



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

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

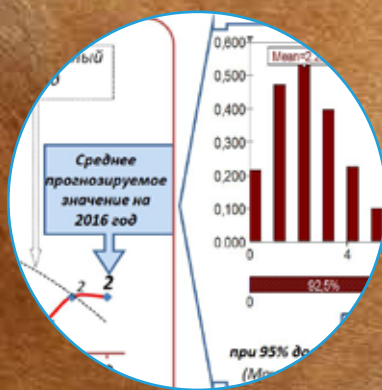
РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ
ЖУРНАЛ

VETERINARY TODAY RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL



**КУЛЬТУРАЛЬНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЯ
НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА,
ВЫДЕЛЕННОГО НА ТЕРРИТОРИИ
РФ В 2015 ГОДУ**
стр. 8

**CULTURAL AND BIOLOGICAL
PROPERTIES OF LUMPY SKIN
DISEASE AGENT ISOLATED
IN THE RUSSIAN FEDERATION
IN 2015 p. 14**



**КЛАССИЧЕСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ:
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ
ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(1996–2015 ГГ.)**
стр. 52

**CLASSICAL SWINE FEVER:
RETROSPECTIVE ANALYSIS
OF EPIDEMIC SITUATION
IN RUSSIAN FEDERATION
(1996-2015)**
p. 52



**ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ
ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ
ОСПЫ КУР И ОСПЫ ГОЛУБЕЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ
НА ТЕРРИТОРИИ РФ**
стр. 60

**STUDY OF PATHOGENICITY
OF FOWL POX AND PIGEON
POX VIRUS ISOLATES
RECOVERED IN RUSSIAN
FEDERATION**
p. 60

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 №3 (18) 2016 научный журнал



Главный редактор:

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

Шеф-редактор: Юлия Мелано

Выпускающие редакторы: Ольга Борисова, Ольга Лесных, Кристина Михеева
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, профессор, 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;



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 ВНИТИП, 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 ВНИВИФит 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.

Зарегистрированный товарный знак, свидетельство №514190

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 28 июля 2016 года

Дата выхода 00.07.2016

СОДЕРЖАНИЕ

НОВОСТИ

5 О визите Сергея Данкверта в подведомственный Россельхознадзору ФГБУ «ВНИИЗЖ»

6 О рассмотрении тематики ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Исполкоме СНГ

Признание МЭБ официального статуса России по ящуру

7 Бурдову Александру Николаевичу – 90 лет

БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

8 А.В. Кононов, С.В. Кононова, И.Н. Шумилова, А.А. Нестеров, А.В. Шишков, В.И. Диев, Р.В. Яшин, А.В. Мищенко
Культурально-биологические свойства возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота, выделенного на территории Российской Федерации в 2015 году

19 Н.Н. Луговская, С.Р. Кременчугская
Анализ результатов квалификационных слепых испытаний, проведенных референтной лабораторией диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2013–2015 гг.

27 А.В. Пискунов, А.В. Кононов, А.В. Мищенко
Проблема контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота

БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

37 Д.А. Лозовой, В.А. Стариков, Д.В. Михалишин, А.В. Борисов
Зависимость иммуногенности эмульсионной вакцины против ящура от иммунного статуса свиней

46 С.Г. Ремыга, А.С. Першин, И.В. Шевченко, А.С. Иголкин, А.А. Шевцов
Клинические и патологоанатомические изменения у диких европейских кабанов и домашних свиней при заражении вирусом африканской чумы свиней

52 А.С. Оганесян, А.А. Шевцов, М.А. Шибаяев, Ф.И. Коренной, Н.Е. Баскакова, А.К. Караулов
Классическая чума свиней: ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в Российской Федерации (1996–2015 гг.)

БОЛЕЗНИ ПТИЦ

60 С.А. Похвальный, А.Н. Спиридонов
Изучение патогенности изолятов вирусов оспы кур и оспы голубей, выделенных на территории Российской Федерации

65 В.А. Данилова, А.В. Потехин, И.А. Степанова
Особенности выделения и идентификации возбудителя инфекционного ринита (гемофилеза) кур

CONTENTS

CATTLE DISEASE

14 A.V. Kononov, S.V. Kononova, I.N. Shumilova, A.A. Nesterov, A.V. Shishkov, V.I. Diyeu, R.V. Yashin, A.V. Mischenko
Cultural and biological properties of lumpy skin disease agent isolated in the Russian Federation in 2015

23 N.N. Lugovskaya, S.R. Kremenchugskaya
Analyzing results of proficiency tests carried out by the FGBI ARRIAH reference laboratory for FMD diagnosis in 2013–2015

32 A.V. Piskunov, A.V. Kononov, A.V. Mischenko
Problem of contagious bovine pleuropneumonia

SWINE DISEASE

42 D.A. Lozovoy, V.A. Starikov, D.V. Mikhailishin, A.V. Borisov
Dependence of emulsion FMD vaccine immunogenicity on immune status of pigs

46 S.G. Remyga, A.S. Pershin, I.V. Shevchenko, A.S. Igolkin, A.A. Shevtsov
Clinical and post-mortem signs in European wild boars and domestic pigs infected with African swine fever virus

52 A.S. Oganesyanyan, A.A. Shevtsov, M.A. Shibayev, F.I. Korennoy, N.E. Baskakova, A.K. Karaulov
Classical swine fever: retrospective analysis of epidemic situation in Russian Federation (1996–2015)

AVIAN DISEASES

60 S.A. Pokhvalny, A.N. Spiridonov
Study of pathogenicity of fowl pox and pigeon pox virus isolates recovered in Russian Federation

65 V.A. Danilova, A.V. Potekhin, I.A. Stepanova
Peculiarities of isolation and identification of infections rhinitis in chickens (coryza)

НОВОСТИ

О ВИЗИТЕ СЕРГЕЯ ДАНКВЕРТА В ПОДВЕДОМСТВЕННЫЙ РОССЕЛЬХОЗНАДЗОРУ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

27 мая 2016 года подведомственный Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» посетила делегация Россельхознадзора во главе с его руководителем Сергеем Данквертом. В мероприятии также участвовали заместитель руководителя Светлана Алексеева и начальник управления делами, государственной службы и правового обеспечения Сергей Павлов.

В ходе посещения руководство отметило новый лабораторный комплекс для проведения вирусологических работ и диагностических исследований патогенных биологических агентов (ПБА) особо опасных заболеваний животных, мониторинга вышеназванных болезней и совершенствования средств диагностики и лечения этих болезней.

В рамках визита состоялось обсуждение и подведение итогов работы всех подразделений Центра за 2014–2015 гг. Сергеем Данквертом был проведен полный анализ работы учреждения. Рассмотрены основ-

ные цели и задачи на 2016 год. С докладами выступили директор ФГБУ «ВНИИЗЖ» Дмитрий Лозовой и сотрудники администрации, осветив результаты научно-практической и финансово-экономической деятельности.

Особое внимание было уделено работе филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым. Предоставлен полный отчет о текущей реконструкции, рассмотрены возникающие сложности и дальнейшие планы по развитию филиала.

В кратком напутственном слове Сергей Данкверт подчеркнул важность своевременного и оперативного выполнения поставленных задач, обратив внимание собравшихся на проблемные аспекты и пути их решения.

Все замечания и комментарии по совершенствованию и стратегическому планированию были приняты к исполнению.

Пресс-служба ФГБУ «ВНИИЗЖ»



О РАССМОТРЕНИИ ТЕМАТИКИ ФГБУ «ВНИИЗЖ» В ИСПОЛКОМЕ СНГ

20 июля 2016 года в Москве состоялось очередное заседание Комиссии по экономическим вопросам при Экономическом совете СНГ, являющейся рабочим органом Исполнительного комитета СНГ, в состав которой входят представители всех государств — участников СНГ.

Повесткой дня было предусмотрено рассмотрение 17 вопросов, касающихся различных сторон деятельности Содружества Независимых Государств.

К агропромышленному комплексу можно отнести вопросы о состоянии мелиорации земель сельскохозяйственного назначения и перспективах ее развития, о рекультивации территорий, подвергшихся воздействию уранодобывающих производств, вопросы ветеринарии. Несколько вопросов было связано с выполнением различных целевых программ СНГ, соглашений и с их уточнением, финансированием, использованием бюджетов органов СНГ и т.п.

На заседании по двум вопросам докладчиком выступил директор подведомственного Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» Д. Лозовой: «О ходе реализации Комплекса совместных мер государств — участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 года» и «Об эпизоотической ситуации в государствах — участниках СНГ». Эти доклады вызвали определенный интерес и одобрение у членов Комиссии. Были заданы вопросы по их тематике, высказаны пожелания по дальнейшей работе. В частности, представитель Республики Беларусь одобрительно отнесся к решению разработать Комплекс совместных действий по профилактике и борьбе с бешенством, порекомендовал подготовить подобные документы по профилактике и борьбе с другими инфекционными болезнями животных, в особенности с африканской чумой свиней.

Пресс-служба ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ПРИЗНАНИЕ МЭБ ОФИЦИАЛЬНОГО СТАТУСА РОССИИ ПО ЯЩУРУ

На прошедшей 84-й Генеральной сессии делегатов Всемирной организации здоровья животных (МЭБ) согласно рекомендации Научной комиссии МЭБ по болезням животных на основании документов, на-

правленных Делегатом России в МЭБ Генеральному директору МЭБ в августе 2015 г. и в марте 2016 г., единогласно было утверждено предложение о признании России страной с зоной, благополучной по ящuru без вакцинации, в соответствии с Ветеринарно-санитарным кодексом МЭБ по наземным животным (2015).

В эту зону включена большая часть территории России (50 субъектов РФ), на которой более 20 лет не регистрировалось вспышек ящuru и не осуществляется вакцинация животных против этой инфекции.

26 мая 2016 г. российской делегации был вручен сертификат, удостоверяющий этот официальный статус России по ящuru. Следует напомнить, что в течение 2015 г. сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» и Россельхознадзора активно велась работа в этом направлении. Как отметил присутствующий на сессии МЭБ министр сельского хозяйства Российской Федерации А.Н. Ткачев, это решение международного сообщества об официальном статусе России упростит допуск российской сельскохозяйственной продукции на международный рынок и откроет широкие перспективы для экспорта мясной продукции по всему миру.



БУРДОВУ АЛЕКСАНДРУ НИКОЛАЕВИЧУ — 90 ЛЕТ

15 СЕНТЯБРЯ — ЮБИЛЕЙНАЯ ДАТА ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ РСФСР, УЧАСТНИКА ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ, 11 ЛЕТ ПРОРАБОТАВШЕГО ДИРЕКТОРОМ ВНИИ (НЫНЕ ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Бурдов А.Н. родился 15 сентября 1926 года в селе Вязовка Майнского района Ульяновской области. В 1945 году, являясь курсантом военного училища, был отправлен на Дальний Восток, где участвовал в боях с Японией. В 1946 году после демобилизации из армии поступил учиться в Киевский ветеринарный институт. После окончания института в 1951 году А.Н. Бурдов по направлению МСХ СССР работал в Казахской ССР заведующим зооветеринарным участком, старшим ветеринарным врачом МТС, заведующим районной ветеринарной лабораторией.

В 1959–1962 годах обучался в очной аспирантуре при Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии, после окончания которой был принят на должность главного ветеринарного врача Главного управления ветеринарии МСХ СССР. В 1963 году защитил кандидатскую диссертацию.

В апреле 1964 года Бурдов А.Н. был выдвинут на должность директора Научно-исследовательского сельскохозяйственного института МСХ СССР (Казахская ССР), где под его руководством коллектив сотрудников выполнил и внедрил в ветеринарную практику ряд разработок, имеющих важное народно-хозяйственное значение. Во ВНИИВВиМ (г. Покров) Бурдов А.Н. защитил докторскую диссертацию (1971). В 1972 году он был назначен начальником отдела в Главном управлении научно-исследовательских и экспериментально-производственных учреждений МСХ СССР. В 1978 году его назначили директором научной ветеринарной лаборатории МСХ СССР в Народную Республику Конго, затем в 1981 году назначили на должность директора Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института, который он возглавлял по 1992 г.

Бурдов А.Н. — высококвалифицированный специалист в области ветеринарной вирусологии и эпизоотологии особо опасных болезней животных, имеет 150 научных работ, 6 патентов на изобретения. Под его научным руководством осуществлены работы, связанные с получением новых препаратов, средств и методов защиты животных от карантинных и малоизвестных болезней. Особенно значителен его вклад в развитие крупномасштабного культивирования клеток и вируса ящuru. На этой основе была разработана отечественная технология получения культуральной

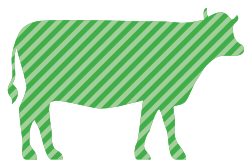


противоящурной вакцины, а также принципиально новые противоящурные вакцины на основе технологии рекомбинантных ДНК и химического синтеза.

Бурдов А.Н. активно готовил научные кадры через аспирантуру, им подготовлено 12 кандидатов наук. Он вел большую научно-общественную работу, являлся председателем специализированного совета ВНИИИ по защите кандидатских диссертаций, членом специализированного совета ВНИИВВиМ по защите докторских диссертаций, научно-технического совета Госагропрома СССР, руководителем КОЦ по ящuru стран — членов СЭВ.

За развитие ветеринарной науки и подготовку высококвалифицированных кадров Бурдову А.Н. присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РСФСР» (1990), также он награжден орденами Октябрьской Революции, Отечественной войны, Дружбы народов, двумя орденами Трудового Красного Знамени, многими медалями СССР и ВДНХ.

С 1992 года Бурдов А.Н. находится на заслуженном отдыхе, однако интересуется делами нашего института.



КУЛЬТУРАЛЬНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЯ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВЫДЕЛЕННОГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2015 ГОДУ

А.В. Кононов¹, С.В. Кононова², И.Н. Шумилова³, А.А. Нестеров⁴,
А.В. Шишков⁵, В.И. Диев⁶, Р.В. Яшин⁷, А.В. Мищенко⁸

¹ заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kononov@arriah.ru

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

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

⁴ младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: nesterov@arriah.ru

⁵ младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shishkov@arriah.ru

⁶ доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: diev@arriah.ru

⁷ заведующий виварным комплексом, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: yashin@arriah.ru

⁸ заместитель директора, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир e-mail: mischenko@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены данные по изучению свойств вируса нодулярного дерматита, адаптированного к культурам клеток гонады козы и тестикул ягненка. Экспериментальное заражение крупного рогатого скота полученным штаммом вируса нодулярного дерматита вызывает генерализованную форму инфекции.

Ключевые слова: вирус нодулярного дерматита, культура клеток, инфекционная активность, патологический материал, подкожная клетчатка, клинические признаки, генерализация.

ВВЕДЕНИЕ

Нодулярный дерматит (заразный узелковый дерматит) — контагиозная вирусная инфекция, характеризующаяся повышением температуры тела, появлением бугорков на коже, слизистых оболочках внутренних органов, увеличением лимфатических узлов, отеками подкожной клетчатки [1, 3].

В настоящее время нодулярный дерматит имеет широкое распространение в странах Африканского континента, Ближнего Востока, в Турции, Ираке, Азербайджане. Отмечено появление заболевания в Греции, Сербии, Болгарии, Македонии [10].

Первая вспышка нодулярного дерматита крупного рогатого скота (НД КРС) в Российской Федерации была выявлена в июле 2015 г. в Республике Дагестан. К концу 2015 г. в РФ зарегистрировано 17 очагов болезни в 3 субъектах: в Республике Дагестан (11 очагов), Чеченской Республике (4 очага) и Республике Северная Осетия (2 очага).

25 мая 2016 г. НД КРС вновь зарегистрирован в России на территории Краснодарского края. С 29 мая по 12 июня на территории Республики Дагестан выявлено 15 очагов данного заболевания на фермах, где содержалось 36 645 животных [4, 9].

Болезнь наносит значительный экономический ущерб в скотоводстве, так как вызывает существенное снижение удоя молока, потерю живой массы тела. У стельных животных отмечают аборт, быки могут стать временно или постоянно бесплодными.

При генерализованной форме болезни на теле животного появляются нодулы (бугры, узелки) диаметром 2–7 см, особенно на голове, шее, вымени и в промежности. На отдельных участках тела происходит слияние узелков и образование язв. Пораженные участки кожи болезненны [3].

Источником инфекции являются больные животные, переболевшие и скрытые вирусоносители. Вирус выделяется через пораженные кожные покровы, слюной, истечениями из носовой полости и глаз, спермой, молоком. Согласно «Кодексу здоровья наземных животных» МЭБ, инкубационный период при НД КРС определен в 28 дней [1].

Для специфической профилактики НД КРС используют гомологичную или гетерологичную аттенуированную вирус-вакцину из вируса оспы овец и/или оспы коз.

Для выделения и культивирования вируса НД КРС используют культуру тестикулярной и почечной ткани телят и овец, фетальные культуры клеток почки и кожи кролика, линии клеток взрослой мартышки и линии клеток почки сирийского хомячка. Также применяют куриные эмбрионы, в которых вирус размножается в теле эмбриона и на хорионаллантоисной оболочке, образуя оспины. Основным проявлением цитопатического действия вируса на чувствительных клетках является округление клеток и отторжение пораженных участков монослоя от стекла. Через 72–96 ч монослой клеток почти полностью разрушается [8].

Установлена возможность воспроизведения инфекции при экспериментальном заражении естественно восприимчивых к НД животных путем введения им вирусосодержащего материала, полученного из подкожной клетчатки, подгрудка, семенников больных животных и на перевиваемой культуре клеток гонады козы. При этом заболевание в основном протекает в тяжелой форме с наличием характерных клинических признаков [2].

По данным литературных источников, для проведения лабораторных исследований биологических свойств возбудителя НД используют экспериментальное заражение естественно восприимчивых животных. Часть авторов рекомендует проводить заражение путем подкожного введения инфекционного агента [1, 2, 5, 6], в то время как другие используют внутривенный путь введения вируса [7, 8].

При этом необходимо отметить, что по причине вариабельности ответной реакции КРС на экспериментальное заражение НД у контрольных животных может не наблюдаться генерализованной формы болезни, хотя может быть сильная местная реакция [1].

Целью настоящей работы было исследование возможности адаптации вируса НД КРС к линиям перевиваемых культур клеток, определение степени накопления вируса в данных клеточных системах, а также

изучение вирулентных свойств полученного штамма для крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Патологический материал был получен на территории Республики Дагестан в 2015 г. Материал отбирали от больного НД КРС из мест поражения кожи. Для адаптации вируса НД к культурам клеток (КК) использовали 10% суспензию, приготовленную из полученного патологического материала, и перевиваемые КК: ЯДК-04 (перевиваемая линия КК гонады козы), ТЯ (субкультура тестикул ягненка) и ТК (субкультура клеток тестикул козленка).

Монослойную КК заражали с адсорбцией вируса на клетках в течение 1 ч при (37±1)°С, с последующим внесением поддерживающей среды ПСП с добавлением 1–2% сыворотки крови КРС. Предварительно КК отмывали от ростовой среды раствором Хенкса. Сбор вируса проводили при появлении цитопатического действия (ЦПД) на 80–90% площади монослоя. Полученный вирус хранили при температуре минус (80±1)°С.

Репродуктивную способность вируса оценивали по времени ЦПД, интенсивности его развития и накоплению. Определение инфекционной активности вируса НД осуществляли путем микротитрования в КК ЯДК-04 общепринятым методом. Титр вируса вычисляли по методу Рида и Менча и выражали в Ig ТЦД₅₀/см³.

Изучение биологических свойств возбудителя и клинических признаков НД КРС проводили путем введения вирусосодержащего материала 12 головам КРС (быки черно-пестрой породы весом 270–300 кг) в различных дозах заражения. Для этого использовали суспензию патологического материала от клинически больных животных, а также суспензию вируса, полученную после проведения 4 пассажей на КК ТЯ с титром инфекционной активности 5,0 Ig ТЦД₅₀/см³.

Животных разделили на три группы. Животным 1 группы вводили внутривенно очищенную культуральную жидкость в объеме 2 см³, 2 группы — подкожно в области средней трети шеи в объеме 10 см³, 3 группы — суспензию патологического материала в объеме 10 см³, подкожно в область средней трети шеи.

За зараженными животными вели наблюдение в течение 28 суток. При этом ежедневно проводилась термометрия и регистрация клинических признаков данного заболевания, а также отбор проб биоматериала (стабилизированная кровь и выделения из носовой полости).

На 29 сутки после заражения была произведена эвтаназия животных для дальнейшего исследования патологических изменений внутренних органов, подкожных поражений и отбора проб биологического материала.

Специфичность заболевания животных НД КРС подтверждали постановкой и исследованиями проб биоматериала методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и вирусовыделения на КК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований изучали чувствительность КК к вирусу НД КРС, результаты адаптации вируса НД КРС к КК представлены в таблице.

Из данных таблицы видно, что наиболее чувствительными системами для культивирования вируса НД КРС являются КК ЯДК-04 и ТЯ. Заражение 24–48-часо-

Таблица
Результаты адаптации вируса нодулярного дерматита КРС к культурам клеток

Культура клеток	Кол-во пассажей	Время культивирования, ч	Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³
ЯДК-04	1	144-168	3,0
	2	120	4,0
	3	72	4,0
	4	48	4,5
	5-13	48	5,0
ТЯ	1	168	3,5
	2-4	48	4,0
	5	48	4,5
	6	48	5,5
	7-9	48	5,0
	10	72	5,0
	11-13	72	4,5
ТК	1	168	1,5
	2	120	отр.
	3	120	отр.

вой КК вирусосодержащей суспензией, приготовленной из патологического материала, вызывало специфическую дегенерацию клеток монослоя в виде их округления, частичного отслоения от стекла и по-

явления крупных конгломератов. При этом на уровне 2-3 пассажей вирус вызывал ЦПД на площади 70-80% уже через 48-72 ч культивирования. Титр вируса был в пределах 4,0 Ig ТЦД₅₀/см³. К 5-6 пассажу инфекционная активность вируса увеличилась до 5,0-5,5 Ig ТЦД₅₀/см³.

После проведения 9 пассажа в КК ТЯ сроки специфической дегенерации клеток увеличились до 72 ч, выявлялось некоторое снижение титра инфекционной активности вируса до 4,0-4,5 Ig ТЦД₅₀/см³.

В КК ЯДК-04 активность вируса НД КРС в течение 5-11 пассажей находилась на одном уровне и составляла 5,0 Ig ТЦД₅₀/см³.

КК ТК оказалась непригодной для получения вирусной суспензии.

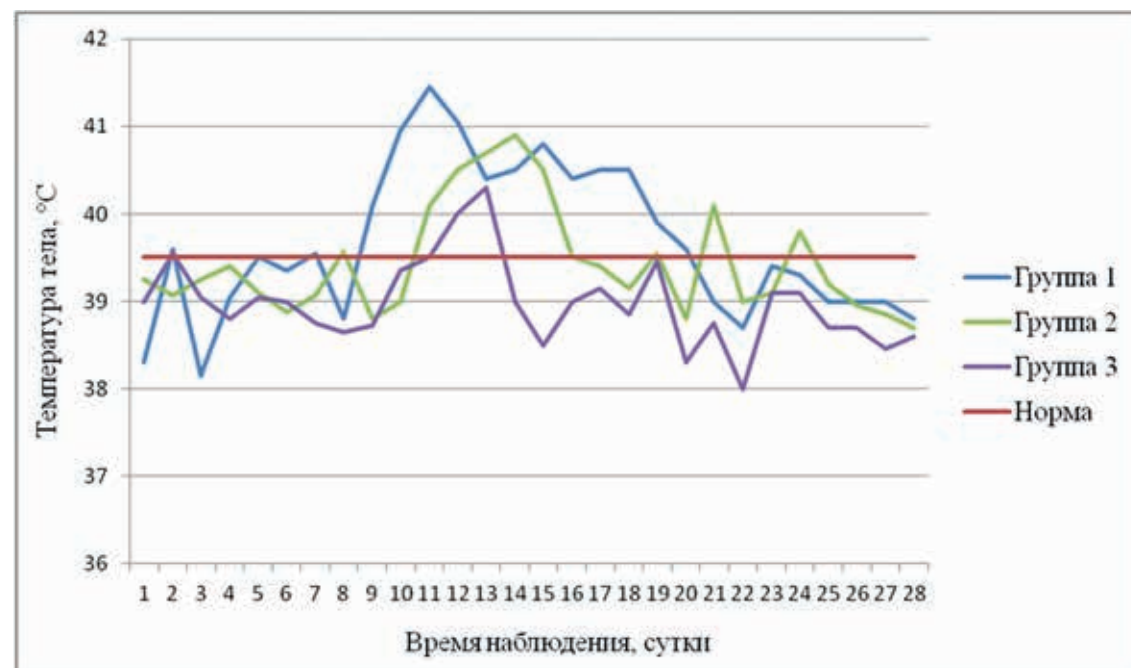
Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что КК ЯДК-04 и ТЯ являются чувствительной и эффективной системой для получения суспензии с высокой концентрацией вируса и могут быть использованы для проведения дальнейших исследований.

Результаты исследований послужили основанием для депонирования штамма вируса НД КРС в Коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») под регистрационным номером (ссылкой) «ВНД/Дагестан/2015 (диагностический)».

Следующей целью исследований являлось изучение клинических признаков НД, возникающих у естественно восприимчивых животных при введении вирусосодержащего материала, приготовленного на основе полученного штамма.

Из данных, представленных на рис. 1, видно, что у животных 1 группы на 9 сутки после заражения было отмечено повышение температуры тела до 40,0°C и выше, через 11 суток температура снижалась до верхней границы нормы. Одновременно с развитием гипертермии у животных наблюдали появление серьезных истечений из носовой полости и первых клинических признаков инфекции (угнетение, отказ от корма).

Рис. 1. Изменение температуры тела животных (среднее по группам)



У животных 2 и 3 групп повышение температуры тела до 40,9 и 40,3°C регистрировали на 11 и 12 сутки после заражения соответственно (рис. 1).

На 9-10 сутки после заражения у животных 1 группы отмечали проявление розеол размером от 0,5 до 2,5 см круглой, овальной или неправильной формы в области промежности, на внутренней поверхности бедер, отечность мошонки, единичные уплотнения (рис. 2). Необходимо отметить, что при проявлении первых клинических признаков инфекции у животных 1 группы отмечалось повышение температуры тела и серозные выделения из носовой полости. При исследовании проб смывов из носовой полости методом ПЦР был выявлен геном вируса НД КРС. Период виремии составлял 9-18 суток с момента заражения животных.

На 11-12 сутки на всем теле животных (круп, задние конечности, в области спины и на голове) было отмечено появление уплотнений и небольших нодул размером от 0,5 до 2 см, отеков в области запястных и локтевых суставов.

На 14 сутки количество нодул увеличилось в 2-3 раза. Они были круглой, овальной и неправильной формы (размер от 1 до 4 см) и локализовались по всему телу. В отдельных местах нодулы объединялись и образовывали конгломераты размером до 5-6 см. Конъюнктив глаза была гиперемирована. Поверхностные лимфатические узлы (предлопаточный, подчелюстной, подколенный и в области паха) были увеличены примерно в 1,5 раза. Животные были угнетены, отказывались от корма.

На 20 сутки было отмечено снижение температуры тела до 39,0°C. На месте образования первых нодул в области морды, мошонки и внутренней поверхности бедра происходило образование струпуев (рис. 3).

В результате патологоанатомического вскрытия животных было установлено: множественные поражения

в подкожной клетчатке в области крупа, поясничной области и спины, характеризующиеся образованием изъязвлений различного диаметра (рис. 4); заглочные, поверхностные шейные и лимфатические узлы коленной складки были увеличены и гиперемированы (рис. 5); на слизистой оболочке пищевода и трахеи имелись незначительные изъязвления до 0,5 см (рис. 6, 7).

У животных 2 группы на 5 сутки после заражения на месте введения образовывались болезненные уплотнения в области подкожной клетчатки размером 7-8 см, при этом на 14 сутки их размер увеличивался до 12-13 см. Поверхностные лимфатические узлы также были увеличены. На 18 сутки уплотнения на месте введения уменьшались до 6-8 см без развития характерных клинических признаков инфекции до конца наблюдения.

При патологоанатомическом вскрытии животных 2 группы было выявлено увеличение заглочных, поверхностных шейных лимфатических узлов. На слизистой оболочке трахеи имелись множественные кровоизлияния (рис. 8). На месте введения вирусосодержащей суспензии отмечены участки поражения ткани с признаками некроза (рис. 9). В области головы и предгрудной области подкожная клетчатка была отечна.

У животных 3 группы на 6-7 сутки после заражения на месте введения образовывались уплотнения в области подкожной клетчатки размером 5-6 см, на 14 сутки их размер увеличивался до 10-11 см. Поверхностные лимфатические узлы также были увеличены. На 18 сутки уплотнения на месте введения уменьшались до 6-8 см без развития характерных клинических признаков инфекции до конца наблюдения.

При патологоанатомическом вскрытии животных третьей группы было выявлено увеличение заглочных, поверхностных шейных лимфатических узлов. На

Рис. 2. Отечность мошонки, розеола в области мошонки и промежности размером от 0,5 до 2,5 см



Рис. 3. Множественные уплотнения, струпея в области головы

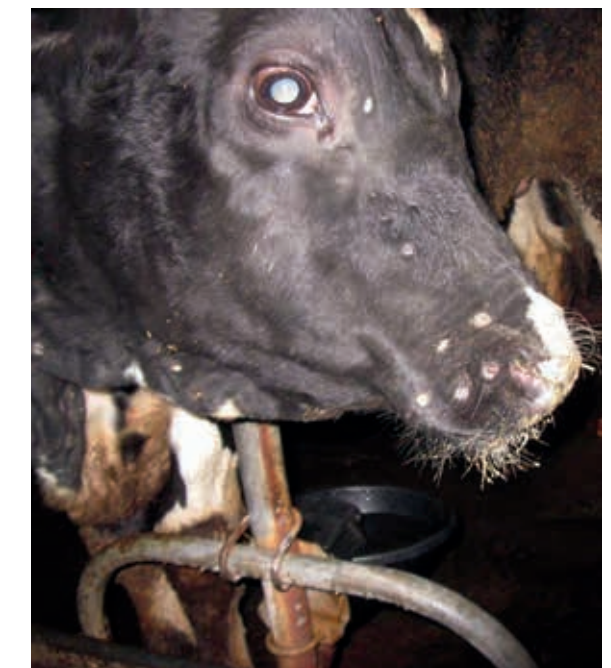




Рис. 4. Множественные изъязвления в области спины и поясницы

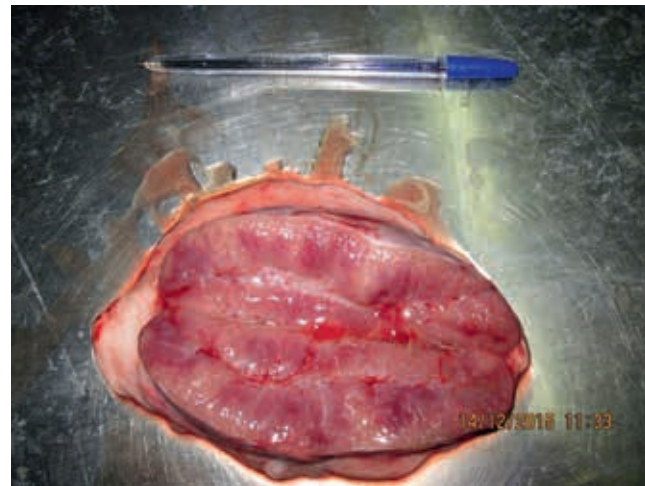


Рис. 5. Поражение поверхностного шейного лимфатического узла



Рис. 6. Поражения слизистой оболочки пищевода



Рис. 7. Поражения слизистой оболочки трахеи

слизистой оболочке пищевода имелись незначительные изъязвления до 0,4 см (рис. 10). На месте введения вирусосодержащей суспензии были отмечены участки поражения ткани с признаками некроза (рис. 11).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что перевиваемая линия культуры клеток гонады козы (ЯДК-04) и субкультура тестикул ягненка (ТЯ) оказались чувствительной и эффективной системой для получения вирусной суспензии с высокой концентрацией вируса и могут быть использованы для проведения дальнейших исследований.

При заражении естественно восприимчивых животных вирусосодержащим материалом воспроизведена генерализованная форма инфекции. Специфичность заболевания животных подтверждена ПЦР-

исследованиями биоматериала и методом вирусовыделения.

Штамм «ВНД/Дагестан/2015» был депонирован в Коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») под регистрационным номером (ссылкой) «ВНД/Дагестан/2015 (диагностический)».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кодекс здоровья наземных животных. Т. 1–2 / МЭБ. — 24-е изд. — Paris, France, 2015. — 763 с.
2. Нодулярный дерматит (бугорчатка), клинические признаки при экспериментальном заражении крупного рогатого скота / О.А. Косарева, М.С. Кукушкина, А.В. Константинов [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. — 2010. — Т. 8. — С. 73–84.



Рис. 8. Множественные кровоизлияния на слизистой оболочке трахеи



Рис. 9. Поражение на месте введения суспензии вируса



Рис. 10. Поражения слизистой оболочки пищевода

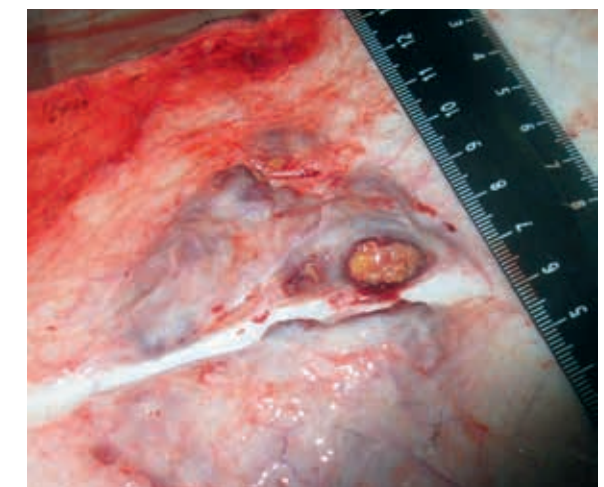


Рис. 11. Поражение на месте введения суспензии вируса

3. Проблема нодулярного дерматита крупного рогатого скота: научное издание / В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, А.В. Кононов [и др.] // Ветеринария Кубани. — 2015. — № 5. — С. 3–6.

