рогатого скота.
2. Результаты валидации доказывают, что ЗАВ-ИФА способен с высокой точностью, специфичностью и чувствительностью выявлять антитела к вирусу ящура у инфицированных животных.
3. Вакцинированные против ящура животные определяются в ЗАВ-ИФА как серонегативные при условии, что вакцина соответствует требованиям МЭБ на отсутствие неструктурных белков вируса ящура.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рекомбинантные неструктурные белки 3А, 3В и ЗАВ вируса ящура: использование для дифференциации вакцинированного и инфицированного крупного рогатого скота / А.С. Яковлева, А.В. Щербаков, А.В. Каньшина [и др.] // Мол. биология. — 2006. — Т. 40, № 1. — С. 165–171.
2. Яковлева А.С. Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного рогатого скота: дис. ... канд. биол. наук. — Владимир, 2005. — 110 с.
3. An overview on ELISA techniques for FMD / L.N. Ma, J. Zhang, H.T. Chen [et al.] // Virol. J. — 2011. — Vol. 8. — URL: <http://www.virologyj.com/content/8/1/419> (дата обращения: 23.03.15).
4. A recombinant truncated FMDV 3AB protein used to better distinguish between infected and vaccinated cattle / C. He, H. Wang, Y. Yan [et al.] // Vaccine. — 2010. — Vol. 28. — P. 3435–3439.

5. Comparative evaluation of non-structural protein-antibody detecting ELISAs for foot-and-mouth disease sero-surveillance under intensive vaccination / G.K. Sharma, J.K. Mohapatra, S. Mahajan [et al.] // J. Virol. Methods. — 2014. — Vol. 207. — P. 22–28.
6. Comparative evaluation of the six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus / E. Brocchi, I.E. Bergmann, A. Dekker [et al.] // Vaccine. — 2006. — Vol. 24. — P. 47–48.
7. Comparison of sensitivity and specificity in three commercial foot-and-mouth disease virus non-structural proteins ELISA kits with swine sera in Taiwan / S.P. Chen, T.M. Ellis, M.C. Lee [et al.] // Vet. Microbiol. — 2007. — Vol. 119. — P. 164–172.
8. Foot-and-mouth disease. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.05_FMD.pdf (дата обращения: 21.04.15).
9. Jacobson R.H. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases // Rev. Sci. Tech. OIE. — 1998. — Vol. 17, № 2. — P. 469–486.
10. Principles and methods of validation of diagnostic assays for infection disease. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/1.01.05_VALIDATION.pdf (дата обращения: 23.03.15).
11. Use of continuous results to compare ELISAs for the detection of antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus / A. Dekker, D. Sammin, M. Greiner [et al.] // Vaccine. — 2008. — Vol. 26. — P. 2723–2732.
12. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.
13. http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/.

УДК 619:616.98:578.821.2:616-076

РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНОДИАГНОСТИКИ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА В ДАГЕСТАНЕ И ЧЕЧЕНСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ — ПЕРВОЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ БОЛЕЗНИ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

М.В. Бирюченкова¹, А.М. Тимина², Н.Г. Зиняков³, А.В. Щербаков⁴¹ научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: chelysheva@arriah.ru² старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: timina@arriah.ru³ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zinyakov@arriah.ru⁴ заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: ascherbakov@arriah.ru**РЕЗЮМЕ**

В сентябре 2015 г. в Республике Дагестан и Чеченской Республике у крупного рогатого скота было зарегистрировано заболевание с клиническими признаками, характерными для нодулярного дерматита (заразного узелкового дерматита КРС, бугорчатки). В референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ» была проведена лабораторная диагностика, и методом полимеразой цепной реакции в патматериале от больных животных обнаружен вирус нодулярного дерматита. Секвенирование продуктов ПЦР подтвердило видовую принадлежность выявленного вируса. Проведенные исследования являются первым официальным подтверждением нодулярного дерматита на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: нодулярный дерматит (заразный узелковый дерматит КРС), вирус бугорчатки, полимеразная цепная реакция.

UDC 619:616.98:578.821.2:616-076

RESULTS OF GENE DIAGNOSIS OF LUMPY SKIN DISEASE IN THE DAGESTAN AND CHECHEN REPUBLICS – THE FIRST OFFICIAL CONFIRMATION OF THE DISEASE OCCURRENCE IN THE RUSSIAN FEDERATION TERRITORY

M.V. Biryuchenkova¹, A.M. Timina², N.G. Zinyakov³, A.V. Scherbakov⁴¹ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: chelysheva@arriah.ru² Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: timina@arriah.ru³ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: zinyakov@arriah.ru⁴ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: ascherbakov@arriah.ru**SUMMARY**

In September 2015 a disease with clinical signs characteristic of lumpy skin disease (bovine contagious nodular dermatitis) was registered in cattle in the Republic of Dagestan and Republic of Chechnya. Laboratory diagnosis was carried out in the Reference Laboratory for highly dangerous animal diseases of the FGBI «ARRIAH». Lumpy skin disease virus was detected by polymerase chain reaction (PCR) in samples from the diseased animals. Sequencing of the PCR products confirmed the detected virus identification results. The above-mentioned tests were the first official confirmation of lumpy skin disease occurrence in the territory of the Russian Federation.

Key words: lumpy skin disease (bovine contagious nodular dermatitis), lumpy skin disease virus, polymerase chain reaction.

ВВЕДЕНИЕ

Нодулярный дерматит (бугорчатка кожи) — болезнь, характеризующаяся лихорадкой, поражением лимфатической системы, отеками подкожной клетчатки и внутренних органов, образованием кожных узлов, поражением глаз и слизистых оболочек дыхательного и пищеварительного трактов. Заболевание может наблюдаться у крупного рогатого скота, включая буйволов, а также у овец, коз, жирафов и импал. Нодулярный дерматит относится к группе трансмиссивных инфекций [3, 5].

Возбудителем нодулярного дерматита является оболочечный ДНК-содержащий вирус, представитель рода *Capripoxvirus* [5].

Нодулярный дерматит входил в список А (особо опасные болезни животных) Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), а после его упразднения отнесен к трансграничным болезням, способным вызывать эпизоотии, преодолевать границы между государствами и наносить большой экономический ущерб животноводству [7].

Нодулярный дерматит эндемичен в Африке. В последние годы регистрируется распространение этой болезни на территории Ближнего Востока. В период с июля 2012 по январь 2014 г. болезнь была зарегистрирована в 7 странах: Израиле, Ливане, Палестинской национальной автономии, Иордании, Турции, Ираке, Египте. По сообщениям ИАЦ Россельхознадзора, в июне 2014 г. нодулярный дерматит был впервые диагностирован на территории Западного Азербайджана, куда, вероятно, вирус проник из нейтральной зоны ирано-азербайджанской границы [6, 8].

В Российской Федерации до 2015 г. заболевание не регистрировалось, однако риск заноса инфекции на территорию государства значительно повысился в связи с переориентацией торгово-экономических связей на страны Азии и Ближнего Востока. Также распространению заболевания могут способствовать экологические факторы, в том числе изменения, происходящие с окружающей средой и климатом (потепление климата северных широт) [3].

В сентябре 2015 г. вспышки нодулярного дерматита были зарегистрированы у крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Чеченской Республике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Патологический материал. Для диагностических исследований использовали пробы соскобов кожи и внутренних органов от двух голов крупного рогатого скота из частного сектора с. Барнаб и с. Камилух Тляротинского района и одной головы из частного сектора с. Красное Кизилюртовского района Республики Дагестан. Также было исследовано три образца биоматериала от животных из частного сектора Наурского района Чеченской Республики.

Выделение ДНК из 10% суспензии органов осуществляли с использованием 6М гуанидин тиоцианата и стекловолокнистых фильтров GF/F.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Обнаружение в патологическом материале капripоксвирусов методом ПЦР проводили в соответствии с методическими указаниями, разработанными в ФГБУ «ВНИИЗЖ» и утвержденными Россельхознадзором [2].

Секвенирование ПЦР-продуктов осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI Prism (Applied Biosystem, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В сентябре 2015 г. в частных подсобных хозяйствах Республики Дагестан (с. Барнаб и с. Камилух Тляротинского района) было зарегистрировано заболевание крупного рогатого скота, сопровождающееся поражением кожных покровов. Клинические признаки болезни соответствовали нодулярному дерматиту. У животных наблюдали наличие бугорков и узелков величиной с горошину на коже по всему телу, повышение температуры, слизистые выделения из носа, увеличение периферических лимфатических узлов. У лактирующих коров узелки также располагались на вымени. Неделю спустя аналогичную картину обнаружили у крупного рогатого скота в другом частном хозяйстве Республики Дагестан (с. Красное Кизилюртовского района). В это же время в Чеченской Республике у животных из частного сектора ст. Калиновская Наурского района наблюдали потерю аппетита, температуру тела выше 40°C, зловонные истечения из носа, отечность в области подгрудка и суставов. На всей поверхности кожи обнаруживали подвижные плоские узелки диаметром от 0,5 до 1 см.

Для проведения лабораторных исследований в ФГБУ «ВНИИЗЖ» были доставлены пробы кожи и внутренних органов от трёх больных коров из Дагестана и трёх больных коров из Чечни.

Для подтверждения клинического диагноза на нодулярный дерматит была проведена ПЦР, в которой использовались праймеры, специфичные для вируса бугорчатки и позволяющие дифференцировать его от близкородственных капripоксвирусов: вируса оспы овец и вируса оспы коз [1, 4]. В патматериале от всех больных животных был выявлен вирус нодулярного дерматита (рисунок). Как видно из фотографии агарозного геля, в исследуемых пробах синтезировался фрагмент ДНК длиной 254 пары нуклеотидов.

В ПЦР с праймерами, специфичными для других капripоксвирусов, был получен отрицательный результат, т.е. было исключено присутствие в исследуемом материале вируса оспы овец и вируса оспы коз.

Поскольку ранее нодулярный дерматит в Российской Федерации не регистрировался, дополнительно (с целью подтверждения диагноза) было проведено секвенирование продуктов ПЦР, полученных с использованием праймеров, специфичных для вируса бугорчатки. Нуклеотидные последовательности ампликонов были на 100% идентичны геномным последовательно-

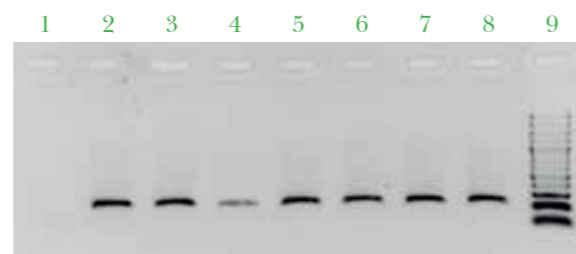


Рис. Обнаружение вируса нодулярного дерматита методом ПЦР

1 — отрицательный контроль;
2–4 — пробы от КРС из Дагестана;
5–7 — пробы от КРС из Чечни;
8 — положительный контроль (штамм «Э-95») из коллекции вирусов ФГБУ «ВНИИЗЖ»;
9 — маркер ДНК



Клиническое проявление нодулярного дерматита у коровы (фото из архива А.В. Кононова)

стям вируса бугорчатки, представленным в биоинформационной системе GenBank.

Таким образом, в результате проведенных лабораторных исследований в сентябре 2015 г. было установлено, что возбудителем заболевания крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Чеченской Республике является вирус нодулярного дерматита.

Необходимо отметить, что это первые официально подтвержденные случаи нодулярного дерматита на территории Российской Федерации.

ВЫВОДЫ

1. Проведены лабораторные исследования клинического материала от больного крупного рогатого скота из четырех населенных пунктов Республики Дагестан и Чеченской Республики.

2. Установлено, что возбудителем болезни животных является вирус нодулярного дерматита, ранее никогда не регистрировавшийся на территории Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Видовая и штаммовая дифференциация капripоксвирусов методом полимеразной цепной реакции / Е.С. Орлова, А.В. Щербаков, В.И. Диев,

В.М. Захаров // Мол. биол. — 2006. — Т. 40, № 1. — С. 158–164.

2. Методика обнаружения и видовой дифференциации капripоксвирусов с использованием мультиплексной полимеразной цепной реакции / Е.С. Орлова, А.В. Щербаков; ФГУ ВНИИЗЖ. — Владимир, 2005. — 9 с.

3. Нодулярный дерматит (бугорчатка), клинические признаки при экспериментальном заражении крупного рогатого скота / О.А. Косарева [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2010. — Т. 8. — С. 73–83.

4. Орлова Е.С., Щербаков А.В. Видовая дифференциация капripоксвирусов методом мультиплексной ПЦР // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2005. — Т. 3. — С. 151–159.

5. Особо опасные болезни животных (справочник) / И.А. Бакулов [и др.] // ВНИИВВиМ ГНУ ИЭВСИДВ. — Покров-Новосибирск, 2002. — 184 с.

6. Emergence of lumpy skin disease in the Eastern Mediterranean Basin countries / S. Wainwright [et al.] // *Empres Watch*. — 2013. — Vol. 29. — P. 1–6.

7. Lumpy skin disease of cattle: an emerging problem in the Sultanate of Oman / M.H. Tageldin [et al.] // *Trop. Anim. Health Prod.* — 2014. — Vol. 46. — P. 241–246.

8. <http://www.oie.int/>.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА, ВЫЯВЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ВЛАДИМИРСКОЙ ОБЛАСТИ

С.А. Чупин¹, М.И. Доронин², Е.В. Чернышова³, М.И. Шулпин⁴

¹ ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: chupin@arriah.ru

² аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: doronin@arriah.ru

³ ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: chernishova@arriah.ru

⁴ заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shulpin@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Были определены нуклеотидные последовательности пяти изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области. Определенные последовательности сравнили с данными, полученными для девяти изолятов, выявленных на территории Владимирской области ранее, а также с вирусами бешенства из других регионов Российской Федерации. По данным анализа тринадцать изолятов, выявленных на территории Владимирской области, относились к Центральной филогенетической группе вирусов бешенства, и один изолят — к Евразийской группе. Изоляты из восточной части Владимирской области имеют особенности, отличающие их от прочих изолятов.

Ключевые слова: вирус бешенства, филогенетика, нуклеотидное секвенирование.

GENETIC CHARACTERIZATION OF RABIES VIRUS ISOLATES DETECTED IN THE TERRITORY OF THE VLADIMIR OBLAST

S.A. Chupin¹, M.I. Doronin², Ye.V. Chernyshova³, M.I. Shulpin⁴

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: chupin@arriah.ru

² post-graduate student, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: doronin@arriah.ru

³ Leading veterinarian, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: chernishova@arriah.ru

⁴ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: shulpin@arriah.ru

SUMMARY

Nucleotide sequences of five rabies virus isolates detected in the territory of the Vladimir Oblast were determined. Certain sequences were compared with those of nine isolates detected earlier in the territory of the Vladimir Oblast as well as with rabies viruses from other regions of the Russian Federation. According to the data of the analysis thirteen isolates detected in the territory of the Vladimir Oblast belonged to the Central Phylogenetic Group of rabies viruses and one isolate belonged to the Eurasian Group. Isolates from the eastern part of the Vladimir Oblast have peculiarities making the difference between them and other isolates.

Key words: rabies virus, phylogenetics, nucleotide sequencing.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении многих лет бешенство остается актуальной проблемой в Российской Федерации. Так, например, только в 2014 г. зарегистрировано 2096 неблагополучных пунктов и 2315 заболевших животных [1, 2].

Во Владимирской области эпизоотическая ситуация по бешенству вызывает серьезные опасения. Так, по официальным данным ФГБУ «Центр ветеринарии» МСХ РФ в 2014 г. в области зарегистрирован 101 случай бешенства среди животных, что более чем в два раза больше, чем в предыдущем году (39 случаев). Наиболее неблагополучными районами во Владимирской области в 2014 г. были Ковровский, Меленковский, Вязниковский и Гороховецкий. При этом на территории области есть районы, где бешенство регистрируется в единичных случаях. Большая часть случаев бешенства ассоциирована с дикими животными, в первую очередь с лисицами.

Таким образом, изучение ситуации по бешенству требует пристального внимания. Одним из подходов изучения инфекции является молекулярно-генетический анализ. Он помогает в ряде случаев понять особенности популяций вируса, циркулирующих на определенной территории, пути распространения вируса и пр.

Целью данной работы являлась генетическая характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован патологический материал (головной мозг) от животных с подозрением на бешенство, поступающий на исследование в лабораторию бешенства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) из региональных лабораторий Российской Федерации. Для сравнительного анализа были использованы нуклеотидные последовательности гена N штаммов вируса бешенства, опубликованные в базе данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области, для которых была определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена N, дана в таблице.

Характеристика девяти ранее изученных изолятов, выявленных на территории Владимирской области (изоляты 51/2001, 189/2001, 190/2001, 869/2005, 125/2009, 612/2009, 613/2009, 211/2010, 244/2010), представлена ранее [3, 5].

Выделение РНК, синтез кДНК и ПЦР фрагмента гена N осуществляли, как описано ранее [4].

Полученные ампликоны секвенировали с применением праймеров, которые использовались в ПЦР, и набора BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США) на капиллярном ДНК-секвенаторе ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, США). Анализ и выравнивание полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием пакета программ BioEdit version 7.0.5.2. Филогенетический анализ проводили с помощью алгоритма «maximum likelihood», встроенного в программу MEGA version 6 [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период с 2010 по 2014 гг. было охарактеризовано пять изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области. В результате секвенирования ампликонов, полученных в ПЦР, были определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена N изолятов вируса бешенства длиной 334 нукле-

отида (положение в гене N: 582–915). Последовательности еще девяти изолятов, выявленных на территории Владимирской области, были определены ранее [3, 5].