4. Прогноз по нодулярному дерматиту крупного рогатого скота в Российской Федерации на 2016 год: научное издание / А.К. Караулов, В.А. Мищенко, В.М. Гуленкин [и др.] // Прогнозы по ряду болезней животных в Российской Федерации на 2016 год / ФГБУ «ВНИИЗЖ». — Владимир, 2016. — С. 126–148.

5. Lumpy skin disease (LSD) in a large dairy herd in Israel / J. Brenner, M. Haimovitz, E. Oron [et al.] // Israel J. Vet. Med. — 2006. — Vol. 61. — P. 3–4.

6. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by *Rhipicephalus appendiculatus* male ticks /

E.S. Tuppurainen, J.C. Lubinga, W.H. Stoltz [et al.] // Epidemiol. Infect. — 2013a. — Vol. 141. — P. 425–430.

7. Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle / S. Babiuk, T.R. Bowden, G. Parkyn [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. — 2008. — Vol. 55 (7). — P. 299–307.

8. Tuppurainen E.S., Venter E.H., Coetzer J.A. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques // Onder. J. Vet. Res. — 2005. — Vol. 72. — P. 153–64.

9. <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/messages/2169.html>.

10. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Immssummary.

CULTURAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF LUMPY SKIN DISEASE AGENT ISOLATED IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2015

A.V. Kononov¹, S.V. Kononova², I.N. Shumilova³, A.A. Nesterov⁴, A.V. Shishkov⁵, V.I. Diye⁶, R.V. Yashin⁷, A.V. Mischenko⁸

¹ Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: kononov@arriah.ru

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

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

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

⁵ Junior Researcher, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: shishkov@arriah.ru

⁶ Doctor of Sciences, Professor, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: diev@arriah.ru

⁷ Head of Animal Facilities, Candidate of Sciences (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: yashin@arriah.ru

⁸ Deputy Director, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: mischenko@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents data on studied properties of lumpy skin disease virus adapted to goat gonad and lamb testicle cell cultures. Experimental infection of cattle with the obtained strain of lumpy skin disease virus induces systemic infection.

Key words: lumpy skin disease virus, cell culture, infectivity, pathological material, subcutis, clinical signs, generalization.

INTRODUCTION

Lumpy skin disease (LSD) is a contagious viral infection characterized by rise in the body temperature, nodules on skin, internal organ mucous membranes, enlargement of lymph nodes and subcutis edema [1, 3].

Currently LSD is widely spread in the African countries, Middle East, Turkey, Iraq and Azerbaijan. The disease has been also registered in Greece, Serbia, Bulgaria and Macedonia [10].

The first LSD outbreak in cattle in the Russian Federation was reported in July 2015 in the Republic of Dagestan. By the end of 2015 17 outbreaks of the disease were registered in the RF in three administrative subjects: Republic of Dagestan (11 outbreaks), Chechen Republic (four outbreaks) and Republic of North Ossetia (two outbreaks).

On May 25, 2016 LSD was registered in Russia again in the Krasnodar Krai. 15 LSD outbreaks were detected in the Republic of Dagestan on farms, where 36,645 animals were kept [4, 9].

The disease causes significant economic losses in animal production as milk yields and live weight of animals

reduce greatly. Pregnant cattle may abort and bulls may become sterile temporarily or permanently.

When the disease is systemic nodules (lumps under the skin, 2-7 cm in diameter) appear on the animal body, especially on the head, neck, udder and in the perineum. Some nodules may fuse and form ulcers. The affected skin is painful [3].

The source of infection is diseased animals, and convalescent or latent virus carriers. The virus is shed through affected skin, with saliva, nasal and ocular discharge, semen and milk. In accordance with the OIE Terrestrial Animal Health Code LSD incubation period is 28 days [1].

For LSD specific prevention homologous or heterologous attenuated virus vaccine based on sheep and/or goat pox virus is used.

For the purposes of LSD virus isolation and culture the following cell/tissue cultures can be used: testicle and kidney tissue cultures of calves and lambs, kidney and skin cell cultures of rabbit fetuses, marmoset cell line and golden hamster kidney cell line. Chicken embryonated eggs can also be used; the virus grows in the embryo body and on chorioallantoic membrane producing pox lesions. The major feature of virus cytopathic effect in sensitive cells is rounding of cells and detachment of affected monolayer parts from the glass surface. In 72-96 hours the cell monolayer is almost totally destructed [8].

It is possible to reproduce infection by experimental infection of LSD naturally susceptible animals with virus-containing material derived from subcutis, dewlap and testicles of diseased animals and using goat gonad continuous cell line. In this case the disease is usually severe with specific clinical signs [2].

Based on the published data experimental infection of naturally susceptible animals is used for laboratory test-

ing of LSD agent biological properties. While some authors recommend to infect animals by subcutaneous injection of the infectious agent [1, 2, 5, 6], the others use intravenous inoculation of the virus [7, 8].

It should be noted that due to variability of cattle response to infection with LSD virus, control animals may not demonstrate systemic disease, though the local reaction may be strong [1].

The aim of the study was to analyze the potential of LSD virus adaptation to continuous cell line cultures, to determine the levels of virus accumulation in the mentioned cell systems and to examine virulent properties of the obtained strain in relation to cattle.

MATERIALS AND METHODS

Pathological material was obtained in the Republic of Dagestan in 2015 from skin lesions of an LSD affected animal. To adapt LSD virus to cell cultures 10% suspension prepared from pathological material and continuous cell lines (YaDK-04 – goat gonad continuous cell line; TYa – lamb testicle subculture and TK – kid testicle cell subculture) was used.

Cell culture monolayer was inoculated and virus was absorbed to cells for an hour at 37±1°C, then semisynthetic nutrient medium with 1-2% cattle sera was added. Before that cell culture was washed with Hank's solution to remove growth medium. Virus was harvested when cytopathic effect (CE) was seen in 80-90% of monolayer surface area. The harvested virus was stored at minus 80±1°C.

Virus reproductivity was evaluated by time of CPE appearance, virus growth intensity and accumulation rate. LSD virus infectivity was determined by microtitrating in YaDK-04 cell culture using a standard procedure. Virus titre was calculated using Reed and Muench method and expressed in lg TCD₅₀/cm³.

LSD virus biological properties and clinical signs were studied by inoculation of virus-containing material to 12 cattle (black-pied bulls, 270-300 kg of weight). For this purpose the suspension of pathological material from clinically diseased animals and viral suspension obtained from four passages in TYa cell culture with infectivity titre of 5.0 lg TCD₅₀/cm³ was used.

The animals were divided into three groups. Group 1 animals were inoculated intravenously with purified culture fluid in the amount of 2 cm³, Group 2 animals were inoculated subcutaneously into the middle third of the neck at the dose of 10 cm³ and Group 3 animals were inoculated subcutaneously into the middle third of the neck with pathological material suspension at the dose of 10 cm³.

Infected animals were observed for 28 days. Every day the body temperature and clinical signs were recorded and samples of biological material were taken (stabilized blood and nasal discharge).

On Day 29 post inoculation the animals were euthanized for further examination of pathological lesions of internal organs, subcutaneous lesions and sample collection.

Samples of biological material were tested with PCR and virus isolation in cell culture to confirm LSD infection.

RESULTS AND DISCUSSION

At the first stage cell culture sensitivity to LSD virus was studied. The results of LSD virus adaptation to cell culture are shown in the table below.

The table shows that the most sensitive cell cultures to LSD virus culture are YaDK-04 and TYa. When 24-48 hour

cell culture was inoculated with virus containing suspension prepared from pathological material it induced specific degeneration of monolayer cells manifesting in cell rounding, partial detachment from the glass surface and formation of large cell clusters. At passages 2-3 the virus caused CPE in 70-80% of the area already in 48-72 hours of culturing. Virus titre was within the range of 4.0 lg TCD₅₀/cm³. By passage 5-6 the infectivity increased up to 5.0-5.5 lg TCD₅₀/cm³.

After passage 8 in TYa cell culture the duration of specific cell degeneration increased up to 72 hours and virus infectivity titre fell down to 4.0-4.5 lg TCD₅₀/cm³.

In YaDK cell culture LSD virus activity remained on the same level during passages 5-11 and was 5.0 lg TCD₅₀/cm³.

TK cell culture turned out to be unfit for virus suspension preparation.

Thus, it was established that YaDK-04 and TYa cell cultures are sensitive and effective systems for the preparation of highly concentrated virus suspension and can be used for further research.

Test results served as a basis for LSD virus depositing in the Microorganism Strain Collection of the FGBI «Federal Centre for Animal Health» with «VND/Dagestan/2015 (diagnostic)» reference number.

The next target of the research was to study LSD clinical signs in naturally susceptible animals when inoculated with virus-containing material prepared based on the isolated strain.

Figure 1 shows that Group 1 animals demonstrated rise in the body temperature up to 40.0°C and higher on day 9 post inoculation and in 11 days the temperature decreased down to upper normal level. In parallel to hyperthermia

Table
Lumpy skin disease virus adaptation to cell culture

Cell culture	No. of passages	Time of culture process, hours	Infectivity titre, lg TCD ₅₀ /cm ³
YaDK-04	1	144-168	3.0
	2	120	4.0
	3	72	4.0
	4	48	4.5
	5-13	48	5.0
TYa	1	168	3.5
	2-4	48	4.0
	5	48	4.5
	6	48	5.5
	7-9	48	5.0
	10	72	5.0
TK	11-13	72	4.5
	1	168	1.5
	2	120	отр.
	3	120	отр.

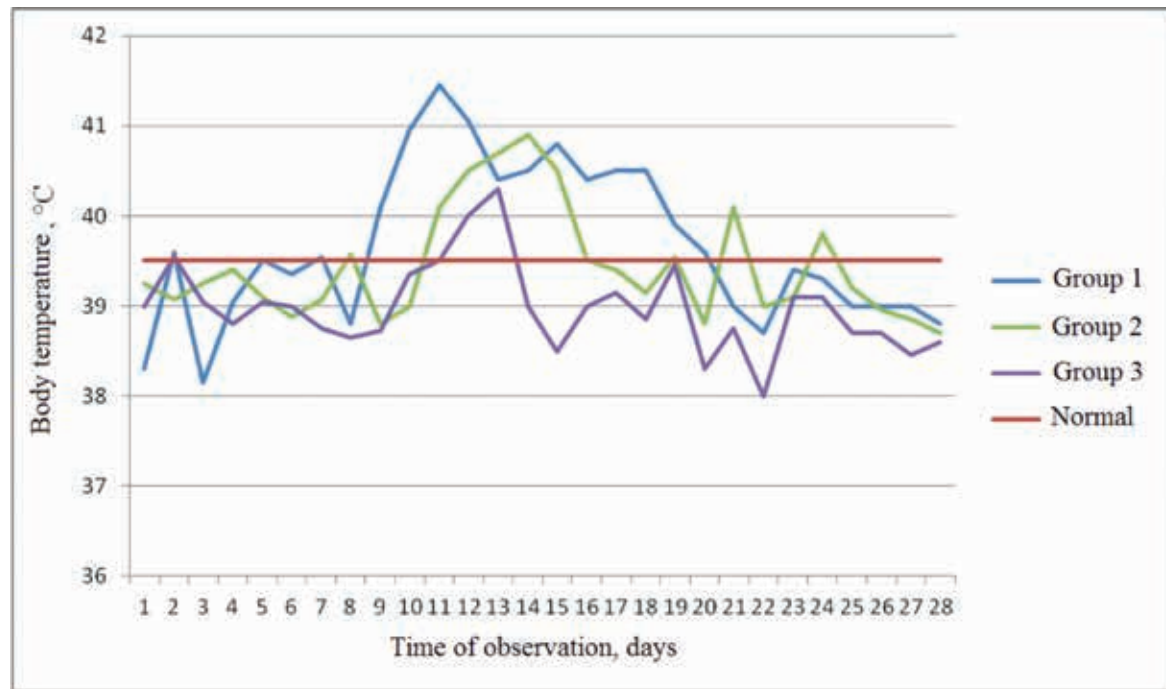


Fig. 1. Changes in animal body temperatures (average values by groups)

animals suffered from nasal serous discharge and initial clinical signs of infection (depression, anorexia).

Animals from Groups 2 and 3 rise in body temperature up to 40.9 and 40.3°C was registered on days 11 and 12 post inoculation, respectively (Fig. 1).

Scrotal edema, sporadic clumps and roseolas, 0.5 to 2.5 cm in diameter, of round or irregular forms were observed in the perineum and on internal parts of thighs of animals from Group 1 (Fig. 2). It should be noted that when first clinical signs of infection were manifested Group 1 ani-

mals also demonstrated fever and nasal serous discharges. LSD virus genome was detected in nasal swabs by PCR. Viremia lasted for 9-18 days post infection.

On days 11-12 clumps and small nodules, 0.5 to 2 cm in diameter, were found on the whole body of animals (rump, hind limbs, back and head) as well as edemas of carpal and elbow joints.

On day 14 the number of nodules increased by 2-3 times. They were round, oval or irregular in form (1-4 cm in size) and distributed all over the body. In some places the nod-

Fig. 2. Scrotal edema, 0.5-2.5 cm roseolas on scrotum and in perineum



Fig. 3. Numerous clumps and scabs on the head

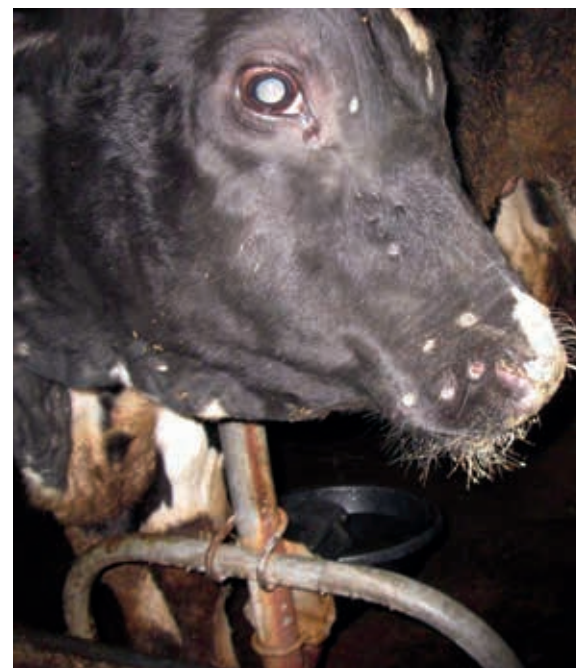


Fig. 4. Numerous ulcers of back and loin

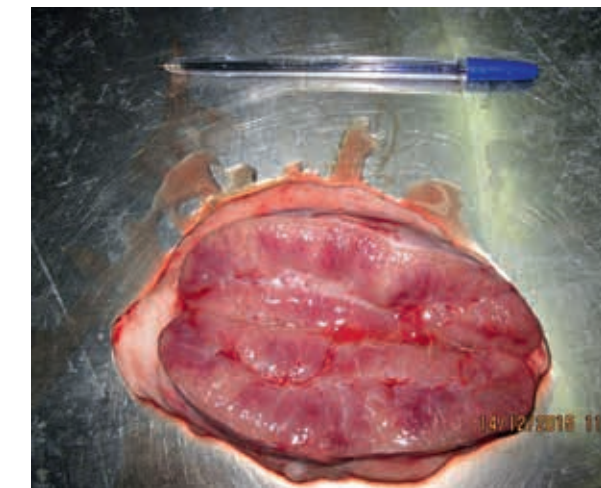


Fig. 5. Affected superficial cervical lymph node



Fig. 6. Lesions of esophagus mucosal membrane



Fig. 7. Lesions of tracheal mucosal membrane

ules fused and formed plaques, 5-6 cm in size. The conjunctivitis was hyperemic. Superficial lymph nodes (prescapular, submandibular, popliteal and inguinal) were enlarged by 1.5 times. Animals were depressed and refused from feeding.

On day 20 the temperature decreased down to 39.0°C. The initial nodules on the head, in the perineum and on internal parts of thighs formed a hardened crust (Fig. 3).

The necropsy of animals demonstrated the following post-mortem findings: numerous subcutis lesions of rump, loin and back characterized by ulcers of different size (Fig. 4); retropharyngeal, superficial cervical and popliteal lymph nodes were enlarged and hyperemic (Fig. 5); insignificant ulcers on esophagus and tracheal mucosal membranes up to 0.5 cm in size (Fig. 6, 7).

Painful clumps, 7-8 cm in diameter were formed in subcutis at the injection site of Group 2 animals on day 5 post infection and on day 14 their size increased up to 12-13 cm. Superficial lymph nodes were also enlarged. On day 18 the clumps became smaller (6-8 cm in diameter) and no specific clinical signs of infection were manifested till the end of observation period.

Postmortem findings included enlargement of retropharyngeal and superficial cervical lymph nodes. Numerous hemorrhages were detected on the tracheal mucosal membrane (Fig. 8). At the site where virus-contain-

ing suspension was injected necrotized tissue was found (Fig. 9). Subcutis of the head and dewlap was edematic.

Clumps, 5-6 cm in diameter were formed in subcutis at the inoculation site of Group 3 animals on days 6-7 post infection and on day 14 their size increased up to 10-11 cm. Superficial lymph nodes were also enlarged. On day 18 the clumps became smaller (6-8 cm in diameter) and no specific clinical signs of infection were manifested till the end of observation period.

The necropsy of the animals from Group 3 revealed enlargement of retropharyngeal and superficial cervical lymph nodes. Small ulcers (up to 0.4 cm) were found on the esophagus mucosal membrane (Fig. 10). At the site where virus-containing suspension was injected necrotized tissue was found (Fig. 11).

CONCLUSION

The study results demonstrate that goat gonad continuous cell line (YaDK-04) and subculture of lamb testicles (TYa) are sensitive and effective systems for the preparation of highly concentrated virus suspension and can be used for further researches.

Infection of naturally susceptible animals with virus-containing suspension reproduces systemic infection. The disease was confirmed by PCR and virus isolation.



Fig. 8. Numerous hemorrhages in tracheal mucosal membrane



Fig. 9. Lesions at the site of virus suspension injection

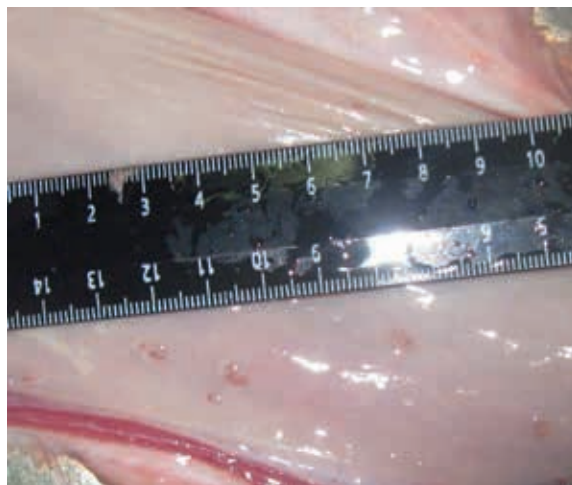


Fig. 10. Lesions of esophagus mucosal membrane

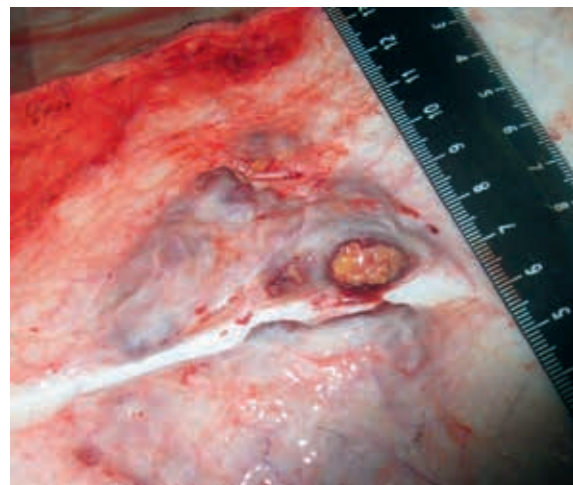


Fig. 11. Lesions at the site of virus suspension injection

«VND/Dagestan/2015» strain was deposited in the Microorganism Strain Collection of the FGBl «Federal Centre for Animal Health» (FGBl «ARRIAH») with «VND/Dagestan/2015 (diagnostic)» reference number.

REFERENCES

1. Terrestrial Animal Health Code. V. 1-2 / OIE. - 24th ed. - Paris, France, 2015. - 763 p.
2. Lumpy skin disease, clinical signs of experimentally infected cattle / O.A. Kosareva, M.S. Kukushkina, A.V. Konstantinov [et al.] // Proceedings of the Federal Centre for Animal Health. - 2010. - Vol. 8. - P. 73-84.
3. Lumpy skin disease problem: scientific publication / V.A. Mischenko, A.V. Mischenko, A.V. Kononov [et al.] // Veterinariya Kubani. - 2015. - № 5. - P. 3-6.
4. Forecast for lumpy skin disease in the Russian Federation for 2016: scientific publication / A.K. Karaulov, V.A. Mischenko, V.M. Gulenkin [et al.] // Forecasts for some animal diseases in the Russian Federation for 2016 / FGBl «ARRIAH». - Vladimir, 2016. - P. 126-148.

5. Lumpy skin disease (LSD) in a large dairy herd in Israel / J. Brenner, M. Haimovitz, E. Oron [et al.] // Israel J. Vet. Med. - 2006. - Vol. 61. - P. 3-4.

6. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by *Rhipicephalus appendiculatus* male ticks / E.S. Tuppurainen, J.C. Lubinga, W.H. Stoltz [et al.] // Epidemiol. Infect. - 2013a. - Vol. 141. - P. 425-430.

7. Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle / S. Babiuk, T.R. Bowden, G. Parkyn [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. - 2008. - Vol. 55 (7). - P. 299-307.

8. Tuppurainen E.S., Venter E.H., Coetzer J.A. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques // Onder. J. Vet. Res. - 2005. - Vol. 72. - P. 153-64.

9. <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/messages/2169.html>.

10. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Immsummary.

УДК 619:616.98:578.835.2:578.835.1:616-076

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КВАЛИФИКАЦИОННЫХ СЛИЧИТЕЛЬНЫХ ИСПЫТАНИЙ, ПРОВЕДЕННЫХ РЕФЕРЕНТНОЙ ЛАБОРАТОРИЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЯЩУРА ФГБУ «ВНИИЗЖ» В 2013–2015 ГГ.

Н.Н. Луговская¹, С.Р. Кременчугская²

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

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

РЕЗЮМЕ

Проанализированы результаты международных межлабораторных квалификационных сличительных испытаний по диагностике ящура, проведенных референтной лабораторией диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2013–2015 гг. В испытаниях принимали участие 10 лабораторий из 7 стран СНГ, в том числе из Республики Казахстан, Республики Армения, Республики Молдова, Республики Беларусь, Азербайджанской Республики, Республики Таджикистан, Кыргызской Республики, и 5 лабораторий ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Ключевые слова: межлабораторные сличительные испытания, лабораторная диагностика, ящур, иммуноферментный анализ.

ВВЕДЕНИЕ

Обязательным требованием к диагностическим лабораторным исследованиям является достоверность получаемых результатов. Поэтому неперенное условие надежной аналитической работы диагностических лабораторий — контроль качества проводимых исследований, в том числе и в исследованиях на ящур. Рекомендации Международной организации стандартизации (ISO) предусматривают условия обеспечения качества всех этапов лабораторного тестирования [2, 3]. С этой целью Всемирная референтная лаборатория (ВРЛ) ФАО/МЭБ по ящуру (IAH, Pirbright, UK) проводит ежегодное квалификационное тестирование для референтных лабораторий.

Являясь Региональной референтной лабораторией МЭБ по ящуру и Референтным центром ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии, ФГБУ «ВНИИЗЖ» также принимает активное участие в подобных мероприятиях. Это позволяет совершенствовать применяющиеся в лабораторной практике диагностические тест-системы, повышать качество мониторинговых исследований на ящур [1, 2, 4, 5].

Также одной из задач Региональной референтной лаборатории МЭБ по ящуру является обеспечение готовности лабораторий, входящих в зону курирования, к проведению диагностических мероприятий в случае угрозы и/или возникновения ящура, к быстрой и до-

стоверной идентификации и дифференциации инфекционного агента, вызывающего везикулярный синдром у восприимчивых животных, а также к проведению оценки иммунного статуса поголовья, вакцинированного против ящура.

Для этой цели в период с декабря 2013 г. по апрель 2014 г. были проведены первые квалификационные межлабораторные сличительные испытания по диагностике ящура (МСИ–2013/2014). В испытаниях приняли участие 20 операторов из 5 лабораторий стран ближнего зарубежья, включая Казахстан, Кыргызстан, Армению, Азербайджан, Молдову, и 5 лабораторий ФГБУ «ВНИИЗЖ». С октября по декабрь 2015 г. сличительные испытания по диагностике ящура были проведены второй раз (МСИ–2015) и охватили 9 лабораторий из 6 стран СНГ, в том числе Казахстан, Кыргызстан, Армению, Молдову, Белоруссию и Таджикистан.

В данной статье представлен анализ результатов проведенных испытаний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагностические тесты. В работе использовали диагностические наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»: «Набор для выявления антигена вируса ящура иммуноферментным анализом», «Набор для определения противоящурных антител в сыворотке крови животных в иммуноферментном анализе», «Набор для иммуноферментной диагностики везикулярной болезни свиней». Реакцию проводили согласно инструкциям к наборам.

Также для подтверждения результатов иммуноферментного анализа (ИФА) зарубежные участники использовали набор реактивов для проведения полимеразной цепной реакции RT-PCR «FMD» (Tetracore, USA), FMDV Antigen Detection ELISA (IZSLER, Brescia, Italy & IAH, Pirbright, UK), SPCE for Antibodies to FMDV (IZSLER, Brescia, Italy), FMDV ELISA KIT for detection of Antigens Serotypes O, A, C, Asia1 (IAH, Pirbright, UK), FMDV NS Ab ELISA (ID-VET, France), набор для выявления антигена вируса ящура методом РСК (биофабрика «Алтын-Тамыр», Кыргызская Республика). Постановку реакций осуществляли согласно рекомендациям производителей.

Панели шифрованных лиофилизированных образцов, использованных при проведении МСИ–2013/2014:

Панель 1 — инактивированные антигенные образцы вируса ящура типов А и О (№№ 1–3, 6, 7), вируса оспы овец (ОО) (№ 8), вируса везикулярной болезни свиней (ВБС) (№ 5), представляющие собой суспензии эпителиальной ткани или концентрированные суспензии культур клеток ВНК-21, IB-RS-2, гонады козы; нормальный эпителий языка КРС (№ 4).

Панель 2 — образцы сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС), вакцинированного или не вакцинированного против ящура типов А, О, Азия-1, С1, SAT2 (№№ 2, 4, 5, 6, 9, 10 — положительные, содержащие антитела к вирусу ящура; № 1 — нормальная сыворотка КРС); свиней, зараженных и не зараженных вирусом ВБС (№ 7 — нормальная сыворотка свиньи, № 8 — положительная на ВБС); овец, зараженных вирусом ОО (№ 3).

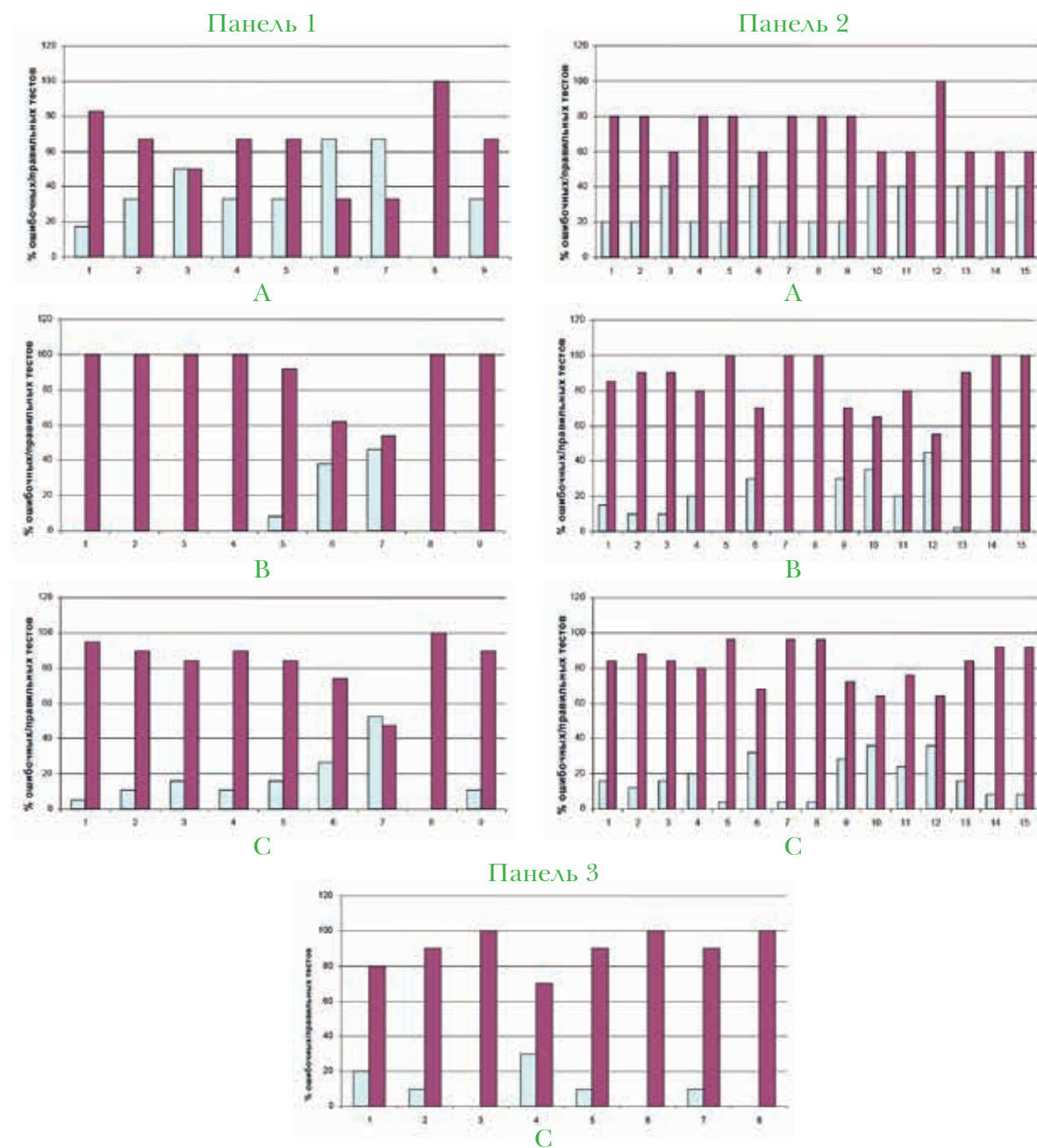


Рис. 1. Сравнительный анализ результатов тестирования образцов панелей 1, 2, 3 (МСИ–2013/2014)

А — лаборатории стран СНГ; В — лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ»; С — обобщенные результаты по всем участникам сравнительных испытаний; панель 1: столбцы 1–8 — шифрованные антигенные образцы, 9 — контрольный антиген; панель 2: столбцы 1–10 — шифрованные образцы сыворотки, 1–13 — контрольные пробы, 14 — контроль антигена, 15 — контроль конъюгата; панель 3: столбцы 1–6 — шифрованные образцы сыворотки крови свиней, 7 — положительный контроль, 8 — отрицательный контроль; светлые столбцы — ошибочные тесты; темные столбцы — правильные тесты.

Панель 3 — образцы сыворотки крови свиней, зараженных (№№ 2, 5, 6) и не зараженных (№ 3) вирусом ВБС или находившихся в контакте с инфицированными животными (№№ 1, 4).

МСИ–2015:

Панель 1 — инактивированные антигенные образцы вируса ящура типов А, О, Азия-1, SAT1, SAT2, С1, вируса оспы коз (ОК), вируса ВБС, представляющие собой суспензии эпителиальной ткани или концентрированные суспензии культур клеток ВНК-21, IB-RS-2, гонады козы.

Панель 2 — образцы сыворотки крови свиней и КРС, вакцинированных или не вакцинированных против ящура типов А, О, Азия-1, С, SAT2; свиней, зараженных и не зараженных вирусом ВБС; овец, зараженных вирусом ОО.

Панели были подобраны, подготовлены и протестированы в референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении сравнительных испытаний по диагностике ящура в 2013–2014 гг. всем участникам были поставлены наборы для выявления антигена вируса ящура и определения противоящурных антител в ИФА производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». Кроме того, в 7 лабораторий, 2 из которых находятся в ближнем зарубежье, — наборы для иммуноферментной диагностики ВБС и по 3 панели шифрованных образцов в соответствии с присланными наборами. Сравнительный анализ полученных результатов отражен на рис. 1.

Анализ результатов, полученных операторами разных лабораторий ФГБУ «ВНИИЗЖ», владеющих методом ИФА, показал следующее: 6 из 13 операторов успешно идентифицировали образцы панели 1; 2 из 13 — верно определили образцы панели 2; 6 из 8 — образцы панели 3.

При тестировании панели 1 ошибки были допущены в основном при идентификации образцов 6 и 7, являющихся 10% эпителиальной суспензией, содержащей

антиген вируса ящура типа А. В 7 из 13 случаев наблюдали перекрестную реакцию с типом Азия-1.

Из 5 зарубежных лабораторий лишь в одной безошибочно были идентифицированы все присланные образцы. Сотрудники этой лаборатории прошли обучение для работы с наборами производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» незадолго до проведения испытаний, сотрудники 4 других зарубежных лабораторий имели некоторый опыт постановки ИФА, однако наборы для диагностики ящура и ВБС использовали впервые.

Количество ошибок, допущенных операторами из разных лабораторий ФГБУ «ВНИИЗЖ», владеющих методом ИФА, но не занимающихся диагностикой ящура, было значительно меньше.

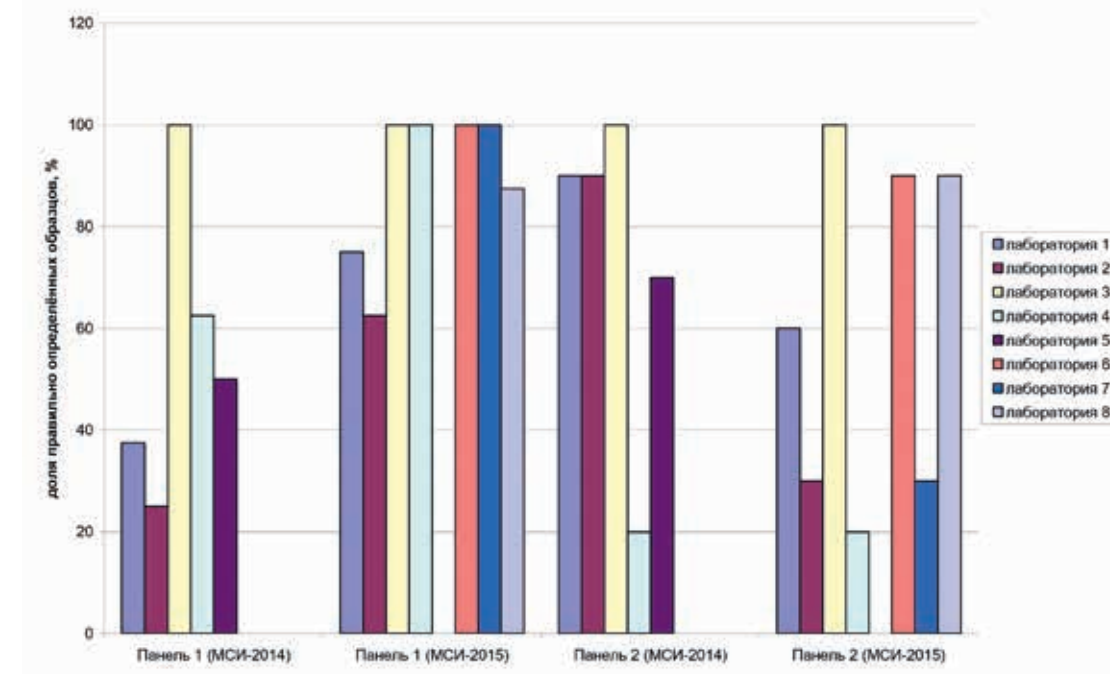
Самой сложной для участников испытаний в постановочном плане оказалась реакция жидкофазного блокирующего «сэндвич»-варианта ИФА для определения уровня противоящурных антител. Эта реакция многоступенчатая и требует большой аккуратности при постановке, тщательного соблюдения всех пунктов инструкции. Несистематический, веерный характер ошибок, допущенных операторами, говорил как раз о случайности и неточности в техническом исполнении.

Постановка реакции ИФА включает целый ряд последовательных этапов: подготовка проб и компонентов реакции, приготовление рабочих растворов, дозирование, инкубация, промежуточные стадии отмывки лунок планшета, измерение оптической плотности и т.д., на каждом из этих этапов может произойти ошибка, влияющая на конечный результат.

На воспроизводимость результатов анализа также могут влиять различные факторы: время (соблюдение интервалов), калибровка оборудования, оператор, его опыт, квалификация, аккуратность в постановке реакции, а также параметры окружающей среды и т.п. [2].

Первый опыт проведения подобных международных квалификационных сравнительных мероприятий показал их несомненную пользу, поскольку выявил определенные проблемы в лабораторной диагностике ящура не только при работе с наборами производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», но и при использовании рутинных ме-

Рис. 2. Правильность определения тестовых образцов панели 1 и панели 2 в 2014 и 2015 гг.



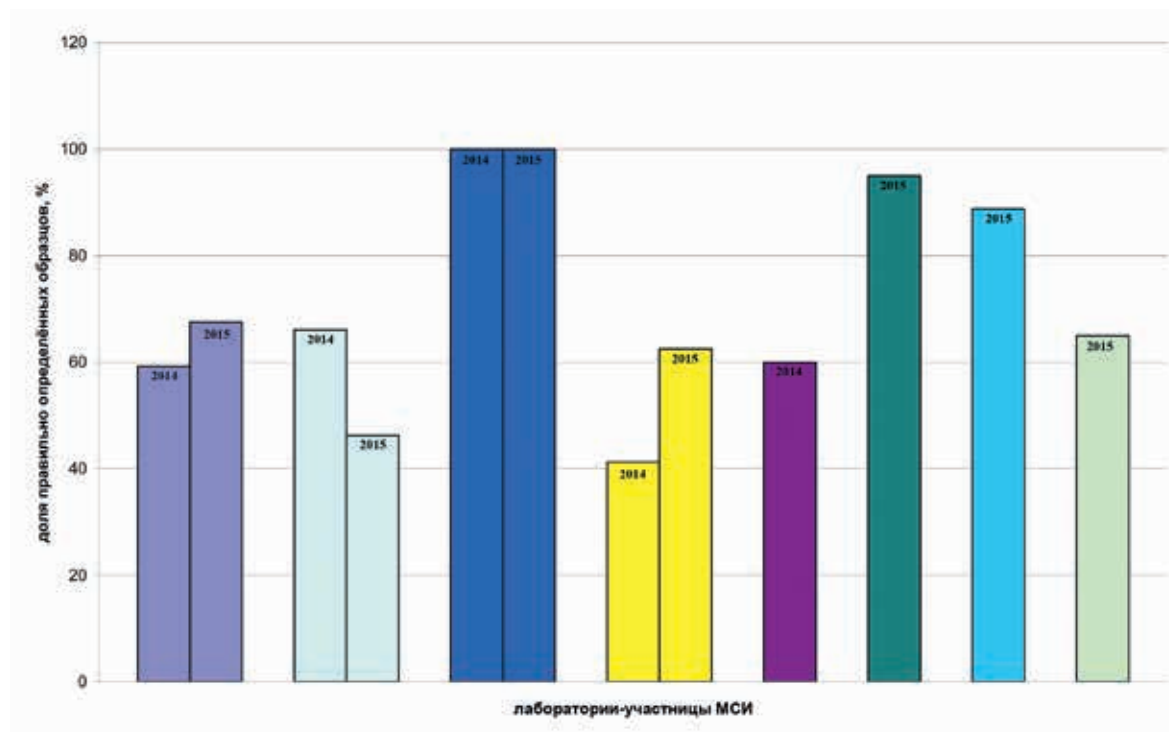


Рис. 3. Правильность определения тестовых образцов в каждой лаборатории, участвовавшей в МСИ по диагностике ящура в 2014 и 2015 гг.

тодов, применяемых в повседневной диагностической практике лабораторий. Анализ и правильное понимание допущенных ошибок позволят избежать их в будущем. Зарубежным участникам были высланы отчеты с расшифровкой проб, интерпретацией результатов, перечнем возможных ошибок и путей их устранения.

В 2015 г. число участников МСИ по диагностике ящура из лабораторий стран СНГ увеличилось до 9, в том числе 4 лаборатории участвовали во второй раз. Однако до финала дошли только 7 лабораторий: одна из лабораторий не представила отчет испытаний, отчет другой не был принят из-за некорректно проведенных исследований. В адрес лабораторий так же, как и в предыдущих испытаниях, были отправлены диагностические наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» и по две тестовые панели с образцами биоматериала от сельскохозяйственных животных, включая образцы антигена и сыворотки крови.

Как видно из данных, представленных на рис. 2 и 3, число лабораторий, показавших удовлетворительный уровень тестовых исследований в рамках МСИ (60% и более правильно определенных образцов), в целом выросло с 60% (3 из 5 лабораторий) в 2014 г. до 85,7% (6 из 7 лабораторий) в 2015 г. В частности, по панели 1 наблюдали увеличение числа лабораторий, справившихся с тестовыми заданиями, с 40% в 2014 г. до 100% в 2015 г. Что касается панели 2, то в этом случае динамика была обратной — снижение числа лабораторий, прошедших испытания, с 80% в 2014 г. до 57% в 2015 г.

Результаты МСИ–2015 в виде официального отчета были направлены в лаборатории.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение числа участников Международных квалификационных сличительных испытаний в 2015 г. по сравнению с 2013–2014 гг. и наблюдаемая поло-

жительная динамика среди большинства повторно прошедших испытания лабораторий по диагностике ящура свидетельствовали о заинтересованности диагностических лабораторий стран СНГ в подобных мероприятиях в плане повышения их квалификации в области диагностики ящура, а также для аккредитации и последующего подтверждения компетенции согласно ГОСТу 17025. Кроме того, поставка наборов производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» для проведения МСИ способствовала более широкому их использованию в диагностической практике отдельных лабораторий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кременчугская С.Р., Майорова Т.К., Луговская Н.Н. Участие ФГБУ «ВНИИЗЖ» как Региональной референтной лаборатории МЭБ по ящуру в квалификационных испытаниях ФАО/МЭБ по ящуру и везикулярной болезни свиней // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2013. — Т. 11. — С. 8–13.
2. Лебедин Ю.С., Карпова Т.В. Основные источники ошибок при проведении иммуноферментного анализа // Хема-Медика. — URL: <http://xema-medica.com/>.
3. Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе. Информационные материалы / Н.В. Залесских, М.Н. Кокорева, Т.В. Сивилева. — Н. Новгород: НПО «Диагностические системы». — 2007. — 35 с.
4. FMD and SVD combined proficiency test studies 2009 and 2010 — virology and overview / Y. Li, G. Wilsden, P. Keel [et al.] // Open sessions of the standing technical and research committees of the EuFMD commission: New tools and challenges for progressive control, EMD Week 2010, Vienna, Austria. — Book of Abstracts. — Rome, 2010. — P. 43.
5. FMD and SVD combined proficiency test studies 2011 / B. Armson, G. Wilsden, P. Hamblin [et al.] // Open sessions of the standing technical and research committees of the EuFMD commission: Appliance of science in the progressive control of FMD, Jerez de la Frontera, Spain, 2012. — Book of Abstracts. — Rome, 2012. — P. 82.

UDC 619:616.98:578.835.2:578.835.1:616-076

ANALYZING RESULTS OF PROFICIENCY TESTS CARRIED OUT BY THE FGBI ARRIAH REFERENCE LABORATORY FOR FMD DIAGNOSIS IN 2013–2015

N.N. Lugovskaya¹, S.R. Kremenchugskaya²

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

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

SUMMARY

Results of the international interlaboratory proficiency tests on FMD diagnosis carried out by the FGBI ARRIAH Reference Laboratory for FMD Diagnosis in 2013–2015 were analyzed. Ten laboratories from seven CIS-countries took part in the proficiency tests, including the Republic of Kazakhstan, the Republic of Armenia, the Republic of Moldova, the Republic of Belarus, the Republic of Azerbaijan, the Republic of Tajikistan, the Kyrgyz Republic and five laboratories of the FGBI «ARRIAH».

Key words: interlaboratory proficiency tests, laboratory diagnosis, FMD, ELISA.

INTRODUCTION

Validity of the obtained results is a mandatory requirement for laboratory tests. Therefore, quality control of the performed tests, including those for FMD, is an essential precondition for fail-safe diagnostic system in the laboratory. ISO recommendations (International Organization for Standardization) stipulate that quality shall be ensured at all stages of laboratory tests [2, 3]. For this purpose the FAO and OIE World Reference Laboratory for FMD (IAH, Pirbright, UK) carries out annual proficiency tests for reference laboratories.

Since the FGBI «ARRIAH» is the OIE Regional Reference Laboratory for FMD and FAO Reference Centre for FMD for Central Asia and Western Eurasia, it also actively participates in such projects. It helps to improve diagnostic test systems used in the labs and to increase quality of FMD monitoring tests [1, 2, 4, 5].

The OIE regional reference laboratories for FMD are, inter alia, responsible for preparation of the subordinated laboratories so that they could diagnose FMD in case of risk and/or occurrence, rapidly and reliably identify and differentiate infectious agents causing vesicular syndrome in susceptible animals and assess immune status in population vaccinated against FMD.

For this purpose the first interlaboratory proficiency tests on FMD diagnosis (IPT-2013/2014) were organized between December 2013 and April 2014. 20 operators

from 5 laboratories of the neighbouring countries took part in it, including Kazakhstan, Kyrgyzstan, Armenia, Azerbaijan, Moldova and 5 laboratories of the FGBI «ARRIAH». From October to December 2015 proficiency tests on FMD diagnosis were carried out for the second time (IPT-2015) with 9 participating laboratories from 6 CIS-countries, including Kazakhstan, Kyrgyzstan, Armenia, Moldova, Belarus and Tajikistan.

The paper covers analysis of the IPT results.

MATERIALS AND METHODS

Diagnostic tests. The FGBI «ARRIAH» diagnostic kits were used for work: «FMDV antigen detection ELISA kit», «FMD antibody detection ELISA kit for animal sera», «ELISA diagnostic kit for swine vesicular disease». The test was carried out in accordance with the instruction leaflet.

In order to confirm ELISA results, foreign participants used a kit of reagents for polymerase chain reaction RT-PCR «FMD» (Tetracore, USA), FMDV Antigen Detection ELISA (IZSLER, Brescia, Italy & IAH, Pirbright, UK), SPCE for Antibodies to FMDV (IZSLER, Brescia, Italy), FMDV ELISA KIT for detection of Antigens Serotypes O, A, C, Asia1 (IAH, Pirbright, UK), FMDV NS Ab ELISA (ID-VET, France), FMDV antigen detection CFT kit (bioplant «Altyn Tamyr», the Republic of Kyrgyzstan). The tests were performed in accordance with the kit instructions.

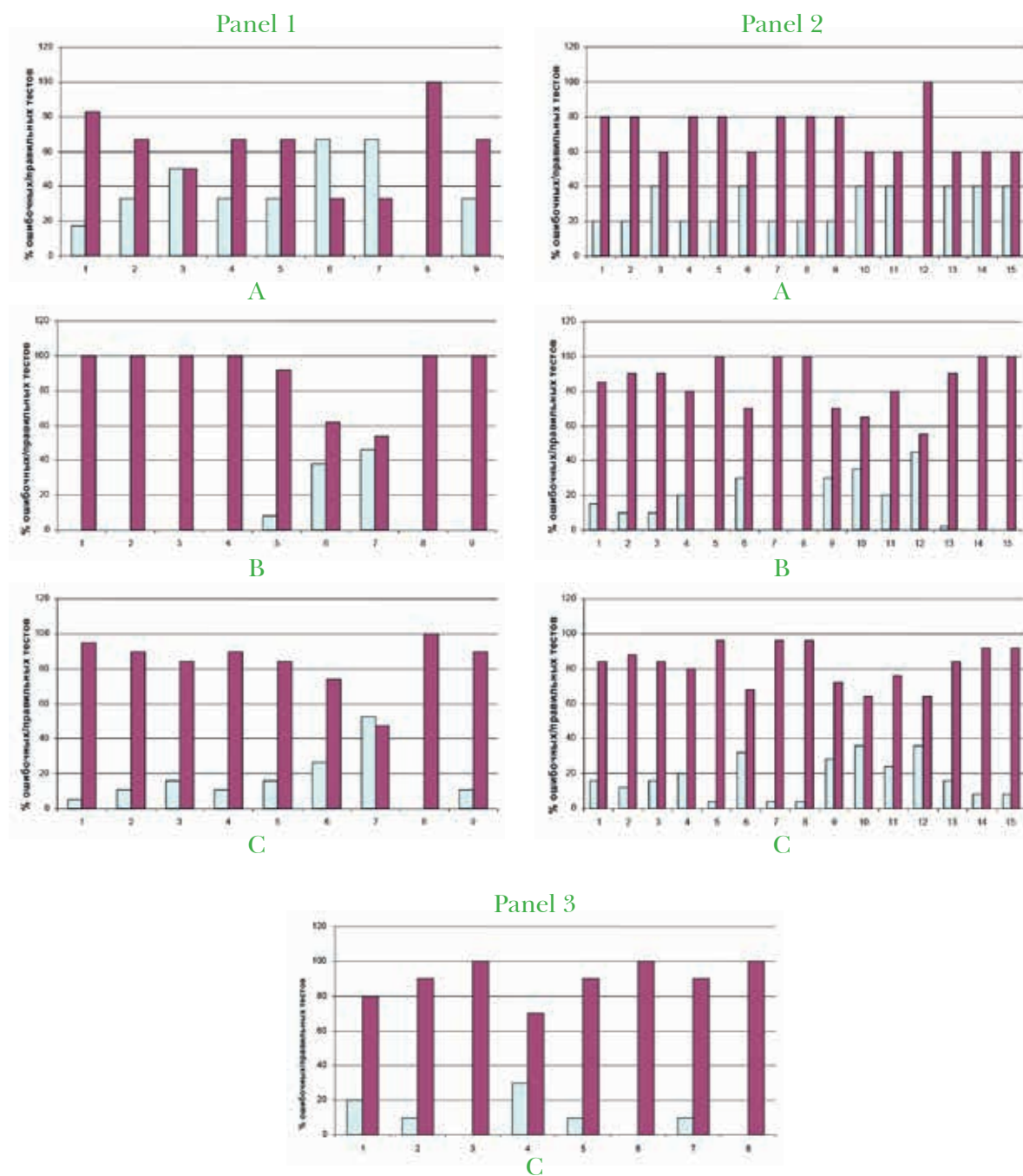


Fig. 1. Comparative analysis of the test results for samples from Panels 1, 2, 3 (IPT-2013/2014)

A – laboratories of the CIS countries; B – FGBI «ARRIAH» laboratories; C – summarized results for all participants of the proficiency tests; Panel 1: column 1-8 – coded antigen samples, 9 – control antigen; Panel 2: column 1-10 – coded sera samples, 11-13 – control samples, 14 – antigen control, 15 – conjugate control; Panel 3: column 1-6 – coded sera samples from pigs, 7 – positive control, 8 – negative control; Light columns – incorrect tests; dark columns – correct tests.

Panels of coded freeze-dried samples used for IPT-2013/2014:

Panel 1 – inactivated antigen samples of FMDV types A and O (№№ 1-3, 6, 7), of sheep pox virus (SP) (№ 8), of swine vesicular disease (SVD) (№ 5) in the form of epithelium suspension or concentrated suspensions of BHK-21,

IB-RS-2 cell lines, goat gonads; normal tongue epithelium of cattle (№ 4).

Panel 2 – sera samples from cattle vaccinated or non-vaccinated against FMD types A, O, Asia-1, C1, SAT2 (№№ 2, 4, 5, 6, 9, 10 – positive, containing antibodies to FMD virus; № 1 – normal bovine serum); from pigs infected and non-infected

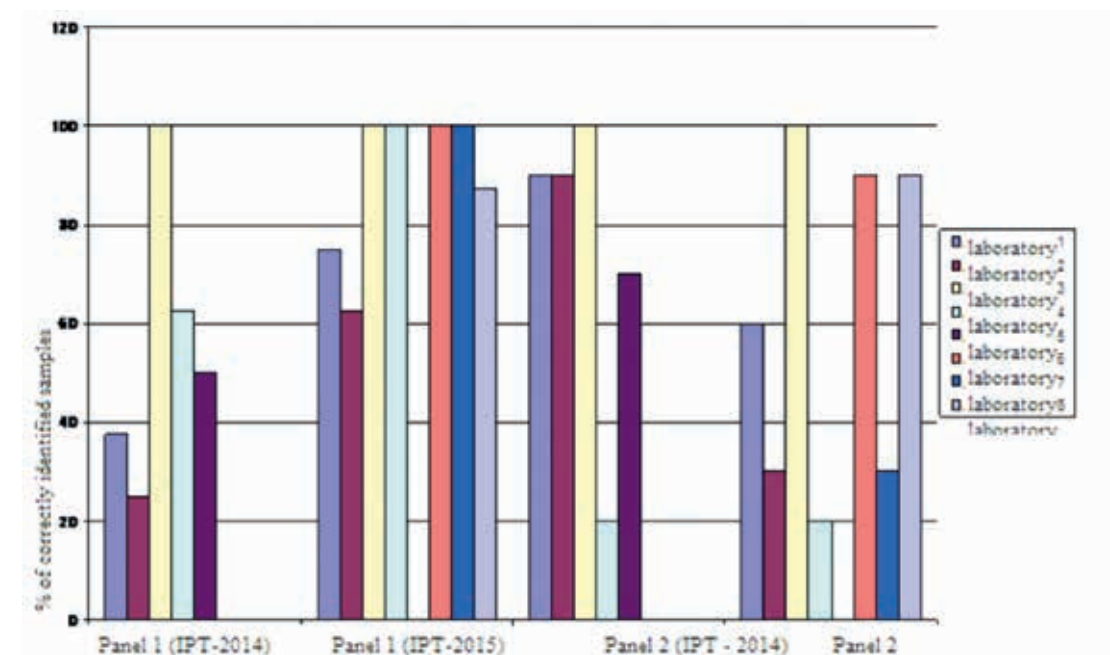


Fig. 2. Correctness of test sample identification for Panel 1 and 2 in 2014 and in 2015

with SVD virus (№ 7 – normal porcine serum, № 8 – SVD positive); from sheep infected with sheep pox virus (№ 3).

Panel 3 – sera samples from SVD infected and non-infected pigs or pigs that have been in contact with the infected animals (№№ 1, 4).

IPT-2015:

Panel 1 – inactivated antigen samples of FMDV types A and O, Asia-1, SAT1, SAT2, C1, goat pox virus, SVD virus in the form of epithelium suspensions or concentrated suspensions of BHK-21, IB-RS-2 cell lines, goat gonads.

Panel 2 – sera samples from pigs and cattle vaccinated or non-vaccinated against FMD types A, O, Asia-1, C1, SAT2; from pigs infected and non-infected with SVD; sheep infected with sheep pox virus.

The panels were selected, prepared and tested in the Reference Laboratory for FMD in the FGBI «ARRIAH».

RESULTS AND DISCUSSIONS

During the proficiency tests on FMD diagnosis in 2013-2014 all the participant received FMDV antigen detection ELISA kit and FMDV antibody detection ELISA kit produced by the FGBI «ARRIAH». In addition, SVD diagnostic ELISA kits together with 3 panels of coded samples corresponding to the sent kits were sent to 7 laboratories (2 of them are located in the neighbouring countries). Figure 1 shows comparative analysis of the obtained results.

Analysis of the results obtained by operators from different FGBI «ARRIAH» laboratories using ELISA revealed that: 6 out of 13 operators successfully identified samples from Panel 1; 2 out of 13 – correctly identified samples from Panel 2; 6 out of 8 – samples from Panel 3.

When Panel 1 was tested, errors were mostly made during identification of samples 6 and 7 that are 10%

epithelium suspension containing FMDV type A antigen. Cross-reaction with Asia-1 type was observed in 7 out of 13 cases.

Only one out of 5 foreign laboratories managed to accurately identify all the received samples. Employees of the laboratory were trained immediately before the tests to work with the FGBI «ARRIAH» test kits, employees of the other 4 foreign labs had some experience in ELISA; however, they used FMD and SVD diagnostic kits for the first time.

Operators from different FGBI «ARRIAH» laboratories with a background in ELISA, but not directly involved in FMD diagnosis, made significantly less errors.

Liquid-phase blocking «sandwich» ELISA for FMD antibody level was the most difficult for the test participants. It is a multi-step test requiring accuracy, strict compliance with all the instruction points. Accidental and interdependent errors made by the operators during the test suggested random nature of the test procedure and its technical inaccuracy.

ELISA procedure includes several stages: preparation of samples and test reagents; preparation of working solutions; dosing; incubation; intermediate plate washing; optical density measurement and etc. Errors can be made at any stage, thus, affecting the final results.

Reproducibility of the test results can be also affected by different factors: time (compliance with the intervals), calibration of equipment, operator and his expertise and qualification, accuracy of the test procedure, environmental parameters and etc. [2].

First experience in the international proficiency tests confirmed indisputable benefits of the project since it revealed a number gaps in FMD diagnosis related not only to the use of FGBI «ARRIAH» diagnostic kits but also to the use

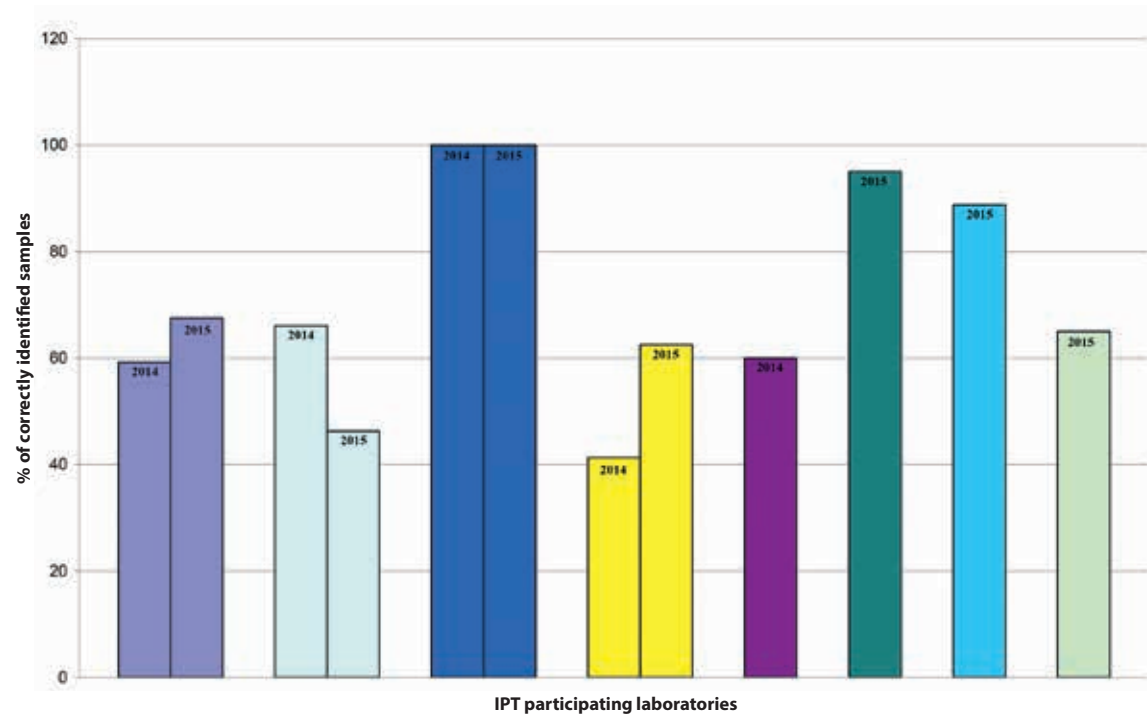


Fig 3. Correctness of test sample identification in each laboratory participating in IPT on FMD diagnosis in 2014 and 2015

of routine methods for lab every-day diagnosis. Analysis and clear understanding of the revealed errors will help to avoid them in future. The foreign participants received reports with decoded samples, interpretation of results, a list of possible errors and ways of correction.

In 2015 the number of CIS laboratories participating in the IPT on FMD diagnosis increased up to 9, including 4 laboratories that participated for the second time. However, only 7 laboratories completed the project: one of the labs did not submit a test report; another report was not accepted due to incorrect test procedure. As well as in the previous tests the laboratories received FGBI «ARRIAH» diagnostic kits and two panels with biomaterial from farm animals, including antigen and sera samples.

Figures 2 and 3 show that the number of labs with satisfactory IPT level (60% of correctly identified samples and more) grew from 60% (3 out of 5 labs) in 2014 up to 85.7% (6 out of 7 labs) in 2015.

In particular, there was a growth in the number of labs (from 40% in 2014 to 100% in 2015) that successfully completed IPT assignments of Panel 1. A reverse trend was seen, however, for Panel 2, when the number of labs that successfully completed the assignments decreased from 80% in 2014 down to 57% in 2015.

IPT-2015 results were sent to the laboratories in the official report.

CONCLUSION

The growth in number of IPT participants in 2015 in comparison with 2013-2014 and the obvious progress made by most laboratories that once again took part in the IPT on FMD diagnosis suggested that the CIS laboratories were interested in such projects so that to improve

their skills in FMD diagnosis, to get accreditation and to confirm their competences according to GOST17025. In addition to it, use of the FGBI ARRIAH test kits for IPT purposes promoted their wider use in diagnostic procedures in some laboratories.

REFERENCES

1. Kremenchugskaya S.R., Mayorova T.K., Lugovskaya N.N. The FGBI «ARRIAH» takes part in the proficiency tests on diagnosis of foot and mouth disease and porcine vesicular disease as the FAO/OIE Regional Reference Laboratory for FMD // Proceedings of the Federal Centre for Animal Health. - Vladimir, 2013. - Vol. 11. - P. 8-13.
2. Labadin Yu.S., Karpova T.V. Main sources of errors made during ELISA procedures // Xema-Medika. - URL: <http://xema-medica.com/>.
3. Internal and external quality control system in ELISA. Information materials / N.V. Zaleskiy, M.N. Kokoreva, T.V. Sivilyova. - N. Novgorod: NPO «Diagnostic systems». - 2007. - 35 p.
4. FMD and SVD combined proficiency test studies 2009 and 2010 – virology and overview / Y. Li, G. Wilsden, P. Keel [et al] // Open sessions of the standing technical and research committees of the EuFMD commission: New tools and challenges for progressive control, EMD Week 2010, Vienna, Austria. - Book of Abstracts. - Rome, 2010. - P. 43.
5. FMD and SVD combined proficiency test studies 2011 / B. Armson, G. Wilsden, P. Hamblin [et al.] // Open sessions of the standing technical and research committees of the EuFMD commission: Appliance of science in the progressive control of FMD, Jerez de la Frontera, Spain, 2012. - Book of Abstracts. - Rome, 2012. - P. 82.

УДК 619:616.98:579.887.111:636.22/28

ПРОБЛЕМА КОНТАГИОЗНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

А.В. Пискунов¹, А.В. Кононов², А.В. Мищенко³

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

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

³ заместитель директора по НИР и мониторингу, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mischenko@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота — высококонтагиозное трансграничное заболевание жвачных животных, которое на данный момент широко распространено на Африканском континенте. Заболеваемость в восприимчивом стаде достигает 100%, а смертность варьируется от 10 до 90% в зависимости от породы, индивидуальной восприимчивости и общей резистентности организма животных. На сегодняшний день существует огромный риск заноса возбудителя с импортируемыми животными и сырьем из неблагополучных эндемичных районов Африки в регионы, свободные от контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота (включая Евразию).

Ключевые слова: : эпизоотология, контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* Small Colony.

животных, а Нокар и Ру в 1898 г. впервые культивировали возбудитель. Экспериментально удалось воспроизвести болезнь только в 1935 г. [1].

С начала XX века КПП КРС получила широкое распространение в Африке, а также в некоторых странах Азии и Европы. Количество случаев заболевания начало снижаться в Африке к 70-м гг., однако в конце 80-х и 90-х гг. КПП вновь стала распространяться в эндемичных районах. Кроме того, заболевание появилось в некоторых африканских и европейских странах (колониях), которые считались свободными от КПП. Болезнь оценивается мировым сообществом как особо опасная и отнесена Всемирной организацией здравоохранения животных (МЭБ) к списку «А» [1, 11, 18].

Ареал эндемических вспышек располагается от юга Сахары и до ЮАР (с севера на юг), от побережья Атлантического океана до Индийского (с запада на восток). К 70-м гг. XX века инфекция распространилась на все поголовье КРС в Западной, Центральной и Восточной Африке, а также в Анголе и северной части Намибии. Эпизоотия, имевшая существенные последствия социального порядка, произошла в Ботсване в 1976 г., где было уничтожено 320 тыс. голов КРС [18]. После этого случая в стране проводились двукратные серологические исследования на КПП и поголовный осмотр во время программы по вакцинации животных против ящура, которая была закрыта в 2001 г. К вновь инфицированным районам в 1990 г. добавились Уганда, Кения, Демократическая Республика Конго, Танзания. Также были зарегистрированы вспышки в Руанде (1994), Бурунди (1997), Замбии (1997), в Лесото, Малави, Мозамбике, ЮАР, Свазиленде, Зимбабве. Кроме того, возбудитель выявляли в штате Ассам в Индии, в Бангладеш, Мьянме. Считается, что возбудитель КПП был занесен в Центральную, Восточную и Западную Африку из Индии с инфицированным скотом [10]. Спорадические случаи, причиной которых послужил ввоз КРС из неблагополучных районов Африки, были зарегистрированы на Ближнем Востоке. Возбудитель КПП был искоренен в США в 1898 г., в Австралии в 1973 г., в КНР в 80-х гг. XX века. После фактической ликвидации в Европе

ВВЕДЕНИЕ

Контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота (лат. *Pleuropneumonia contagiosa bovim*; англ. *Bovine contagious pleuropneumoniae*; повальное воспаление легких, перипневмония, ПВЛ, КПП КРС) — высококонтагиозная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, фибриной интерстициальной пневмонией, серозно-фибринозным плевритом с последующим образованием анемических некрозов и секвестров в легких, скоплением большого количества экссудата в грудной полости [1, 5].

Историческая справка, распространение и эпизоотическая ситуация в мире

КПП КРС является трансграничным заболеванием, при распространении которого возможны серьезные последствия на национальном уровне. Ежегодные экономические потери при КПП в странах Африканского континента составляют 30 млн долларов [13, 19].

Первое сообщение о повальном воспалении легких КРС (1696) принадлежит Валентини. Инфекционную природу КПП установил Буржея в 1765 г. Виллемс (1852) доказал возможность активной иммунизации

в XIX веке заболевание вновь появилось в Португалии и Испании в 1951 и 1957 гг. соответственно. В мае 2003 г. МЭБ официально признало Португалию свободной от КПП. Кроме того, вспышки были зарегистрированы несколько раз на юге Франции, последний раз в 1984 г. В Италии болезнь появилась в 1990 г., но в 1993 г. была ликвидирована [5, 7, 15].