На рисунке представлено дерево, отражающее филогенетические отношения изолятов вируса бешенства, выявленных в разное время на территории Владимирской области. Для наглядности на дереве также представлены изоляты из других регионов Российской Федерации, генетически наиболее близкие к рассматриваемым изолятам, а также представители из разных филогенетических групп и штаммы вируса бешенства, используемые для производства антирабических вакцин, — RV-97 и ERA.

Согласно рисунку, из четырнадцати изученных изолятов вируса бешенства тринадцать относятся к Центральной филогенетической группе и один изолят — к Евразийской филогенетической группе.

Владимирские изоляты, относящиеся к Центральной группе, можно условно разделить на две генетические линии. Для удобства описания назовем эти линии «а» и «b» (рисунок). Представители генетической линии «а» отличаются друг от друга не более чем на один нуклеотид (0,3%) на изученном участке генома; представители группы «b» имеют идентичные нуклеотидные последовательности; в то же время представители этих двух линий отличаются друг от друга на 4–5 нуклеотидов (1,2–1,5%).

К генетической линии «а» относятся девять владимирских изолятов: 565/2010, 125/2009, 190/2001, 189/2001, 51/2001, 1385/2012, 869/2005, 1379/2012 и 28/2014. Характерно, что практически идентичные изоляты выявлялись на протяжении всего срока наблюдения: с 2001 по 2014 гг. Также представляет интерес тот факт, что идентичные или почти идентичные владимирские изоляты выявлялись также во многих других регионах центральной части России: Московской, Костромской, Ивановской, Тверской, Нижегородской и Рязанской областях. Представители этой генетической линии были выявлены почти во всех изученных районах Владимирской области: Собинском, Камешковском, Судогодском, Гусь-Хрустальном, Суздальском, Петушинском и Муромском районах. Учитывая все вышеизложенное, можно сказать, что представители генетической линии «а» являются «типичными» для Центральной филогенетической группы вируса бешенства в центральных областях России.

К генетической линии «b» относятся четыре изолята, выявленных в Гороховецком, Вязниковском и Селивановском районах (изоляты 612/2009, 613/2009, 211/2010 и 244/2010). Эти изоляты идентичны на изученном участке генома и отличаются от всех ранее

Таблица
Характеристика изолятов вируса бешенства,
выявленных на территории Владимирской области

№	Название изолята	Место выявления	Животное, у которого был выявлен вирус
1	565/2010	Собинский район	енотовидная собака
2	1379/2012	Собинский район	лисица
3	1385/2012	Петушинский район	лисица
4	595/2013	Меленковский район	КРС
5	28/2014	Собинский район	лисица

изученных изолятов минимум на 4 нуклеотида (1,2%). По месту выявления изоляты генетической линии «b» локализованы в восточной части Владимирской области. Характерно, что в этих районах отмечается высокая частота случаев бешенства по сравнению с другими районами. Интересно также, что в этих районах не выявлено вирусов генетической линии «a».

Изолят 595/2013 относится к Евразийской филогенетической группе. Ему идентичны изоляты 1634/2008, 18/2002, 213/2010 и 371/2013, выявленные в Саратовской, Пензенской, Нижегородской и Самарской областях соответственно. Характерно, что изолят 213/2010, идентичный изоляту 595/2013, был выявлен в западной части Нижегородской области, неподалеку от Меленковского района, где был выявлен изолят 595/2013, что косвенно указывает на то, что данный изолят был не результатом случая заноса, а входит в ареал распространения этой вариации вируса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генетическая характеристика вирусов бешенства во Владимирской области в целом соответствует картине, характерной для центра России. Все выявленные изоляты относятся к ранее описанным филогенетическим группам — Центральной и Евразийской. Особенности субпопуляции вируса бешенства в восточной части Владимирской области (генетическая линия «a») заслуживают более пристального изучения. Некоторые районы Владимирской области остались необследованными. Так, например, не изучены изоляты из Ковровского района, в котором в 2014 г. отмечалось наибольшее число случаев бешенства. Таким образом, требуется дальнейшая работа по выявлению и генетической характеристике изолятов вируса бешенства во Владимирской области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прогноз по бешенству для территории Российской Федерации на 2015 год / М.И. Шульпин, Н.А. Назаров, С.А. Чупин [и др.] // Прогнозы по ряду болезней

животных в Российской Федерации на 2015 год. — Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2015. — С. 51–76.

2. Чернышова Е.В., Назаров Н.А., Метлин А.Е. Эпизоотическая ситуация по бешенству в России и анализ эффективности антирабической вакцинации среди домашних животных, вывозимых за границу // Ветеринария сегодня. — 2013. — № 4 (7). — С. 49–51.

3. Чупин С.А., Чернышова Е.В., Метлин А.Е. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Российской Федерации в период 2008–2011 гг. // Вопросы вирусологии. — 2013. — № 4. — С. 44–49.

4. Antigenic and molecular characterization of field and vaccine rabies virus strains in the Russian Federation / A.E. Metlin, S.S. Rybakov, K.N. Gruzdev [et al.] // Dev. Biol. — 2006. — Vol. 125. — P. 33–37.

5. Genetic heterogeneity of Russian, Estonian and Finnish field rabies viruses / A.E. Metlin, S. Rybakov, K. Gruzdev [et al.] // Arch. Virol. — 2007. — Vol. 152. — P. 1645–1654.

6. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 / K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson // Mol. Biol. Evol. — 2013. — Vol. 30. — P. 2725–2729.

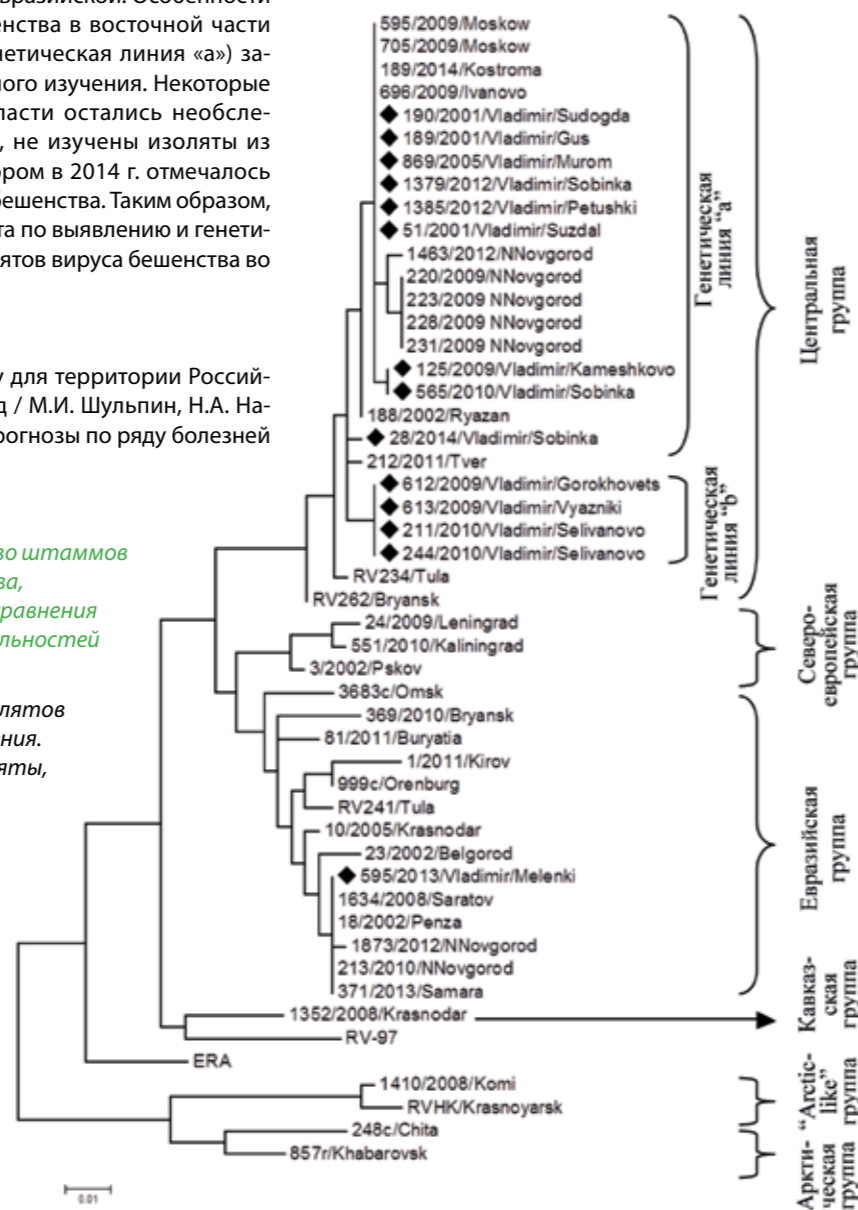


Рис. Филогенетическое дерево штаммов и изолятов вируса бешенства, построенное на основании сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента гена N

К названиям штаммов и изолятов добавлен регион происхождения. Знаком ◆ маркированы изоляты, выявленные на территории Владимирской области.

УДК 619:636:612.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Д.С. Большаков¹, Т.Б. Никешина²

¹ научный сотрудник, кандидат химических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: bolshakov@arriah.ru

² заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: nikeshina@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В работе описано значение основных биохимических показателей (белков, липидов, углеводов, пигментов, низкомолекулярных азотистых и минеральных веществ) в сыворотке (плазме) крови сельскохозяйственных животных.

Изменение содержания (снижение или повышение) этих параметров относительно нормального уровня может иметь различные причины: незаразные и инфекционные заболевания, несбалансированность рациона и режима кормления.

Ключевые слова: биохимический анализ, биохимические показатели, сыворотка крови сельскохозяйственных животных.

UDC 619:636:612.1

BIOCHEMICAL VALUES OF BLOOD SERA FROM FARM ANIMALS

D.S. Bolshakov¹, T.B. Nikeshina²

¹ Researcher, Candidate of Science (Chemistry), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: bolshakov@arriah.ru

² Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: nikeshina@arriah.ru

SUMMARY

The significance of the main biochemical values (proteins, lipids, carbohydrates, colouring agents, low-molecular nitrogenous and mineral matters) in blood sera (plasm) from farm animals is described in the paper.

The change in the content (decrease or increase) of these indicators against the normal level can have different reasons: noncontagious and infectious diseases, imbalance of ration and feeding regime.

Key words: Ibiochemical analysis, biochemical values, blood sera from farm animals.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы неизмеримо возросло значение клинической биохимии как прикладной науки, открывшей возможности распознавания различных форм заболеваний благодаря выявлению биохимических нарушений в организме больного животного. Использование биохимических методов исследования не только совершенствует лабораторную диагностику болезней, но и позволяет оценить влияние разнообразных лечебных мероприятий на течение патологического процесса, его прогноз. Именно этим объясняется тот большой интерес, который проявляют врачи к использованию современных достижений клинической биохимии в практической ветеринарии [3].

Многообразие аналитических методов, используемых в лабораторной практике, позволяет не только получать достоверные результаты, но и проводить комплексный анализ физического состояния животных для выбора рациона питания, правильной постановки диагноза, оценки результативности лечения.

Цель данной работы заключалась в рассмотрении физиологической роли и клинического значения основных биохимических показателей сыворотки крови сельскохозяйственных животных (КРС, МРС, свиней и кур), контролируемых в ветеринарных и испытательных лабораториях.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИХ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Среди всего разнообразия биохимических показателей и методов оценки их содержания можно выделить несколько групп:

- 1) оценка состояния белкового (в том числе пигментного) обмена;
- 2) оценка состояния углеводного обмена;
- 3) оценка состояния липидного обмена;
- 4) оценка активности ферментов;
- 5) оценка состояния водно-электролитного и минерального обменов;
- 6) общий клинический анализ крови.

Оценка состояния белкового обмена

Для оценки состояния белкового обмена, а также функций отдельных органов проводят определение общего белка и его фракций, мочевины, креатинина и других составляющих остаточного азота в сыворотке крови.

Общий белок. Белки крови выполняют многие функции: поддерживают постоянство онкотического давления, рН крови, уровень катионов крови, играют важную роль в образовании иммунитета, комплексов с углеводами, липидами, гормонами и другими веществами.

Снижение количества общего белка в сыворотке крови (гипопротеинемия) отмечается при длительном недокорме животных, алиментарной остеодистрофии, урвской болезни, гипокобальтозе, эндемическом зобе, хронических расстройствах желудочно-кишечного тракта, нефрите, нефрозе, циррозе печени, туберкулезе и других заболеваниях, при которых снижается аппетит и усвоение питательных веществ корма [8].

Повышение количества общего белка в сыворотке крови (гиперпротеинемия) в условиях животноводства встречается значительно чаще, чем гипопротеинемия. Оно бывает при белковом перекорме, кетозе, вторичной остеодистрофии, токсикозах и других болезнях, сопровождающихся дистрофией или воспалением

печени [8]. Повышение содержания общего белка в сыворотке крови в этих случаях идет за счет глобулиновых фракций при одновременном уменьшении концентрации альбуминов. Гиперпротеинемия бывает при тяжелых формах диареи, дегидратации организма, острых воспалительных процессах, флегмоне, сепсисе, пневмонии, бронхопневмонии и т.д.

Альбумин — основной белок сыворотки крови, который синтезируется в печени и способен к конформационным изменениям [6]. Благодаря стереоизбирательной афинности молекула альбумина служит переносчиком для многих веществ, таких как билирубин, жирные кислоты, мочевая кислота, различные лекарства и антибиотики. Также альбумин поддерживает осмотическое давление в крови.

Повышенный уровень альбумина в сыворотке может быть связан с обезвоживанием. Возможными причинами низкого уровня сывороточного альбумина могут являться голодание, печеночная и почечная недостаточность.

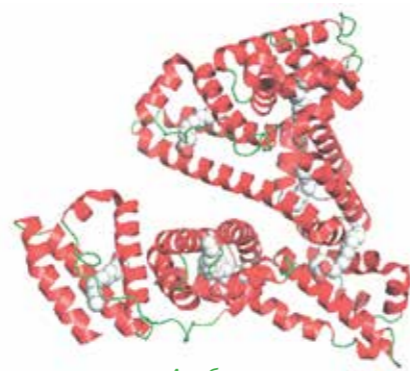
Мочевина — основной конечный продукт азотистого обмена. Синтезируется главным образом в печени, а у жвачных животных, кроме того, в стенке рубца из азота аммиака, аминокислот и амидов. Непосредственный предшественник мочевины в печени — гуанидиновая группировка аминокислоты аргинина. На долю мочевины приходится не менее половины остаточного азота крови и 80–83% мочи.

Мочевина главным образом выделяется почками, у жвачных животных часть ее поступает в преджелудки со слюной, где распадается до аммиака и углекислого газа с последующим использованием продуктов распада рубцовой микрофлорой. Концентрация мочевины в крови у здоровых животных колеблется от 20 до 40 мг% [4].

Значительное повышение содержания мочевины в крови (уремия) наблюдается при циркуляторной недостаточности почек, при которой нарушается фильтрация в клубочках. Такая патология возникает при сердечной недостаточности и дегидратации. Наиболее частые причины уремии — заболевания, при которых поражаются преимущественно почечные клубочки (хронический нефрит), или задержка выделения мочи при мочекаменной болезни, аденоме предстаты и др. Уремией сопровождается почечная недостаточность.

Повышение содержания мочевины в крови наблюдается при алкалозе рубца, скармливание животным большого количества гороха, зеленых бобовых кормов. Резкую уремию (до 200 мг%) наблюдают у тяжело больных диспепсией телят [8].

Тяжесть уремии связана не с концентрацией самой мочевины (она малотоксична), а с накоплением ток-



Альбумин

сичных производных гуанидина: гуанидинантарной кислоты, метилгуанидина, гуанидинуксусной кислоты и гуанидинпропионовой кислот, — которые образуются в организме вследствие нарушения нормального синтеза мочевины из аргинина.

Уменьшение содержания мочевины в крови бывает при длительном белковом недокорме, при нарушении мочевинообразовательной функции печени, наблюдаемой при кетозе коров [7, 8].

Мочевая кислота у птиц, а также у человека является конечным продуктом обмена пуриновых нуклеиновых оснований [6], у лошадей, собак и кроликов она окисляется с образованием алантоина. Мочевая кислота плохо растворима в воде, ее соли — ураты откладываются на висцеральных оболочках брюшины, внутренних органах, в суставах и мочевыводящих путях, вызывая мочекаислый диатез, а при отложении в суставах — подагру. Мочекаислый диатез и подагра преимущественно встречаются у птиц и человека [7].

В норме мочевой кислоты у кур содержится 0,23–0,47 ммоль/л, или 4–8 мг%. **Повышение ее уровня в сыворотке крови у кур** отмечается при избыточном протеиновом и аминокислотном кормлении, избытке нитратов, недостатке витамина А.

Креатинин. В организме животных креатинин образуется из креатина, источники которого — аминокислоты: аргинин, глицин, метионин (рис. 1). Креатин при фосфорилировании превращается в креатинфосфат, а затем и креатинин [6]. Креатин и креатинфосфат участвуют в процессах, связанных с мышечными сокращениями [7].