На данный момент в современном мире вспышки регистрируются только на территории Африканского континента. По данным срочных отчетов [11]: Габон (2010) — 3 вспышки, Конго (2010) — 1, Гамбия (2012) — 1, Замбия (2013) — 1, Гвинея (2013) — 2, Сенегал (2013) — 1, Сенегал (2014) — 1 вспышка. Последний зарегистрированный случай (по данным МЭБ) произошел в Мавритании 20 октября 2015 г. Центральнаяафриканская Республика является эндемичной по КПП с 10 сентября 2007 г., Габон с 23 августа 2015 г. (рис. 1).

КПП КРС в европейской части России впервые была установлена в 1824–1825 гг. Иенсеном и Лукиным. В начале XX века болезнь получила широкое распространение, а в результате проведения оздоровительных мероприятий была полностью ликвидирована в нашей стране в 1938 г. [1].

Информация о заболевании

Возбудителем контагиозной плевропневмонии является внеклеточный паразит *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*), семейство *Mycoplasmataceae*. Возбудитель КПП имеет схожие биохимические, иммунологические и генетические свойства с шестью другими микоплазмами вида *mycoides*. Филогенетические исследования генов рибосомной РНК (16S рРНК) показали, что микоплазмы тесно связаны с *Streptococcus* и *Lactobacillus*, в связи с чем есть теория, что они произошли от грамположительных бактерий [4]. Возбудитель КПП условно можно поделить на европейский и африканский подвиды, которые имеют 4 генетические группы, различающиеся по вирулентности. Изоляты, выделенные в Европе, являются менее па-

тогенными и вирулентными по сравнению с изолятами, выделенными в Африке и Австралии [2, 5, 17]. В мазках, как и другие микоплазмы, имеет кокковидную, диплококковую, нитевидную, звездчатую и другие формы. Возбудитель подвижный, грамотрецательный, хорошо окрашивается анилиновыми красителями, строгий аэроб. Все известные штаммы возбудителя КПП в антигенном отношении идентичны [1].

Устойчивость возбудителя к физическим, химическим и другим факторам внешней среды относительно низкая. Солнечный свет и высушивание убивают его за 5 часов, влажное прогревание при 55°C — за 5 минут, при 60°C — за 2 минуты, сухой жар — за 2 часа. В гниющем материале сохраняется до 9 дней, в замороженных легких — от 3 месяцев до 1 года. Микоплазмы погибают при 10-кратном замораживании и оттаивании, а также после 6-часового воздействия этиловым спиртом и эфиром [1, 7, 18].

Возбудитель обладает высокой устойчивостью к препаратам группы пенициллина и сульфаниламидам, но чувствителен к стрептомицину, тетрациклину, тилозину. Обычные дезинфицирующие средства в общепринятых концентрациях, а также детергенты достаточно быстро и надежно обезвреживают возбудителя во внешней среде [1].

В естественных условиях КПП восприимчивы жвачные: домашний КРС и буйволы, а также бизоны, зебу и яки в дикой природе. Основным резервуаром является КРС [16]. Несмотря на то, что буйволы восприимчивы к КПП, передача возбудителя от буйволов к КРС не подтверждена. В эксперименте материалом от больных животных удается заразить овец, коз, верблюдов и северных оленей. Животные других видов (в том числе лабораторные), а также человек, находясь в контакте с больными животными, не восприимчивы к КПП.

Источник возбудителя — больные и переболевшие животные, у которых до наступления полной инкапсуляции пораженных очагов возбудитель длительное время выделяется в окружающую среду с истечения-

ми из носа, бронхиальным секретом при кашле, мочой, калом, молоком и околоплодной жидкостью. Основной путь передачи — аэрогенный. В естественных условиях не исключается передача возбудителя алиментарным, половым, трансплацентарным и трансмиссивным путями. Факторами передачи могут быть моча и фураж (в аэрозольном состоянии), а также предметы ухода за животными.

Больной скот служит источником возбудителя инфекции на всех этапах инфекционного процесса. У животных, подвергшихся лечению, но имевших инкапсулированные очаги, установлена жизнеспособность возбудителя через 6 месяцев после лечения [7].

Аэрогенная передача возбудителя возможна на расстоянии до 50 метров от больного до восприимчивого животного. В связи с этим болезнь чаще всего распространяется при торговле и перевозке скота, скученном совместном содержании, частых перегруппировках [1].

Эпизоотический процесс при КПП в стаде развивается медленно и носит стационарный характер. В неблагополучном стаде чаще всего поражаются не все животные: 10–30% КРС резистентны как к естественному, так и к экспериментальному заражению. Клиническая картина проявляется только в 50% случаев заражения, а 20–25% переносят заболевание в субклинической форме, которая проявляется только кратковременной лихорадкой и наличием комплементсвязывающих антител без поражения легких при лабораторном исследовании. 10% животных являются хроническими носителями возбудителя на протяжении всей жизни. Животные с субклиникой и хроническим течением представляют наибольшую эпизоотологическую опасность [1, 7, 18].

Заболеемость в восприимчивом стаде достигает 100%, а смертность варьируется от 10 до 90% в зависимости от породы, индивидуальной восприимчивости и общей резистентности организма животных [15].

Клиническая картина. Инкубационный период при естественном заражении в большинстве случаев длится от 3 до 8 недель (иногда до 6 месяцев). При экспериментальном заражении клинические признаки начинаются проявляться на 2–3 неделю.

Болезнь может протекать сверхостро, остро, подостро и хронически. Проявляется в типичных и атипич-

ных формах. В среднем болезнь продолжается 40–50 дней. Полное выздоровление считается редкостью [5].

Иногда смерть наступает без клинических признаков, кроме лихорадки (сверхострая форма). При остром течении температура тела повышена вплоть до 42°C, аппетит отсутствует, животное угнетено, наблюдается депрессия, прекращается лактация. Болезнь сопровождается протеинурией, эритропенией, лейкоцитозом, тромбоцитозом, увеличением содержания фибриногена в плазме крови. Кроме того, наблюдаются признаки респираторной патологии: кроваво-гнойные истечения из носа, продолжительный и болезненный кашель. Дыхание поверхностное, рот открыт, животные стонут, болезненно реагируют при пальпации и перкуссии грудной клетки. На нижних частях тела могут образовываться подкожные отеки. Мочевыделение затруднено. Стельные коровы abortируют или могут быть мертворождения. При прогрессирующей форме в последние дни жизни присоединяется профузный понос с примесью крови. Обычно животные погибают к концу 3 недели. При субклинической форме у телят до 6-месячного возраста основным признаком заболевания могут быть полиартриты, особенно запястных и предплюсневых суставов, без признаков поражения органов дыхания, с осложнениями в виде эндокардитов и миокардитов. В большинстве случаев у взрослых животных при субклинической и хронической форме наблюдают лишь кратковременное повышение температуры, общее истощение, чаще при отсутствии клинической картины — поражения органов дыхания [1, 5, 7, 11, 18].

Патологоанатомические изменения. Во время инкубационного или скрытого периода в легких находят множественные бронхопневмонические очаги в средних и главных долях. На разрезе такие очаги имеют серо-красный цвет.

Чаще всего полная патологоанатомическая картина проявляется при острой форме КПП. Пораженные участки легких выступают на поверхность, плотные на ощупь. При разрезе обнаруживают участки гепатизации на разных стадиях. Стенки бронхов утолщены, серого цвета. Междольковая и междольчатая соединительная ткань представляет собой тяжи серо-белого цвета, разделяющие паренхиму легкого на доли и дольки. В результате резкого расширения и тромбоза лимфатических сосудов соединительнотканые тяжи

Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по КПП в мире в период с 2010 по 2015 гг.

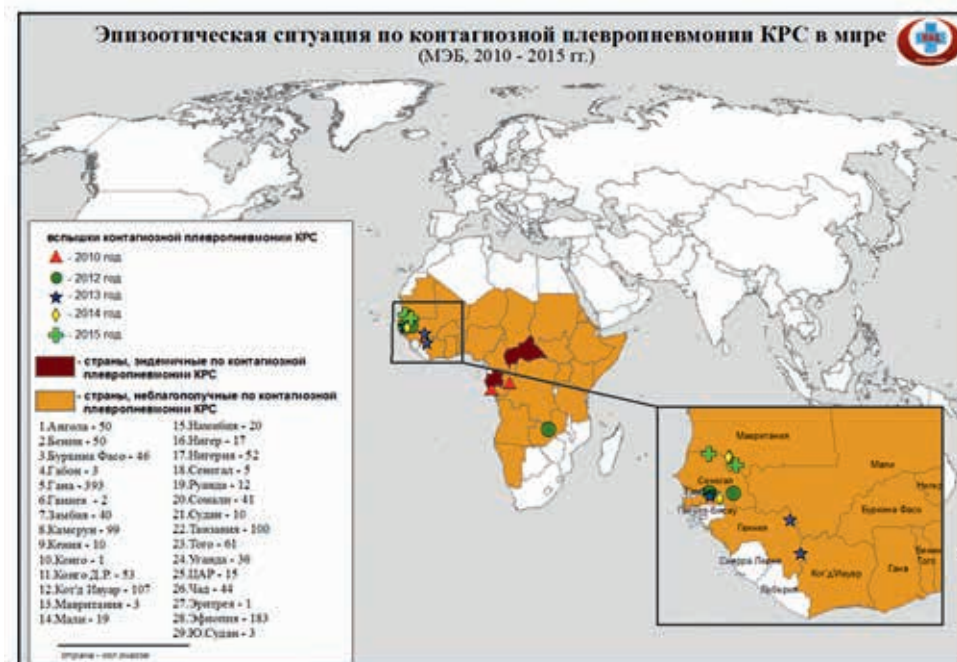


Рис. 2, 3. Фиброзное утолщение междольковых и междольчатых соединительнотканых перегородок





Рис. 4. Серозно-фибринозный экссудат в грудной полости и фибриновые наложения на плевре (фибринозный плеврит)

имеют вид пористых образований. Одна часть находится в состоянии отека и имеет влажную блестящую поверхность, другая часть некротизирована, серо-белого цвета, в сочетании с многочисленными кровоизлияниями придает легкому «мраморный» вид (рис. 2, 3).

На поздних стадиях развития патологического процесса образуются секвестры (инкапсулированные участки омертвевшей ткани легкого), которые развиваются на фоне тромбоза крупных ветвей легочной артерии. В секвестрах при КПП КРС сохраняется первичная структура измененной ткани легких, а от живой ткани они ограничены мощной капсулой и имеют гнойную прослойку. В плевральной полости накапливается большое количество серозно-фибринозного экссудата красно-желтого цвета, без запаха, с хлопьями фибрина. Легочная и реберная плевра утолщена, покрыта фибринозными наложениями (рис. 4) [1, 5, 7, 11, 18].

Диагноз устанавливают на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, а также по результатам лабораторных исследований.

Согласно техническому листу МЭБ, лабораторную диагностику на КПП проводят методом ПЦР, ИФА, РСК и иммуноблоттинга [11].

Авторы разных стран предлагают различные системы и виды ПЦР для выявления генома КПП, которые в целом не отличаются друг от друга по чувствительности и эффективности, но в основном используют PCR-REA (ПЦР с последующим рестрикционным анализом амплификации) и nested-PCR (двойной амплификации, с использованием фрагмента «гнезда») [6].

Серологическая диагностика является эффективной только на уровне стада, так как лабораторные исследования проб сыворотки крови у отдельных животных могут давать ложноположительные результаты, что может в свою очередь привести к постановке неправильного диагноза. Ложноположительные результаты возможны в 3% случаев, при перекрестном исследовании на другие виды микоплазм, особенно с другими подвидами *M. mycoides* [14]. Метод ИФА чаще всего используют при скрининге и для программ по ликвидации. У невакцинированных животных выявление антител в сыворотке крови возможно только начиная с 7 дня с момента заболевания и до 5 месяцев [8, 14].

Чувствительность метода РСК при диагностике КПП варьируется в зависимости от стадии течения заболе-

вания, к примеру, в период «манифестной» стадии чувствительность метода увеличивается, так как в крови циркулирует высокий уровень комплементсвязывающих иммуноглобулинов. В продромальный период, в стадии затухания, а также при субклинической и хронической форме заболевания чувствительность метода на порядок ниже [8]. Возникали случаи, когда во время исследования проб сывороток крови, отобранных от вакцинированных животных (при вакцинации живой аттенуированной вакциной), двумя различными методами (РСК, ИФА) результаты не совпадали [20].

Иммуноблоттинг, наоборот, полезен как индивидуальный подтверждающий тест и не подходит для мониторинга [8, 11].

КПП следует дифференцировать от пастереллеза (особенно при ярко выраженной легочной форме), туберкулеза, ящура, чумы КРС, ПГ-3, эхинококкоза, катаральной и крупозной пневмонии незаразной этиологии, травматического перикардита.

Для лабораторного исследования отбирают сыворотку крови, выпот из междольчатой соединительной ткани легкого, плевральный выпот (взятый стерильно). Кроме того, посылают кусочки пораженного легкого, консервированные глицерином. При хроническом течении — кусочки секвестров, не подвергшихся полному некрозу [1, 5, 7]. Во всех случаях необходимо отбирать средостенные лимфатические узлы (избегая надразов и механических повреждений). Для гистологического исследования направляют зафиксированные (в 10% формалине) патологически измененные участки легких.

Природа иммунитета при КПП выяснена недостаточно. Переболевшие животные приобретают напряженный иммунитет продолжительностью иногда более 2 лет. Для создания напряженного поствакцинального иммунитета в странах, неблагополучных по КПП (страны Африки), проводят вакцинацию живой вакциной, приготовленной из авианизированных, аттенуированных (например, штамм T1/44 или T1/sr) или природно-ослабленных штаммов. Было доказано, что при однократном введении вакцины восприимчивым животным эффективность составляла 33–67% (% серопозитивных животных) независимо от используемого штамма. В аналогичном эксперименте, но при двукратном введении эффективность достигала 80,1 и 95% (штамм T1/sr и T1/44 соответственно) [21]. Поэтому для эффективной вакцинации рекомендуется прививать животных двукратно (повторно через 6 месяцев) в первый год, в дозе 1×10^8 КОЕ, а затем ежегодно на протяжении 3–5 лет, в зависимости от эпизоотической ситуации в регионе [18]. Следует отметить, что вакцинация является эффективной только в том случае, если в стране на высоком уровне отлажена система прослеживания животных, которая включает контроль за перемещением животных внутри страны.

Лечение КРС целесообразно только в эндемичных районах в связи с тем, что для данной инфекции характерно носительство. Кроме того, лечение может спровоцировать развитие устойчивых штаммов и увеличение случаев возникновения КПП с субклиническим течением болезни [3, 12]. Тем не менее антибиотики широко используются на скотоводческих фермах в эндемичных районах. По литературным данным, при лечении КПП наиболее эффективны: тилозин, данофлоксацин, окситетрациклин, флорфеникол и спектиномицин [1, 7, 9].

Для предотвращения заноса необходимо закупать скот из благополучных регионов, в которых за последние 6 месяцев не было зарегистрировано ни одного случая заболевания КПП. Кроме того, двукратные результаты серологических исследований (с интервалом 2 месяца) проб сыворотки крови, взятой от животных перед закупкой, должны быть отрицательными. При возникновении заболевания в ранее благополучном регионе рекомендуется подвергнуть убою в кратчайший срок всех больных, переболевших, а также подозреваемых в заражении животных. После тщательной очистки и дезинфекции помещений и мест обитания спустя 6 месяцев допускается завоз здоровых животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день контагиозная плевропневмония КРС остается серьезной проблемой в Африке и является главной причиной, препятствующей массовому разведению скота на территории Африканского континента ниже пояса экватора. В условиях обширных торгово-экономических связей между государствами существует огромный риск заноса возбудителя КПП с импортируемыми животными и сырьем из неблагополучных эндемичных районов в районы, где данное заболевание было ликвидировано, либо в регионы, свободные от КПП (включая Евразию).

В настоящее время РФ является благополучной по КПП, и поэтому основное внимание сосредоточено на предотвращении заноса возбудителя болезни на территорию нашей страны с импортным скотом и сырьем из неблагополучных регионов. Регионами повышенного риска возникновения КПП в Российской Федерации являются Северо-Кавказский, Южный и Приволжский федеральные округа.

Для присвоения РФ официального статуса страны, благополучной по КПП КРС [21], необходимо соблюдение определенных требований, включающих в себя мероприятия по контролю и надзору за КПП КРС, в том числе проведение серологических мониторинговых исследований в популяции восприимчивых животных, в первую очередь в регионах повышенного риска.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инфекционные болезни животных / Б.Ф. Бессарабов, А.А. Васькин, Е.С. Воронин [и др.]; под ред. А.А. Сидорчука. — М.: КолосС, 2007. — 671 с.
2. A comparison of serological tests and gross lung pathology for detecting contagious bovine pleuropneumonia in two groups of Italian cattle / R.A.J. Nicholas, F.G. Santini, N.M.A. Clark [et al.] // Vet. Rec. — 1996. — Vol. 139. — P. 89–93.
3. A model of contagious bovine pleuropneumonia transmission dynamics in East Africa / J.C. Mariner, J. McDermott, J.A.P. Heesterbeek [et al.] // Prev. Vet. Med. — 2006. — Vol. 73. — P. 55–74.
4. A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: Basis for their classification / W.G. Weisburg, J.G. Tully, D.L. Rose [et al.] // J. Bacteriol. — 1989. — Vol. 171. — P. 6455–6467.
5. Amanfu W. Contagious bovine pleuropneumonia (lung sickness) in Africa // Onderstepoort J. Vet. Res. — 2009. — Vol. 76, № 1. — P. 13–17.
6. Assessment of a novel multiplex real-time PCR assay for the detection of the CBPP agent *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC through experimental infection in cat-

tle / C. Schnee, M. Heller, J. Jores [et al.] // BMC Vet. Res. — 2011. — Vol. 7. — P. 47–53.

7. Campbell J. Contagious bovine pleuropneumonia // The Merck Veterinary Manual [online] / ed. C.M. Kahn, S. Line, S.E. Aiello. — 2015. — URL: http://www.merckvet-manual.com/mvm/respiratory_system/respiratory_diseases_of_cattle/contagious_bovine_pleuropneumonia.html.

8. Comparison between c-ELISA and CFT in detecting antibodies to *Mycoplasma mycoides mycoides* biotype SC in cattle affected by CBPP in Botswana / W. Amanfu, S. Sediadie, K.V. Masupu [et al.] // Annals of the New York Academy of Science. — 2000. — Vol. 916. — P. 364–369.

9. Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type / R.D. Ayling, S.E. Baker, R.A.J. Nicholas [et al.] // Vet. Rec. — 2000. — Vol. 146. — P. 243–246.

10. Contagious bovine pleuropneumonia / A. Provost, P. Perreau, A. Beard, [et al.] // Rev. Sci. Tech. — 1987. — Vol. 6. — P. 625–679.

11. Contagious bovine pleuropneumonia // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). — 2014. — Vol. 1, Chap. 2.4.9. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.09_CBPP.pdf.

12. Evaluation of the role of antibiotics and anti bacterial agents in the control of contagious bovine pleuropneumonia / E. Twinamasiko, N. Tailor, F. Mbuza [et al.] // Uganda J. Agric. Sci. — 2004. — Vol. 9. — P. 458–465.

13. Factors influencing the effective control of contagious bovine pleuropneumonia in Tanzania / E. Karimuri-bo, D.M. Kambarage, B.E. Lema [et al.] // Proceedings of the 15th Scientific Conference of the Tanzania Veterinary Association, 1st–3rd December 1997. — Arusha, Tanzania, 1997.

14. Le Goff C., Thiaucourt F. A competitive ELISA for specific diagnosis of Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) // Vet. Microbiol. — 1998. — Vol. 60. — P. 179–191.

15. Masiga W.N., Domenech J., Windsor R.S. Manifestation and epidemiology of contagious bovine pleuropneumonia in Africa // Rev. Sci. Tech. — 1996. — Vol. 15. — P. 1283–1303.

16. Mycoplasmas isolated from the respiratory tract of cattle and goats in Tanzania / L.J.M. Kusiluka, B. Ojeniyi, N.F. Friis [et al.] // Acta Vet. Scand. — 2000. — Vol. 41. — P. 299–309.

17. Pilo P., Frey J., Vilei E.M. Molecular mechanisms of pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC // Vet. J. — 2007. — Vol. 174. — P. 513–521.

18. Recognizing contagious bovine pleuropneumonia // FAO. Animal Health Manual. — 2002. — № 13 (Rev. 1). — URL: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4142E/y4142E00.pdf>.

19. Tambi N.E., Maina W.O., Ndi C. An estimation of economic impact of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in Africa / Rev. Sci. Tech. — 2006. — Vol. 25. — P. 999–1011.

20. The prevalence of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in cattle under different production systems in Kajiado district, Kenya / R.W. Matua-Alumira, Z. Ng'ang'a, Kiara H. [et al.] (2006) // Proceedings of the 11th Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics 6–8th June 2006. — Cairns, Australia, 2006. — P. 862.

21. Wesonga H.O. Thiaucourt F. Experimental studies on efficacy of T1sr and T1/44 vaccine strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Small Colony) // Revue Elev. Med. Vet. Pays Trop. — 2000. — Vol. 53. — P. 313–318.

PROBLEM OF CONTAGIOUS BOVINE PLEUROPNEUMONIA

A.V. Piskunov¹, A.V. Kononov², A.V. Mischenko³

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

² Head of the Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, E-mail: kononov@arriah.ru

³ Deputy Head for Research and Monitoring, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: mischenko@arriah.ru

SUMMARY

Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) is a highly contagious transboundary disease of ruminants which is currently widely spread on the African continent. Morbidity rate in a susceptible herd reaches 100% and mortality rate varies from 10% to 90% depending on the breed, individual susceptibility and animal resistance. Today, there is a huge risk of the agent introduction with animals and raw material exported from affected endemic areas of Africa to the areas free from contagious bovine pleuropneumonia (including Eurasia).

Key words: epidemiology, contagious bovine pleuropneumonia, *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony.

INTRODUCTION

Contagious bovine pleuropneumonia (Lat. *Pleuropneumonia contagiosa bovum*; epidemic pneumonia, peripneumonia) is a highly contagious disease characterized by fever, fibrinous, interstitial pneumonia, serous and fibrinous pleurisy with subsequent development of anemic necrosis and sequesters, excessive exudate accumulation in thoracic cavity [1, 5].

Disease history, distribution and world epidemic situation

Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) is a transboundary disease that can result in serious consequences when it spreads within the country. Annual economic losses associated with contagious bovine pleuropneumonia in African countries amount to 30 mln USD [13, 19].

Bovine epidemic pneumonia was firstly reported by Valentini in 1696. Bourgelat detected the agent of contagious bovine pleuropneumonia in 1765. Willems (1852) demonstrated the possibility of active immunization of animals. The agent was cultured for the first time by Nokar and Roux in 1898. The disease was experimentally reproduced in 1935. [1].

Since the early 20th century, contagious bovine pleuropneumonia has widely spread in Africa as well as in some Asian and European countries. The disease incidence had decreased in Africa by the 1970s however the disease be-

gan to spread again in endemic areas at the end of 1980s and in 1990s. Besides, the disease appeared in some African and European countries (colonies) that previously had been considered CBPP free. The disease is internationally recognized as highly dangerous and classified by the World Organization for Animal Health (OIE) to List A diseases [1, 11, 18].

Area of endemic outbreaks extends from the Southern Sahara to the Republic of South Africa (from the North to South) and from the Atlantic coast to Indian coast (from West to East). By 1970s the infection had affected all cattle population in West, Central and East Africa as well as in Angola and north part of Namibia. The epidemic having a significant social impact occurred in Botswana in 1976 where 320,000 cattle were destroyed [18]. Thereafter, two serological testings for CBPP were carried out as well as all animals were examined during anti-FMD vaccination campaign that was terminated in 2001. Uganda, Kenya, Democratic Republic of Congo, Tanzania became newly infected regions in 1990s. The disease outbreaks were also reported in Ruanda (1994), Burundi (1997), Zambia (1997), Lesotho, Malawi, Mozambique, SAR, Swaziland, Zimbabwe. Furthermore, the disease agent was detected in Assam State (India), Bangladesh, Myanmar. It is considered that CBPP agent was introduced with infected livestock to the Central, East and West Africa from India [10]. Spo-

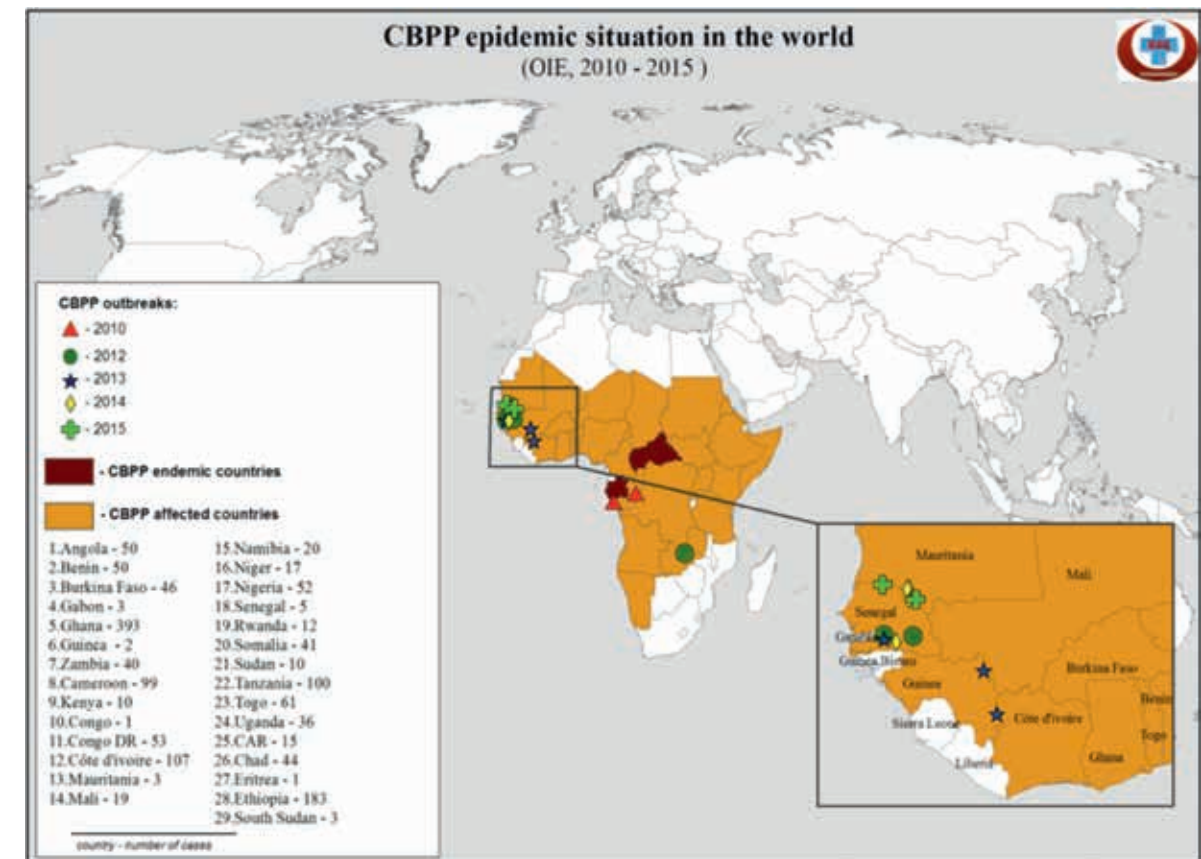


Fig. 1. CBPP epidemic situation in 2010-2015

radic disease cases associated with import of cattle from the infected African regions were registered in the Near East. The CBPP agent was eradicated in the USA in 1898, in Australia in 1973, in the People's Republic of China in 1980s. The disease was reemerged in Portugal and Spain in 1951 and 1957, respectively, after its actual eradication in Europe in 19th century. In May 2003 the OIE officially recognized Portugal free from CBPP. The disease outbreaks were also registered several times in the south of France, last time in 1984. In Italy the disease emerged in 1990 but was eradicated in 1993 [5, 7, 15].

Currently, the disease outbreaks are reported on African continent only. According to data given in urgent reports [11]: 3 outbreaks were reported in Gabon (2010), 1 outbreak - in Congo (2010), 1 outbreak - in Gambia (2012), 1 outbreak - in Zambia (2013), 2 outbreaks - in Guinea (2013), 2 outbreaks - in Senegal (in 2013 and 2014). The last reported case (according to the OIE data) occurred in Mauritania on October 20, 2015. The Central African Republic has been CBPP endemic since September 10, 2007 and Gabon - since August 23, 2015 (Fig. 1).

CBPP was firstly detected in the European part of Russia by Jensen and Lukin in 1824-1825. In the early 20th century the disease widely spread in Russia but was completely eradicated in 1938 owing to specific preventive and eradication measures [1].

Information on the disease

Mycoplasma mycoides subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*) of *Mycoplasmataceae* family, extracellular parasite, is a causative agent of contagious bovine pleuropneumonia. Biochemical, immunological and genetic characteristics of CBPP agent are similar to that ones of

other six *Mycoplasma mycoides* spp. Phylogenetic analysis of ribosomal RNA genes (16S rRNA) has shown that *Mycoplasmas* are closely related to *Streptococcus* and *Lactobacillus* suggesting that they originated from Gram-positive bacteria [4]. CBPP agent can be tentatively subdivided into European and African subspecies that comprise 4 genetic groups distinct in their virulence. Isolates recovered in Europe are less pathogenic than those recovered in Africa and Australia [2, 5, 17]. In smears it like other mycoplasmas is visualized as cocci, diplococci, filaments and star-shaped and other forms. The agent is motile, Gram-negative readily stained with aniline stains, strict aerobe. All known strains of CBPP agent are antigenically identical [1].

The agent has rather low resistance to physical, chemical and other environmental factors. Sunlight and drying kill it for 5 hours, wet heating at 55°C and at 60°C - for 5 and 2 minutes, respectively, dry heating - for 2 hours. In putrescent materials it survives for 9 days, in frozen lungs - for 3 months and up to one year. Mycoplasmas are killed by 10 freezing-thawing cycles as well as by their exposure to ether and ester for 6 hours [1, 7, 18].

The agent is highly resistant to penicillin and sulfanilamides but susceptible to streptomycin, tetracycline and tylosin. Common disinfectants at standard concentrations as well as detergents can rather quickly and reliably eliminate mycoplasma in the environment [1].

Ruminants, cattle and domestic buffaloes, as well as wild bisons, zebu and yaks, are naturally susceptible to CBPP. Cattle are the main reservoir [16]. Notwithstanding that buffaloes are susceptible to CBPP the transmission from buffaloes to cattle is not confirmed. Sheep, goats, camels and reindeer could be infected with materials from diseased animals under experimental conditions. Animals

of other species (including laboratory ones) as well as humans being in contact with diseased animals are not susceptible to CBPP.

The source of the agent is diseased and convalescent animals that shed the agent with nasal discharges, bronchial mucus excreted during coughing, with urine, feces, milk and amniotic fluid for a long time before the lesions become fully encapsulated. The main route of transmission is aerogenic. The agent can be transmitted by alimentary, genital, transplacental routes under natural conditions. The agent can be spread with urine, forage (as aerosol) as well as with animal handling tools.

Diseased animals are the source of the infectious agent at all stages of the infection course. It is found that the agent remains viable in treated animals with encapsulated lesions for 6 months after their treatment completion [7].

The agent can be transmitted by air from the diseased to susceptible animals over a distance of about 50 meters. Therefore, the disease often spread during trade and transportation of animals, due to overcrowding and joint keeping of animals and frequent regroupings of animals [1].

CBPP development in a herd is characterized with slow and steady progression. Not all animals are affected in the infected herd: 10-30% of cattle remain resistant to both natural and experimental exposure. Only 50% of infected animals demonstrate clinical signs, in 20-25% of the infected animals the disease is subclinical and manifested by transient fever only and characterized with presence of complement-fixing antibodies detected by laboratory tests and absence of lung lesions. 10% of animals become chronic lifelong agent carriers. Animals with chronic and subclinical diseases pose the most epidemic threat [1, 7, 18].

In a susceptible herd the disease incidence reaches 100% and the mortality rate varies from 10% to 90% depending on the breed, individual susceptibility and general resistance of animals [15].

Clinical signs. In case of natural infection the incubation period generally lasts 3-8 weeks (rarely for about 6 months). Experimentally infected animals develop clinical signs on week 2-3 after infection.

The disease may be acute, subacute and chronic. There are two forms of the disease: typical and atypical. Averagely the disease lasts for 40-50 days. Full recovery is rare [5].

Sometimes animals die without any clinical signs except for fever (peracute form). In peracute cases body temperature rises up to 42°C, clinical signs include inappetence, depression, ceased lactation. The disease is associated with proteinuria, erythropenia, leukocytosis, thrombocytosis and increased plasma fibrinogen. Moreover, there are manifestations of respiratory pathology such as bloody-purulent nasal discharges, long-lasting painful cough. Other signs include hypopnoea, opened mouth, groans, overreaction to palpation and percussion of thoracic region. Subcutaneous edemas may form on limbs. Urination obstruction occurs. Abortions and stillbirths may occur in pregnant cows. As the disease progresses intractable bloody diarrhea occurs in animals during the last days of their life. Animals generally die by the end of the third week. Subclinical disease in calves under the age 6 months are mainly characterized with polyarthritis particularly of carpal and tarsal joints without respiratory signs but with complicating endocarditic and myocarditis. Adult animals with subclinical and chronic disease commonly demonstrate only transient fever, general emaciation without any specific respiratory manifestations [1, 5, 7, 11, 18].

Postmortem lesions. Multiple broncho-pneumonic lesions in median and main lobes are found in animals during the incubation period or latent disease. These lesions are of grayish-red colour when dissected.

Apparent postmortem lesions are often observed in animals with acute CBPP. Lung lesions are solid and protruding to the lung surface. Areas of hepatization at different stages are observed when lungs are dissected. Bronchus walls are thickened and of grey colour. Interlobar and interlobular connective tissue is presented by grey-white bundles dividing the lung parenchyma in lobes and lobules. Due to sharp enlargement and thrombosis of lymph nodes the connective tissue looks like porous bundles. One part of a lung is edematous its surface is wet and shiny, and the other part is necrotized, of grey-white colour that together with multiple hemorrhages make the lung of marble appearance (Fig. 2, 3).

Sequesters (encapsulated areas of pulmonary sphacelus) associated with thrombosis of pulmonary artery large branches form at later stages of the pathological process. CBPP-induced sequesters retain the primary structure of modified lung tissue that is separated from normal tissue by thick capsule with purulent layer. Excessive serous-fi-

Fig. 2, 3. Fibrinous thickening of interlobar and interlobular connective tissue septa



Fig. 4. Serous-fibrinous exudate in thoracic cavity and fibrinous depositions on pleura (fibrinous pleurisy)

brinous exudate of red-yellow colour without odour but with fibrin flakes accumulate in pleural cavity. Pulmonary and costal pleura are thickened and covered with fibrinous deposits (Fig. 4) [1, 5, 7, 11, 18].

The disease is diagnosed based on epidemic epidemiological data, clinical signs, postmortem findings as well as laboratory test results.

According to the OIE technical standards CBPP laboratory diagnosis is performed by PCR, ELISA, CFT and immunoblotting [11].

Authors from different countries suggest various PCR systems and types for CBPP virus genome detection that are basically similar in their sensitivity and effectiveness but mainly PCR-REA (restriction enzyme site-directed amplification PCR) and nested PCR (double amplification using "nest" fragment) are used [6].

Serological diagnosis is efficient only at a herd level since laboratory tests of serum samples from individual animals may give false positive results that may lead to incorrect diagnosis. A proportion of false positive results during cross testing for other mycoplasma species especially for other *M. mycoides* spp. can be 3% [14]. ELISA is often used for screening and eradication programmes. In non-vaccinated animals antibodies can be detected in their sera from day 7 and up to 5 months after infection [8, 14].

Sensitivity of CFT used for CBPP diagnosis varies depending on the stage of the disease, for example, at clinical stage of the disease the test sensitivity is higher because of high levels of complement-fixating immunoglobulins circulating in animal blood. At prodromal stage, waning stage as well as in case of subclinical and chronic disease the sensitivity of the said method is much lower [8]. There were cases when sera collected from vaccinated animals (when live attenuated vaccine was used) were tested with two various methods (CFT, ELISA) with different results [20].

Alternatively, immunoblotting is useful as individual confirmative test but it does not suit for monitoring [8, 11].

CBPP should be differentiated from pastereullosis (especially in case of strongly pronounced pulmonary form), tuberculosis, foot-and-mouth disease, rinderpest, parainfluenza-3, echinococcosis, non-infectious catarrhal and lobar pneumonia, traumatic pericarditis.

Sera, transudates from interlobular pulmonary connective tissue, pleural transudate (aseptically collected) are used for laboratory tests. Besides, lung pieces are submitted for testing. In chronic cases, glycerol-preserved pieces of partially necrotized sequesters are submitted for testing [1, 5, 7]. In all cases mediastinal lymph nodes (avoiding cuts and mechanical damages) should be collected. 10% glycerol-fixed lung lesions are submitted for histological examination.

Nature of anti-CBPP immunity is not well known. Convalescent animals acquire strong immunity that lasts for sometimes 2 years. Live vaccines based on avianized attenuated (for example, T1/44 and T1/sr) or naturally weaken strains are used for inducing strong postvaccinal immunity in CBPP-infected countries (African countries). The vaccination effectiveness was proved to be 33-67% (% of seropositive animals) regardless of used vaccine strain when the vaccine was administered once to susceptible animals. In similar experiment the vaccination effectiveness reached 80.1% and 95% (T1/sr strain and T1/44 strain, respectively) when the vaccine was administered twice [21]. That's why, it is recommended to vaccinate animals twice at a dose of 1×10^8 CFU (with a 6-month interval) during the first year and then annually for 3-5 years depending on the epidemic situation in the region [18]. It should be noted that the vaccination is effective only if there is a good animal traceability system comprising national animal movement control in the country.

Anti-CBPP treatment of cattle is reasonable only in endemic areas due to carrier nature of the infection. Moreover, the treatment could give rise to resistant strains and increased number of subclinical CBPP cases [3, 12]. Nevertheless, antibiotics are widely used on livestock farms in endemic regions. According to the literature data, tylosin, danofloxacin, oxytetracycline, florfenicol and spectinomycin are the most effective for anti-CBPP treatment [1, 7, 9].

To prevent the disease introduction animals should be purchased from the disease-free regions where no CBPP cases have been registered for the last 6 months. Besides, serum samples collected from the animals before the purchase should be subjected to serological testing (with a 2-month interval) with negative results. In case of the disease outbreak in the previously free region, it is recommended to slaughter all diseased, convalescent as well as suspect animals. Normal animals should be placed to the holdings and habitats six months after their thorough cleaning and disinfection.

CONCLUSIONS

So far, contagious bovine pleuropneumonia has remained a serious problem in Africa and has been the major factor hampering mass livestock rearing in African regions below the equator. Taking into account extensive trade and economic relations between countries there is a high risk of CBPP agent introduction with animals and raw materials imported from infected endemic regions to the regions where the disease has been eradicated or to CBPP-free regions (including Eurasia).

The Russian Federation is currently free from CBPP since the main activities are focused on prevention of the CBPP agent introduction with livestock animals and raw materials imported from infected regions to the RF territory. The RF regions at high risk of CBPP occurrence are as follows: the North-Caucasian, Southern and Privolzhsky Federal Districts.

The Russian Federation shall comply with the specific requirements including measures for CBPP control and surveillance in order to be recognized as officially CBPP-free country. The said measures include serological monitoring in susceptible animal population particularly in the regions at high risk [21].

REFERENCES

1. Infectious animal diseases / B.F. Bessarabov, A.A. Vashutin, Ye.S. Voronin [et al.]; ed. A.A. Sidorchuk. - M.: KolosS, 2007. - 671 p.
2. A comparison of serological tests and gross lung pathology for detecting contagious bovine pleuropneumonia in two groups of Italian cattle / R.A.J. Nicholas, F.G. Santini, N.M.A. Clark [et al.] // Vet. Rec. - 1996. - Vol. 139. - P. 89-93.
3. A model of contagious bovine pleuropneumonia transmission dynamics in East Africa / J.C. Mariner, J. McDermott, J.A.P. Heesterbeek [et al.] // Prev. Vet. Med. - 2006. - Vol. 73. - P. 55-74.
4. A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: Basis for their classification / W.G. Weisburg, J.G. Tully, D.L. Rose [et al.] // J. Bacteriol. - 1989. - Vol. 171. - P. 6455-6467.
5. Amanfu W. Contagious bovine pleuropneumonia (lung sickness) in Africa // Onderstepoort J. Vet. Res. - 2009. - Vol. 76, № 1. - P. 13-17.
6. Assessment of a novel multiplex real-time PCR assay for the detection of the CBPP agent *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC through experimental infection in cat-

t / C. Schnee, M. Heller, J. Jores [et al.] // BMC Vet. Res. - 2011. - Vol. 7. - P. 47-53.

7. Campbell J. Contagious bovine pleuropneumonia // The Merck Veterinary Manual [online] / ed. C.M. Kahn, S. Line, S.E. Aiello. - 2015. - URL: http://www.merckvetmanual.com/mvm/respiratory_system/respiratory_diseases_of_cattle/contagious_bovine_pleuropneumonia.html.

8. Comparison between c-ELISA and CFT in detecting antibodies to *Mycoplasma mycoides mycoides* biotype SC in cattle affected by CBPP in Botswana / W. Amanfu, S. Sediadie, K.V. Masupu [et al.] // Annals of the New York Academy of Science. - 2000. - Vol. 916. - P. 364-369.

9. Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type / R.D. Ayling, S.E. Baker, R.A.J. Nicholas [et al.] // Vet. Rec. - 2000. - Vol. 146. - P. 243-246.

10. Contagious bovine pleuropneumonia / A. Provost, P. Perreau, A. Beard, [et al.] // Rev. Sci. Tech. - 1987. - Vol. 6. - P. 625-679.

11. Contagious bovine pleuropneumonia // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). - 2014. - Vol. 1, Chap. 2.4.9. - URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.09_CBPP.pdf.

12. Evaluation of the role of antibiotics and anti bacterial agents in the control of contagious bovine pleuropneumonia / E. Twinamasiko, N. Tailor, F. Mbuza [et al.] // Uganda J. Agric. Sci. - 2004. - Vol. 9. - P. 458-465.

13. Factors influencing the effective control of contagious bovine pleuropneumonia in Tanzania / E. Karimuri-bo, D.M. Kambarage, B.E. Lema [et al.] // Proceedings of the 15th Scientific Conference of the Tanzania Veterinary Association, 1st-3rd December 1997. - Arusha, Tanzania, 1997.

14. Le Goff C., Thiaucourt F. A competitive ELISA for specific diagnosis of Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) // Vet. Microbiol. - 1998. - Vol. 60. - P. 179-191.

15. Masiga W.N., Domenech J., Windsor R.S. Manifestation and epidemiology of contagious bovine pleuropneumonia in Africa // Rev. Sci. Tech. - 1996. - Vol. 15. - P. 1283-1303.

16. Mycoplasmas isolated from the respiratory tract of cattle and goats in Tanzania / L.J.M. Kusiluka, B. Ojeniyi, N.F. Friis [et al.] // Acta Vet. Scand. - 2000. - Vol. 41. - P. 299-309.

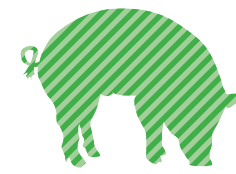
17. Pilo P., Frey J., Vilei E.M. Molecular mechanisms of pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC // Vet. J. - 2007. - Vol. 174. - P. 513-521.

18. Recognizing contagious bovine pleuropneumonia // FAO. Animal Health Manual. - 2002. - № 13 (Rev. 1). - URL: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4142E/y4142E00.pdf>.

19. Tambi N.E., Maina W.O., Ndi C. An estimation of economic impact of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in Africa // Rev. Sci. Tech. - 2006. - Vol. 25. - P. 999-1011.

20. The prevalence of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in cattle under different production systems in Kajiado district, Kenya / R.W. Matua-Alumira, Z. Ng'ang'a, Kiara H. [et al.] (2006) // Proceedings of the 11th Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics 6-8th June 2006. - Cairns, Australia, 2006. - P. 862.

21. Wesonga H.O. Thiaucourt F. Experimental studies on efficacy of T1sr and T1/44 vaccine strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Small Colony) // Revue Elev. Med. Vet. Pays Trop. - 2000. - Vol. 53. - P. 313-318.



УДК 619:616.98:578.835.2:615.371

ЗАВИСИМОСТЬ ИММУНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЯЩУРА ОТ ИММУННОГО СТАТУСА СВИНЕЙ

Д.А. Лозовой¹, В.А. Стариков², Д.В. Михалишин³, А.В. Борисов⁴

¹ директор, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: lozovoy@arriah.ru

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

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

⁴ ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: borisov_av@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье показана зависимость образования вируснейтрализующих антител и иммуногенной активности эмульсионной вакцины против ящура от применения вакцин против разных инфекционных болезней свиней. Установлен оптимальный интервал между иммунизацией эмульсионной вакциной против ящура и против других болезней свиней.

Ключевые слова: гуморальный иммунитет, вирус ящура, репродуктивно-респираторный синдром свиней, болезнь Ауески, парвовирусная инфекция свиней.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение нормального иммунологического статуса, обусловленное дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа, принято рассматривать как иммунную недостаточность, или иммунодефицит. Различают первичную и вторичную иммунную недостаточность. Под первичным иммунодефицитом принято понимать генетически обусловленную неспособность организма продуцировать какое-либо звено иммунного ответа. Он имеет четко выраженный наследственный характер, проявляющийся сразу после рождения. Приобретенный (вторичный) иммунодефицит возникает при влиянии на организм практически любого фактора как инфекционной, так и неинфекционной природы (действие вирусов, бактерий, паразитов, различных

стресс-факторов, ионизирующей радиации, нарушения обмена веществ, нарушения передачи материнских антител или передачи потомству с молозивом аутоантител и т.д.) [3, 4].

Вторичные или приобретенные иммунные дефициты возникают у животных в постнатальном онтогенезе и имеют наиболее широкое распространение. Они, как и первичные иммунные дефициты, отражают тот факт, что возможности иммунной системы не беспредельны, а разнообразие популяций лимфоцитов, репертуара антигенраспознающих рецепторов и неспецифических факторов защиты обусловлено законами наследственности и генетической изменчивости, реализуемыми под влиянием разнообразных, в том числе и экстремальных, факторов внутренней и внешней среды, включая воздействия многочисленных иммуностимуляторов и иммунодепрессантов в связи с какими-либо болезнями и проводимым лечением [1, 2].

Целью исследований было изучение влияния иммунизации подсвинков против разных инфекционных заболеваний свиней на формирование гуморального и протективного иммунитета к вирусу ящура.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Подсвинки породы ландрас, массой 30–40 кг, в количестве 74 головы.

Вакцины:

- эмульсионная моновалентная вакцина против вируса ящура типа О/№1715 Тайвань 3/97, серия 10.

- ассоциированная эмульсионная вакцина против парвовирусной болезни свиней и болезни Ауески;
 - моновалентная эмульсионная вакцина против болезни Ауески;
 - ассоциированная эмульсионная вакцина против респираторно-репродуктивного синдрома свиней и парвовирусной инфекции;
 - моновалентная эмульсионная вакцина против парвовирусной инфекции;
 - моновалентная эмульсионная вакцина против респираторно-репродуктивного синдрома свиней.
 Все вакцины изготовлены с использованием адьюванта ISA70, тип эмульсии «вода-масло».

Культуральный вирус ящура:

- О/№1715 Тайвань 3/97;
- О №2222/Тайвань/2012.

Афтозный вирус ящура:

- О/№1715 Тайвань 3/97;
- О №2222/Тайвань/2012.

Контрольное заражение животных проводили интрадермально в дозе 10^4 ИД₅₀/0,2 см³ адаптированным к свиньям вирусом ящура О/№1715 Тайвань 3/97 и О №2222/Тайвань/2012.

Культуры клеток: первично трипсинизированная культура клеток свиной почки (СП).

Методы. Подсвинков разделили на 5 групп:

- 1 группа: подсвинки, иммунизированные эмульсионной вакциной против ящура серия 10. Животные не подвергались другим вакцинациям.

- 2 группа: подсвинки, вакцинированные против болезни Ауески (ВБА), парвовирусной инфекции свиней (ПВИС), репродуктивно-респираторного синдрома свиней (РРСС). Интервал между иммунизацией против других вирусных болезней свиней и против ящура составил 14–28 суток.

- 3 группа: подсвинки, вакцинированные против ПВИС, РРСС. Интервал между иммунизацией против других вирусных болезней свиней и против ящура составил 28–39 суток.

- 4 группа: подсвинки, вакцинированные против ВБА, ПВИС, РРСС. Интервал между иммунизацией против других вирусных болезней свиней и против ящура составил 56–82 суток.

- 5 группа: подсвинки, вакцинированные против классической чумы свиней (КЧС). Интервал между иммунизацией против КЧС и против ящура составил 30 суток.

Подсвинкам препараты вводили внутримышечно за ухом в верхней трети шеи в дозе 2 см³.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом исследований было изучение антигенной и протективной активности эмульсионной вакцины против ящура серия 10. Результаты опыта указаны в табл. 1.

ИмД₅₀ вакцины для свиней составило 0,07 см³. В прививной дозе вакцины объемом 2 см³ содержалось 28 ПД₅₀.

Таблица 1
Результаты изучения иммуногенной активности эмульсионной вакцины серия 10

Разведение введенной вакцины	№ жив-х	Титр антител против вируса ящура на 21 сутки после вакцинации, log ₂		Наличие генерализации после контрольного заражения О/№1715 Тайвань 3/97
		О/№1715 Тайвань 3/97	О №2222/Тайвань/2012	
цельная	1	6,25	6,25	-
	2	5,50	3,75	-
	3	5,50	6,25	-
	4	5,50	4,00	-
	5	6,75	5,25	-
	M±m	5,90±0,26	5,10±0,53	
1:5	6	3,25	4,75	-
	7	6,00	4,75	-
	8	6,25	4,75	-
	9	4,00	3,00	-
	10	6,00	4,50	-
M±m	5,10±0,62	4,35±0,34		
1:25	11	3,00		+
	12	4,00		-
	13	3,50	не исследовали	+
	14	4,25		-
	15	4,25		-
M±m	3,80±0,24			

Таблица 2
Влияние иммунизации против других болезней свиней на иммуногенную и протективную активность вакцины против ящура

Разведение введенной вакцины	Иммунный статус против вирусных болезней свиней			Интервал между вакцинациями, сутки	Титры антител против вируса ящура на 21 сутки после вакцинации, log ₂		Наличие генерализации после контрольного заражения О №2222/Тайвань/2012
	ВБА	РРСС	ПВИС		О №2222/Тайвань/2012	О/№1715 Тайвань 3/97	
цельная	0,10±0,01		1/512	28	2,65±0,22	3,20±0,49	0/5*
1:5	0,16±0,03	0,3	1/512		2,55±0,31	3,35±0,28	0/5
1:25		0,35	1/512	14	не исследовали	2,15±0,42	0/5
контроль							+

для ВБА значение s/p ≤0,6 — положительная сыворотка; 0,7–0,6 — сомнительная сыворотка; >0,7 — отрицательная сыворотка;

для РРСС значение s/p >0,4 — положительная;

для ПВИС в РТГА >1:256 — положительная сыворотка;

* числитель — количество защищенных животных; знаменатель — количество животных в группе.

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что у привитых подсвинков титры антител против производственного штамма О/№1715 Тайвань 3/97 незначительно выше титров против гетерологичного штамма ящура О №2222/Тайвань/2012. Уровень антител, равный 5,10±0,53 log₂, является протективным, и все вакцинированные подсвинки должны быть защищены от генерализованной формы ящура при прямом заражении вирулентным афтозным вирусом.

Следующим этапом исследований было изучение влияния иммунизации против других вирусных болезней свиней на формирование иммунитета против ящура.

Первоначально животных иммунизировали 2-кратно с интервалом в две недели вакциной против ВБА, ПВИС и РРСС. Через 14 и 28 суток после иммунизации против вышеуказанных заболеваний животным ввели вакцину против ящура. Через 21 сутки после вакци-

Таблица 3
Влияние иммунизации против других болезней свиней на иммуногенную активность вакцины против ящура через 28–39 суток

№ жив-х	Предшествующая иммунизация	Иммунный статус против вирусных болезней свиней		Интервал между вакцинациями, сутки	Титры антител против вируса ящура О/№1715 Тайвань 3/97 на 21 сутки после вакцинации, log ₂	Наличие генерализации после контрольного заражения О/№1715 Тайвань 3/97
		РРСС	ПВИС			
1	РРСС серия 35	<0,4		28	5,00	+
2		<0,4			4,75	-
3		<0,4			2,25	+
4		<0,4			2,50	-
5		1,0			3,00	-
6		<0,4			2,50	-
M±m				3,33±0,50		
7	РРСС и ПВИС серия 89	0,14	1:512	39	3,25	-
8		0,3	<1÷32		0,50	+
9		0,15	<1÷32		2,75	-
10		0,17	1÷512		3,25	-
11		1,1	1÷512		4,25	-
12		0,02	1÷128		3,50	-
M±m				2,92±0,52		
контроль					+	

значение РТГА (ПВИС) ≥1:256 — результат положительный; <1:256 — результат отрицательный;

значение ИФА (РРСС) s/p ≥0,4 — результат положительный.

Таблица 4
Иммунный статус у подсвинков, привитых вакциной против ящура

№ жив-х	Предшествующая иммунизация против	Разведение введенной вакцины	Иммунный статус против вирусных болезней свиней			Интервал между вакцинациями, сутки	Титры антител против вируса ящура на 21 сутки после вакцинации, log ₂		Наличие генерализации после контрольного заражения О №2222
			ВБА	РРСС	ПВИС		О №2222	О №1715	
1	ВБА и ПВИС	цельная	0,07			82	4,50	7,50	–
2			0,02				4,25	4,00	–
3			0,01				4,50	5,00	–
4	РРСС и ПВИС			<0,6	1/1024	56	4,75	4,50	–
5				<0,6	1/1024		5,00	6,75	–
M±m						4,60±0,13	5,55±0,67		
6	ПВИС	1:5		<0,6	1/1024		4,00	7,25	–
7					1/1024		3,75	6,50	–
8					1/1024		3,00	3,25	+
9					1/1024	2,75	3,25	+	
M±m						3,38±0,30	5,06±1,06		
контроль								+	

для ВБА значение s/p ≤0,6 — положительная сыворотка; 0,6–0,7 — сомнительная сыворотка; > 0,7 — отрицательная сыворотка;
для РРСС значение s/p >0,4 — положительная;
для ПВИС в РТГА >1:256 — положительная сыворотка.

нации провели контрольное заражение суспензией вирулентного афтозного вируса ящура типа О №2222/Тайвань/2012.

Результаты отражены в табл. 2.

На момент контрольного заражения вирусом ящура уровень антител против ВБА составил 0,10±0,01 при иммунизации цельной вакциной, 0,16±0,03 — в разведении 1:5. Титр антител против ПВИС при иммунизации вакциной во всех разведениях составил 1:512. Уровень антител против РРСС при применении вакцины в разведении 1:5 и 1:25 составил меньше 0,6.

Иммуногенная активность эмульсионной противоящурной вакцины серии 10 для подсвинков, ранее привитых против ВБА, ПВИС и РРСС, составила менее 1 ПД₅₀.

В результате контрольного заражения гетерологичным штаммом О №2222/Тайвань/2012 все ранее иммунизированные животные заболели генерализованной формой ящура. Титр антител против гетерологичного и гомологичного вируса ящура отличался незначительно и составил 2,65±0,22 и 3,20±0,49 log₂ соответственно.

Следующим этапом исследований было изучение иммуногенной активности вакцины против ящура через 28–39 суток после вакцинации против РРСС и ПВИС. Результаты представлены в табл. 3.

Результаты, представленные в табл. 3, показывают, что, увеличив интервал между вакцинациями до 28–39 суток, получили удовлетворительную защиту против гомологичного штамма вируса ящура.

При этом из 6 животных, вакцинированных ранее против РРСС, 4 подсвинка были защищены от контрольного заражения вирусом ящура. Средний титр антител составил 3,33±0,50 log₂.

Из 6 животных, взятых в опыт через 39 суток после вакцинации против РРСС и ПВИС, 5 подсвинков были защищены от контрольного заражения.

Далее увеличили интервал между вакцинациями. Животных на последнем этапе инокулировали вакциной против ящура типа О/№1715 Тайвань 3/97 серия 10. Контрольное заражение проводили гетерологичным штаммом О №2222/Тайвань/2012. Результаты продемонстрированы в табл. 4.

При интервале между прививками в 56–82 суток защита животных против гетерологичного штамма О №2222/Тайвань/2012 при иммунизации цельной дозой вакцины составила 100%, а разведенной в 5 раз — 50%.

Из результатов табл. 4 видно, что ИмД₅₀ составила 0,4 см³ и в прививном объеме 2 см³ содержалось 5 ПД₅₀ против гетерологичного штамма О №2222/Тайвань/2012.

Первоначально группа свиней была планово привита вакциной против КЧС, а через 30 суток животных иммунизировали вакциной против ящура типа О.

Результаты о влиянии вакцины против КЧС на формирование иммунитета против ящура отражены в табл. 5.

Контрольное заражение проводили суспензией афтозного вируса ящура О/№1715 Тайвань 3/97. ИмД₅₀

Таблица 5
Контроль активности эмульсионной вакцины из штамма О/№1715 Тайвань 3/97 на свиньях

Разведение введенной вакцины	№ жив-х	Титры антител против вируса КЧС, %	Титры антител против вируса ящура О/№1715 Тайвань 3/97 на 21 сутки после вакцинации, log ₂	Наличие генерализации после контрольного заражения О/№1715 Тайвань 3/97
цельная	1	27,20	5,00	–
	2	26,50	5,25	–
	3	20,90	5,75	–
	4	2,30	5,75	–
	5	35,40	5,50	–
			5,45±0,15	
1:5	6	0	4,25	–
	7	3,40	4,00	–
	8	0	4,25	–
	9	34,20	2,50	–
	10	57,20	3,75	–
			3,75±0,33	
1:25	11	0	4,00	–
	12	23,90	3,25	+
	13	0	2,25	–
	14	0	2,00	–
	15	10,40	3,50	–
			3,00±0,38	

≥25% — положительно; <20% — отрицательно.

вакцины равнялась 0,05 см³, в прививной дозе было 40 ПД₅₀. Титр антител против гомологичного штамма О/№1715 Тайвань 3/97 составил 5,45±0,15 log₂.

Таким образом, иммунизация свиней против КЧС не влияет на последующую антигенную и протективную активность вакцины против ящура при введении ее с интервалом в 30 суток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено:

1. Эффективность иммунизации свиней против ящура зависит от предшествующих вакцинаций против других инфекций и длительности интервала между вакцинациями. В данных исследованиях оптимальный интервал между вакцинациями составил не менее 56 суток.

2. Иммунизация подсвинков вакцинами против ящура после введения вакцин против болезни Ауески, парвовирусной инфекции и репродуктивно-респираторного синдрома свиней с интервалом 14–28 суток не обеспечивает образование защитного уровня антител к вирусу ящура.

3. Вакцинация против классической чумы свиней не оказала отрицательного воздействия на последующее формирование иммунитета против ящура при интервале в 30 дней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние физиологического и иммунологического статуса крупного рогатого скота на уровень поствакцинального иммунитета / В.А. Мищенко, А.В. Кононов, А.В. Мищенко [и др.] // Ветеринария Кубани. — 2008 — № 2. — С. 5–7.
2. Жаров А.В. Роль иммунодефицитов в патологии животных // Ветеринарная патология. — 2003. — № 3. — С. 7–12.
3. Золотарева Н.А. Иммунодефициты: профилактика и борьба с ними // Ветеринарная патология. — 2003. — № 2. — С. 55–56.
4. Immunoprotective mechanisms in swine within the "grey zone" in antibody response after immunization with foot-and-mouth disease vaccine / L. Zhang, X. Feng, Y. Jin [et al.] // J. Virus Res. — 2016. — Vol. 220. — P. 39–46.

DEPENDANCE OF EMULSION FMD VACCINE IMMUNOGENICITY ON IMMUNE STATUS OF PIGS

D.A. Lozovoy¹, V.A. Starikov², D.V. Mikhailishin³, A.V. Borisov⁴

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

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

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

⁴ Leading researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: borisov_av@arriah.ru

SUMMARY

The paper demonstrates dependence of virus-neutralizing antibody production and emulsion FMD vaccine immunogenicity on administration of vaccines against different infectious porcine diseases. Optimum interval between the administrations of the emulsion FMD vaccine and vaccines against other porcine diseases was determined.

Key words: humoral immunity, foot-and-mouth disease virus (FMDV), porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), Aujeszky's disease, porcine parvovirus infection.

INTRODUCTION

Abnormal immune status due to the defect of one or several immune response mechanisms is usually considered as immunocompromise or immunodeficiency. A distinction is made between primary and secondary immunodeficiency. Primary immunodeficiency is usually a genetic failure of the body to produce some component of the immune response. Such immunodeficiency has a distinct congenital nature and becomes apparent right after the birth. Acquired (secondary) immunodeficiency can result from any factor of both infectious and non-infectious origin (viruses, bacteria, parasites, different stress factors, ionizing radiation, metabolic disorders, failure of maternal antibody or colostrum autoantibody transmission, etc.) [3, 4].

Secondary or acquired immunodeficiency occurs in animals during post-natal ontogenesis and such immunodeficiencies are widely spread. As well as primary immunodeficiency they are indicative of the fact that the resources of the immune system are limited and the diversity of lymphocyte populations, antigen-recognition receptor repertoire and non-specific protection factors is associated with heredity and genetic variability affected by different internal and external factors including extreme ones. Such factors also involve effects of multiple immunostimulants

and immunodepressants used due to some diseases or disease therapies [1, 2].

The studies were aimed at examination of effect of gilt immunization against different infectious diseases on the development of humoral and protective immunity against FMDV.

MATERIALS AND METHODS

Animals. 74 Landrace gilts of 30-40 kg body weight.

Vaccines:

- Emulsion monovalent O/1715 Taiwan 3/97 FMD vaccine, batch 10.
- Associated emulsion vaccine against parvovirus infection and Aujeszky's disease;
- Monovalent emulsion vaccine against Aujeszky's disease;
- Associated emulsion vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome and parvovirus infection;
- Monovalent emulsion vaccine against parvovirus infection;
- Monovalent emulsion vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome.

All vaccines were formulated using ISA70 adjuvant, emulsion type – water in oil.

Cultural FMDV:

- O/1715 Taiwan 3/97;
- O/2222 Taiwan/2012.

Apthous FMDV:

- O/1715 Taiwan 3/97;
- O/2222 Taiwan/2012.

The animals were challenged intradermally with swine-adapted O/1715 Taiwan 3/97 and O/2222 Taiwan/2012 FMDV at a dose of 10^4 ID₅₀/0.2 cm³.

Cell cultures: pretrypsinized porcine kidney cell line (PK).

Methods. The gilts were subdivided into 5 groups:

- Group 1: gilts immunized with the emulsion FMD vaccine, batch 10. No other vaccines were administered to the animals.

Table 1
Immunogenicity of emulsion vaccine, batch 10

Administered vaccine dilution	Animal ID No.	FMDV antibody titers on day 21 post vaccination, log ₂		Systemic disease after challenge with O/1715 Taiwan 3/97
		O/1715 Taiwan 3/97	O/ 2222 Taiwan/2012	
Non-diluted	1	6.25	6.25	-
	2	5.50	3.75	-
	3	5.50	6.25	-
	4	5.50	4.00	-
	5	6.75	5.25	-
	M±m	5.90±0.26	5.10±0.53	
1:5	6	3.25	4.75	-
	7	6.00	4.75	-
	8	6.25	4.75	-
	9	4.00	3.00	-
	10	6.00	4.50	-
	M±m	5.10±0.62	4.35±0.34	
1:25	11	3.00	Not tested	+
	12	4.00		-
	13	3.50		+
	14	4.25		-
	15	4.25		-
	M±m	3.80±0.24		

Table 2
Effect of immunization against other porcine diseases on FMD vaccine immunogenicity and protectivity

Administered vaccine dilution	Level of immunity against porcine viral diseases			Interval between vaccinations, days	FMDV antibody titers on day 21 post vaccination, log ₂		Systemic disease post challenge with O/2222 Taiwan/2012
	AD	PRRS	PPV		O/2222 Taiwan/2012	O/1715 Taiwan 3/97	
Non-diluted	0.10±0.01		1/512	28	2.65±0.22	3.20±0.49	0/5*
1:5	0.16±0.03	0.3	1/512	14	2.55±0.31	3.35±0.28	0/5
1:25		0.35	1/512		Not tested	2.15±0.42	0/5
control							+

AD: s/p ratio ≤ 0.6 – positive serum; 0.7-0.6 – inconclusive serum; > 0.7 – negative serum;

PRRS: s/p ratio > 0.4 – positive;

PPV HI titer > 1:256 – positive serum;

* Numerator – number of protected animals; denominator – number of animals in a group.

- Group 2: gilts, vaccinated against Aujeszky's disease (AD), porcine parvovirus infection (PPV) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). The interval between immunizations against other porcine viral disease and foot-and-mouth disease amounted to 14-28 days.

- Group 3: gilts vaccinated against PPV and PRRS. The interval between immunizations against other porcine viral diseases and FMD amounted to 28-39 days.

- Group 4: gilts vaccinated against AD, PPV and PRRS. The interval between immunizations against other porcine viral diseases and FMD amounted to 56-82 days.

- Group 5: gilts vaccinated against classical swine fever (CSF). The interval between immunizations against CSF and FMD amounted to 30 days.

All vaccines were administered intramuscularly in the upper part of the neck behind the ear at a dose of 2 cm³.

RESULTS AND DISCUSSION

The first stage of the study involved examination of antigenicity and protectivity of emulsion FMD vaccine, batch 10. The experimental results are demonstrated in Table 1.

The vaccine ImD₅₀ for pigs amounted to 0.07 cm³. The vaccine administration dose (2 cm³) included 28 PD₅₀.

Table 3
Effect of immunization against other porcine diseases on immunogenicity of the FMD vaccine administered in 28-39 days

Animal ID No	Previous immunization	Level of immunity against porcine viral diseases		Interval between vaccinations, days	O/1715 Taiwan 3/97 FMDV antibody titers on day 21 post vaccination, log ₂	Systemic disease post challenge with O/1715 Taiwan 3/97
		PRRS	PPV			
1	PRRS batch 35	<0.4		28	5.00	+
2		<0.4			4.75	-
3		<0.4			2.25	+
4		<0.4			2.50	-
5		1.0			3.00	-
6		<0.4			2.50	-
M±m					3.33±0.50	
7	PRRS and PPV batch 89	0.14	1:512	39	3.25	-
8		0.3	<1÷32		0.50	+
9		0.15	<1÷32		2.75	-
10		0.17	1÷512		3.25	-
11		1.1	1÷512		4.25	-
12		0.02	1÷128		3.50	-
M±m					2.92±0.52	
control						+

HI titer (PPV) ≥ 1:256 – positive result; < 1:256 – negative result; ELISA s/p ratio (PRRS) ≥ 0.4 – positive result.