В сыворотке крови содержится в основном креатинин, поэтому его и определяют. Количество его у животных различных видов колеблется от 40 до 160 мкмоль/л (0,45–1,9 мг%), у кур — 120–350 мкмоль/л (1,4–4,0 мг%) [4].

Повышение концентрации креатинина в крови наблюдается при почечной недостаточности, прогрессирующих диффузных заболеваниях почек, закупорке мочевых путей, подагре, кишечной непроходимости, механической желтухе, голодании, мышечной дистрофии. **Понижение количества креатинина** не имеет клинического значения.

Билирубин — желчный пигмент, образуется в клетках ретикулоэндотелиальной системы печени и селезенки при распаде гемоглобина, миоглобина, цитохромов (рис. 2). Он ядовит, плохо растворим в воде [6, 7]. При поступлении с кровью в печень в гепатоцитах происходит обезвреживание его путем присоединения глюкуроновой кислоты. Соединения билирубина с глюкуроновой кислотой растворимы в воде и непосредственно реагируют с диазореагентом. В этих соединениях заключен так называемый прямой (связанный) билирубин, который выделяется в желчь и поступает в кишечник, где превращается в уробилиноген.

В сыворотке крови животных содержится билирубин, связанный с глюкуроновой кислотой, или прямо-реагирующий, и конъюгированный свободный непрямореагирующий билирубин [7].

Повышение содержания билирубина в сыворотке крови (гипербилирубинемия, желтуха) отмечается при гепатите, циррозе печени, острой токсической гепатодистрофии, опухолях печени. При этих болезнях увеличивается уровень в крови как несвязанного (свободного), так и связанного (конъюгированного) билирубина. При гемолитической желтухе, обусловленной гемолитическими ядами или кровопаразитами, концентрация

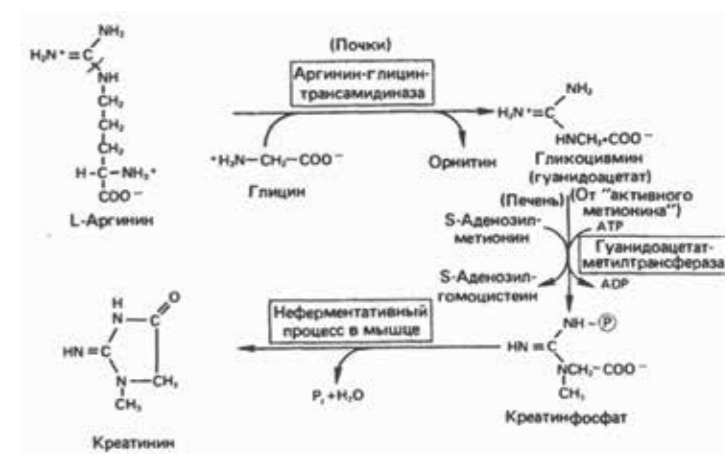


Рис. 1. Биосинтез креатина и креатинина

билирубина в крови повышается в основном за счет свободного (несвязанного) билирубина.

Оценка состояния углеводного обмена

Для оценки состояния углеводного обмена определяют содержание в крови глюкозы, молочной и пировиноградной кислот, в клетках крови и печени — гликогена и других веществ.

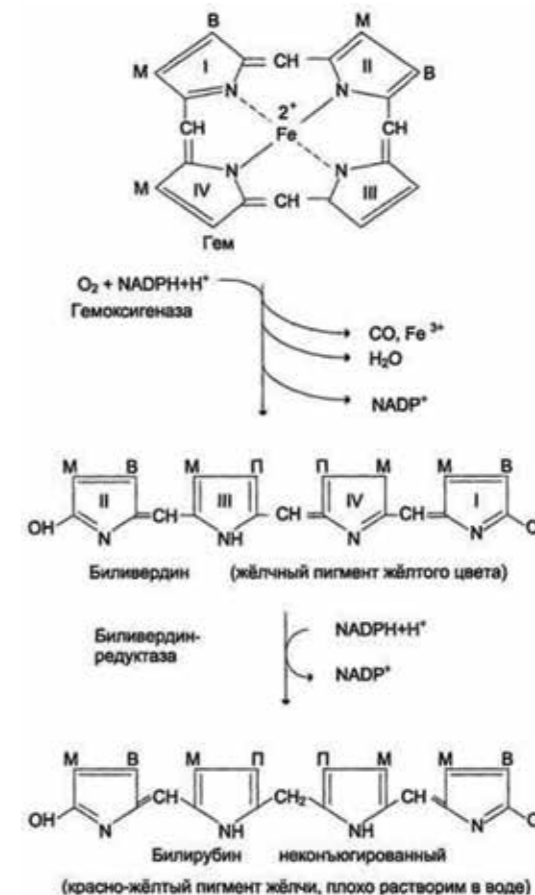


Рис. 2. Распад гема

M — (-CH₃) — метильная группа;
 B — (-CH=CH₂) — винильная группа;
 П — (-CH₂-CH₂-COOH) — остаток пропионовой кислоты.
 В ходе реакции одна метильная группа превращается в окись углерода, и, таким образом, раскрывается структура кольца. Образованный биливердин под действием биливердинредуктазы превращается в билирубин.

Глюкоза — главный источник энергии для клеток организма. На ее долю приходится более 90% всех низкомолекулярных углеводов [6].

Относительно постоянный уровень глюкозы в крови поддерживается благодаря сахароснижающему свойству инсулина и сахароповышающему свойству адреналина, глюкагона и глюкокортикоидов.

Концентрация глюкозы в венозной крови на 10% меньше, чем в капиллярной, она быстро снижается благодаря гликолизу. Поэтому глюкозу в крови определяют сразу после ее взятия, или проводят осаждение белков трихлоруксусной кислотой непосредственно на ферме, или добавляют ингибитор.

Снижение сахара в крови (гипогликемия) бывает при кетозе [8], вторичной остеодистрофии, послеродовом парезе, некоторых формах ожирения, токсических поражениях печени. Часто оно — следствие недостатка в кормах легкоусвояемых углеводов, большой потребности в глюкозе при высококонцентратном типе кормления, преобладании в рационах кислых кормов. К гипогликемии приводят передозировки инсулина.

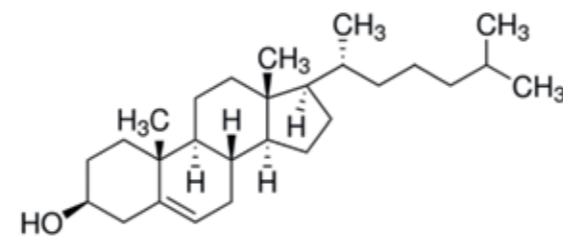
Повышение сахара в крови (гипергликемия) может быть стойким и непродолжительным — при скармливании скоту больших количеств сахаристых кормов, а также при испуге, высокой температуре, стрессовом состоянии [8]. Стойкая гипергликемия бывает при сахарном диабете. Однако следует иметь в виду то обстоятельство, что при сахарном диабете, сопровождаемом выраженной глюкозурией, содержание глюкозы в крови может быть в пределах нормы. Это обусловлено понижением почечного порога (ослабление реабсорбции глюкозы в почечных канальцах).

Оценка состояния липидного обмена

Главными липидными компонентами крови являются: свободный холестерин и его эфиры, фосфолипиды, триглицериды, или нейтральные жиры, а также незэтерифицированные жирные кислоты.

Триглицериды (триацилглицерины), или нейтральные жиры, представляют собой сложные эфиры глицерина и трех остатков жирных кислот, чаще всего с 16 или 18 атомами углерода. Точный состав жирнокислотных остатков может колебаться в определенных пределах и зависит главным образом от характера питания [6].

Концентрация триацилглицеринов в сыворотке крови животных повышается при скармливании кормов, обогащенных жирами или богатых легкодоступными углеводами (картофель, зерно кукурузы, пшеницы), активизирующих липогенез в печени (у моногастрических). Недостаток в рационах протеина и липотропных веществ (холина, метионина, треонина, селена, витамина Е, никотиновой кислоты) также сопровождается нарастанием уровня нейтральных липидов в сыворотке



крови животных. **Увеличение концентрации триглицеридов** отмечается при острых гепатитах, жировой дистрофии печени, нефрозах, диабете. **Снижение их концентрации** наблюдается при низком уровне кормления животных, усиленной молокоотдаче [7].

Холестерин в сыворотке крови животных находится в двух формах: свободной (1/3) и эфирносвязанной с различными жирными кислотами (2/3). С возрастом концентрация холестерина возрастает. **Гиперхолестеринемия** отмечается при диабете, нефрозах, пониженной функции щитовидной железы; в начале голодания; у свиней и птиц — при скармливании рационов, обогащенных твердыми кормовыми жирами. При острых гепатитах уровень общего холестерина в начале заболевания обычно повышается, а затем падает ниже нормы. Для заболевания печени характерно падение эфирной фракции холестерина. Острое падение этой фракции в крови — плохой прогностический признак, указывающий на острую желтую атрофию печени или острое ее отравление [7, 8].

Оценка состояния водно-электролитного и минерального обмена

Кальций. В крови циркулирует кальций в трех формах: 45–50% находится в ионизированном состоянии, 40–45% связано с белками, остальное количество образует комплексы с различными моно- и бивалентными низкомолекулярными анионами [6, 7]. Физиологически активен ионизированный кальций.

Уровень общего кальция в крови определяется суммой ионизированного, связанного с белками крови и различными анионами кальция. Определения только общего кальция для характеристики нарушений метаболизма недостаточно.

Преимущественно кальций — внеклеточный элемент. Около 99% его находится в костной ткани в составе гидроксиапатита, остальное количество — во внеклеточной жидкости.

Кальций — один из важнейших компонентов системы, регулирующей проницаемость мембран. Его ионы способствуют взаимодействию актина и миозина, то есть сокращению мышечных волокон. Это осуществляется с участием магния и аденозинтрифосфата (АТФ). В нервно-мышечных синапсах ионы кальция способствуют выделению ацетилхолина и связыванию его с холинорецептором, а при избытке ацетилхолина активизируют холинэстеразу, расщепляющую ацетилхолин. Ион кальция активизирует процесс свертывания крови.

Всасывание, транспортировка, распределение в тканях и выделение кальция протекают с участием активных форм витамина D и паратгормона.

Снижение содержания кальция в крови отмечается при длительном недостаточном поступлении его с кормом, плохом усвоении вследствие дефицита витамина D и паратгормона, которые обеспечивают его всасывание в кишечнике и препятствуют выведению

с мочой. Гипокальциемия сопровождается алиментарную остеодистрофию, рахит, вторичную остеодистрофию и многие другие болезни. Уровень кальция в крови стабильно удерживается длительное время за счет мобилизации его из костной ткани. Компенсаторные механизмы проявляются при развитии алиментарной остеодистрофии и рахита, при которых низкое количество кальция в крови обнаруживают при затяжном течении патологического процесса. Снижение уровня кальция в крови при вторичной остеодистрофии связано, вероятно, с гипофункцией околотитовидных желез и недостаточным синтезом паратгормона [7].

Резко выраженную гипокальциемию наблюдают при послеродовом парезе [8]. Объясняется такое явление, очевидно, гиперсекрецией кальцитонина, вырабатываемого С-клетками щитовидной железы, который в противоположность паратгормону способствует минерализации кости и понижает уровень кальция в крови. Причиной гипокальциемии может быть гипофункция околотитовидных желез. Так как кальций участвует в нервно-мышечном возбуждении, то при его резком снижении появляются тонические, клонические судороги и парезы. Гипокальциемия возможна при гломерулонефрите, интерстициальном нефрите, когда наступает гипопроteinемия, а следовательно, потеря связанного с белком кальция; при остром панкреатите из-за избытка глюкагона; опухоли щитовидной железы в связи с избыточной продукцией кальцитонина.

Повышение содержания кальция в крови может быть при передозировке витамина D, гиперфункции паращитовидных желез, длительном применении антацидов при язвенной болезни [8].

Магний. Циркулирующий в крови магний существует в трех формах: около 55% находится в ионизированной биологической активной форме; 12–15% образует комплексы с низкомолекулярными анионами; 30–33% связано с белками крови. Около 25% магния взаимодействует с альбуминами и около 8% — с глобулинами. Концентрация магния в клетках в 10–15 раз выше, чем во внеклеточной жидкости. Метаболическая роль магния определяется его участием как кофактора более чем в 300 энзиматических реакциях. Магний участвует практически во всех обменных процессах организма. Ионы магния активируют АТФ-фазу, обеспечивают работу К-Na-насоса клеточных мембран. Магний и кальций в различных тканях могут действовать и как синергисты, и как антагонисты. В гладких мышцах сосудов миокарда отмечают их антагонизм. В то же время дефицит как магния, так и кальция повышает нервно-мышечную возбудимость. Магний усиливает расщепление ацетилхолина путем активации холинэстеразы [7].

При **снижении уровня магния (гипомагниемии)** в крови увеличивается концентрация ацетилхолина, достигая предельной величины, при которой блокируется передача нервного возбуждения, наступают тетания и судороги. Магний тесно связан с обменом кальция, фосфора и калия. Более 50% его находится в костях и зубах. Гипомагниемия отмечается при диарее, полиурической стадии острой почечной недостаточности вследствие потери магния с калом или мочой, при циррозе печени, гиперпаратиреозе, гипотиреозе, хроническом панкреатите, усиленной лактации.

Снижение содержания магния в крови бывает при пастбищной тетании [8], алиментарной остеодистрофии, послеродовом парезе, транспортной болезни у коров [7]. Гипомагниемия наступает вследствие посту-

пления в организм избытка калия (с молодой травой) или азота с концентрированными кормами, а также азотсодержащими небелковыми средствами.

Повышение уровня неорганического магния в крови (гипермагниемия) бывает редко, например, при отравлении солями магния [8].

Фосфор — один из основных структурных элементов организма. Все виды обмена в организме неразрывно связаны с превращением фосфорной кислоты. Фосфор входит в структуру нуклеиновых кислот, благодаря фосфорилированию осуществляется кишечная адсорбция, гликолиз, прямое окисление углеводов, транспорт липидов, обмен аминокислот и т.д. Макроэргические фосфорные соединения, среди которых центральное место занимает АТФ, — универсальные донаторы и аккумуляторы энергии. 80–85% фосфора содержится в скелете. В крови он присутствует в неорганической и органической формах. Органический фосфор связан с белками и липидами. Всего в крови животного и человека содержится около 10 фракций фосфорных соединений [6, 7]. В клинической практике диагностическое значение имеет неорганический фосфор.

Снижение уровня фосфора в крови отмечается при длительном недостатке его в рационе, плохом усвоении, при расстройствах желудочно-кишечного тракта или дефиците витамина D, при гиперфункции паращитовидных желез и гипофункции щитовидной железы, когда увеличивается секреция паратгормона и уменьшается выработка кальцитонина. Отмечается оно и при алиментарной остеодистрофии, рахите, урвской болезни, пеллагре, длительном лечении инсулином, кальция хлоридом, болезнях желудочно-кишечного тракта [7].

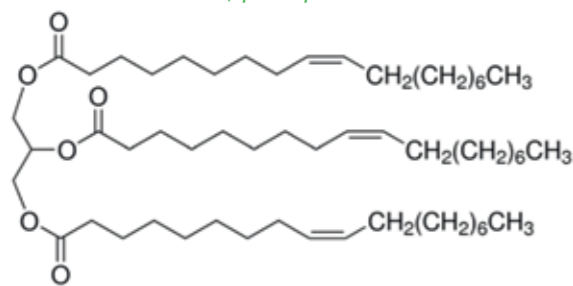
Повышение уровня фосфора в крови может быть вызвано уменьшением секреции паратгормона, когда тормозится реабсорбция фосфора в почках. Увеличение кальцитонина стимулирует реабсорбцию фосфора в почках и приводит к гиперфосфатемии. Гиперфосфатемия встречается при сердечной недостаточности, кетозе, приеме больших доз витамина D, нефрите, нефрозе, токсикозах беременности, мышечном перенапряжении. У телят молочного периода содержание фосфора в крови несколько выше, чем у взрослых животных [7]. Содержание фосфора в безбелковом фильтрате цельной крови, плазмы и сыворотки, обработанных одновременно, одинаково [8].

Калий и натрий. Концентрация калия в плазме новорожденных животных несколько выше, чем у взрослых. Натрий в основном внеклеточный элемент, более 80% его находится во внеклеточном пространстве [6]. Однако у собак и жвачных животных содержание его в эритроцитах преобладает над калием, у остальных животных — наоборот [7].

Натрий имеет основное значение в поддержании осмотического давления внеклеточной жидкости, является важным компонентом буферных систем, играет важную роль в поддержании жизнедеятельности микрофлоры рубца.

Изменение концентрации натрия и калия в крови вызывает нарушение кислотно-щелочного равновесия. Потеря натрия в организме сопровождается дегидратацией. Установлено, что при уменьшении содержания натрия до 115–130 ммоль/л, когда осмотическая концентрация понижается до 250–280 ммоль/л, развивается тяжелое состояние. Уменьшение или увеличение

Глицерин триолеат



количества натрия в организме сопровождается подобным изменением содержания в нем воды, поэтому обессоливание и обезвоживание почти всегда понимают как синонимы [7].

Снижение количества натрия в плазме крови отмечают при длительном солевом голодании, поступлении с кормом большого количества калия [8], заболеваниях почек, сопровождающихся потерей натрия, чрезмерном потоотделении, сахарном диабете, поносах, обильном поении, недостаточности коры надпочечников, регидратации организма большим количеством жидкости, не содежащей натрия. Гипонатриемия может наблюдаться при лихорадочном состоянии, пневмониях, хроническом нефрите.

Повышение содержания натрия в плазме крови наблюдают при повышенном диурезе, ограничении питья, несахарном диабете, поносе без возмещения жидкости, недостатке калия, гиперфункции коры надпочечников. Усиленное выделение натрия с мочой бывает при нефрозе.

Снижение количества калия в крови (гипокалиемия) отмечают при усиленном выделении его с мочой (гиперфункция коры надпочечников и передней доли гипофиза), при диарее, больших внутривенных и внутрибрюшных вливаниях жидкости, не содержащей калия. Уровень содержания калия в крови и тканях не всегда тождествен: при уменьшении количества калия в тканях уровень этого элемента в крови может быть высоким. Такое явление бывает при сгущении крови, когда наступает относительная гиперкалиемия. Гипокалиемия часто наблюдается при токсикозах у новорожденных животных, тяжелых формах диспепсии, сопровождаемых выраженным ацидозом. Снижение калия в крови наблюдается при сахарном диабете, введении инсулина, больших количеств растворов глюкозы, поваренной соли.

Гиперкалиемия наблюдается при поедании большого количества молодой травы или зеленой массы растений, выращенных на обильно удобренных калийными удобрениями угодьях, т.е. при пастбищной тетании. Она может быть следствием ацидоза, когда водородные ионы переходят из плазмы в клетки, обмениваясь на калий. Повышение калия в крови может быть следствием поражения почек, которые не могут выводить все поступающие с кормом электролиты [8].

Железо. Так как подавляющая часть железа находится внутри эритроцитов и входит в состав гемоглобина, определение его в цельной крови не имеет практического значения. Представление о его количестве можно сделать по определению гемоглобина. Больше клиническое значение имеет определение железа в плазме (сыворотке) крови, где содержание его в несколько раз ниже, чем в цельной крови.

Состояние обмена железа объективно характеризует количество негеминного сывороточного железа, т.е. трансферрина, ферритина и гемосидерина, так как это основной резерв, который используется организмом в случае необходимости.

Трансферрин — растворимый в воде железопротейн, гликопротеин с содержанием около 0,13% железа. Он служит физиологическим переносчиком железа в организме.

Ферритин — железосодержащий белок (металлопротеин) с содержанием железа около 20%. Он сосредоточен главным образом в селезенке, печени, костном мозге, выполняет роль депо железа в организме.

Гемосидерин — водонерастворимый железосодержащий белковый комплекс, в состав которого входят нуклеотиды и углеводы. Содержится главным образом в ретикулоэндотелиоцитах печени и селезенки.

Определение сывороточного железа проводят для выявления железодефицитного состояния. Содержание железа в сыворотке крови животных составляет 110–200 мкг%. Снижение его уровня свидетельствует о развитии железодефицитной анемии, которая часто отмечается у поросят, телят, щенков, ягнят, жеребят, а также у животных других возрастных групп. Причинами ее могут быть недостаточное, скудное, несбалансированное кормление животных; нарушение всасывания железа из пищеварительного тракта при заболевании желудка и кишечника; хронические рецидивирующие кровопотери их желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь); усиленное потребление железа при беременности; замедление мобилизации и нарушение транспорта железа из депо; гипосидермия при избыточном накоплении железа в клетках ретикулоэндотелиальной системы (РЭС); потеря трансферрина при нефротическом синдроме.

Хлориды — важные неорганические анионы внеклеточной жидкости. Они играют существенную роль в поддержании кислотно-щелочного равновесия, хотя сами не проявляют буферного действия. При потере хлоридов развивается алкалоз, при чрезмерном потреблении хлоридов — ацидоз. Хлориды (с натрием) играют важную роль в регуляции осмолярности жидкостей организма.

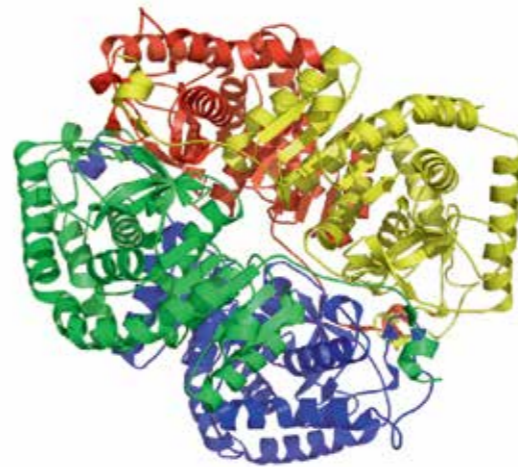
Повышение содержания хлоридов имеет место при почечной недостаточности (когда потребление хлоридов превышает экскрецию), нефрозе, почечном канальцевом ацидозе, гиперпаратиреозе, уретросигмоидальном анастомозе (реабсорбция из мочи в кишечнике), дегидратации (дефиците воды), при передозировке солевых растворов.

Снижение количества хлоридов имеет место при желудочно-кишечных заболеваниях, сопровождающихся потерей содержимого желудка или печени (рвота, понос, нарушение желудочно-кишечного всасывания), почечной недостаточности (с потерей солей), хроническом дыхательном ацидозе (эмфизема), диабетическом ацидозе, повышенной потливости, адреналовой недостаточности, гиперандренокортицизме (хроническая потеря K^+), метаболическом алкалозе (потребление $aHCO$, дефицит K^+) [2].

Оценка активности ферментов

В целях диагностики различных заболеваний используют показатели активности десятков ферментов и их изоферментов. В клинической практике часто определяют активность аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, глутаматдегидрогеназы, аргиназы, уракиназы, гистидазы, алкогольдегидрогеназы, цитохромоксидазы, амилазы, сорбитолдегидрогеназы и многих других.

Щелочная фосфатаза (ЩФ). Уровень ЩФ в сыворотке крови является диагностическим признаком расстройства гепатобилиарной системы и заболеваний костной ткани [8], так как данный фермент распределен почти во всех тканях организма [6–8]. В сыворотку большая часть ЩФ поступает из печени и желчных протоков. Нормальный уровень ЩФ зависит от возраста и повышен в период активного костного роста.



Лактатдегидрогеназа М4 (изофермент, обнаруженный в скелетных мышцах)

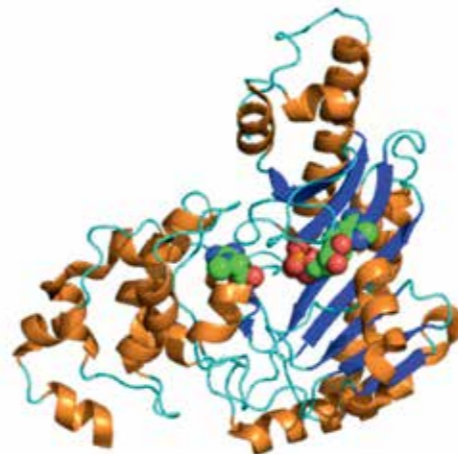
Умеренное повышение ЩФ (не учитывая содержания фермента в печени и костной ткани) может указывать на сердечную недостаточность и абдоминальные бактериальные инфекции [7].

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) ускоряет реакцию окисления молочной кислоты в пировиноградную (пируват) [6]. **Повышение активности ЛДГ** отмечают при поражении миокарда, печени и почек, причем при болезнях сердца преимущественно повышается активность изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₂, а при паренхиматозных гепатитах и нефритах — изофермента ЛДГ₅. У новорожденных животных активность ЛДГ выше, чем у взрослых.

Незначительное повышение активности ЛДГ отмечают при анемиях, физиологическом напряжении, отравлениях, тиреотоксикозе, злокачественных опухолях. Все заболевания, при которых отмечается некроз тканей, сопровождаются повышением активности ЛДГ. Увеличение активности изофермента ЛДГ₁ характерно для поражения сердца. При болезнях печени преимущественно увеличивается активность изоферментов ЛДГ₅ и ЛДГ₄ и уменьшается активность ЛДГ₁ и ЛДГ₂ [7].

Креатинкиназа (КК) катализирует обратимую реакцию фосфорилирования креатина [6]. **Повышение активности КК** отмечается при повреждении сердечной или скелетных мышц. При повреждении сердечной мышцы ее активность у человека повышается в 20–30

Структура мозговой креатинкиназы человека с АДФ и креатином



Димер щелочной фосфатазы бактерий. Синим выделен N-конец, красным — C-конец

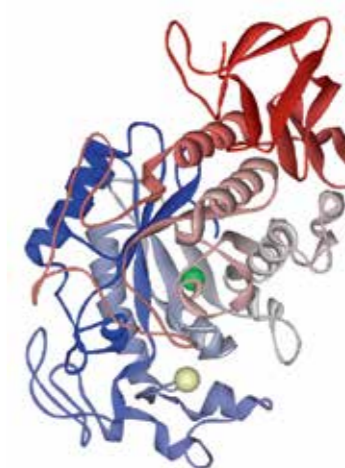
раз по сравнению с нормой, при повреждении скелетных — еще больше [7].

При определении активности КК в сыворотке крови животных следует сравнивать величины у клинически здоровых и больных животных. Резкое повышение КК очевидно при миоглобинурии, травматическом перикардите, хирургических заболеваниях (травмах). У новорожденных активность КК выше, чем у взрослых.

α-Амилаза (диастаза) осуществляет гидролитическое расщепление полисахаридов до декстринов и мальтозы [6]. Богаты амилазой сок поджелудочной железы и слюна. В кровь фермент поступает главным образом из поджелудочной железы, поэтому активность амилазы в крови и моче повышается обычно при заболевании поджелудочной железы. При остром панкреатите она повышается в 10 раз и более. Кроме того, амилазная активность возрастает при перитоните, язвенной болезни свиней, собак и других животных, при заболеваниях почек. Повышение активности амилазы крови, как правило, сопровождается адекватным увеличением ее активности в моче. Однако при нефрозах, гломерулонефритах активность амилазы сыворотки крови увеличена, а в моче снижена.

Снижение активности амилазы в крови и моче наблюдается при гепатитах, дистрофиях печени, сахарном диабете, гипотиреозе, токсической диспепсии.

Структура амилазы слюнных желез. Катион кальция показан жёлтым цветом, анион хлора — зелёным



Аспаратаминотрансфераза (АсАТ, АСТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ, АЛТ). Аминотрансферазы переносят аминокислоты от аминокислот к кетокислотам. АсАТ и АлАТ не обладают органной специфичностью, однако определение их активности используют для диагностики болезней печени и сердца [7].

При гепатитах резко повышается активность АлАТ, поражение миокарда сопровождается преимущественно возрастанием активности АсАТ. Отмечено резкое повышение активности АсАТ и АлАТ при травматическом перикардите у коров.

При синдроме цитолиза гепатоцитов в несколько раз повышается активность не только АлАТ, но и АсАТ. Активность этих ферментов в сыворотке крови определяют главным образом для диагностики болезней печени и сердца, при которых происходит распад клеток.

Общий клинический анализ крови

К методам общего клинического анализа относят подсчет количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, дифференциальный подсчет лейкоцитов, определение гематокрита, гемоглобина, осмотической резистентности эритроцитов, времени рекальцинации плазмы, скорости оседания эритроцитов и некоторые другие.

Гемоглобин (ГГ) — дыхательный пигмент крови, состоит из белка глобина и протетической группы — гема. Глобин по строению близок к альбумину, синтезируется в печени, представляет хелатный комплекс протопарферина с двухвалентным железом.

Основная функция ГГ — перенос кислорода от легких к тканям. ГГ участвует в транспорте углекислого газа из тканей в легкие, в поддержании кислотно-основного равновесия в организме, т.е. обладает буферными свойствами. Он способен соединяться с оксидом углерода, образуя карбоксигемоглобин, а также с некоторыми химическими веществами с образованием метгемоглобина. Эти соединения не способны переносить кислород от легких к тканям.

Снижение количества ГГ отмечается при дефицитных анемиях вследствие недостатка железа, меди, кобальта, витамина В₁₂, фолиевой кислоты, белков и других веществ, при хронических интоксикациях, гепатите, гепатозе и других болезнях печени, кетозе, расстройствах желудочно-кишечного тракта, инфекционных и инвазионных болезнях. Умеренное снижение ГГ отмечают при алиментарной (железодефицитной) анемии, более выраженное — при массовой кровопотере, гемолитической и гипопластической анемии. Следует отметить, что снижение концентрации ГГ и количества эритроцитов не всегда протекает параллельно. Чаще количество ГГ уменьшается резче, чем число эритроцитов в крови. Однако при ряде заболеваний могут воз-

никать противоположные сдвиги, поэтому необходимо одновременно определять цветовой показатель.

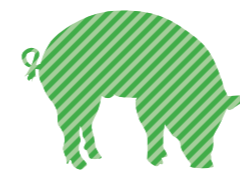
Повышение уровня ГГ отмечают при сгущении крови (диарея, обильное потоотделение), непроходимости кишечника, сильной мышечной нагрузке [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты приведенного обзора позволяют заключить, что каждый биохимический компонент (параметр) сыворотки (плазмы) крови имеет огромное значение для обеспечения необходимого уровня обмена веществ в организме животных, функционирования отдельных органов и их систем. Изменение содержания (снижение или повышение) этих параметров относительно нормального уровня может иметь различные причины: незаразные и инфекционные заболевания, несбалансированность рациона и режима кормления. Любая причина оказывает неодинаковое влияние на разные системы и, соответственно, на разные показатели крови, формируя особую клиническую и биохимическую картину. Поэтому только комплексный биохимический анализ сыворотки (плазмы) крови животных может иметь значение при постановке диагноза, характеристике течения болезни и оценке эффективности выбранной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева Е.А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. — 2-е изд., перераб. и доп. — М., Россельхозиздат, 1982. — 254 с.
2. Козинец Г.И. Интерпретация анализов крови и мочи и их клиническое значение. — М.: Триада-Х, 1998. — 104 с.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия (пособие для врачей-лаборантов). — Минск, Беларусь, 1976. — 316 с.
4. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А. Клиническая гематология животных. — М.: Колос, 1974. — 399 с.
5. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: справочник / сост. Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина [и др.]; под ред. Б.И. Антонова. — М.: Агропромиздат, 1991. — 287 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Миньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая [и др.]; под ред. В.В. Миньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
7. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под ред. И.П. Кондрахина. — М.: КолосС, 2004. — 520 с.
8. Методические указания по применению унифицированных биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях: утв. ГУВ МСХ СССР 03.04.1981 г. / В.Т. Самохин, П.Е. Петров, И.М. Беляков [и др.]. — М.: ВАСХНИЛ, 1981. — 87 с.



УДК 619:616.98:578.842.1:577.2

ГЕНОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ В ДНК ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.А. Варенцова¹, А.А. Елсукова², Н.Г. Зиняков³, А.С. Иголкин⁴, Н.Н. Власова⁵

¹ младший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: varentsova@arriah.ru

² научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: elsukova@arriah.ru

³ научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁴ заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁵ главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена анализу вариабельности геномов изолятов вируса африканской чумы свиней, выделенных на территории Российской Федерации.

Методом пиросеквенирования получены полные нуклеотидные последовательности геномов вируса африканской чумы свиней изолятов: Кашино 04/13, Одинцово 02/14, Карамзино 02/13. После сравнительного анализа геномов указанных изолятов с геномом изолята Грузия 2007/1 установлено наличие множественных единичных вставок и делеций, а также наличие двух различающихся по локализации tandemных повторов. Причем 17-нуклеотидный tandemный повтор впервые обнаружен в интергенном регионе 9R/10R мультigenного семейства MGF505 в геноме изолятов Шихобалово 10/13 и Карамзино 02/13.

Ключевые слова: африканская чума свиней, полногеномное секвенирование, анализ генома, tandemный повтор, делеция и вставка.

UDC 619:616.98:578.842.1:577.2

GENOMIC ABERRATIONS IN DNA OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS CIRCULATING IN THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION

A.A. Varentsova¹, A.A. Yelsukova², N.G. Zinyakov³, A.S. Igolkin⁴, N.N. Vlasova⁵

¹ Junior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: varentsova@arriah.ru

² Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: elsukova@arriah.ru

³ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁴ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁵ Main Researcher, Doctor of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

SUMMARY

The paper is devoted to analysis of genome variability of African swine fever (ASF) virus isolates recovered in the Russian Federation territory.

Complete nucleotide sequences of the following ASF virus isolate genomes were obtained by pyrosequencing: Kashino 04/13, Odintsovo 02/14 and Karamzino 02/13. Multiple single insertions and deletions as well as distinctly localized two tandem repeats were found by comparative analysis of genomes of the said isolates and Georgia 2007/1 isolate. Notably that 17-nucleotide tandem repeat was detected in 9R/10R intergenic region of MGF505 multigene family in genomes of Shikhobalovo 10/13 and Karamzino 02/13 isolates for the first time.

Key words: African swine fever (ASF), whole-genome sequencing, genome analysis, tandem repeat, deletions and insertions.

ВВЕДЕНИЕ

На данный момент актуальность изучения основ патогенности вируса африканской чумы свиней (АЧС) трудно переоценить, поскольку, начиная с 2007 г., эта болезнь нанесла и продолжает наносить значительный экономический ущерб свиноводству Российской Федерации и ряда европейских стран [2].