Data demonstrated in Table 1 are indicative of the fact that in vaccinated gilts titers of antibodies against O/1715 Taiwan 3/97 production strain were slightly higher as compared to the titers of antibodies against heterologous O 2222/Taiwan/2012 FMDV strain. Antibody level of

5.10±0.53 log₂ is protective one and all vaccinated gilts should be protected against systemic FMD in case of direct infection with the virulent aphthous virus.

Next stage of the studies involved examination of the effect of immunization against other viral diseases on the

Table 4
Immunity level in gilts immunized with FMD vaccine

Animal ID No.	Previous immunization	Vaccine dilution	Immunity level against porcine viral diseases			Interval between vaccinations, days	FMDV antibody titers on day 21 post vaccination, log ₂		Systemic disease post challenge with O/2222
			AD	PRRS	PPV		O/ 2222	O/ 1715	
1	AD and PPV	Non-diluted	0.07			82	4.50	7.50	-
2			0.02				4.25	4.00	-
3			0.01				4.50	5.00	-
4	PRRS and PPV	Non-diluted		<0,6	1/1024	56	4.75	4.50	-
5				<0,6	1/1024		5.00	6.75	-
M±m							4.60±0.13	5.55±0.67	
6	PPV	1:5		<0,6	1/1024		4.00	7.25	-
7					1/1024	3.75	6.50	-	
8					1/1024	3.00	3.25	+	
9				1/1024	2.75	3.25	+		
M±m					3.38±0.30	5.06±1.06			
контроль								+	

AD: s/p ratio ≤ 0.6 – positive serum; 0.6-0.7 – inconclusive serum; > 0.7 – negative serum; PRRS: s/p ratio > 0.4 – positive; PPV: HI titer > 1:256 – positive serum.

development of the immunity against FMD.

First, the animals were immunized with the vaccine against AD, PPV and PRRS twice at two-week interval. In 14 and 28 days post immunization against the above mentioned diseases the animals were vaccinated against FMD. In 21 days post vaccination the animals were challenged with the suspension of the virulent aphthous O/ 2222 Taiwan/2012 FMDV.

The results are shown in Table 2.

As of challenge with FMDV the AD antibody titer amounted to 0.10±0.01 following immunization with non-diluted vaccine and to 0.16±0.03 following immunization with 1:5 vaccine dilution. PPV antibody titer amounted to 1:152 following immunization with all vaccine dilutions. PRRS antibody titer was below 0.6 following immunization with 1:5 and 1:25 vaccine dilution.

Immunogenicity of the emulsion FMD vaccine, batch 10, for gilts pre-immunized against AD, PPV and PRRS was below 1 PD₅₀.

All pre-immunized animals demonstrated systemic FMD following challenge with heterologous O/ 2222 Taiwan/2012 strain. There was minor difference between the titers of antibodies against heterologous and homologous FMDV and they amounted to 2.65±0.22 and 3.20±0.49 log₂, respectively.

The next stage included examination of immunogenicity of the FMD vaccine administered in 28-39 days post vaccination against PRRS and PPV. The results are demonstrated in Table 3.

The results shown in Table 3 demonstrate that extended interval between vaccinations (up to 28-39 days) contributed to the sufficient protection against homologous FMDV strain.

Herewith, four out of six gilts pre-vaccinated against PRRS were protected against challenge with FMDV. Mean antibody titer amounted to 3.33±0.50 log₂.

Five out of six animals included in the experiment in 39 days post vaccination against PRRS and PPV were protected against the challenge.

The interval between the vaccinations was further extended. During the last stage O/1715 Taiwan 3/97 (batch 10) FMD vaccine was administered. Heterologous O/ 2222 Taiwan/2012 strain was used for challenge. The results are demonstrated in Table 4.

In case of 56-82-day interval between the vaccinations animal protection against heterologous O/2222/Taiwan/2012 strain amounted to 100% if vaccinated with the non-diluted vaccine and to 50% if vaccinated with 5-fold vaccine dilution.

Table 4 demonstrates that ImD₅₀ amounted to 0.4 cm³ and the administration dose of 2 cm³ contained 5 PD₅₀ against heterologous O/2222 Taiwan/2012 strain.

The pigs in the group were initially immunized with CSF vaccine and in 30 days the animals were immunized with Type O FMD vaccine.

Suspension of aphthous O/1715 Taiwan 3/97 FMDV was used for challenge. The vaccine ImD₅₀ amounted to 0.05 cm³. The administration dose contained 40 PD₅₀. Titer of FMDV antibodies against homologous O/1715 Taiwan 3/97 strain amounted to 5.45±0.15 log₂.

Effects of CSF vaccine on the FMD immunity are shown in Table 5.

Therefore, immunization of pigs against CSF produce no effect on antigenicity and protectivity of FMD vaccine further administered in 30 days.

Table 5
Activity control of the emulsion O/1715 Taiwan 3/97 based FMD vaccine in pigs

Vaccine dilution	Animal ID number	CSFV antibody titer, %	O/1715 Taiwan 3/97 FMDV antibody titer on day 21 post vaccination, log ₂	Systemic disease post challenge with O/1715 Taiwan 3/97
Non-diluted	1	27.20	5.00	-
	2	26.50	5.25	-
	3	20.90	5.75	-
	4	2.30	5.75	-
	5	35.40	5.50	-
			5.45±0.15	
1:5	6	0	4.25	-
	7	3.40	4.00	-
	8	0	4.25	-
	9	34.20	2.50	-
	10	57.20	3.75	-
			3.75±0.33	
1:25	11	0	4.00	-
	12	23.90	3.25	+
	13	0	2.25	-
	14	0	2.00	-
	15	10.40	3.50	-
			3.00±0.38	

≥25 % - positive; <20 % - negative.

CONCLUSION

The study results show that:

1. Effectiveness of the FMD vaccination in pigs depends on previous vaccinations against other infections as well as on the interval between the vaccinations. During the study the optimal interval between the vaccinations was at least 56 days.

2. Immunization of gilts with the FMD vaccines in 14-28 days post administration of the vaccines against Aujeszky's disease, parvovirus infection and porcine reproductive and respiratory syndrome does not confer protective FMDV antibody level.

3. Vaccination against classical swine fever produced no adverse effect on the subsequent FMD immunity development in case the FMD vaccine was administered at 30-day interval.

REFERENCES

- Effect of physiological and immunobiological status of cattle on post-vaccination immunity / V.A. Mischenko, A.V. Kononov, A.V. Mischenko [et al.] // Veterinariya Kubani. - 2008. - № 2. - P. 5-7.
- Zharov A.V. Role of immunodeficiency in animal pathology // Veterinarnaya Patologiya. - 2003. - № 3. - P. 7-12.
- Zolotaryova N.A. Immunodeficiency: prevention and control // Veterinarnaya Patologiya. - 2003. - № 2. - P. 55-56.
- Immunoprotective mechanisms in swine within the "grey zone" in antibody response after immunization with foot-and-mouth disease vaccine / L. Zhang, X. Feng, Y. Jin [et al.] // J. Virus Res. - 2016. - Vol. 220. - P. 39-46.

КЛИНИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГОАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ДИКИХ ЕВРОПЕЙСКИХ КАБАНОВ И ДОМАШНИХ СВИНЕЙ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ВИРУСОМ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

С.Г. Ремыга¹, А.С. Першин², И.В. Шевченко³, А.С. Иголкин⁴, А.А. Шевцов⁵

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

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

³ ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shevchenko@arriah.ru;

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

⁵ ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shevcov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В работе изложен опыт по сравнительной оценке клинических и патоморфологических изменений у диких кабанов и домашних свиней, зараженных одним и тем же эпизоотическим изолятом вируса африканской чумы свиней. А также проведено моделирование распространения заболевания в условиях, сравнимых с таковыми при содержании свиней в свиноводческих хозяйствах.

Согласно представленным результатам, при заражении изолятом вируса африканской чумы свиней «Шихобалово 10/13» были выбраны две дозы заражения 50 и 5000 ГАДЕ/гол. При заражении вышеупомянутым изолятом как у домашних свиней, так и у диких кабанов были отмечены сходные клинические и патологоанатомические признаки, характерные для острого течения заболевания африканской чумы свиней.

Ключевые слова: африканская чума свиней, дикие кабаны, домашние свиньи, клиническая картина, патологоанатомические изменения.

CLINICAL AND POST-MORTEM SIGNS IN EUROPEAN WILD BOARS AND DOMESTIC PIGS INFECTED WITH AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

S.G. Remyga¹, A.S. Pershin², I.V. Shevchenko³, A.S. Igolkin⁴, A.A. Shevtsov⁵

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

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

³ Leading Biologist, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: shevchenko@arriah.ru;

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

⁵ Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: shevcov@arriah.ru

SUMMARY

The paper covers comparative assessment of clinical and postmortem signs in wild boars and domestic pigs infected with one and the same epizootic isolate of African swine fever virus. In addition, a model has been developed to demonstrate the disease spread under conditions comparable to those on a pig farm.

Based on the obtained results two infectious doses 50 and 5000 HAU/head were chosen for infecting the animals with «Shikhobalovo 10/13» isolate of African swine fever virus. When infecting the animals with the abovementioned isolates both wild boars and domestic pigs demonstrated similar clinical and postmortem signs typical for acute form of African swine fever.

Key words: African swine fever, wild boars, domestic pigs, clinical signs, postmortem lesions.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) — остро протекающая болезнь, характеризующаяся высокой летальностью и контагиозностью, сверхострым, подострым, острым и хроническим течением, передающаяся от больных животных и вирусоносителей контактным, алиментарным путем. АЧС, в связи с высоким уровнем смертности среди домашних свиней и отсутствием средств специфической профилактики, остается одним из значимых вирусных заболеваний как в промышленном свиноводстве, так и в частном секторе. Инфекционным агентом АЧС является ДНК-содержащий вирус семейства *Asfarviridae*, рода *Asfivirus*. В Африке природным резервуаром вируса является замкнутая паразитарная система между дикими африканскими свиньями (бородавочник, гигантская лесная и кистеухая) и аргасовыми клещами рода *Ornithodoros* [5]. Инфекция АЧС среди диких африканских свиней приводит к легкой форме заболевания, часто протекает бессимптомно, с низкими уровнями виремии, что во многих случаях переходит в хроническую форму [5, 11, 14, 17]. В то же время среди домашних свиней смертность может достигать 100%.

В 2007–2013 гг. зарегистрировано пандемическое распространение АЧС в странах транскавказского региона (Грузия, Армения, Азербайджан, Россия, Иран). В эти годы вектор распространения болезни сдвигался в сторону большей плотности восприимчивого поголовья. Начиная с января 2014 г. зарегистрирована новая пандемия АЧС на территории Евросоюза (Литва, Латвия, Эстония, Польша). В большинстве случаев вспышки заболевания были зарегистрированы в популяции дикого кабана (1435 вспышек). В то же время имелись факты проникновения заболевания как в небольшие, так и в крупные свинарники со слабой биозащитой (82 вспышки) [18].

При АЧС в зависимости от тяжести течения заболевания у животных наблюдают отличия в симптоматике и патологоанатомических изменениях. При остром течении болезни у домашних и диких свиней клинические признаки проявляются на 2–7 сутки (реже на 14) после заражения вирусом АЧС и характеризуются повышением температуры тела, учащенным дыханием, покраснением, а иногда петехиями на кожных покровах (ушей, вентральной части тела), отказом от корма, малоподвижностью, рвотой, профузным кровавым поносом, иногда эпистаксисом [1, 3, 4, 6, 13, 15].

Патологическая картина у павших от АЧС домашних свиней характеризуется следующими изменениями: гиперплазия и гиперемия заглочных, гепатогастральных и почечных лимфоузлов, спленомегалия с очагами некроза, точечные кровоизлияния в почках, экхимозы в серозных оболочках, альвеолярные геморрагии и отек легких [7, 8, 10].

Среди диких европейских кабанов (в дальнейшем диких кабанов) всех возрастов, а также среди других диких свиней при экспериментальном заражении высоковирулентными штаммами вируса АЧС клиническая и патологоанатомическая картина схожа с регистрируемой у домашних свиней [1, 8, 10, 16]. Однако возможен и бессимптомный перенос заболевания АЧС дикими кабанами [16].

В ряде литературных источников описаны результаты экспериментов по заражению диких кабанов изолятами вируса АЧС, выделенными от диких животных Северо-Кавказского региона РФ [8, 10].

Цель исследований заключалась в сравнительной оценке клинических и патоморфологических изменений у диких кабанов и домашних свиней, зараженных одинаковым эпизоотическим изолятом вируса АЧС, а также моделирование распространения заболевания в условиях, сравнимых с таковыми при содержании свиней в свиноводческих хозяйствах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Домашние свиньи смешанной породы (крупная белая, ландрас, дюрок) в количестве 8 голов в возрасте 3 мес., завезенные из благополучного по инфекционным болезням хозяйства Владимирской области. Дикие кабаны, 8 голов в возрасте 3–4 мес., завезенные из благополучного по инфекционным болезням мараловодческого хозяйства Костромской области.

Вирус. Изолят вируса АЧС «Шихобалово 10/13», выделенный от павшего дикого кабана на территории Юрьев-Польского района Владимирской области (титр вируса, полученный на культуре клеток 5,12 Ig АДЕ₅₀/см³±0,44).

До проведения опыта все животные содержались в карантине в течение 5 дней. После отбора «нулевых» проб сывороток крови подтвержден серонегативный статус животных к вирусам АЧС, КЧС, болезни Ауески и др. Затем дикие кабаны и домашние свиньи были помещены в изолированные боксы виварного комплекса ФГБУ «ВНИИЗЖ», отвечающего требованиям биобезопасности на уровне BSL3.

Особь кабанов содержались в одном боксе, но обособленно друг от друга в индивидуальных клетках, установленных на удалении не менее 1 м друг от друга. Клетки оборудованы индивидуальными поилками и кормушками, системой сбора кала и мочи, приспособлены для проведения манипуляций с животными по отбору проб и измерению температуры тела. Заражение проводили путем внутримышечного введения вируса АЧС, изолят «Шихобалово 10/13». Три кабана были заражены в дозе 50 ГАДЕ/гол., еще три кабана — в дозе 5000 ГАДЕ/гол., двое животных оставались интактным контролем в непрямом контакте с зараженными.

Для моделирования распространения АЧС в свиноводческом хозяйстве домашние свиньи были разделены на 3 группы по 2–3 головы и содержались в отдельных секциях другого бокса (секции отделены сплошными перегородками на высоту 1,5 м). Заражение проводили путем внутримышечного введения вируса АЧС, изолят «Шихобалово 10/13». Три свиньи были заражены в дозе 50 ГАДЕ/гол., три свиньи в другой секции бокса — в дозе 5000 ГАДЕ/гол., две свиньи в отдельной секции бокса оставались интактным контролем (непрямой контакт).

Интактные контрольные животные обоих видов содержались в условиях, предотвращающих прямой контакт с зараженными (в т.ч. было организовано отдельное поение, кормление). Для ухода и наблюдения за данными животными использовался отдельный инвентарь и инструментарий. Обслуживающий персонал в одноразовых спецкостюмах начинал проведение соответствующих работ только с данных животных. После любых работ с зараженными животными персонал не приближался к интактным.

Наблюдение за животными осуществляли ежедневно с измерением температуры тела (ректально), а каждые 3 дня проводили отбор проб крови, слюны и кала.

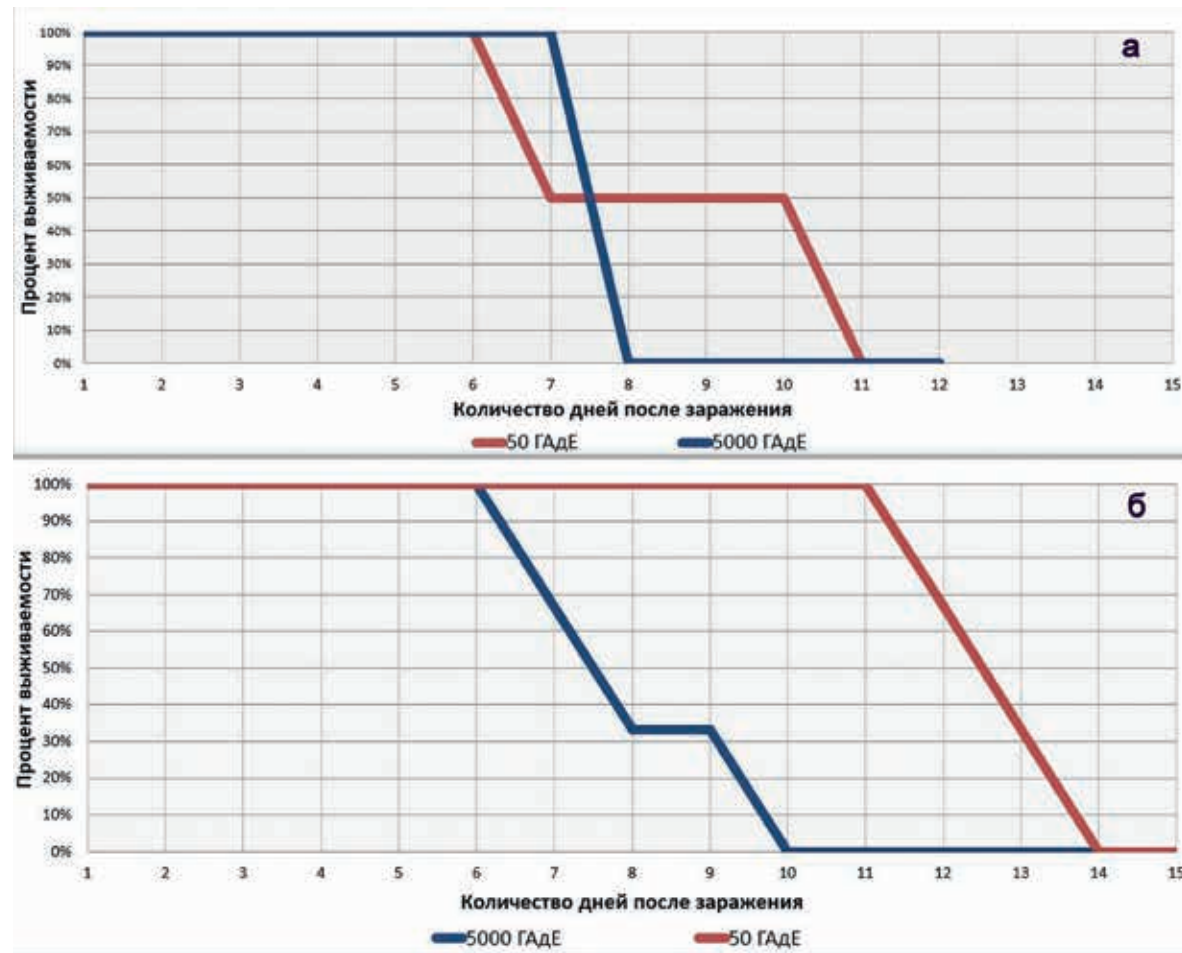


Рис. 1. Динамика гибели животных после их заражения изолятом вируса африканской чумы свиней «Шихобалово 10/13»

(а) — среди домашних свиней; (б) — среди диких кабанов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе наблюдения (до 22 суток) за всеми зараженными животными отмечено стремительное развитие признаков заболевания. Так, у домашних свиней уже на 3–5 сутки после заражения в дозе 5000 ГАДЕ/гол. зафиксирована гипертермия до 41,1–41,5°C, а у свиней, зараженных в дозе 50 ГАДЕ/гол., подъем температуры тела выше физиологической нормы отмечен на 4–5 сутки после заражения. Помимо повышения температуры тела, у животных отмечено угнетенное состояние, гнойные выделения из глаз, учащенное дыхание, покраснение ушей, анорексия и диарея. Все домашние свиньи, зараженные в дозе 5000 ГАДЕ/гол., погибли на 8 сутки после заражения, а зараженные в дозе 50 ГАДЕ/гол. — на 11 сутки.

У интактных домашних поросят из группы непрямого контакта клинические признаки заболевания начали проявляться только на 14 сутки опыта и совпадали с описанными выше симптомами, зафиксированными у зараженных домашних свиней. На 20–23 сутки после начала эксперимента животные из этой группы пали (рис. 1а).

В эксперименте с дикими кабанов повышение температуры у зараженных животных зарегистрировано на 2–3 сутки после заражения. За исключением отсутствия покраснения кожных покровов, клинические проявления заболевания у диких кабанов оказались

схожими с наблюдаемыми у домашних свиней (описаны выше). У диких кабанов дополнительно отмечался кашель и кровавый понос. Интактные дикие кабанов, содержащиеся в непрямом контакте с зараженными, заболели на 19 сутки после начала опыта. В связи с окончанием запланированных сроков эксперимента эти животные были подвергнуты эвтаназии на 22 сутки с последующей аутопсией их трупов (рис. 1б).

У зараженных животных и впоследствии у контактных особей в крови был выявлен геном вируса АЧС методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

В ходе эксперимента все зараженные домашние и дикие свиньи пали на 7–14 сутки после заражения.

Этот показатель указывает на острое течение заболевания у зараженных животных. Сроки заболевания и гибели животных разных видов коррелировали с дозой заражения. У разных видов животных сроки проявления заболевания и наступления летального исхода немного отличались. Так, у диких кабанов проявление первых симптомов заболевания зафиксировали на 1–3 суток раньше, чем у домашних свиней. Однако сроки гибели зараженных диких кабанов регистрировали на 1–3 суток позднее, чем у домашних свиней. При проведении аутопсии у зараженных домашних животных патологоанатомические изменения были выражены достаточно ярко. У поросят, зараженных в дозе

50 ГАДЕ/гол., зафиксирована гиперплазия и гиперемия заглочных (рис. 2а), гепатогастральных, брыжеечных и паховых лимфоузлов, большое количества транссудата в сердечной сорочке (рис. 2б), спленомегалия, дилатация желчного пузыря, геморрагический диатез почек, точечные кровоизлияния в эпикарде (рис. 2в) и в миокарде, альвеолярные геморрагии и отек легких, а также катаральный гастрит.

Патологоанатомические изменения у всех интактных павших домашних свиней были схожи.

У зараженных диких кабанов при их вскрытии регистрировали гиперплазию и гиперемию заглочных, гепатогастральных и паховых лимфоузлов, точечные кровоизлияния в эпикарде, геморрагический диатез почек, пневмонию, гастрит, скопление транссудата в сердечной сорочке. Жидкость в грудной и брюшной полостях выявлена лишь у животных, зараженных

в дозе 5000 ГАДЕ/гол. Ряд отмеченных патоморфологических изменений представлен на рис. 3.

Поскольку дикие кабанов, содержащиеся в непрямом контакте, были умерщвлены на 4 сутки после проявления клинических признаков АЧС, патоморфологические изменения у них не проявились так ярко, как у зараженных кабанов.

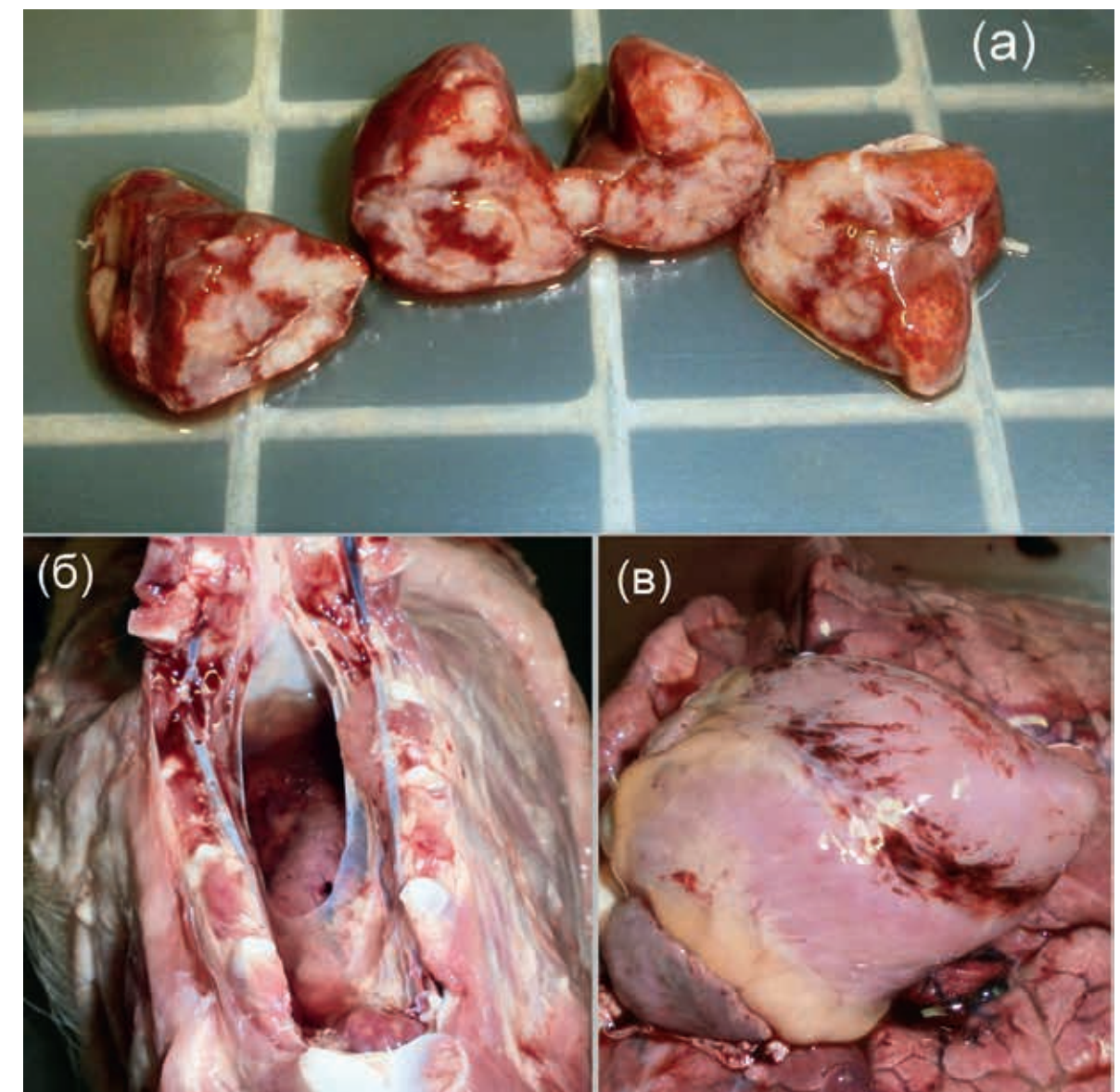
ОБСУЖДЕНИЕ

В данных экспериментах с заражением вирусом АЧС домашних и диких свиней у всех животных клиническая картина заболевания проявлялась со сходными признаками.

Основные клинические признаки болезни, зафиксированные у домашних свиней, включали повышение температуры, малоподвижность, анорексию, гнойные истечения из глаз, диарею, учащенное дыхание и по-

Рис. 2. Патологоанатомические изменения у поросят, зараженных изолятом вируса африканской чумы свиней «Шихобалово 10/13» в дозе 50 ГАДЕ/гол.

(а) — серозно-геморрагический лимфаденит (мраморность) заглочных лимфоузлов; (б) — скопление большого кол-ва транссудата в перикардиальной полости; (в) — кровоизлияния в эпикарде.



краснение кожных покровов. У домашних свиней, зараженных в дозе 5000 ГАдЕ/гол., длительность инкубационного периода до проявления признаков заболевания была на сутки меньше, чем у свиней, зараженных в дозе 50 ГАдЕ/гол. Зараженные более высокой дозой вируса свиньи погибли в более ранние сроки.

К основным патоморфологическим изменениям у домашних свиней можно отнести: гиперплазию и гиперемии заглочных, гепатогастральных и паховых лимфатически узлов, скопление транссудата в перикардиальной полости, дилатацию желчного пузыря, дистрофию эпикарда, спленомегалию, точечные кровоизлияния в эпикарде, под капсулой и в корковом слое почек, а также отек легких. Полученные данные сопоставимы с данными отечественных и зарубежных исследований [1, 2, 9, 12].

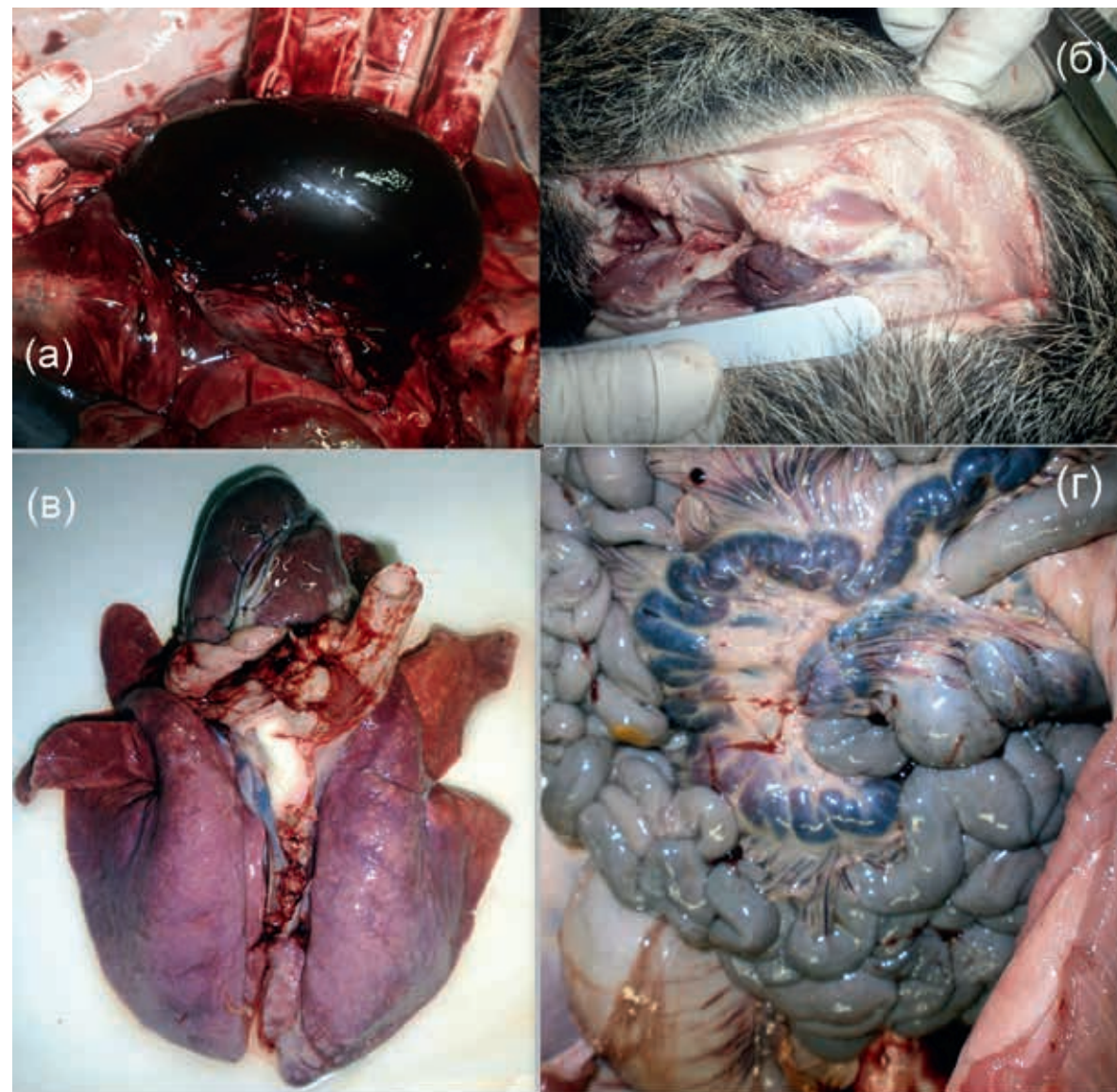
Симптомы проявления болезни у диких кабанов в целом были сходными с таковыми у домашних сви-

ней. Однако у диких кабанов дополнительно были зафиксированы признаки кашля и кровавого профузного поноса.

Патологоанатомическая картина при вскрытии трупов животных обоих видов была также сопоставима, но у диких кабанов некоторые изменения были выражены ярче по сравнению с наблюдаемыми изменениями у домашних свиней (геморрагический лимфаденит, множественные кровоизлияния под капсулой почек, гиперплазия селезенки, значительный объем жидкости в перикардиальной и брюшной полостях). В данном случае это объяснимо большей длительностью болезни кабанов до их гибели, что способствовало развитию у них ярких патологий. Подтверждением этому может служить и отсутствие серьезных изменений у контрольных диких кабанов, убитых на 4 сутки после заболевания. Полученные в ходе эксперимента данные по заражению диких европейских кабанов со-

Рис. 3. Патологоанатомические изменения у диких кабанов, зараженных изолятом вируса африканской чумы свиней «Шихобалово 10/13» в дозе 50 (б, в) и 5000 (а, г) ГАдЕ/гол

(а) — обширный геморрагический диатез почки;
(б) — гиперплазия и гиперемия заглочных лимфоузлов; (в) — отек легких;
(г) — серозно-геморрагический лимфаденит брыжеечных лимфоузлов.



гласуются с результатами отечественных и зарубежных исследований [8, 10].

Однако, несмотря на максимальную обособленность интактных групп, животные в них также заболели: домашние свиньи на 14 сутки, а дикие кабанов на 19 сутки после начала эксперимента. Созданные в опыте условия не позволяют категорически исключить возможность наличия алиментарного или ятрогенного механизма передачи вируса АЧС, к тому же дизайн эксперимента не подразумевал изучение аэрогенного механизма передачи. Его целью являлось изучение «скорости» распространения заболевания среди групп свиней с низким уровнем контакта, при этом моделировались условия свиноводческого хозяйства, где соблюдается ряд требований биобезопасности.

Представленные результаты данных экспериментов с заражением свиней изолятом вируса АЧС из центральной части России сопоставимы с опытами отечественных и зарубежных исследователей [2, 9], наблюдавших острое течение заболевания у зараженных свиней кавказским изолятом вируса АЧС. Однако, несмотря на это, существует вероятность появления ослабленных вариантов вируса, что значительно усложнит борьбу с заболеванием. Длительное неблагополучие по АЧС на территории России и в странах Европы увеличивает такую вероятность, что обуславливает необходимость дальнейшего проведения исследований по изучению изолятов вируса АЧС, циркулирующих на неблагополучных территориях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментального заражения домашних свиней и диких кабанов изолятом вируса АЧС «Шихобалово 10/13» заболевание у животных обоих видов протекало остро. Это подтверждено характером клинических признаков и патологоанатомическими изменениями, отмеченными в ходе опыта.