Вирус АЧС относится к наиболее сложноорганизованным вирусам млекопитающих, геном которого несет в себе информацию более чем о 160 белках. Кроме 50 структурных белков, в ДНК вируса АЧС закодированы ферменты, ответственные за репликацию генома, сборку вириона, а также регуляторные белки, влияющие на работу всего ферментативного аппарата клетки-хозяина [4].

На настоящий момент определены основные группы генов вируса АЧС, ответственные за его вирулентность, тем не менее вопрос о создании эффективной защиты против АЧС остается открытым до сих пор [5].

Одним из препятствий к созданию средств специфической профилактики АЧС является высокая скорость изменчивости вируса.

Основным направлением контроля изменчивости вируса является анализ структуры генома методом полногеномного секвенирования [9]. Ранее использование этого метода зарубежными и отечественными учеными в изучении возбудителя АЧС позволило не только выявить изменения в геноме вируса, но и провести сравнительный анализ функций измененных генов [6, 7]. Филогенетический анализ используется для дифференциации и анализа пространственно-временного распространения изученных изолятов вируса АЧС [8].

Полногеномное секвенирование является основополагающим этапом для определения локусов изменчивости геномов, который позволяет определить наиболее вариабельные регионы. Однако его трудоемкость и дороговизна снижают его применимость для многочисленных исследований при анализе геномов. Поэтому после определения локусов в дальнейшем применяют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в сочетании с секвенированием фрагментов по Сэнгеру, что позволяет в короткие сроки охарактеризовать по определенному участку большое количество изолятов возбудителя.

Все это предопределило проведение специального молекулярно-биологического анализа, посвященного генетической характеристике российских изолятов вируса АЧС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали вирус АЧС изолятов Кашино 04/13, Карамзино 02/13 (Тверская область, кабан), Одинцово 02/14 (Московская область, кабан) и Шихобалово 10/13 (Владимирская область, кабан).

Приготовление препарата ДНК вируса АЧС для пиросеквенирования: для накопления и получения вирусосодержащего материала использовали культуру альвеолярных макрофагов свиньи (АМС) и препараты вирус-кровь, полученные от инфицированных животных.

ДНК вируса АЧС выделяли методом фенол-хлороформной экстракции.

Для анализа нуклеотидных последовательностей генома штаммов и изолятов вируса АЧС использовали ресурсы международных баз данных NCBI, EMBL. Срав-

нительный анализ гомологии нуклеотидных последовательностей генов проводили с помощью программ BioEdit 6.0.7. и MEGA 5.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку стояла задача выявить различающиеся варианты вируса АЧС, циркулирующего на территории Российской Федерации, то для сравнительного анализа отобрали изоляты, выделенные в различных областях от диких кабанов.

Для анализа изменчивости генома вируса АЧС проведено пиросеквенирование полноразмерного генома изолята Кашино 04/13 и Одинцово 02/14, в результате чего получены их нуклеотидные последовательности и опубликованы в GenBank. Изучение изменений генов, произошедших в геноме вируса АЧС российских изолятов, проводили путем множественного выравнивания полноразмерных последовательностей геномов вируса АЧС изолятов Одинцово 02/14, Кашино 04/13 и представленного в системе GenBank генома изолята Грузия 2007/1 (GI: 303398661).

Проведенный анализ изменений показал, что в сравнении с последовательностью изолята Грузия 2007/1 в геноме изолята Одинцово 02/14 и Кашино 04/13 обнаружены изменения, которые составляют ~0,051% и ~0,038% от длины их геномов соответственно. Причем максимальное количество (45,8%) изменений наблюдалось в левом концевом регионе генома.

Сопоставление локусов функциональной карты вируса АЧС показало, что в геноме изолята Кашино 04/13 и Одинцово 02/14 произошли изменения в генах мультигенных семейств MGF110, MGF 360, MGF 505, а также в гене QP383R. Как было показано Burrage T.G. и соавт., гены MGF 505 и 530 вируса АЧС были вовлечены в репликацию вируса в клещах рода *Ornithodoros* и макрофагах свиней [3].

Кроме этого, у изолята Кашино 04/13 изменения произошли в генах, ответственных за морфогенез вируса (B602L) и регуляцию репликации (A224L), в то время как для изолята Одинцово 02/14 выявлены изменения в гене NP419L и CP204L, кодирующем ответственный за проникновение вируса белок р30 (таблица).

Кроме установленных изменений в генах, с помощью пиросеквенирования выявлено наличие двух tandemных повторов в правой и левой вариабельных областях генома российских изолятов [1].

Так, в ходе полногеномного секвенирования в геноме изолята Одинцово 02/14 обнаружен прямой tandemный повтор размером 10 нуклеотидов (GGAATATATA), расположенный в правой концевой области генома в интергенном регионе между генами I73R и I329L. Впервые эта встройка была обнаружена в геноме вируса АЧС, выделенного в Воронежской области (изолят Богучары 06/13). Всего было проверено 27 изолятов, но только 16 из них содержали встройку, к ним относятся изоляты Московской, Псковской, Калужской, Тульской, Белгородской и Воронежской областей. Изоляты без встройки были выделены на территории Тверской и Владимирской областей [1].

Дальнейшие исследования изолятов Ростов 2009, Волгоград 2010 показали, что в их геномах отсутствует данный tandemный повтор, в то же время он выявлен в геноме вируса АЧС изолята Смоленск 08/13, что согласуется с данными Gallardo C. и соавт. о первом по-

Таблица

Сравнительный анализ геномов вируса АЧС изолятов Кашино 04/13, Одинцово 02/14 и Грузия 2007/1

№№	Гены	Функция	Изменения в геноме Кашино 04/13	Изменения в геноме Одинцово 02/14
1	L83L	unknown	-	+
2	ASFV_G_ACD_00070	unknown	+	+
3	MGF_110-1L	110 Multigene	+	+
4	ASFV_G_ACD_00120	unknown	+	+
5	MGF_110-14L	110 Multigene	+	-
6	ASFV_G_ACD_00240	unknown	+	-
7	MGF_110-13L	110 Multigene	+	-
8	ASFV_G_ACD_00290	unknown	-	+
9	ASFV_G_ACD_00350	unknown	+	-
10	X69R	Putative transmembrane protein	+	-
11	MGF_360-10L	360 Multigene	+	-
12	MGF_505-5R	505 Multigene	+	-
13	MGF_505-9R	505 Multigene	-	+
14	MGF_505-10R	505 Multigene	+	-
15	A224L	apoptosis inhibitors proteins (IAP) homolog	+	-
16	B602L	required for the correct folding of the capsid protein p72	+	-
17	B407L	unknown	+	-
18	CP204L	p30 phosphoprotein. involved in virus entry.	-	+
19	NP419L	DNA ligase	-	+
20	QP383R	NifS like protein	+	+
21	I267L	unknown	+	-
22	ASFV_G_ACD_01760	unknown	+	-
23	I243L-I73R	New intergene region	-	+
24	I196L	unknown	+	+

«+» — установлено отличие от нуклеотидной последовательности вируса АЧС изолята Грузия 2007/1;

«-» — отличий не установлено.

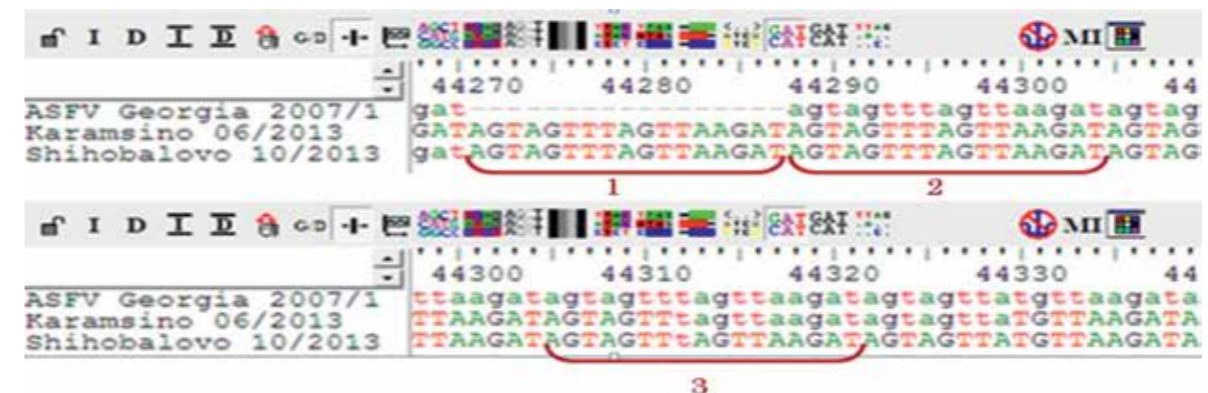
явлении встройки в интергенном регионе I73R и I329L в изолятах, выделенных в 2012 г. [8].

При аналогичных исследованиях отдельных областей геномов вируса АЧС изолятов Шихобалово 10/13 и Карамзино 02/13 после их сравнительного анализа с геномом изолята Грузия 2007/1 в левой вариабельной области было установлено наличие другого tandemного повтора.

Этот 17-нуклеотидный (AGTAGTTCAGTTAAGAT) tandemный повтор обнаружен в интергенном регионе между генами 9R и 10R мультигенного семейства MGF 505 (рисунок).

Как известно, интергенные регионы влияют на функционирование генов, причем количество tandemных повторов является одним из регуляторов их активности [10].

Рис. Нуклеотидные последовательности интергенного региона 9R/10R изолятов Грузия 2007/1, Карамзино 06/13 и Шихобалово 10/13 вируса АЧС. Скобками указаны tandemные повторы



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов полногеномного секвенирования, проведенного в ФГБУ «ВНИИЗЖ», позволил выявить изменения в генах мультигенных семейств и генах, ответственных за морфогенез и проникновение вируса в клетки-мишени. На настоящий момент установлено наличие двух tandemных повторов, расположенных в правом и левом варибельных регионах генома.

Как показали исследования, наличие tandemного повтора 173R/1329L в правой варибельной области позволило определить области локализации и время появления второго варианта вируса АЧС на территории Российской Федерации. Исследования изолятов Ростов 2009, Волгоград 2010 показали, что в их геномах отсутствует данный tandemный повтор, в то же время он выявлен в геноме вируса АЧС изолята Смоленск 08/13. Настоящее исследование показало наличие третьего варианта вируса АЧС, содержащего tandemный повтор R9/R10, у двух российских изолятов 2013 г. в интергенном регионе левого варибельного региона. Дальнейшие исследования позволят более точно определять происхождение и эволюцию российских изолятов.

Таким образом, обнаружение подобных tandemных повторов играет важную роль в изучении происхождения, географического распределения и эволюции вируса АЧС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей интергенного региона 173R/1329L кавказских, российских и европейских изолятов вируса АЧС / И.В. Шевченко, Н.Г. Зиняков, А.С. Иголкин [и др.] // Ветеринария и кормление. — 2015. — № 2. — С. 26–28.

2. African swine fever eradication: the Spanish model / M. Arias, J.M. Sanchez-Vizcaino, A. Morilla [et al.] // Trends in Emerging Viral Infections of Swine / ed. A. Morilla, K. Jin, J. Zimmerman. — 1st ed. — Ames, Iowa, USA, 2002. — P. 133–139.

3. African swine fever virus multigene family 360 genes affect virus replication and generalization of infection in *Ornithodoros porcinus* ticks / T.G. Burrage, Z. Lu, J.G. Neilan [et al.] // J. Virol. — 2004. — Vol. 78. — P. 2445–2453.

4. African swine fever virus proteins involved in evading host defence systems / L.K. Dixon, C.C. Abrams, G. Bowick [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. — 2004. — Vol. 100. — P. 117–134.

5. African swine fever virus replication and genomics / L.K. Dixon, D.A.G. Chapman, C.L. Netherton, C. Upton // Virus Res. — 2013. — Vol. 173, № 1. — P. 3–14.

6. A sequencing method based on real-time pyrophosphate / M. Ronaghi, M. Uhlén, P. Nyren // Science. — 1998. — Vol. 281, № 5375. — P. 36–365.

7. Comparison of the genome sequences of nonpathogenic and pathogenic African swine fever virus isolates / D.A.G. Chapman, V. Tcherepanov, C. Upton, L.K. Dixon // J. Gen. Virol. — 2008. — Vol. 89. — P. 397–408.

8. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, Eastern and Central Europe / C. Gallardo [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2014. — Vol. 20, № 9. — P. 1544–1547.

9. Metzker M.L. Sequencing technologies — the next generation // Nat. Rev. Genet. — 2010. — Vol. 11. — P. 31–46.

10. Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis / R. Portugal, J. Coelho, D. Hoper [et al.] // J. Gen. Virol. — 2015. — Vol. 96. — P. 408–419.

УДК 619:616.98:578.842.1(470)

**ЗОНИРОВАНИЕ ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО АФРИКАНСКОЙ ЧУМЕ СВИНЕЙ****В.В. Никифоров¹, А.Н. Спиридонов², А.К. Караулов³, Ф.И. Коренной⁴**¹ заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: nikiforov@arriah.ru² младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: spiridonov@arriah.ru³ руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: karaulov@arriah.ru⁴ научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: korennoy@arriah.ru**РЕЗЮМЕ**

В данной статье обсуждается возможность и эффективность применения программ зонирования территории Российской Федерации по африканской чуме свиней и компартиментализации свиноводческих комплексов. Основной целью программы зонирования является формирование независимых зон с разным зооанитарным статусом, в которых будет проводиться усиленный надзор (как пассивный, так и целевой) и действовать ограничения на перемещение между зонами восприимчивых к африканской чуме свиней животных и продукции свиноводства.

Утверждение и валидация программы зонирования территории по африканской чуме свиней позволит снизить (сократить до минимума) риски возможного распространения заболевания в благополучные зоны по африканской чуме свиней и будет способствовать достижению главной цели — получению и поддержанию статуса благополучия по африканской чуме свиней на всей территории страны. При этом действующая программа компартиментализации свиноводческих комплексов позволит при наличии болезни в неблагополучных зонах осуществлять международную торговлю мясом и продукцией свиноводства из благополучных и неблагополучных зон по африканской чуме свиней.

Ключевые слова: африканская чума свиней, зонирование, программа.

UDC 619:616.98:578.842.1(470)

**AFRICAN SWINE FEVER
ZONING OF THE RUSSIAN FEDERATION TERRITORY****V.V. Nikiforov¹, A.N. Spiridonov², A.K. Karaulov³, F.I. Korennoy⁴**¹ Head of the Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: nikiforov@arriah.ru² Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: spiridonov@arriah.ru³ Head of the Information Analysis Centre, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: karaulov@arriah.ru⁴ Researcher, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: korennoy@arriah.ru**SUMMARY**

Possibility and efficacy of African swine fever (ASF) zoning of the Russian Federation (RF) territory and compartmentalization of pig establishments are discussed in the paper. The main goal of the zoning programme is creation of independent zones with different zoo-sanitary status where enhanced surveillance (passive and target) will be carried out and movements of ASF-susceptible live pigs and porcine products between the zones will be restricted. Approval and validation of the programme on ASF zoning of the RF territory will allow reduction (minimization) of risks of possible disease spread to the ASF-free zone as well as achieving the main goal — gaining and maintaining ASF-free status in the whole territory of the country. Moreover, successful programme on pig establishment compartmentalization will allow international trade in pork and porcine products from both ASF-free and ASF-affected zones in case of the disease occurrence in the affected zones.

Key words: African swine fever (ASF), zoning, programme.

ВВЕДЕНИЕ

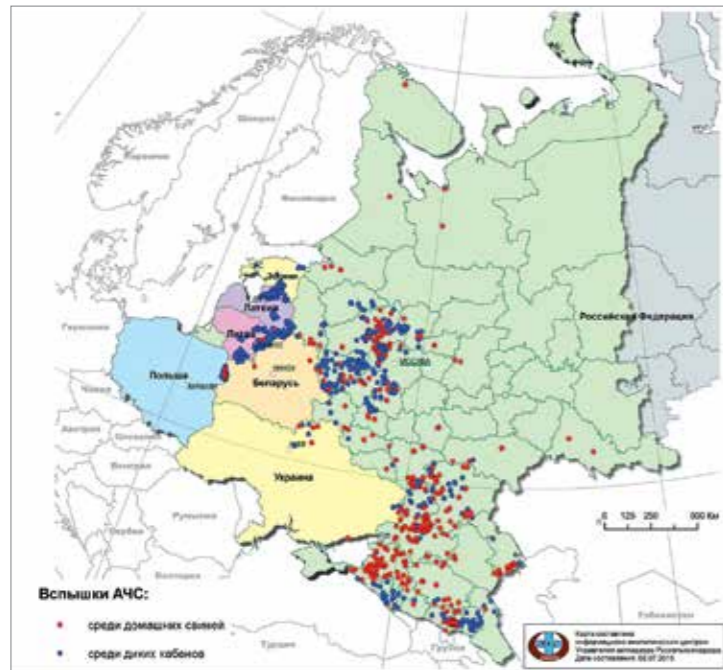
Африканская чума свиней (АЧС) наносит огромные экономические потери, складывающиеся из затрат на проведение ветеринарно-санитарных, карантинных и ограничительных мероприятий. По данным ФГБУ «Центр ветеринарии», ГНУ «ВНИИВВиМ» и Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) (рис. 1 и 2), очаги заболевания АЧС на территории Российской Федерации с 2007 по 2015 гг. регистрировались преимущественно в Южном, Северо-Кавказском, Центральном и Северо-Западном (с 2007 по 2011 гг.) федеральных округах [1, 7].

В качестве мер профилактики и борьбы с распространением АЧС на всей территории Российской Федерации, огласно инструкции [2], предусмотрены охранно-ограничительные мероприятия, разработана программа компартиментализации свиноводческих хозяйств [5], проводятся мониторинговые исследования в популяциях диких животных, в том числе утверждены программы по регулированию численности кабанов в неблагополучных регионах.

Тем не менее адаптивные меры, мониторинг вместо надзора, борьба со следствием, а не причиной наименее результативны. По данным статистики, из программ контроля выпадает более половины неблагополучного поголовья — многие тысячи свиней, содержащихся в ЛПХ, и масса продуктов свиноводства [4]. Всё это в совокупности способствует возникновению новых случаев АЧС.

Добиться искоренения заболевания на территории Южного, Северо-Кавказского и Центрального федеральных округов Российской Федерации практически невозможно. В книге «Кодекс здоровья наземных животных» МЭБ (Кодекс МЭБ) для контроля, обеспечения и поддержания благополучия по инфекционным болезням животных наравне с компартиментализацией рекомендовано применение зонирования/регионализации территории страны по различным болезням.

Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по АЧС на территории Российской Федерации и стран Восточной Европы (данные МЭБ с 2007 по 2015 гг.)



Принимая во внимание вышеизложенное, основной концепцией формирования зон с разным зооанитарным статусом на территории страны должно являться функционирование карантинных зон при существовании ограничений на перемещение между зонами восприимчивых животных к АЧС и, как следствие, предотвращение распространения АЧС на территорию благополучных субъектов Российской Федерации [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации № 258 от 23.07.2010 г. «Об утверждении Правил определения зооанитарного статуса свиноводческих хозяйств, а также организаций, осуществляющих убой свиней, переработку и хранение продукции свиноводства».

Проект программы зонирования территории Российской Федерации по африканской чуме свиней на 2015 г., разработанный в ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Зонирование/регионализация — процедуры, проводимые на территории Российской Федерации с целью установления на территории страны субпопуляций, характеризующихся особым зооанитарным статусом по АЧС.

Исходя из проекта программы зонирования, формирование зон с разным зооанитарным статусом на территории страны применяется по отношению к субпопуляциям животных, выделяемым с учётом географических и административных критериев в рамках программы биобезопасности.

Процедуры, используемые для установления и поддержания особого зооанитарного статуса, зависят от особенностей эпизоотологии АЧС на конкретной территории (в частности, от присутствия определенных видов восприимчивых диких животных, системы содержания животных, кормовой базы), факторов окружающей среды, принимаемых мер биобезопасности и т.д. При этом полномочия, организация и инфраструктура ветеринарной службы (в т.ч. лабораторий) должны быть четко определены согласно положениям главы Кодекса МЭБ, посвящённой оценке ветеринарной службы, для гарантии надёжной изоляции зоны или региона [3].

При проведении программы зонирования необходимо предусматривать разделение территории страны по зооанитарному статусу популяции восприимчивых к АЧС животных на три зоны [6]:

1. благополучная зона;
2. зона наблюдения;
3. неблагополучная зона.

Благополучная зона по АЧС — субпопуляции домашних животных в административных субъектах Российской Федерации, в которых вспышек болезни не регистрировалось минимум 3 последних года; признаков инфекции вирусом АЧС в последние 12 месяцев зарегистрировано не было; комплекс мер надзора, нацеленный на домашних свиней, действует минимум 12 месяцев, ввоз (импорт) домашних свиней ведётся согласно положениям статей 15.1.5 или 15.1.6 Кодекса МЭБ; согласно результатам целевого надзора клинических признаков и вирусологических свидетельств АЧС в популяции диких свиней/кабанов за последние 12 месяцев выявлено не было; наличие диких свиней с антителами к вирусу АЧС в возрасте 6–12 месяцев не подтверждено за последние 12 месяцев; импорт диких свиней ведётся согласно требованиям статьи 15.1.7 Ко-

декса МЭБ; функционирует экстренная программа на случай возникновения вспышек АЧС или формирования зоны наблюдения [4].

Территориально благополучная зона по АЧС — это административные субъекты Российской Федерации, не включенные в состав зоны наблюдения и неблагополучной по АЧС зоны, в соответствии с зооанитарным статусом и эпизоотическим благополучием по АЧС.

Зона наблюдения (контрольная зона) — субпопуляции животных, располагающихся на территории субъектов Российской Федерации благополучной зоны по АЧС. Зона организуется с целью усиленного контроля за перемещением восприимчивых животных и продукции животного происхождения из зоны, неблагополучной по АЧС, на территорию благополучной зоны.

В зоне утверждены и действуют программы активного надзора и экстренного реагирования на случай возникновения АЧС с целью своевременной активизации мероприятий, характерных для неблагополучной по АЧС зоны. Популяция восприимчивых животных, содержащаяся в зоне наблюдения, идентифицируется как относящаяся к данной территории, в ней проводится усиленный надзор (как пассивный, так и целевой), в т.ч. установлено, что инфекция вирусом АЧС отсутствует в популяциях диких свиней/кабанов данной зоны, и при условии, что результаты проводимого надзора были признаны отрицательными, принимаются зооанитарные меры в целях предупреждения распространения вируса АЧС на остальную территорию страны или в другие зоны.

Принимая во внимание существующие физические и географические кордоны, надзорные мероприятия

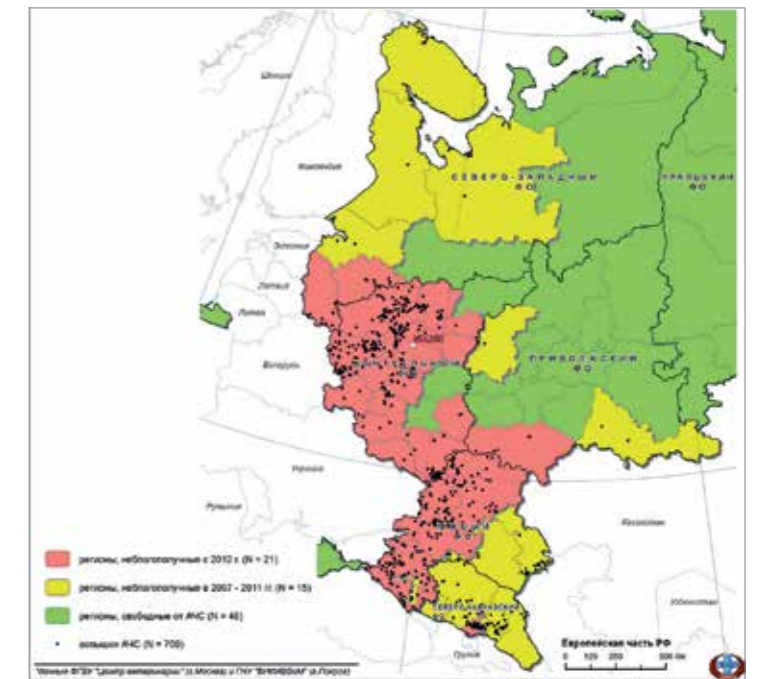
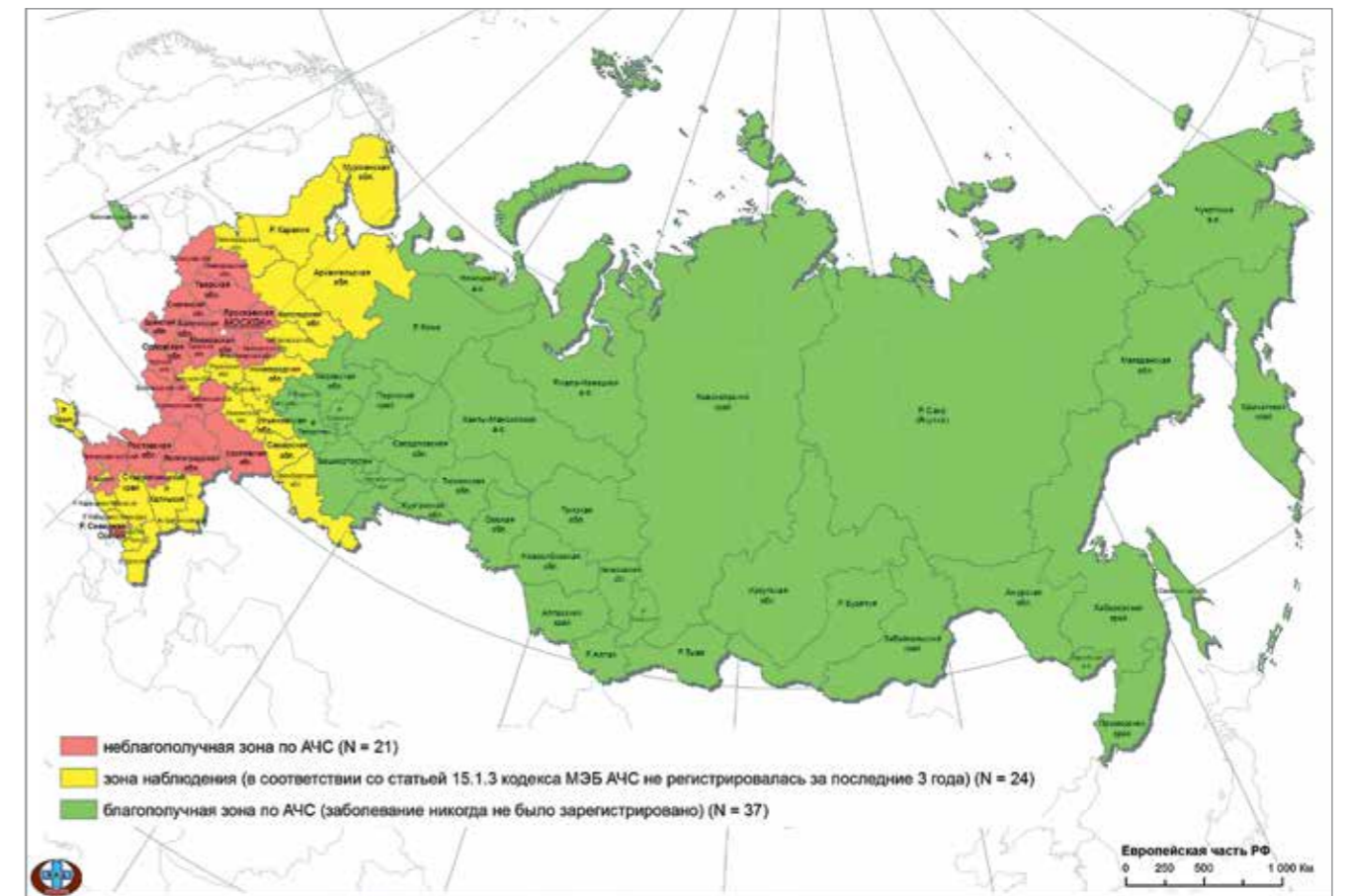


Рис. 2. Территория распространения АЧС в Российской Федерации

проводятся непрерывно. Кроме того, зона наблюдения управляется так, чтобы в любой момент можно было представить доказательства того, что товары, предназначенные для международной/внутренней торговли,

Рис. 3. Проект зонирования территории Российской Федерации по АЧС на 2015 г.



происходят только из субъектов Российской Федерации благополучной зоны по АЧС, т.е. выполняется барьерная функция по разграничению благополучной и неблагополучной по АЧС зон.

Зона наблюдения организуется на глубину не менее одного субъекта Российской Федерации, благополучного по АЧС, в котором вспышек заболевания не регистрировалось минимум 3 последних года, и/или в зонах возможного заноса вируса АЧС (глубиной не менее 100–150 км от эпизоотического очага).

Неблагополучная зона по АЧС — административные субъекты Российской Федерации, в которых были зарегистрированы случаи вспышек АЧС за последние 3 года или установлена циркуляция вируса АЧС в популяции диких свиней/кабанов в последние 12 месяцев, а также наличие у диких свиней/кабанов в возрасте 6–12 месяцев антител к вирусу АЧС в последние 12 месяцев [3, 6].

В случае возникновения локальной вспышки АЧС в субъекте/регионе или зоне, обладавшей до этого момента статусом благополучия, с целью снижения до минимума влияния на остальную территорию страны или зоны (в зависимости от характера и степени распространения), объявляют неблагополучие по АЧС, накладывают карантин и проводят мероприятия согласно «Инструкции по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней» [2].

В благополучных зонах по АЧС, при функционировании карантинных зон и существовании ограничений на перемещение между зонами восприимчивых животных из неблагополучных зон, экспортно-импортные торгово-транспортные операции не прекращаются.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате формирования зон с разным зооанитарным статусом условное территориальное деление страны может быть организовано следующим образом:

1) **Благополучная зона** — административные субъекты/регионы Российской Федерации, в которые территориально не включены субъекты неблагополучной зоны в соответствии с зооанитарным статусом и эпизоотическим благополучием по АЧС.

2) **Зона наблюдения** — выполняет контрольно-барьерную функцию по разграничению зон и организуется на глубину не менее одного субъекта Российской Федерации благополучной зоны по АЧС, где не регистрировались очаги заболевания более 3 лет, а также в зонах возможного заноса вируса АЧС (не менее 100–150 км от эпизоотического очага).

3) **Неблагополучная зона** — организуется на глубину административных субъектов/регионов, имеет общую границу с зоной наблюдения (контрольной зоной) (рис. 3).

Из проекта зонирования территории Российской Федерации по АЧС, представленного на рис. 3, следует, что неблагополучная зона и зона наблюдения охватывают субъекты РФ с наибольшей плотностью поголовья свиней, за исключением восьми субъектов в Уральском, Приволжском и Сибирском федеральных округах (Челябинская, Омская, Кемеровская области, Алтайский край и республики Марий-Эл, Чувашия, Удмуртия, Татарстан) (рис. 4).

В результате формирования зон с разным зооанитарным статусом в неблагополучную зону и зону наблюдения (рис. 5) попадают регионы с наиболее раз-

Рис. 4. Плотность поголовья свиней на территории Российской Федерации относительно общей площади региона (данные за 2014 г.)