Установлено, что основной комплекс манифестаций при взаимодействии данного изолята вируса АЧС и макроорганизма свиней схож между обоими изучаемыми видами животных.

При моделировании условий свиноводческого хозяйства, где соблюдается ряд требований биобезопасности, клинические признаки вируса АЧС наблюдали на 14 сутки (у домашних свиней) и на 19 сутки (у диких кабанов).

С учетом доступности и удобства работы целесообразно в качестве основной биологической модели для изучения свойств вируса АЧС использовать домашних свиней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Видовые особенности патологоанатомических изменений при африканской чуме у свиней и кабанов с учетом условий экологизации / Е.В. Рыжова, В.В. Пронин, Г.В. Корнева, С.В. Парилков // Вестник Брянского государственного университета. — 2012. — Вып. 4 (1). — С. 1–3.
2. Клинико-анатомическое проявление африканской чумы свиней при заражении разными методами вирусом, выделенным от дикого кабана: научное издание / И.В. Шевченко, С.Г. Ремыга, А.С. Першин [и др.] // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных: материалы 18-й Междунар. научно-методич. конф. — М., 2014. — С. 82–84.

3. Клинические признаки и патоморфологические изменения у домашних свиней при подостром течении африканской чумы свиней на территории Российской Федерации / С.А. Белянин, Д.В. Колбасов, В.В. Куринов [и др.] // Ветеринарная патология. — 2011. — № 4. — С. 36–39.

4. Патологоанатомические изменения у домашних свиней при остром течении африканской чумы свиней (экспериментальное заражение) / С.А. Белянин, Е.В. Рыжова, Д.В. Колбасов [и др.] // Ученые записки Казанской ГАВМ им. Н.Э. Баумана. — 2012. — Т. 209. — С. 59–63.

5. Природная очаговость африканской чумы свиней: учеб. пособие для вузов / В.В. Макаров, Ф.И. Васильевич, Б.В. Боев, О.И. Сухарев; МГАВМиБ, РУДН. — М.: ЗооветКнига, 2014. — 65 с.

6. African swine fever and classical swine fever: a review of the pathogenesis / J.C. Gomez-Villamandos, L. Carrasco, M.J. Bautista [et al.] // Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. — 2003. — Vol. 110 (4). — P. 165–169.

7. African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease / F. Rodriguez, A. Fernandez, J.P. Martin de las Mulas [et al.] // Vet. Rec. — 1996a. — Vol. 139 (11). — P. 249–254.

8. Characterization of African Swine Fever virus caucasus isolate in European wild boars / C. Gabriel, S. Blome, A. Malogolovkin [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2011. — Vol. 17 (12). — P. 2342–2345.

9. Comparative analysis of molecular and biological properties of African swine fever virus isolates collected in 2013 from Russian Federation // N.N. Vlasova, A.A. Varantsova, I.V. Shevchenko [et al.] // EPIZONE: Abstracts 8th Annual EPIZONE Meeting «Primed for tomorrow». — Frederiksberg, 2014. — P. 85.

10. High virulence of African swine fever virus caucasus isolate in European wild boars of all ages / S. Blome, C. Gabriel, K. Dietze [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2012. — Vol. 18 (4). — P. 708.

11. Kleiboeker S.B. Swine fever: classical swine fever and African swine fever / Vet Clin Food Anim. — 2002. — Vol. 18 (3). — P. 431–451.

12. Maurer F.D., Griesemer R.A. The pathology of African swine fever; a comparison with hog cholera // Am. J. Vet. Res. — 1958. — Vol. 19 (72). — P. 517–539.

13. Mebus C.A. African swine fever // Adv. Virus Res. — 1988. — Vol. 35. — P. 251–269.

14. Penrith M.L., Vosloo W. Review of African swine fever: transmission spread and control // J. S. Afr. Vet. Assoc. — 2009. — Vol. 80 (2). — P. 58–62.

15. Scientific review on African Swine Fever / J.M. Sánchez-Vizcaíno, B. Martínez-López, M. Martínez-Avilés [et al.] // Scientific Report Submitted to EFSA. CFP/EFSA/AHAW/2007/2. — 2009. — P. 1–141.

16. Serological and immunohistochemical study of African swine fever in wild boar in Spain / J. Perez, A.I. Fernandez, M.A. Sierra [et al.] // Vet. Rec. — 1998. — Vol. 143 (5). — P. 136–139.

17. The persistence of African swine fever virus in field-infected *Ornithodoros erraticus* during the ASF endemic period in Portugal / F.S. Boinas, A.J. Wilson, G.H. Hutchings [et al.] // PLoS ONE. — 2011. — Vol. 6 (5): e20383.

18. World Animal Health Information Database (WAHID) [database on the Internet]. World Organisation for Animal Health (OIE). [cited World Animal Health Information System (WAHIS)]. URL: <http://www.oie.int/wahis/public.php?page=home>.

КЛАССИЧЕСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (1996–2015 ГГ.)

А.С. Оганесян¹, А.А. Шевцов², М.А. Шибяев³, Ф.И. Коренной⁴, Н.Е. Баскакова⁵, А.К. Караулов⁶

¹ заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: oganesyan@arriah.ru

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

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

⁴ научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: korennoy@arriah.ru

⁵ юрист, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: baskakova@arriah.ru

⁶ руководитель Информационно-аналитического центра, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: karaulov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В работе обсуждена тенденция развития эпизоотической ситуации по классической чуме свиней в Российской Федерации в 1996–2015 гг. Констатируется территориальное смещение очагов классической чумы свиней из центральных частей страны (2007–2012) в западные и восточные приграничные регионы Российской Федерации к 2013–2015 гг. На основе анализа сделан краткосрочный прогноз на 2016 г. и рекомендации по разработке мер искоренения классической чумы свиней в популяции домашних и диких свиней Российской Федерации через применение *DIVA-стратегии*.

Ключевые слова: классическая чума свиней, эпизоотическая ситуация, ретроспективный анализ.

CLASSICAL SWINE FEVER: RETROSPECTIVE ANALYSIS OF EPIDEMIC SITUATION IN RUSSIAN FEDERATION (1996–2015)

A.S. Oganessian¹, A.A. Shevtsov², M.A. Shibayev³, F.I. Korennoy⁴, N.E. Baskakova⁵, A.K. Karaulov⁶

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

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

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

⁴ Researcher, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: korennoy@arriah.ru

⁵ Legal Expert, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: baskakova@arriah.ru

⁶ Head of Information Analysis Centre, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: karaulov@arriah.ru

SUMMARY

Progress trends in classical swine fever (CSF) epidemic situation in the Russian Federation in 1996–2015 are discussed in the paper. Spatial shift of CSF outbreaks from the central regions of the country (2007–2012) to the western and eastern border regions of the Russian Federation (2013–2015) has been confirmed. Based on the analysis, a short-term prognosis for 2016 has been made as well as recommendations on *DIVA*-based measures for CSF eradication in domestic pigs and wild boars in the RF have been provided.

Key words: classical swine fever, epidemic situation, retrospective analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Классическая чума свиней (КЧС) — опасная высококонтагиозная вирусная болезнь свиней разных пород и возрастных групп. Заболевание характеризуется лихорадкой, поражениями кровеносной и кроветворной систем, воспалительными процессами в легких и кишечнике [9, 12]. Источник возбудителя инфекции — больные домашние и дикие свиньи. Факторами передачи вируса являются: продукты убоя, трупы, отходы мясокомбинатов, боен, столовых, контаминированные корма, вода, подстилка, навоз, предметы ухода, одежда и др. Механические переносчики, способствующие распространению болезни: домашние и дикие животные, мухи, птица, обслуживающий персонал. Возможна передача вируса КЧС комарами из родов *Aedes*, *Anopheles*, *Psorophora* и *Culex* [1, 8, 11, 16].

Известно, что дикие кабаны могут являться резервуаром вируса КЧС [3, 4, 13–15]. Корма и подстилка с полей, где паслись инфицированные дикие кабаны, служат факторами передачи этой инфекции для домашних свиней. Заражение диких кабанов возможно при поедании ими трупов инфицированных домашних свиней (выброшенных на свалки или неглубоко захороненных) и пищевых отходов.

Попадание необезвреженного навоза, сточных вод из неблагополучных по КЧС ферм на поля и другие места, доступные для диких свиней, может также привести к инфицированию последних вирусом КЧС. Относительная устойчивость вируса во внешней среде, длительное вирусносительство обуславливают стационарность болезни [13].

Недопущение заноса вируса КЧС в благополучные хозяйства реализуют при соблюдении ветеринарно-санитарных и карантинных мероприятий. Эффективных средств лечения болезни не существует. Во многих странах (Азия, Южная Америка, Восточная Европа) комплекс мер борьбы и профилактики заболевания включает вакцинацию свиней [2, 5, 8, 10, 16]. При этом известно, что вакцинация не прекращает вирусносительства, которое может продолжаться до нескольких лет. Наличие персистентных форм течения КЧС во многом может способствовать сохранению болезни на эндемичных территориях. Поэтому официальный статус МЭБ благополучия по КЧС для страны или зоны предусматривает применение в стране вакцинации только при условии ведения *DIVA-стратегии* (*Differentiation/Discrimination of Infected from Vaccinated Animals*) либо полный отказ от вакцинации [1, 3, 6, 7, 9, 17, 18].

Целью работы был ретроспективный анализ эпизоотической обстановки по КЧС в Российской Федерации и краткосрочный прогноз ее развития в популяциях восприимчивых животных (домашние свиньи и дикие кабаны).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве рабочей статистической базы использовалась информация МЭБ (oie.int) о вспышках КЧС на территории разных стран (1996–2015) [18, 20] и данные ФГБУ «Центр ветеринарии» по РФ. Анализ вели общепринятыми методами на основе описательной статистики и с помощью визуализации линейного и полиномиального трендов, с использованием прикладной программы STATISTICA 8.0 и Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Edition, 2003).

Расчет прогностических значений очагов КЧС: использовано коммерческое программное обеспечение:

@Risk Professional Edition, Palisade Corporation®, 1996–2007 версия 4.5.5 на основе Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Edition, 2003), принцип моделирования основан на методе Монте-Карло, итоговые значения рассчитаны на статистических данных 10 000 итераций. Использовали функцию Poisson.

При получении вероятности редкого события (вспышка на крупном свиномкомплексе): за основу модели был взят Пуассоновский процесс (Poisson (t/λ)), где λ — частота событий за промежуток времени t .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Распространение болезни в мире и Российской Федерации

Неблагополучие по КЧС регистрировали во многих странах мира, как в Азии, так и в странах Европы и Америки [18]. При проникновении вируса в благополучное по заболеванию стадо свиней болезнь способна быстро перекинуться и на другие стада, перерасти в эпизоотию, причинить огромный экономический ущерб. Стратегия борьбы с КЧС в различных странах мира отлична. Международный опыт показывает, что искоренение заболевания на территории страны возможно при применении радикальных методов борьбы, с отказом от вакцинации и ликвидацией неблагополучных и подозреваемых в заражении стад домашних свиней.

В США с 1962 г. была развернута программа по искоренению КЧС. На первом этапе программы применяли вакцинацию, что позволило стабилизировать эпизоотическую ситуацию. Впоследствии вакцинация была запрещена. Для ликвидации вспышек болезни применяли только политику «стемпинг-аут».

К 1978 г. удалось добиться благополучия по КЧС в промышленных стадах страны. Сходную стратегию применяют с 1980 г. в странах Евросоюза с отказом от вакцинации с 1992 г. [11, 19].

В последние годы стабильное неблагополучие по КЧС продолжает сохраняться в Азии (Бутан, Индия, Индонезия, Камбоджа, Китай, Лаос, Монголия, Непал, Сингапур, Таиланд, Филиппины, Южная Корея) и в Южной Америке (Боливия, Гватемала, Колумбия, Перу, Эквадор). Также неблагополучие отмечено в Европе (Россия, Латвия, Украина, Венгрия), на Кубе и Мадагаскаре. Страны европейской части Евразии (за исключением России, Украины и Латвии) в 2015 г. не нотифицировали возникновение новых вспышек КЧС.

Российская Федерация в течение долгого времени остается неблагополучной по данной болезни. За последние десять лет в РФ зарегистрировано 61 очаг КЧС, причем 35 (57,4%) из них возникло среди домашних свиней и 26 (42,6%) среди диких. В 2007 г. на территории РФ вспышки КЧС зафиксированы в Краснодарском (домашние свиньи (*далее дом.*)), Ставропольском (дом.), Приморском (дом.) краях, Волгоградской (дом.), Московской (дикие свиньи (*далее дик.*)) областях. В 2008 г. — в Нижегородской (дом.), Московской (дом.) областях; в 2009 г. — в Краснодарском крае (дом.), Волгоградской области (дик.); в 2010 г. — в Волгоградской (дик.), Воронежской (дом./дик.), Саратовской (дом.), Ивановской (дом.), Костромской (дом.) областях; в 2011 г. — в Смоленской (дик.), Владимирской (дом./дик.) областях, Краснодарском крае (дом.), в 2012 г. — в Брянской (дик.), Смоленской (дик.), Саратовской (дик.), Волгоградской (дом.), Псковской (дом.) областях, Еврейской АО (дом.); в 2013 г. — в Амурской области (дом./дик.), Еврейской

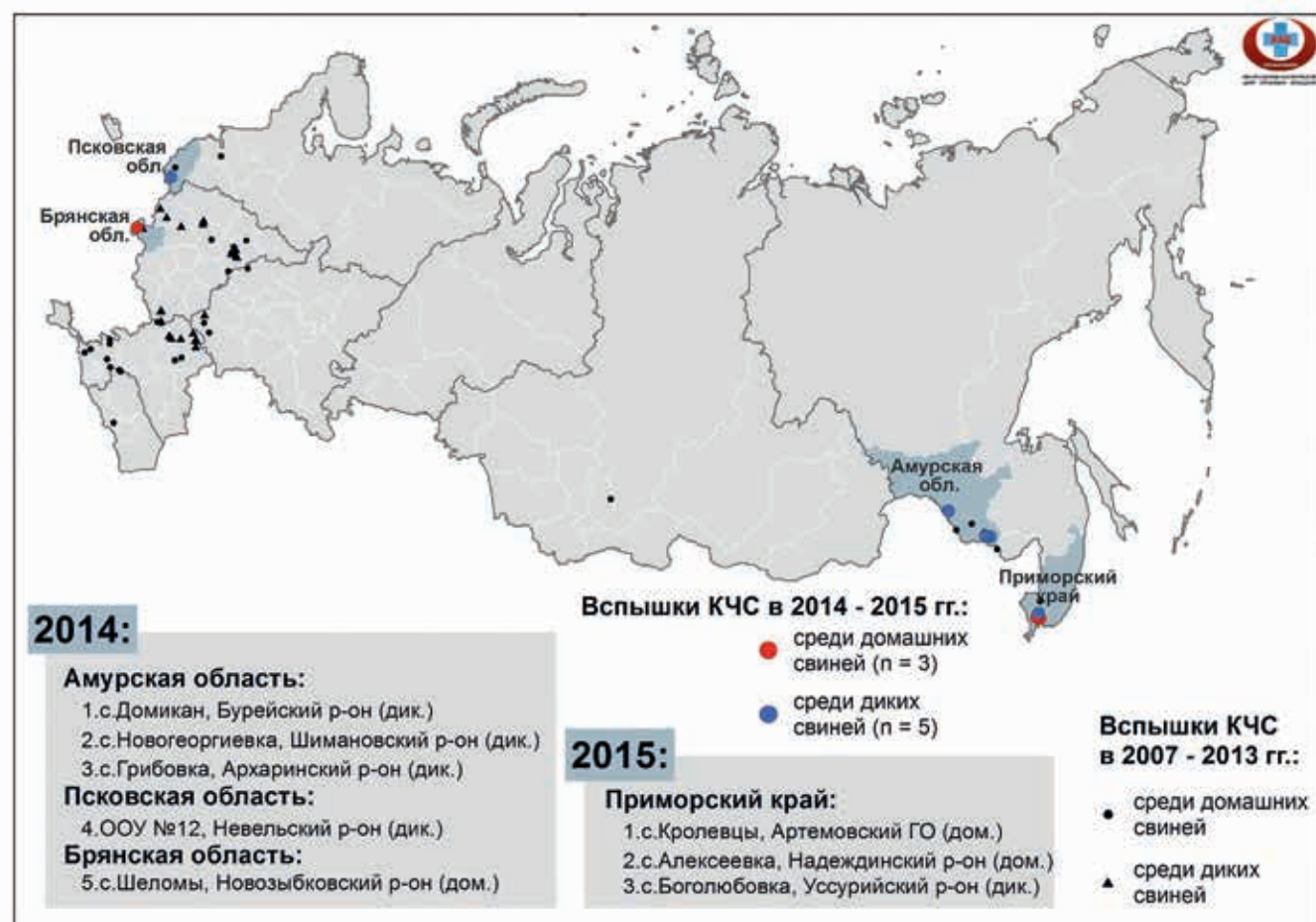


Рис. 1. Территориальное распространение вспышек КЧС в РФ за 2014–2015 гг.

АО (дом.); в 2014 г. — в Брянской (дом.), Амурской (дик.), Псковской (дик.) областях; в 2015 г. — в Приморском крае (дом.).

Максимальный рост числа неблагополучия среди диких свиней наблюдался в 2010 г. (n=8 очагов), а среди домашних — в 2011 г. (n=10 очагов).

Таким образом, за последнее десятилетие наблюдается территориальное смещение неблагополучия из центральных частей РФ (2007–2012) в западные и восточные приграничные регионы РФ (2013–2015). Вероятно, это служит индикатором необходимости усиления мер по контролю за КЧС в упомянутых приграничных регионах РФ с пристальным вниманием к охране хозяйств от заноса вируса, оценкой полноты проведения противоэпизоотических мероприятий в неблагополучных регионах. Надзор должен строиться на повышенной настороженности к КЧС и включать исследования по доказательству отсутствия инфекции в благополучных хозяйствах, раннему ее обнаружению, а исследования по определению превалентности заболевания на эндемичных территориях рационально дополнить изучением штаммовой принадлежности выявляемых изолятов КЧС, что в конечном итоге позволит осуществить поиск источников вируса.

С другой стороны, снижение количества случаев КЧС в центральных регионах РФ также требует анализа ситуации. Сейчас можно лишь предположить, что уменьшение числа регистрируемых вспышек КЧС свя-

зано либо с неэффективностью действующей системы наблюдения за КЧС (неспособностью выявить инфекцию), либо, наоборот, это произошло из-за усиления противоэпизоотических мероприятий, направленных на борьбу с африканской чумой свиней, как позитивный отклик повлиявших на картину с КЧС. В частности, наблюдается интенсификация иммунизации свиней против КЧС (2007–2015). Динамика проведения вакцинации в домашней популяции в 2007–2015 гг. представлена на рис. 2.

Из данных графика (рис. 2) следует, что в России ежегодно увеличивается число проводимых против КЧС вакцинаций (линия тренда возрастающая), при этом общее количество свинопоголовья в стране за анализируемый период значительно не изменялось. Следовательно, в течение 2007–2015 гг. в РФ наблюдается реальное повышение показателей покрытия вакцинацией против КЧС свинопоголовья.

В популяции диких свиней России также проводится иммунизация животных с использованием сухой порошковой вирус-вакцины. Препарат за последние годы поставлялся почти в два десятка регионов страны. Однако на территории ряда из них (Владимирская, Нижегородская обл.) органами исполнительной власти в сфере ветеринарии не принималось решения о проведении такой иммунизации. Значительно разнились и объемы ее проведения — от нескольких килограммов препарата до сотни и более (в Волгоградской, Калужской обл.).

Все вышеупомянутое, наряду с отсутствием обоснованных программ надзора и контроля за КЧС (в част-

ности среди диких кабанов), способствует длительной циркуляции возбудителя в зараженной популяции. А применение вакцин против КЧС в популяции домашних и диких свиней может обуславливать маскировку неблагополучия по данному заболеванию. Это подтверждается ретроспективными данными, так, на фоне массового применения вакцин против КЧС в СССР инфекция проникла во многие крупные свинополья. Там сформировалось длительное стационарное неблагополучие [2, 3]. Среди диких кабанов вспышки КЧС неоднократно регистрировались на территории Волгоградской области (2009, 2010, 2012).

Циркуляция вируса КЧС в субпопуляциях привитых животных обусловлена тем, что, несмотря на вакцинацию, часть поголовья все равно остается слабоиммунной. Такие животные не защищены от заражения и последующей персистенции вируса, они могут длительно выделять вирус во внешнюю среду. Ситуацию осложняет низкая возрастная иммунореактивность поросят, подавление формирования поствакцинального иммунитета наличием у поросят колостральных антител. Латентно инфицированные свиноматки трансплацентарно передают вирус потомству, которое становится носителем вируса. Все это поддерживает сохранение и длительную циркуляцию вируса в неблагополучных хозяйствах.

Действующая в РФ Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации КЧС [5] не требует обязательного уоя всех свиней крупного неблагополучного хозяйства, предусматривается, что клинически здоровое поголовье в зонах риска подвергают вакцинации. Наблюдения, проводимые в очагах инфекции, подтверждают возможность того, что в таких хозяйствах могут оставаться зараженные свиньи.

В настоящее время в Министерстве сельского хозяйства РФ ведется разработка целого пакета ветери-

нарных правил по профилактике и борьбе с инфекционными болезнями сельскохозяйственных животных и птицы, в частности с КЧС. Указанные документы размещены для обсуждения на сайте «Федеральный портал проектов нормативных правовых актов» [21].

В новом проекте Правил по КЧС меры профилактики и борьбы схожи с изложенными в предшествующей Инструкции [5], что, к сожалению, не соответствует современным международным рекомендациям [18], которые используют такой инструмент, как зонирование территории страны в зависимости от статуса благополучия административных территорий в отношении КЧС, требуют изложения условий перемещения животных и сельскохозяйственной продукции, полученной в зонах с разным статусом благополучия. Также международные рекомендации регламентируют подходы по получению репрезентативных в отношении обследуемых субпопуляций выборок проб для достоверного и своевременного выявления неблагополучных по КЧС стад. Для искоренения заболевания в очагах неблагополучия предусмотрен убой всех больных и подозрительных в заболевании животных с отказом от вакцинации или ее осуществлением только с помощью вакцин, позволяющих вести *DIVA-стратегию*, чего проект, к сожалению, не содержит. При этом было бы допустимым, в случае значительного ухудшения эпизоотической ситуации по КЧС, по решению высшего органа исполнительной власти страны в сфере ветеринарии в краткосрочной перспективе допустить использование *DIVA-вакцин*, но животных, привитых такими препаратами, впоследствии необходимо вывести из оборота стада, поскольку их наличие не позволяет соответствовать международно признаваемым требованиям по статусу благополучия по КЧС.

Гармонизация проекта Правил по КЧС в соответствии с международными требованиями создала бы возможность искоренения заболевания на территории страны, получения официального международного статуса благополучия.

Рис. 2. Динамика вакцинации домашних свиней против КЧС в РФ за 2007–2015 гг.



Таблица 1
Вспышки КЧС на крупных свинофермах в 2007–2015 гг.

№	Территория расположения неблагополучной фермы	Дата возникновения очага	Общее поголовье фермы	Количество случаев	Превалентность
1	Краснодарский край	17.02.2007	6192	1093	17,65%
2	Ставропольский край,	28.08.2007	40000	252	0,63%
3	Красногвардейский район		7729	549	7,10%
4	Краснодарский край	09.09.2011	1766	6	0,34%

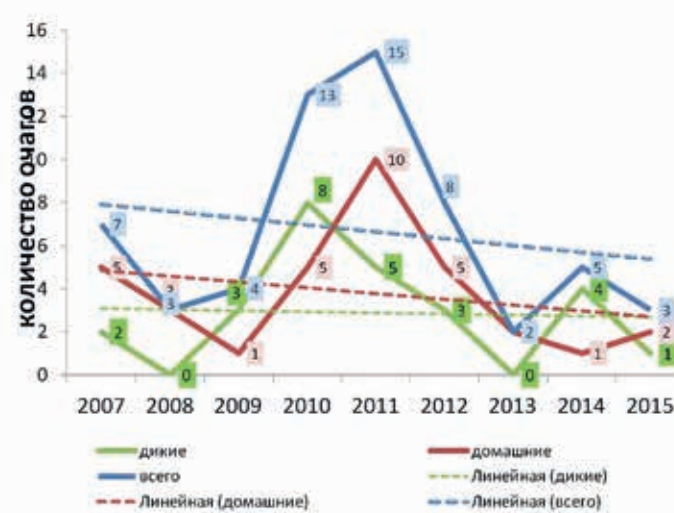
Таблица 2
Вероятности возникновения/отсутствия КЧС в секторе промышленного свиноводства в 2016 г.

Расчетная вероятность (Р) возникновения/отсутствия КЧС на свинокомплексах РФ	2016 г.
P ₁ (отсутствия КЧС)	67,03%
P ₂ (возникновения КЧС)	32,97%

В то же время следует учитывать, что переход на методы борьбы с КЧС с отказом от вакцинации требует больших экономических затрат. При этом недоработки в системах надзора и контроля за инфекцией чреватые ее массовым распространением. Так, в Голландии в 1997–1998 гг. было зарегистрировано 429 вспышек КЧС, в 2000 г. в Великобритании — 16 вспышек, в 2001–2002 гг. в Испании — 49 вспышек. Другие страны длительно оставались эндемичными по данному заболеванию (Италия, Германия, Франция).

В начале программы по искоренению КЧС в странах Восточной Европы также произошло резкое ухудшение эпизоотической ситуации. В 2006–2007 гг. в Румынии было зарегистрировано 940 вспышек КЧС среди домашних свиней с выносом заболевания в дикую фауну (7 вспышек). Для стабилизации эпизоотической ситуации в стране пришлось временно вернуться к иммуни-

Рис. 3. Количество очагов КЧС в 2007–2015 гг. среди домашних и диких свиней в РФ



зации домашних свиней. В те же годы неблагополучие по КЧС зарегистрировано: в Хорватии за 2006–2009 гг. 129 вспышек (дом.), в Болгарии 12 (дом.) и 4 (дик.), в Венгрии 169 (дик.), в Словакии более 10 (дик.) вспышек.

Большинство европейских стран свободно от КЧС, но риск сохранения вируса в популяции диких свиней остается, что оставляет угрозу и для неиммунной к КЧС популяции домашних свиней.

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать вывод о необходимости разработки и внедрения эффективной системы надзора за КЧС для установления границ распространения КЧС (в т.ч. скрытого носительства) в популяции домашних и диких свиней в различных регионах страны.

На основании полученных данных надзора станет возможным проведение оценки экономических затрат, сопряженных с ликвидацией болезни, и ожидаемых выгод от оздоровления страны, что позволит определить дальнейшую стратегию борьбы с заболеванием.

2. Анализ распространения КЧС в Российской Федерации в 2007–2015 гг.

В основном за последнее десятилетие вспышки КЧС у домашних свиней зарегистрированы на небольших свинофермах. Неблагополучие на крупных свинокомплексах зафиксировано 4 раза: 3 вспышки в 2007 г. и 1 — в 2011 г.

Две вспышки болезни, произошедшие в Ставропольском крае в августе 2007 г., на наш взгляд, можно рассмотреть как 1 событие (табл. 1).

Таким образом, если рассматривать процесс возникновения событий/вспышек КЧС на крупных свинокомплексах как непрерывный во временном интервале, то мы можем оценить вероятность возникновения события/вспышки на крупной свиноферме на 2016 г. и последующие годы, т.е. на последующие временные интервалы, как: $1 - \exp(-x/\beta)$, где x — прогнозируемый временной отрезок, β — бета-распределение.

В нашем случае бета-распределение в силу незначительного числа случаев и неясности/неточности временных промежутков между событиями можно представить как распределенное число событий в течение общего времени наблюдения (т.е. $\beta = T/(n+1)$). В интервале 10 лет (2006–2015), теоретически, имеем 3 события, связанных с КЧС на крупных свинофермах, т.е. в нашем случае $\beta = 2,5$.

Исходя из этого, вероятность того, что в 2016 г. КЧС возникнет на крупной свиноферме, составляет 32,97% (табл. 2).

В течение 2016 г. вероятность возникновения КЧС на крупной ферме крайне низка и не перевешивает вероятность отсутствия (67,03%). Как и за последние

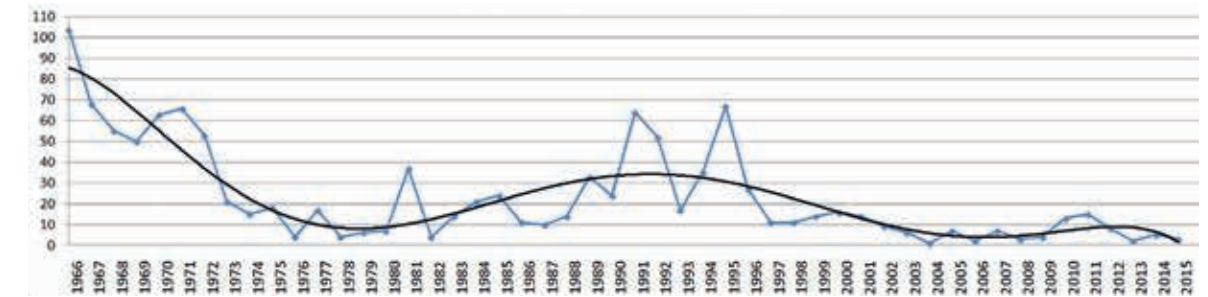


Рис. 4. Количество очагов КЧС в 1966–2015 гг. среди домашних и диких свиней в РФ (полиномиальный тренд)

10 лет, основной средой для возникновения вспышек КЧС в дальнейшем будет оставаться популяция свиней в хозяйствах, имеющих слабую биозащиту (как правило, в личных подсобных хозяйствах населения (ЛПХ), где свиней могут содержать на выгуле, кормить необезвреженными пищевыми отходами, имеются свои в вакцинации против КЧС, свинарники посещают перекупщики, а владельцы не меняют там обувь, одежду и др.).

3. Эпизоотическая ситуация по КЧС в Российской Федерации в 2007–2015 гг. и общая тенденция за 1966–2015 гг. (ретроспективный анализ)

За период 2007–2015 гг. в Российской Федерации ежегодно регистрировалось в среднем $6,67 \pm 4,61$ вспышек ($M \pm m$) КЧС в совокупной популяции восприимчивых животных. Несмотря на проведение массовой вакцинации в популяции домашних свиней, количество вспышек среди них за все эти годы остается $3,78 \pm 2,86$ ($M \pm m$), выше показателей среднего для дикого кабана за этот же период — $2,88 \pm 2,57$ ($M \pm m$).

Из представленного на рис. 3 графика заметна эпизоотическая цикличность КЧС, проявляющаяся 3–5-летними периодами, присущая эпизоотии КЧС. На

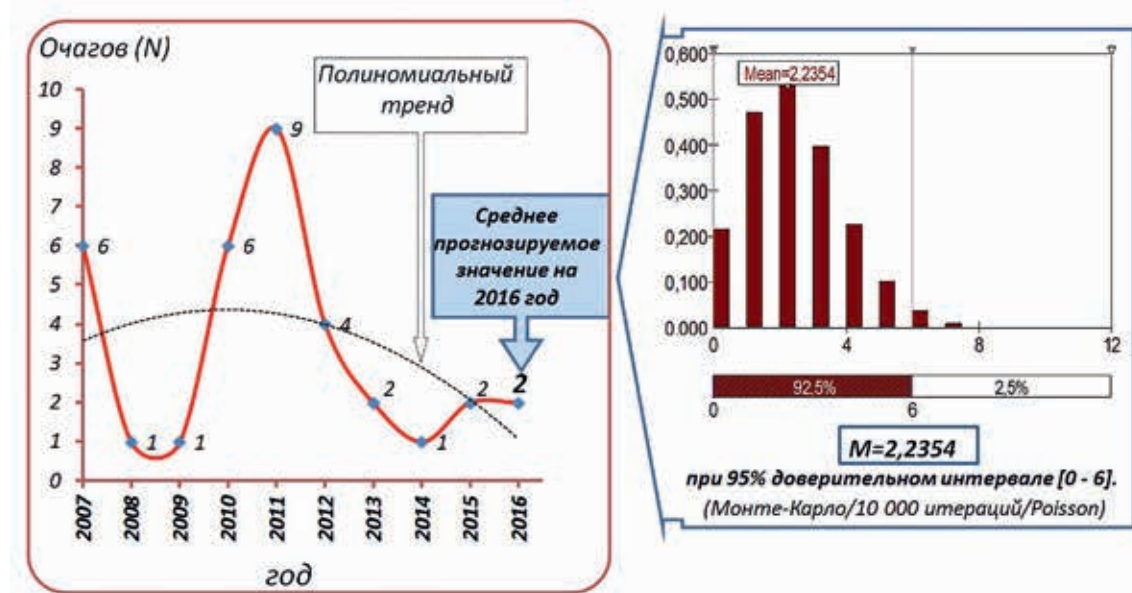
представленном графике заметны 2 таких периода: 2009–2013 и 2013–2015 гг. Линейные тренды (как общий, так и по домашней и дикой популяции в отдельности) не поменяли своего направления и являются ниспадающими.

Полиномиальный тренд (рис. 4) по количеству очагов в 1966–2015 гг. на большом массиве данных также отражает прогнозируемое улучшение ситуации.