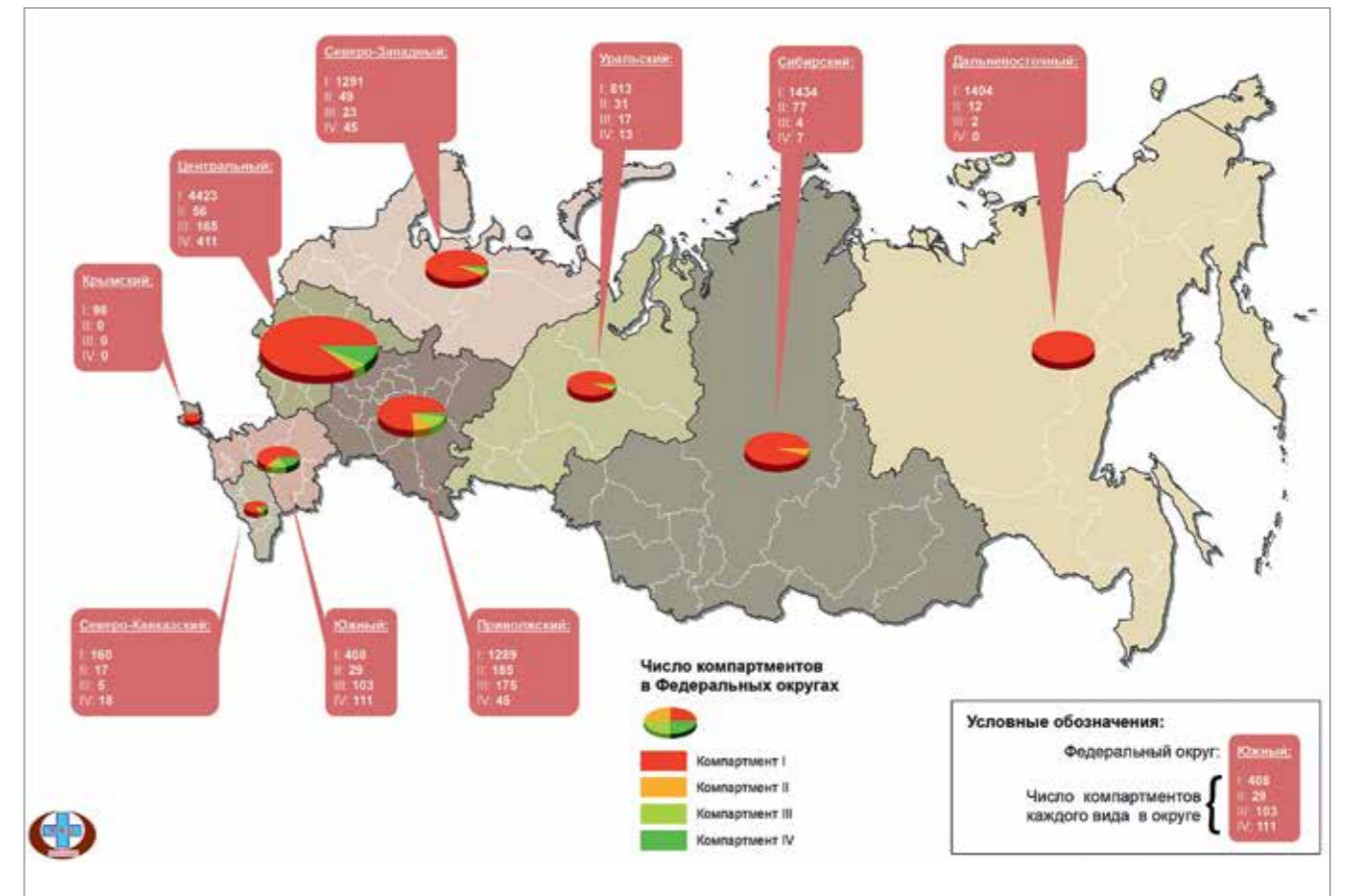
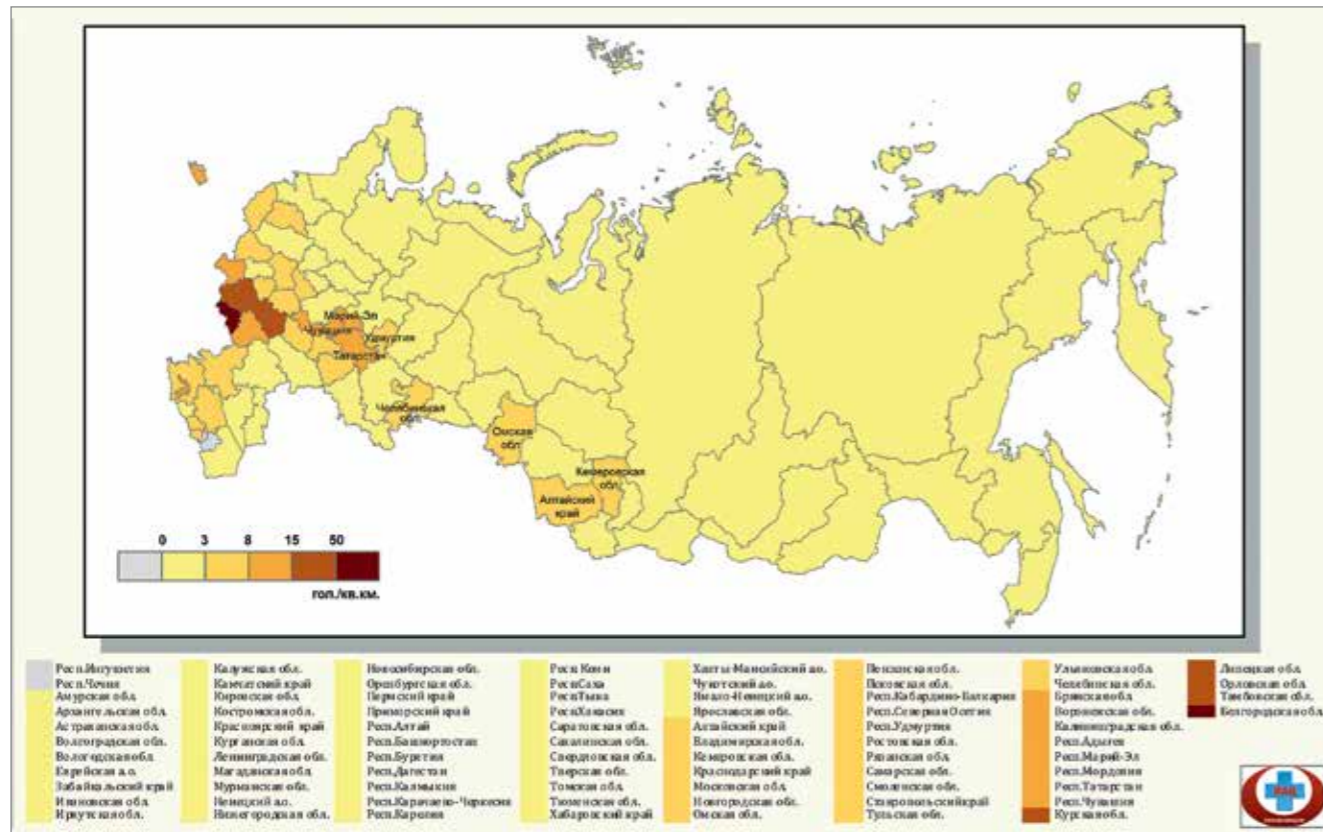


Рис. 5. Компартиментализация свиноводческих комплексов (холдингов) на территории Российской Федерации на 2015 г.

витым свиноводством, следовательно, без реализации возможностей, представляемых компартиментализацией, предприятия, расположенные в этих зонах, не смогут в рамках биобезопасности поставлять продукцию в благополучные регионы РФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ветеринарная служба региона, который включен в состав соответствующей зоны, должна проводить оценку необходимых и имеющихся средств для поддержания соответствующего санитарного статуса, систематически осуществлять активный надзор за болезнью в популяции домашних и диких животных и в случае необходимости подтверждать на основании подробной документации, предоставляемой импортирующим регионам или странам, что она действительно исполняет рекомендации по созданию и поддержанию соответствующей зоны [1].

Потребность в формировании зоны с особым зооанитарным статусом (зоны наблюдения) на территории благополучных по АЧС субъектов РФ является необходимым условием программы, поскольку в данных зонах должен осуществляться усиленный надзор (активный, в том числе целевой) и контроль за перемещением восприимчивых животных и необезвреженной продукции свиноводства.

Предполагается, что программа зонирования территории РФ по АЧС будет способствовать предотвращению распространения заболевания в благополучную

зону по АЧС, с учётом мер по усиленному контролю и надзору в зоне наблюдения, и достижению главной цели — получению и поддержанию статуса благополучия по АЧС на территории всей страны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирная организация здравоохранения животных (МЭБ). — URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statuslist.
2. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней: утв. ГУВ МСХ СССР 21.11.1980 г.
3. Кодекс здоровья наземных животных. Т. 1–2 / МЭБ. — 24-е изд. — Paris, France, 2015.
4. Макаров В.В., Грубый В.А. Африканская чума свиней: эпизоотический полиморфизм и контроль // Ветеринария. — 2013. — № 8. — С. 16–22.
5. Об утверждении правил определения зооанитарного статуса свиноводческих хозяйств, а также организаций, осуществляющих убой свиней, переработку и хранение продукции свиноводства: приказ № 258 от 23.07.2010 г. МСХ РФ // Вопросы норм.-прав. регулирования в ветеринарии. — 2010. — № 3. — С. 15–20.
6. Проект «Правила регионализации в Российской Федерации». — URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/news/files/6760/rules.pdf>.
7. Эпизоотическая ситуация в России. — URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/asf/territory/>.



УДК 619:616-0024:616-078:639.3

ВСПЫШКА ВЕСЕННЕЙ ВИРЕМИИ КАРПОВЫХ РЫБ В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РФ В 2014 ГОДУ

А.А. Пичуева¹, М.И. Доронин²

¹ старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: pichueva@arriah.ru

² ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: doronin@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В мае 2014 г. в Приволжском федеральном округе Российской Федерации при исследовании 30 проб патологического материала карповых рыб методами вирусвыделения в клеточных линиях ЕРС и FHM, сэндвич-варианта ИФА, РИФ, РАЛ, ОТ-ПЦР, ОТ-ПЦР-РВ были выявлены 2 изолята вируса весенней виiremии карпа. Определены титры инфекционной активности и концентрация антигена вируса в патологическом материале карповых рыб.

Ключевые слова: изоляты вируса весенней виiremии карпа, семейство *Rhabdoviridae*, род *Novirhabdovirus*, вид *Caprio Novirhabdovirus*, Приволжский федеральный округ.

UDC 619:616-0024:616-078:639.3

OUTBREAK OF SPRING VIRAEMIA OF CARP IN PRIVOLZHISKY FEDERAL DISTRICT IN 2014

A.A. Pichueva¹, M.I. Doronin²

¹ Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: pichueva@arriah.ru

² Leading Veterinarian, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: doronin@arriah.ru

SUMMARY

Two isolates of spring viraemia of carp virus were detected when testing 30 samples of carp pathological material by virus isolation using EPC and FHM cell lines and by sandwich ELISA, IFA, leucocyte agglutination test, RT-PCR, and real time RT-PCR in the RF Privolzhsky Federal District in May 2014. Infectivity titres as well virus antigen concentration in carp pathological material were determined.

Key words: isolates of spring viraemia of carp virus, *Rhabdoviridae* family, *Novirhabdovirus* genus, *Caprio Novirhabdovirus* species, Privolzhsky Federal District.

ВВЕДЕНИЕ

Весенняя виiremия карпа (ВВК, SVC) — высококонтагиозное вирусное заболевание карповых рыб, проявляющееся в форме экссудативно-геморрагического синдрома с высокой летальностью [1, 8]. Возбудитель принадлежит к порядку *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Novirhabdovirus*, виду *Caprio Novirhabdovirus* [6].

Эпизоотии ВВК регистрируют у карпа, а также у обыкновенного сома, золотого карася, белого амура, белого и пестрого толстолобиков при выращивании последних в поликультуре с карпом. Вспышки заболевания обычно возникают у годовиков в весеннее время (апрель – начало июня), но иногда и в осенний период. Наиболее остро ВВК протекает при температуре воды 11–17°C и затухает при 18°C и выше [1, 6, 8].

Данная инфекция включена в перечень заболеваний, обязательно декларируемых Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ, OIE) [6]. ВВК распространен в европейских странах с развитым карповодством, для которых свойственен достаточно продолжительный зимний период с низкими температурами. Природные очаги ВВК выявлены в Краснодарском крае, Ростовской области, Центрально-Чернозёмной зоне РФ, Украине, Молдавии, Белоруссии, Литве и Грузии. В 2003–2005 гг. зарегистрированы вспышки ВВК в Московской и Тверской областях. Во многих хозяйствах данное заболевание перешло в хроническую форму. В некоторых рыбохозяйствах у аквакультуры было установлено вирусносительство ВВК без наличия клинических признаков заболевания (Владимирская, Московская, Калужская, Кировская области) [1, 5].

Согласно Руководству МЭБ, диагноз ВВК ставят на основании анализа эпизоотологических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений, подтвержденных результатами лабораторной диагностики. При клиническом осмотре у рыб, пораженных вирусом ВВК, отмечают вялость, экзофтальм, увеличение передней части брюшка, анемию, точечные кровоизлияния в периокулярной соединительной ткани. При вскрытии в полости тела рыбы обнаруживают множественные кровоизлияния на серозных оболочках внутренних органов и мышечной ткани, анемию печени, почки и селезёнки. Однако клиническая картина и патологоанатомические изменения при вирусных болезнях рыб не являются патогномоничными, поэтому их подтверждают результатами лабораторной диагностики, которая предусматривает вирусвыделение в чувствительных клеточных линиях, серологическую идентификацию антигена с помощью ИФА и РИФ, а также выявление РНК вируса ВВК в ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР-РВ [6].

Цель исследований — провести комплексный лабораторный анализ 30 проб патологического материала

зеркального карпа, толстолобика и белого амура, отобранных из рыбоводческих хозяйств Приволжского федерального округа в мае 2014 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусы. В качестве положительных контролей использовали штамм «Яяла» вируса ВВК, штамм «Аркус 32/87» вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани (ИНГТ) и штамм «Аланд» вируса геморрагической септицемии (ВГС) лососевых рыб с титрами инфекционной активности 7,0–7,5 Ig ТЦД₅₀/см³. Указанные штаммы получены из Государственного научно-исследовательского института ветеринарии и сельского хозяйства (г. Хельсинки, Финляндия) и депонированы в КШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Клеточные линии. Согласно Руководству МЭБ, для выделения вируса ВВК из патологического материала применяли культуру клеток папулезной эпителиомы карпа (ЕРС) и хвостового стебля черного толстолоба (FHM).

Отбор проб патологического материала проводили согласно «Методическим рекомендациям по отбору проб патологического материала от рыб» [3].

Вирусвыделение из патологического материала в культурах клеток рыб проводили в соответствии с Руководством МЭБ. Титр инфекционной активности определяли согласно методике Рида и Менча [4].

Реакция агглютинации латекса (РАЛ). В работе применяли белые полистирольные латексные частицы (ООО «Диафарм», г. Санкт-Петербург) с концентрацией поверхностных -NH₂-групп 1,98 мкг-экв/м², диаметром микросфер 340 нм. Латексные диагностикумы синтезировали в ФГБУ «ВНИИЗЖ» на основе поликлональных антител против антигена вируса ВВК и применяли для исследования патматериала карповых рыб. Анализ проводили по стандартной схеме, описанной Molina-Bolivar J.A. [7].

Наборы реактивов. В работе использовали диагностический набор для обнаружения вируса ВВК в ТФ прямом сэндвич-варианте ИФА (Test-line, Чехия), набор для выявления вируса ВВК методом РИФ (Cypress, Бельгия). Для выделения РНК вируса ВВК применяли набор реактивов «РИБО-сорб вариант 100» ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Определение концентрации антигена вируса ВВК, выраженной в мкг/мл, проводили в ТФ прямом сэндвич-варианте ИФА с помощью градуировочного графика (по 3 измерениям) на портативном многоканальном спектрофотометре (построение кривой проводили с использованием компьютерной программы Magellan for F50 V 7.0) согласно наставлениям фирмы-производителя.

Праймеры. В соответствии с Руководством МЭБ для выявления РНК вируса ВВК методом гнездовой ОТ-ПЦР применяли праймеры, синтезированные на предприятии «Амплипрайм», структура которых представлена в табл. 1.

Таблица 1
Структура праймеров для выявления РНК вируса ВВК в гнездовой ОТ-ПЦР

Этапы гнездовой ПЦР	Название праймеров	Структура олигонуклеотида	Исследуемый участок кДНК	Размер ампликона п.н.
1	SVCV F*1	5'-TCT-TGG-AGC-CAA-ATA-GCT-CAR-RTC-3'	390-1103 н.п. гена G	714
	SVCV R**2	5'-AGA-TGG-TAT-GGA-CCC-CAA-TAC-ATH-CAN-CAY-3'		
2	SVCV F1	5'-TCT-TGG-AGC-CAA-ATA-GCT-CAR-RTC-3'	405-1010 н.п. гена G	606
	SVCV R4	5'-CTG-GGG-TTT-CCN-CCT-CAA-AGY-TGY-3'		

*F — прямой праймер, **R — обратный праймер.

Таблица 2
Результаты выделения вируса ВВК из патматериала карповых рыб (пробы 444/4 и 444/6) (n=3)

Шифр пробы	Накопление вируса в культуре клеток ЕРС, Ig ТЦД ₅₀ /см ³			Выделение вируса в культуре клеток FHM, Ig ТЦД ₅₀ /см ³		
	1 пассаж	2 пассаж	3 пассаж	1 пассаж	2 пассаж	3 пассаж
444/4	4,55±0,13	4,81±0,14	5,07±0,12	4,50±0,14	4,91±0,10	5,03±0,13
444/6	4,94±0,11	5,23±0,12	5,44±0,15	4,95±0,11	5,30±0,15	5,47±0,10

Обратная транскрипция (ОТ). Для получения кДНК вируса ВВК готовили 20 мкл смеси, состоящей из 2 мкл 10х буферного раствора (50 мМ трис, рН 8,3, 75 мМ КСl, 10 мМ DTT), 2,4 мкл MgCl₂ (25 мМ), 8 мкл смеси dNTP (10 мМ), 1 мкл RNase Inhibitor (20 U/мкл), 2,6 мкл деионизированной воды, 1 мкл SVCV R2 праймера (100 пмоль), 1 мкл обратной транскриптазы (Promega), 2 мкл элюата РНК.

Полимеразная цепная реакция. Для проведения ПЦР готовили 50 мкл смеси, состоящей из 10 мкл 5х ПЦР-буферного раствора (50 мМ КСl, 10 мМ трис/НСl, 0,1% тритон X-100), 6 мкл MgCl₂ (25 мМ), 2 мкл смеси dNTP (10 мМ), 2 мкл SVCV R2 праймера (50 пмоль) и 2 мкл SVCV F1 праймера (50 пмоль), 0,5 мкл Taq-полимеразы, 25 мкл деионизированной воды, 2,5 мкл кДНК. Полученную смесь подвергали термоциклированию при следующих режимах: 1 мин при 95°C, 1 мин при 55°C, 1 мин при 72°C в течение 35 циклов. На заключительном этапе смесь прогревали в течение 10 мин при 72°C. Полученные фрагменты гена G вируса ВВК размером 714 п.н. детектировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле.

Для проведения второй ПЦР готовили 50 мкл смеси, состоящей из компонентов для первой ПЦР. При этом SVCV F2 праймер заменяли на SVCV R4. Режим термоциклирования не изменяли. Полученные фрагменты гена G вируса ВВК размером 606 н.п. детектировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле [6].

Обратная транскрипция – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Анализ проводили по стандартной методике [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В мае 2014 г. в ряде рыбоводческих хозяйств Приволжского федерального округа сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» был проведен отбор и исследование 30 проб патологического материала от зеркального карпа, белого толстолобика и белого амура на ВВК. Отлов рыбы осуществляли из прудовой воды с температурой 14°C, при которой наиболее вероятно репродук-

ция вируса ВВК [5]. В соответствии с Руководством МЭБ, каждая проба была сформирована из 20–30 рыб [3, 6]. Конечной целью отбора проб являлось обнаружение возбудителя болезни в рыбоводном хозяйстве не только при гибели рыбы, но и при появлении первых клинических признаков и на скрытое вирусоносительство. Явные клинические признаки ВВК, за исключением вялости рыбы, отсутствовали. Органолептические показатели были в норме. Патологоанатомические изменения рыб отсутствовали, кроме двух проб, в которых у некоторых рыб были обнаружены единичные незначительные кровоизлияния на серозных оболочках внутренних органов и мышечной ткани, что свидетельствовало о начальной стадии болезни.

После оценки эпизоотологических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений карповых рыб в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводили комплексное исследование 30 отобранных проб патматериала. Осуществляли выделение вируса из патологического материала в перевиваемых клеточных линиях ЕРС и FHM, чувствительных к данному вирусу [2], в течение 3 последовательных пассажей. Результаты анализа представлены в табл. 2.

По результатам первого пассажа, проводимого в течение 10 суток, титры инфекционной активности вируса ВВК из проб 444/4 и 444/6 составляли в культуре клеток ЕРС 4,55±0,13 и 4,94±0,11 Ig ТЦД₅₀/см³ соответственно, в клеточной линии FHM — 4,50±0,14 и 4,95±0,11 Ig ТЦД₅₀/см³ соответственно. Эпизоотически значимым является титр вируса 5,0 Ig ТЦД₅₀/см³ и выше. Учитывая, что по итогам третьего пассажа уровни накопления вируса ВВК увеличились до 5,03–5,07 Ig ТЦД₅₀/см³ (для пробы 444/4) и 5,44–5,47 Ig ТЦД₅₀/см³ (для пробы 444/6), дальнейшая репродукция патогена в организме рыбы при оптимальных условиях среды вызвала бы ее массовую гибель. По этой причине на территории очага инфекции необходимо было провести комплексные ветеринарно-санитарные и карантинные мероприятия, уничтожить промысловую ихтиофауну пруда на территории очага болезни и ограничить торговлю.

Рис. 1. Результаты исследования в РАЛ проб 444/4 (А) и 444/6 (Б) на ВВК (В — положительный контроль на ВВК, Г — отрицательный контроль на ВВК)

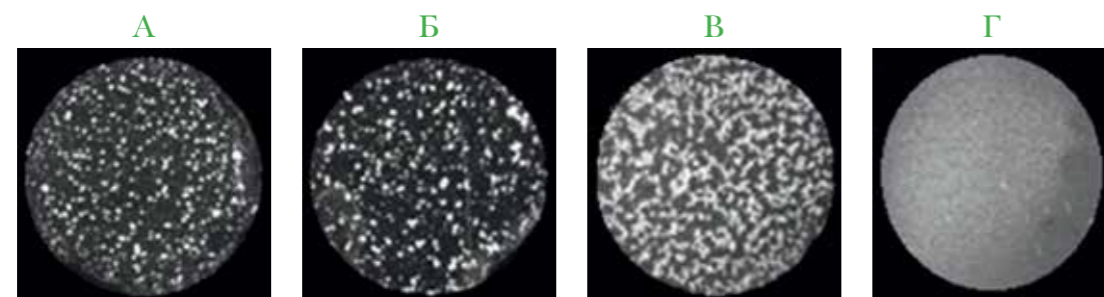


Таблица 3
Идентификация в РПИФ изолятов вируса ВВК, выделенных из проб 444/4 и 444/6 (n=3)

	Проба 444/4	Проба 444/6	К+ ВВК	К- ВВК	К+ ИНГТ	К- ИНГТ	К+ ВГС	К- ВГС
Исследование на ВВК	++++	++++	++++	-	-	-	-	-
Исследование на ИНГТ	-	-	-	-	++++	-	-	-
Исследование на ВГС	-	-	-	-	-	-	++++	-

«-» — отсутствие специфичного флуоресцентного свечения (отрицательный результат); «++++» — наиболее яркое четкое свечение (положительный результат).

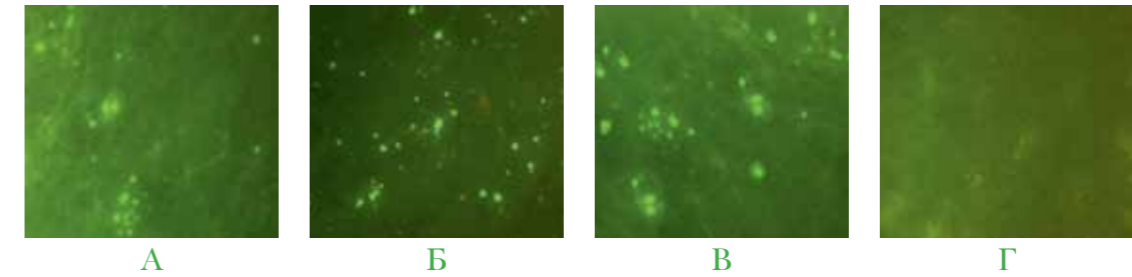


Рис. 2. Результаты исследования в РПИФ проб 444/4 (А) и 444/6 (Б) на ВВК (В — положительный контроль на ВВК, Г — отрицательный контроль на ВВК)

Для быстрого выявления вируса ВВК 30 проб патологического материала карповых рыб анализировали в реакции агглютинации латекса (РАЛ), результаты которой отражены на рис. 1. В качестве положительного и отрицательного контролей применяли суспензию клеток ЕРС, инфицированную и не инфицированную вирусом ВВК с титром накопления 6,0 Ig ТЦД₅₀/см³.

Как видно из рис. 1, пробы 444/4 и 444/6 вызвали формирование агглютинации, что свидетельствовало о содержании в них антигена вируса ВВК. При анализе остальных 28 проб патматериала карповых рыб были получены отрицательные результаты.

Серологическую идентификацию вируса ВВК проводили также методом РПИФ, исследуя монослой культуры клеток ЕРС и FHM, пораженный в результате

первого пассажа вирусосодержащего патологического материала (пробы 444/1-30). В качестве положительно-го контроля применяли штамм «Яяла» вируса ВВК. Для подтверждения специфичности использовали штамм «Аркус 32/87» вируса ИНГТ и штамм «Аланд» вируса ВГС лососевых рыб. Отрицательным контролем служил клеточный монослой ЕРС и FHM, не инфицированный вирусами ВВК, ИНГТ и ВГС. Результаты исследования отражены на рис. 2 и в табл. 3.

Как следует из рис. 2 и табл. 3, по результатам РПИФ монослои культур клеток ЕРС и FHM были инфицированы вирусом ВВК и проявили отрицательную реакцию с антителами против антигенов гетерологичных вирусов (ИНГТ, ВГС). Таким образом, по результатам РПИФ исследуемые пробы 444/4 и 444/6 содержали вирус ВВК. При оценке монослоя, обработанного остальными 28 пробами патматериала карповых рыб, специфичные комплексы с антителами против вируса ВВК не форми-

Таблица 4
Идентификация в сэндвич-варианте ИФА вируса ВВК, выделенного из проб 444/4 и 444/6 (Оренбургская область) (n=3)

Исследуемые образцы	Значения оптической плотности		
	Исследование на ВВК	Исследование на ИНГТ	Исследование на ВГС
Проба 444/4	1,341±0,091	0,091±0,013	0,075±0,011
Проба 444/6	1,422±0,110	0,077±0,012	0,092±0,008
К+ ВВК ¹	1,755±0,101	0,065±0,010	0,070±0,011
К- ВВК ²	0,081±0,008	0,086±0,011	0,074±0,013
К+ ИНГТ ³	0,087±0,012	1,894±0,112	0,079±0,012
К- ИНГТ ⁴	0,091±0,009	0,076±0,011	0,090±0,010
К+ ВГС ⁵	0,062±0,012	0,075±0,008	1,862±0,011
К- ВГС ⁶	0,071±0,011	0,081±0,014	0,069±0,005
ТБСТ	0,061±0,010	0,063±0,009	0,055±0,007

¹ суспензия клеток ЕРС, инфицированная вирусом ВВК с титром накопления 6,0 IgТЦД₅₀/см³;
² суспензия клеток ЕРС, не зараженная вирусом ВВК;
³ суспензия клеток RTG-2, инфицированная вирусом ИНГТ с титром накопления 6,0 IgТЦД₅₀/см³;
⁴ суспензия клеток RTG-2, не зараженная вирусом ИНГТ;
⁵ суспензия клеток RTG-2, инфицированная вирусом ВГС с титром накопления 6,0 IgТЦД₅₀/см³;
⁶ суспензия клеток RTG-2, не зараженная вирусом ВГС.



Рис. 3. Результаты исследования проб 444/4 и 444/6 на BVK методом ОТ-ПЦР

ровались, что свидетельствовало об отсутствии данного вируса в пробах.

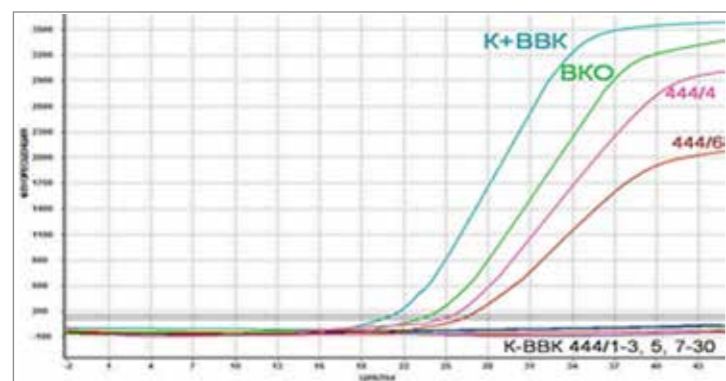
С целью выявления антигена вируса BVK 30 проб патологического материала карповых рыб из хозяйства Приволжского федерального округа исследовали в ТФ прямом сэндвич-варианте ИФА. Проводили качественный и количественный анализ содержания антигена вируса BVK в супернатанте патматериала. В качестве безантигенного контроля использовали трис-солевой буферный раствор с добавлением 0,1% твина-20 (ТБСТ). Результаты исследования представлены в табл. 4.

Как следует из табл. 4, пробы 444/4 и 444/6 содержали вирус BVK. С помощью калибровочной кривой определили, что концентрация антигена вируса BVK в пробах 444/4 и 444/6 составляла 1,34 мкг/мл и 3,29 мкг/мл соответственно. При исследовании остальных 28 проб патматериала карповых рыб антиген вируса BVK не был выявлен.

Для молекулярно-биологической идентификации вируса BVK в исследуемых пробах карповых проводили ОТ-ПЦР с выявлением ампликонов в 2% агарозном геле и ОТ-ПЦР-РВ с флуоресцентной детекцией результатов. Полученные данные отражены на рис. 3 и 4.

Методом ОТ-ПЦР-РВ оценивали титры накопления вируса BVK, которые составляли $4,50 \pm 0,15$ и $4,90 \pm 0,13$ Ig ТЦД₅₀/см³ соответственно, что было подтверждено результатами метода вирус выделе-

Рис. 4. Результаты исследования проб 444/4 и 444/6 на BVK методом ОТ-ПЦР-РВ



ния в культурах клеток ЕРС и FHM. При исследовании остальных 28 проб патматериала карповых рыб РНК вируса BVK не были выявлены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований 30 проб патологического материала карповых рыб, отобранных в рыбоводческих хозяйствах Приволжского федерального округа, были обнаружены 2 изолята вируса BVK. Для быстрого выявления возбудителя заболевания использовали методы РАЛ и ОТ-ПЦР-РВ, по итогам проведения которых были получены положительные результаты. Положительный диагноз был подтвержден методами вирусыведения из патматериала в культурах клеток ЕРС и FHM, РПИФ, ТФ сэндвич-вариантом ИФА и ОТ-ПЦР. Были определены титры инфекционной активности и концентрация антигена вируса BVK. Дальнейшая работа по изучению биологических свойств выделенных изолятов вируса BVK будет направлена на доказательство их этиологической роли в процессе постановки биопробы и определение различия нуклеотидного состава генов N и G изолятов с помощью секвенирования. На основе полученных результатов планируется проведение депонирования изученных изолятов вируса BVK в КШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Весенняя виремия карпов / Т.Д. Пичугина, М.Н. Борисова, Е.А. Завьялова [и др.] // Ветеринария. — 2004. — № 5. — С. 28–30.
2. Завьялова Е.А. Цитоморфологическая характеристика культур клеток рыб и их чувствительность к некоторым вирусам: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2006. — 25 с.
3. Методические рекомендации по отбору проб для вирусологического исследования на обнаружение вирусов геморрагической септицемии, инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососевых, инфекционного панкреатического некроза, весенней виiremии карпа / В.А. Пильнов, С.С. Рыбаков, Н.В. Мороз; ФГБУ «ВНИИЗЖ». — Владимир, 2013. — 17 с.
4. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1975. — 297 с.
5. Щелкунов И.С. Разработка тест-систем для идентификации возбудителя весенней виiremии карпа на основе методов анализа генома: дис. ... канд. биол. наук. — Покров, 2005. — 110 с.
6. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals / OIE. — 6th ed. — Paris, France, 2009. — 383 p.
7. Molina-Bolivar J.A., Galisteo-Gonzalez F. Latex immunoagglutination assays // J. Macromolecular Sci. Part C-Polymer Reviews. — 2005. — Vol. 45. — P. 59–98.
8. Spring viraemia of carp / W. Ahne, H.V. Bjorklund, S. Essbauer [et al.] // Dis. Aquat. Org. — 2002. — Vol. 52. — P. 261–272.

ЗДЕСЬ МОЖЕТ БЫТЬ ВАША СТАТЬЯ!

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

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

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

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

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА



Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.



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



Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

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

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

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ*

1. УДК;
2. Название статьи;
3. Имя, отчество, фамилия автора;
4. Место работы автора, должность, ученая степень, адрес электронной почты;
5. Резюме (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): около 7–8 строк (300–500 знаков с пробелами);
6. Ключевые слова (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи;

7. Введение;
8. Материалы и методы;
9. Результаты и обсуждения;
10. Выводы и заключение;
11. Список литературы (т.е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): Правила составления ГОСТ Р 7.05-2008. Не более 5–7 источников;
12. Иллюстрированные материалы (фото, картинки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек

на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно);
13. Рецензия на статью (доктор наук) и решение экспертной комиссии/руководителя, заверенные круглой печатью учреждения.

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

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

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

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

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Ветеринария сегодня» можно оформить через каталог «Газеты. Журналы» ОАО Агентство «Роспечать». Подписной индекс издания 70460. Стоимость подписки на полугодие (два выпуска журнала) 1520 руб. 00 коп. Подписаться на журнал можно в любом отделении «Почты России».

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

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



ФГБУ «ВНИИЗЖ» образовано в 1958 г. как Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт (ВНИЯИ). Сегодня учреждение является уникальным, признанным во всем мире центром по решению проблем здоровья животных и птиц.

ОСНОВНЫМИ НАПРАВЛЕНИЯМИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЦЕНТРА В ОБЛАСТИ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ ПТИЦ ЯВЛЯЮТСЯ:

– разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоэффективных лечебно-профилактических и диагностических препаратов против болезней птиц

ФГБУ «ВНИИЗЖ» ПРОИЗВОДИТ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНЕЙ ПТИЦ:

– болезнь Гамборо, болезнь Ньюкасла, бронхит, болезнь Марека, ССЯ-76, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный энцефаломиелит, реовирусный теносиновит, гидроперикардит, микоплазмоз, оспа, гепатит утят, метапневмовирусная инфекция птиц и т. д.

ДИАГНОСТИКУМЫ:

• Определение антител в ИФА с использованием тест-систем отечественного и импортного производства

• Индикация в полимеразной цепной реакции (ПЦР) геномов вирусов и бактерий:

- инфекционного бронхита кур
- инфекционной бурсальной болезни

- инфекционного энцефаломиелита птиц
- инфекционного ларинготрахеита
- синдрома снижения яйценоскости–76
- болезни Марека
- ньюкаслской болезни
- реовируса птиц
- аденовируса птиц
- пневмовируса птиц
- гриппа птиц
- анемии птиц
- *Mycoplasma gallisepticum*
- *Mycoplasma synoviae*

• Идентификация с помощью секвенирования геномов вирусов инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, энцефаломиелита, реовируса

• Бактериологические исследования: диагностические исследования на бактериальные заболевания птиц методом полимеразной цепной реакции (гемофилез, орнитобактериоз, сальмонеллез, пастереллез и др.)

Важным аспектом деятельности ФГБУ «ВНИИЗЖ» является оказание научно-методической и практической помощи ветеринарным специалистам лабораторий и птицеводческих предприятий, разработка мероприятий для профилактики и ликвидации инфекционных болезней птиц. Ученые Центра ведут научное сопровождение продукции ФГБУ «ВНИИЗЖ» и



непрерывную консультативную деятельность в хозяйствах. Учреждение осуществляет подготовку научных кадров — аспирантов и соискателей, обучение специалистов, стажеров и практикантов, а также проводит курсы повышения квалификации по вопросам диагностики, профилактики и мерам борьбы с инфекционными болезнями птиц.

Контакты:

Почтовый адрес: Россия, 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец,
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Сектор продаж ветпрепаратов на территории РФ: тел. (4922) 26–15–25, 26–15–51, 52–99–24

Сектор экспорта и импорта ветпрепаратов: тел. (4922) 26–18–56

Отдел маркетинга и рекламы: тел. (4922) 26-15-12, 26-19-88, 26-17-65 (доб. 24-34)

сайт: <http://www.arriah.ru>

канал на Youtube: <https://www.youtube.com/channel/UCVPBOvjLZcxbEmJ1Qw3YYcw>