При этом на графике заметны резкое снижение количества вспышек к 1975 г., период эпизоотии 80–90-х гг. и стабилизация в 2000-е гг. О роли отдельных факторов, создавших такую картину в период с 1966 по 2015 гг., в отсутствие надежных данных, мы можем сделать лишь некоторые предположения, но наиболее очевидно, что на развитие ситуации влияли: перевод экстенсивного свиноводства в интенсивное (создание промышленных хозяйств) с увеличением поголовья свиней в СССР в период с 80-х по 90-й гг. до 38 млн, введение инструмента массовой вакцинации, кризисные явления в стране после развала СССР в 90-е гг., реорганизация промышленного свиноводства в 2000-е гг. (внедрение систем биобезопасности), сосредоточение основной доли поголовья всех свиней в свинокомплексах, имеющих статус обладания высоким уровнем защиты (всего на 2011 г. 17 млн голов).

Тем не менее, на основе визуализации полиномиального тренда, можно на краткосрочную перспективу прогнозировать улучшение ситуации по КЧС в РФ.

Рис. 5. Прогнозируемое количество очагов КЧС в популяции домашних свиней в 2016 г.



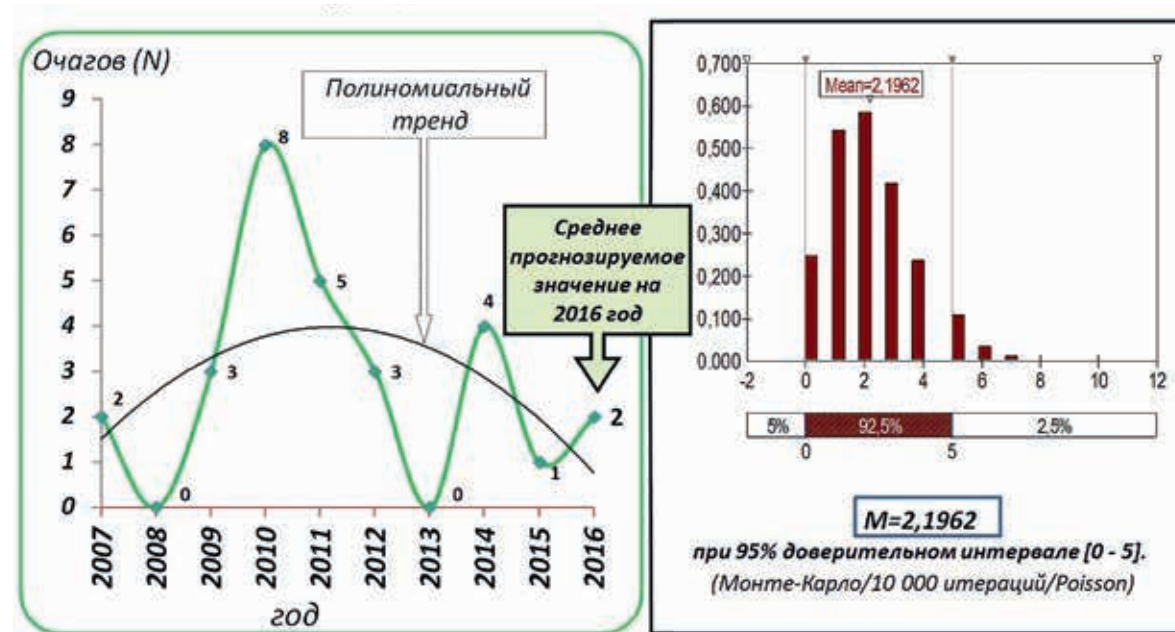


Рис. 6. Прогнозируемое количество очагов КЧС в популяции диких кабанов в 2016 г.

Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что как в долгосрочной, так и в краткосрочной перспективе, основываясь на имеющихся статистических данных, ожидается улучшение эпизоотической ситуации по КЧС, что наряду с невысоким числом регистрируемых вспышек предполагает вероятность создания условий (по наименьшим экономическим затратам) для ликвидации заболевания на территории как отдельных субъектов, так и всей страны. Однако это предположение требует подтверждения, которое может быть получено по результатам внедрения системы наблюдения за КЧС.

Как показывает международный опыт, обеспечение благополучия страны по отсутствию распространения болезни надежнее всего достичь в результате проведения ликвидации компании. В случае принятия решения о реализации стратегии ликвидации инфекции рационально ее целью декларировать ликвидацию КЧС и АЧС. Успех при реализации такого проекта даст возможность последующего получения в МЭБ статуса благополучия РФ и отмену ограничений для экспорта свинины, продукции, полученной из нее, создания потенциала для развития свиноводческой отрасли.

4. Прогнозирование. Ожидаемое количество очагов КЧС в 2016 г.

В качестве анализируемого временного интервала выбрали период 2007–2015 гг., так как только на данный период доступна информация о количестве очагов в домашней и дикой популяциях.

Прогнозируемое число очагов КЧС в РФ в популяции домашних свиней в 2016 г.

В течение 2007–2015 гг. на территории РФ было зарегистрировано от 1 до 9 очагов КЧС в течение года (рис. 5).

Моделирование эпизоотического процесса с получением прогностического количества очагов (использовался метод Монте-Карло/10000 итераций, на пуассоновском распределении) показало, что прогно-

зируемое среднее число вспышек КЧС среди популяции домашних свиней ожидается в пределах 2 с 95%-м доверительным интервалом от 0 до 6 вспышек.

При столь невысоких прогнозных значениях на 2016 г., по сравнению с предыдущим прогнозом [2], важно и дальше поддерживать намечающиеся тенденции к установлению благополучия и выявить факторы, способствовавшие этому.

Прогнозируемое число очагов КЧС в РФ в популяции диких кабанов в 2016 г.

Согласно расчетным данным, в 2016 г. прогнозируемое среднее число ожидаемых вспышек КЧС среди популяции диких кабанов равно 2,2, вероятно возникновение от 0 до 5 новых очагов КЧС ($p=95\%$) (рис. 6).

Таким образом, без кардинальных изменений в нормативной документации по правилам диагностики и борьбы с КЧС, содержания свиней, их перемещения и убоя тенденция к сохранению неблагополучия в РФ, на наш взгляд, будет иметь место и в последующие годы. Основной целевой популяцией для вируса КЧС будут оставаться свиноводческие хозяйства, имеющие слабую биозащиту, и субпопуляции диких кабанов на территории регионов, неблагополучных по КЧС у домашних свиней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последнее десятилетие произошло смещение очагов неблагополучия из центральных частей в западные и восточные приграничные регионы Российской Федерации, где необходимо усилить меры по контролю за КЧС.

Доказательство отсутствия инфекции, основанное лишь на данных пассивного надзора в благополучных регионах страны, диктует потребность разработки и внедрения соответствующей системы надзора за инфекцией, которая позволит получить значимые данные, необходимые для оценки сложившейся ситуации и выбора последующей стратегии борьбы с КЧС.

Линейные тренды на 2007–2015 гг. (общий, по домашней, по дикой популяции) не поменяли своего направления и являются ниспадающими. В долгосрочной

перспективе (при существующем уровне специфической профилактики) прогнозируется стабилизация ситуации с малым числом вспышек. Полиномиальный тренд на 1966–2015 гг. свидетельствует также о благоприятном прогнозе, в том числе и в краткосрочной перспективе.

В 2016 г. ожидается/прогнозируется возникновение до 5 очагов (при ожидаемом среднем значении 2) КЧС в популяции диких кабанов и до 6 очагов (при ожидаемом среднем значении 2) в популяции домашних свиней. При этом основной целевой домашней популяцией для КЧС в 2016 г., как и в предыдущие годы, ожидается будут оставаться ЛПХ. Расчетная вероятность возникновения КЧС на крупном свиномкомплексе РФ в 2016 г. низкая и составляет около 33%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации классической чумы свиней: утв. ГУВ Минсельхоза 30.03.1990. — 6 с.
- Инфекционная патология животных: в 2 т. Т. 1/ под ред. А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьева, Е.А. Непоклонова, Е.С. Воронина. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. — 911 с.
- Классическая чума свиней: прогноз на 2013 год / А.С. Оганесян, Н.С. Дудникова, О.Н. Петрова [и др.] // Прогнозы по ряду болезней животных в Российской Федерации на 2013 год / ФГБУ «ВНИИЗЖ». — Владимир, 2013. — 37 с.
- Некоторые аспекты эпизоотического проявления классической, африканской чумы свиней и болезни Ауески: информационно-аналитический обзор / А.А. Шевцов, С.А. Дудников, А.К. Караулов [и др.]. — Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ», 2008. — 38 с.
- Серомониторинг инфекционных болезней среди диких кабанов в Центральном федеральном округе России / С.А. Кукушкин, Т.З. Байбиков, А.М. Тимина [и др.] // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2006. — Т. 4. — С. 233–240.
- A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes / M.P. Meuwissen, S.H. Horst, R.B. Huirne, A.A. Dijkhuizen // Prev. Vet. Med. — 1999. — Vol. 42. — P. 249–270.
- Ability of veterinary pathologists to diagnose classical swine fever from clinical signs and gross pathological findings / A.R. Elbers, J.H. Vos, A. Bouma, J.A. Stegeman // Prev. Vet. Med. — 2004. — Vol. 66. — P. 239–246.
- Analysis of classical swine fever virus replication kinetics allows differentiation of highly virulent from

avirulent strains / C. Mittelholzer, C. Moser, J.D. Tratschin, A. Hofmann // Vet. Microbiol. — 2000. — Vol. 74. — P. 293–298.

9. Dahle J., Liess B. A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Disease. — 1992. — Vol. 15. — P. 203–211.

10. Diagnostic procedures after completion of oral immunisation against classical swine fever in wild boar / V. Kaden, M. Kramer, B. Kern [et al.] // Rev. Sci. Tech. OIE. — 2006. — Vol. 25 (3). — P. 989–997.

11. Epidemiological characteristics of an outbreak of classical swine fever in an area of high pig density / F. Koenen, G. Van Caenegem, J. Vermeersch [et al.] // Vet. Rec. — Vol. 139. — P. 367–371.

12. Influence of breed-related factors on the course of classical swine fever virus infection / K.R. Depner, U. Hinrichs, K. Bickhardt [et al.] // Vet. Rec. — 1997. — Vol. 140. — P. 506–507.

13. Kramer-Schadt S., Fernandez N., Thulke H.H. Potential ecological and epidemiological factors affecting the persistence of classical swine fever in wild boar *Sus scrofa* populations // Mammal. Rev. — 2007. — Vol. 37 (1). — P. 1–20.

14. Kruse H., Kirkemo A.M., Handeland K. Wildlife as source of zoonotic infections // Emerg. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 10. — P. 2067–2071.

15. Long-term monitoring of classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa* sp.) using serological data / S. Rossi, M. Artois, D. Pontier [et al.] // Vet. Res. — 2005. — Vol. 36. — P. 27–42.

16. Moennig V. Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy // Vet. Microbiol. — 2000. — Vol. 73. — P. 93–102.

17. Moennig V., Floegel-Niesmann G., Greiser-Wilke I. Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: a review of new knowledge // Vet. J. — 2003. — Vol. 165. — P. 11–20.

18. OIE. — URL: <http://www.oie.int/>

19. Classical swine fever (hog cholera) // OIE Terrestrial Manual. — 2014. — Chapter 2.8.3. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.03-CSF.pdf.

20. SCFCAH. — URL: http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/animal_health/index_en.htm.

21. Федеральный портал проектов нормативных правовых актов. — URL: <http://regulation.gov.ru>



ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ ОСПЫ КУР И ОСПЫ ГОЛУБЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

С.А. Похвальный¹, А.Н. Спиридонов²

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

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

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты изучения спектра патогенности вирусов оспы кур (изолят «Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009») и оспы голубей (изоляты «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» и «Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010») методом перекрестного инфицирования. Группы цыплят и голубей заражали окулярно и назально или внутрикожно и накожно. При окулярном и назальном инфицировании голубей и цыплят вирусами оспы клинических признаков заболевания выявлено не было. Изоляты вируса оспы голубей при накожном и внутрикожном заражении вызвали местные поражения кожи только у голубей. Развитие пролиферативно-некротического фолликулита у цыплят наблюдали только после внутрикожного заражения изолятом вируса оспы кур. Таким образом, экспериментально доказано, что выделенные полевые изоляты вирусов оспы голубей и оспы кур обладают выраженной специфичностью к естественному монохозяину.

Ключевые слова: оспа птиц, спектр патогенности, голуби, контрольное заражение.

STUDY OF PATHOGENICITY OF FOWL POX AND PIGEON POX VIRUS ISOLATES RECOVERED IN RUSSIAN FEDERATION

S.A. Pokhvalny¹, A.N. Spiridonov²

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

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

SUMMARY

The paper demonstrates results of the studies of pathogenicity of fowl pox virus (Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009 isolate) and pigeon pox virus (Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012 and Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010 isolates) using cross-infection. The chicks were infected intraocularly and intranasally or intradermally and epidermally. No clinical signs were reported in chicks and pigeons following intraocular and intranasal infection. Epidermal and intradermal infection pigeon pox isolates induced local skin lesions only in pigeons. Proliferative necrotizing folliculitis was reported in chicks only post intradermal infection with fowl pox isolate. Therefore it was experimentally proved that the recovered field isolates of pigeon and fowl pox viruses are highly specific for the natural host.

Key words: fowl pox, pathogenicity, pigeons, challenge.

ВВЕДЕНИЕ

Оспа птиц — это вирусная медленно распространяющаяся болезнь домашних, диких и декоративных птиц, характеризующаяся либо пролиферативно-некротическими поражениями кожи (выраженный некроз активно размножившихся клеточных элементов кожи), либо дифтеритическим воспалением слизистых оболочек глаз, ротовой полости и верхних дыхательных путей (глубокий некроз слизистых оболочек и пропитывание некротических масс фибрином).

Возбудителями инфекции являются эпителиотропные вирусы оспы, отнесенные к 10 видам (вирусы оспы кур, голубей, индеек, канареек, попугаев, перепелов, воробьев, скворцов, юнко и майн) рода *Avipoxvirus* семейства *Poxviridae*. Вирус оспы кур, как самый изученный, является типичным представителем данного рода [13]. Вирусы оспы птиц поражают птиц, относящихся к 60 видам 23 семейств. Предположительно все виды птиц восприимчивы к оспе [4]. Спектр патогенности считается одним из главных критериев для дифференциации вирусов оспы птиц [1, 6, 8, 10].

С 2009 по 2015 гг. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» были выделены 15 изолятов вируса оспы кур и 2 изолята вируса оспы голубей от птиц из частного подворья и птицефабрик из 17 субъектов европейской части и Дальнего Востока Российской Федерации. При этом источник заноса в данные птицефабрики обнаружен не был. Поскольку между исследованными птицефабриками каких-либо хозяйственных связей выявлено не было, то возникло предположение, что основным источником заноса инфекции на благополучные птицефабрики является дикая и синантропная птица.

В связи с этим целью работы явилось изучение спектра патогенности вируса оспы голубей (на примере двух изолятов «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» и «Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010») и вируса оспы кур (изолят «Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009») методом перекрестного инфицирования, а также описание клинической картины при разных способах заражения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изоляты вирусов. Изоляты вируса оспы голубей были выделены в ФГБУ «ВНИИЗЖ» из присланных кожных поражений, отобранных от породистых голубей при вспышке болезни на частных голубятнях. Изолят вируса оспы кур был выделен на птицефабрике, где наблюдали смешанную форму оспы. Изоляты были легко адаптированы к эмбрионам кур путем заражения на хориоаллантаоисной оболочке (ХАО) в искусственной воздушной камере, после чего в виде суспензий ткани ХАО, хранящихся при температуре -45°C , были использованы для последующих экспериментов. Определение инфекционной активности полученных вирусных материалов проводили на SPF-эмбрионах кур методом предельных разведений, расчет титра производили по методу Кербера ($\text{lg ЭИД}_{50}/\text{см}^3$).

Инфекционная активность изолята «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей (2 пассаж на SPF-КЭ) составляла $5,7 \text{ lg ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, изолята «Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010» вируса оспы голубей (2 пассаж на SPF-КЭ) — $4,7 \text{ lg ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, изолята «Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009» вируса оспы кур (4 пассаж на SPF-КЭ) — $4,1 \text{ lg ЭИД}_{50}/\text{см}^3$. Патогенные свойства изолята «Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009» вируса оспы кур для цыплят были изучены ранее [3].

Подопытная птица. В опыте использовали клинически здоровых цыплят яичного кросса «Hisex white» 34-суточного возраста, неиммунные к оспе птиц, в количестве 72 голов, а также голубей (синантропная птица) в количестве 36 голов. Эксперимент проводили на базе вивария ФГБУ «ВНИИЗЖ» в боксовом помещении. Каждую группу птиц содержали в отдельных изоляторах (изолированных боксах), оборудованных навесными кормушками и поилками.

Способы заражения птиц. Для накожного заражения удаляли перья в области груди и наносили вирусный материал на область оголенных перьевых фолликулов в объеме $0,2 \text{ см}^3$. Внутрикожную инъекцию вирусного материала производили в перепонку правого крыла с помощью 2-игольного инъектора в объеме $0,004 \text{ см}^3$. Назальное и окулярное введение вирусного материала осуществляли с помощью инсулинового шприца, при этом суммарный объем вирусного материала на голову, независимо от вида птицы, составлял $0,2 \text{ см}^3$ (по $0,05 \text{ см}^3$ в оба глаза и обе ноздри).

Схема опыта. В табл. 1 представлена схема опыта по определению спектра патогенности вирусов оспы кур и оспы голубей. Для этого цыплят разделили на 6 групп по 12 голов в каждой, а голубей — на 2 группы по 7 голов, 2 группы по 6 голов и 2 группы по 5 голов. Заражение птиц каждым из трех изолятов производили несколькими способами: одну группу птиц назально и окулярно, вторую — накожно и внутрикожно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. *Эпизоотическая ситуация по оспе птиц в Российской Федерации*

Субъектами Российской Федерации, из которых получены пробы патологического материала с обнаруженным геномом вируса оспы птиц за 2009–2015 гг. (по данным референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ»), являются Республика Дагестан, Амурская, Волгоградская, Саратовская, Пензенская, Белгородская, Липецкая, Рязанская, Владимирская, Ивановская, Калужская, Новгородская области, Краснодарский, Приморский и Хабаровский края.

При вспышках оспы клинически болезнь в большинстве случаев протекала в виде кожной формы, иногда в виде дифтеритической. При этом оспу наблюдали у кур-несушек либо у родительского поголовья бройлеров. В некоторых случаях оспа сопровождалась падением яйценоскости до 60–70% и повышением смертности птицы до 5–8%.

2. *Изучение спектра патогенности изолятов вирусов оспы голубей и оспы кур*

Результаты исследований по изучению спектра патогенности и видовой специфичности изолятов вирусов оспы голубей и оспы кур в опыте перекрестного инфицирования представлены в табл. 2. Клиническая форма заболевания оспы была выявлена у 3 из 12 подопытных групп птиц, зараженных накожно и внутрикожно. При назальном и окулярном инфицировании у цыплят и голубей каких-либо признаков болезни обнаружено не было.

Из результатов, представленных в табл. 2, следует, что у цыплят на 5–6 сутки после накожного и внутрикожного заражения изолятом «Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009» вируса оспы кур были обнаружены специфические признаки развития болезни, характеризующиеся пролиферативным воспалительным процессом

Таблица 1
Схема опыта по определению спектра патогенности вирусов оспы голубей и оспы кур

№	Изолят вируса	Способ заражения	Доза заражения	Вид и количество зараженных птиц	
				голуби	цыплята
1	«Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей	назально и окулярно*	5,0 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³	6	12
		внутрикожно** и накожно***	3,3 Ig ЭИД ₅₀ /0,004 см ³	7	12
			5,0 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³		
2	«Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010» вируса оспы голубей	назально и окулярно	4,0 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³	6	12
		внутрикожно и накожно	2,3 Ig ЭИД ₅₀ /0,004 см ³	7	12
			4,0 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³		
3	«Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009» вируса оспы кур	назально и окулярно	3,4 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³	5	12
		внутрикожно и накожно	1,7 Ig ЭИД ₅₀ /0,004 см ³	5	12
			3,4 Ig ЭИД ₅₀ /0,2 см ³		

* назальное и окулярное заражение птиц с помощью инсулинового шприца, суммарный объем вирусного материала на голову составлял 0,2 см³ (по 0,05 см³ в оба глаза и в обе ноздри);

** внутрикожная инъекция вирусного материала в перепонку правого крыла с помощью двухигольного инъектора в объеме 0,004 см³;

*** накожное нанесение вирусного материала в оголенные перьевые фолликулы в области груди в объеме 0,2 см³.

исключительно в области внутрикожной инъекции в перепонку крыла. На 10 сутки после заражения обнаружены ограниченные оспенные поражения в виде отчетливого опухания и покраснения кожи. На 16 сутки исследований наблюдали ослабление (затухание) инфекционного процесса.

У голубей, зараженных изолятами вируса оспы голубей, инкубационный период при накожном и внутрикожном инфицировании составил 13–14 суток. При этом только у 4 из 7 голубей, зараженных изолятом «Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010», были обнаружены

признаки, характерные для пролиферативного воспаления перьевых фолликулов в области накожного нанесения и внутрикожной инъекции вирусного материала. На 17–20 сутки после заражения наблюдали увеличение количества воспаленных перьевых фолликулов в области груди (рис. 1). В области перепонки крыла был зарегистрирован выраженный фолликулит.

В группе голубей, инфицированных накожно и внутрикожно изолятом «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей, у 6 из 7 птиц обнаружили отчетливые поражения перьевых фолликулов в области груди



Рис. 1. Проллиферативно-некротические поражения кожи у голубя в области нанесения в оголенные перьевые фолликулы груди изолята «Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010» вируса оспы голубей на 20 сутки после заражения



Рис. 2. Проллиферативно-некротические поражения кожи у голубя в области нанесения в оголенные перьевые фолликулы груди изолята «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей на 17 сутки после заражения

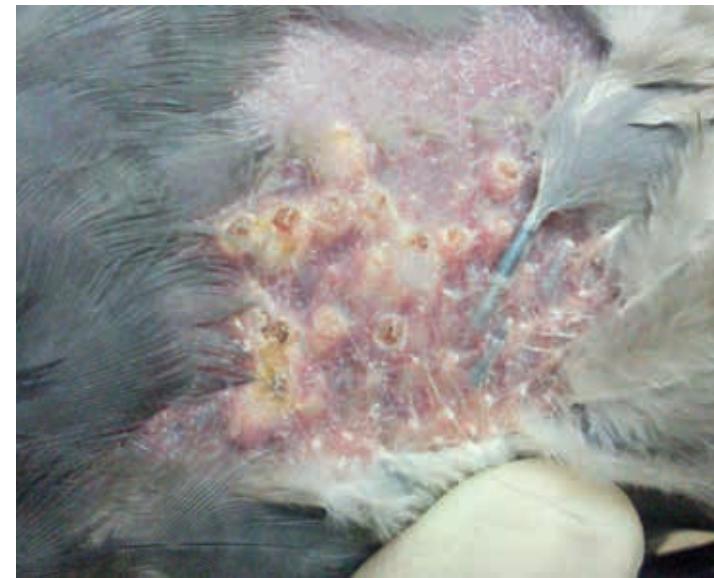


Рис. 3. Проллиферативно-некротические поражения кожи у голубя в области нанесения в оголенные перьевые фолликулы груди изолята «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей на 20 сутки после заражения



Рис. 4. Проллиферативно-некротические поражения кожи перепонки крыла у голубя в области интрадермальной инъекции изолята «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012» вируса оспы голубей на 20 сутки после заражения

с вовлечением в инфекционный процесс окружающей их кожи в виде покраснения и опухания (рис. 2). На 20 сутки после заражения пораженные перьевые фолликулы покрылись небольшими корочками коричневого цвета (рис. 3). На рис. 4 представлены пролиферативно-некротические поражения кожи перепонки крыла у голубя в области интрадермальной инъекции на 20 сутки после заражения изолятом «Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012».

Продолжительность болезни у голубей в двух группах составляла 24–26 суток, после чего из пораженных

перевых фолликулов стали прорастать перья, воспалительный процесс кожи становился менее заметным.

ОБСУЖДЕНИЕ

Любой вид возбудителя болезни характеризуется спектром патогенности как способность вызывать инфекционный процесс у совокупности восприимчивых видов животных в естественных и лабораторных условиях. Спектр патогенности является постоянным видовым признаком возбудителя, возникшим и закрепленным в процессе эволюции. При возникновении эпизоотической вспышки оспы на птицефабрике важно определить видовую принадлежность изолята вируса оспы с целью проведения корректных мер борьбы и специфической профилактики.

Таблица 2
Результаты опыта по изучению патогенных свойств изолятов вирусов оспы птиц

№	Изоляты вирусов оспы птиц	Способ заражения	Вид и количество зараженных птиц в зависимости от способа заражения					
			голуби			цыплята		
			T _{inc}	T _{dis}	Incid.	T _{inc}	T _{dis}	Incid.
1	«Pigeon/Rus-Astrakhan/PGPV/2012»	назально и окулярно	–	–	0/6*	–	–	0/12
		накожно и внутрикожно	13–14	24–26	6/7 (86%)	–	–	0/12
2	«Pigeon/Rus-Vladimir/PGPV/2010»	назально и окулярно	–	–	0/6	–	–	0/12
		накожно и внутрикожно	13–14	24–26	4/7 (57%)	–	–	0/12
3	«Chicken/Rus-Rjazan/FPV/2009»	назально и окулярно	–	–	0/5	–	–	0/12
		накожно и внутрикожно	–	–	0/5	5–6	18–21	11/12 (92%)

T_{inc} — продолжительность инкубационного периода болезни, сутки;

T_{dis} — продолжительность болезни (включая инкубационный период), сутки;

Incid. — заболеваемость оспой в группе;

* в числителе представлено количество заболевших птиц; в знаменателе — количество птиц в подопытной группе; в скобках — процент заболевших птиц в группе.

Вирусы оспы птиц существенно различаются по спектру патогенности и степени вирулентности [6, 8, 12]. Большинство выделяемых полевых изолятов вирусов оспы патогенно для птиц этого же вида [7]. Наряду с этим в литературе описаны так называемые «бипатогенные» и «трипатогенные» штаммы вирусов оспы, которые вызывают инфекционную болезнь у двух и трех видов птиц соответственно [1, 7]. При этом оспенные поражения наблюдают у ограниченного количества птиц в зараженной группе [12].

На результаты заражения изолятами вирусов оспы птиц влияет способ инфицирования, что особенно важно для корректной постановки биопробы при диагностике оспы птиц (при подтверждении постулатов Коха). В доступной литературе представлены результаты контрольных заражений птиц вирусами оспы разнообразными способами (внутривенно, окулярно, орально, назально, интратрахеально, внутрикожно, накожно), обеспечивающими доступ возбудителя к чувствительным клеткам. При этом процент заболевших птиц в инфицированной группе различался в зависимости от вида восприимчивых тест-объектов, их способа заражения и вида изолятов вирусов оспы птиц [5, 8, 10, 12].

На основании результатов проведенного опыта можно предположить, что наиболее показательными для вируса оспы голубей являются накожный и внутрикожный способы заражения, а для вирусов оспы кур — только внутрикожный.

По данным различных исследователей, дифференциация вирусов оспы птиц по признаку морфологии бляшек в культуре клеток или поражениям, продуцируемым в хориоаллантаической мембране развивающихся эмбрионов кур, невозможна [5, 12]. Также по результатам филогенетической дендрограммы затруднительно отнести тот или иной изолят к определенному виду вируса оспы [2]. Было показано, что вирулентность новых изолятов вирусов оспы возрастала в естественных условиях после интеграции в их геном вируса ретикулэндотелиоза птиц [2; 11].

Антигенная вариабельность вирусов оспы птиц, установленная с помощью серологических реакций (РДП, РН, РПГА), выражена незначительно, при этом к вирусу оспы кур более близкородственны вирусы оспы индеек и голубей, чем вирусы оспы канареек, перепелов, попугаев [12].

При этом установлено, что между некоторыми изолятами вирусов оспы кур, голубей и индеек имеется иммунологическое родство [6]. Однако вирусы оспы канареек и попугаев в иммунологическом отношении отличаются от возбудителей оспы кур и голубей. Вирус оспы перепелов иммунологически отличен от вирусов оспы голубей и кур и защищает цыплят, голубей и индеек только против себя [7, 8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изученные изоляты вирусов оспы голубей и кур характеризовались выраженной специфичностью к естественному хозяину, от которого и были выделены, что свидетельствует о том, что на территории Российской Федерации циркулируют «монопатогенные» вирусы оспы разных видов с различной патогенностью. Инкубационный период у кур и голубей значительно

различался (5 и 14 суток соответственно). Процент заболевших птиц в группах варьировал от 57 до 92%. Продолжительность клинического проявления оспы у цыплят составляла до 10–11 суток, а у голубей — до 12–13 суток.

В условиях данного опыта не были выявлены клинические признаки болезни у кур и голубей, зараженных соответственно вирусами оспы голубей и кур. Однако данное явление не исключает эпизоотологической роли инфицированных голубей в циркуляции вируса оспы в природе и возникновении вспышек на птицефабриках, поскольку в лабораторных условиях затруднительно воспроизвести необходимое количество «слепых» пассажей полевого изолята, которые в реальности происходят при заносе вируса в восприимчивое многотысячное поголовье птицеводства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакулин В.А. Оспа птиц // Зооиндустрия. — 2005. — № 8–9. — С. 4–8.
2. Елаткин Н.П. Методы выявления и изучение молекулярно-генетических свойств изолятов вирусов оспы птиц: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Владимир, 2013. — 27 с.
3. Похвальный С.А., Кулаков В.Ю. Иммуногенность и безвредность эмбрион-вакцины против оспы птиц из штамма «КЭМ-7» с разбавителем // РацВетИнформ. — 2014. — № 1 (149). — С. 15–18.
4. Bolte A.L., Meurer J., Kaleta F. Avian host spectrum of avipoxvirus // Avian Pathol. — 1999. — Vol. 28. — P. 415–432.
5. Eleazer T.H., Harrell J.S., Blalock H.G. Transmission studies involving a wet fowl pox isolate // Avian Dis. — 1983. — Vol. 27 (2). — P. 542–544.
6. Gelenczei E.F., Lasher H.N. Comparative studies of cell-culture-propagated avian pox viruses in chickens and turkeys // Avian Dis. — 1968. — Vol. 12 (1). — P. 142–150.
7. Kirmse P. Host specificity and pathogenicity of pox virus from wild birds // Bull. Wildlife Dis. Assoc. — 1969. — Vol. 5 (4). — P. 376–386.
8. Reed W.M., Fatunmbi O.O. Pathogenicity and immunological relationship of quail and mynah to fowl and pigeon poxviruses // Avian Pathol. — 1993. — Vol. 22. — P. 395–400.
9. Psittacine pox virus: virus isolation and identification, transmission, and cross-challenge studies in parrots and chickens / T.R. Boosinger, R.W. Winterfield, D.S. Feldman, A.S. Dhillon // Avian Dis. — 1982. — Vol. 26 (2). — P. 437–444.
10. Siddique A.B., Hossain F.M.A., Zinnah M.A. Determination of host specificity of pigeon pox and fowl pox viruses isolated from a field outbreak // Bulgarian J. Vet. Med. — 2011. — Vol. 14 (4). — P. 209–214.
11. Singh P., Kim T.-J., Tripathy D.N. Re-emerging fowl pox: evaluation of isolates from vaccinated flocks // Avian Pathol. — 2000. — Vol. 29 (5). — P. 449–455.
12. Tripathy D.N., Hanson L.E., Killinger A.H. Studies on differentiation of avian pox viruses // Avian Dis. — 1973. — Vol. 17 (2). — P. 325–333.
13. Virus Taxonomy: 2015 Release. — URL: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> (дата обращения: 08.03.16).

УДК 619:616.98:579.843.94

ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ИНФЕКЦИОННОГО РИНИТА (ГЕМОФИЛЕЗА) КУР

В.А. Данилова¹, А.В. Потехин², И.А. Степанова³

¹ ведущий ветеринарный врач, аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: danilova@arriah.ru

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

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

РЕЗЮМЕ

Проведено бактериологическое исследование патологического материала от птиц на инфекционный ринит кур. Из 84 проб выделено 9 изолятов *Avibacterium paragallinarum*, что составило 10,7%. Возбудителя изолировали из проб экссудата со слизистой оболочки носовой полости и подглазничных синусов, содержимого конъюнктивального мешка и легких. Все изоляты имели вид грамотрицательных коротких палочек или коккобактерий, нуждались в V-факторе роста и сыворотке крови, не продуцировали каталазу, ферментировали глюкозу и сахарозу, не расщепляли трегалозу и галактозу. По указанным признакам можно проводить дифференциацию *Avibacterium paragallinarum* от апатогенных для птиц видов гемофильных бактерий.

Ключевые слова: инфекционный ринит (гемофилез) кур, изоляты, *Avibacterium paragallinarum*.

UDC 619:616.98:579.843.94

PECULIARITIES OF ISOLATION AND IDENTIFICATION OF INFECTIONS RHINITIS IN CHICKENS (*CORYZA*)

V.A. Danilova¹, A.V. Potekhin², I.A. Stepanova³

¹ Leading Veterinarian, Postgraduate Student, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: danilova@arriah.ru

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

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

SUMMARY

Pathological material from poultry was subjected to bacteriological tests for infectious rhinitis in chickens. Nine *Avibacterium paragallinarum* isolates were recovered from 84 samples, i.e. 10.7%. The agent was recovered from mucosal exudate of nasal cavity and infraorbital sinuses, from conjunctival sac content and lungs. All the isolates were gram-negative short rods or Cocci that needed V-growth factor and sera, did not produce catalase, fermented glucose and sucrose, did not split trehalose and galactose. Taking into account the mentioned signs, it was possible to differentiate *Avibacterium paragallinarum* from other apathogenic avian hemophilus bacteria.

Key words: infections rhinitis in chickens (*Coryza*), isolates, *Avibacterium paragallinarum*.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время инфекционные болезни птиц, сопровождающиеся поражением респираторного тракта, остаются одной из наиболее актуальных и экономически значимых проблем ветеринарии. Посредством воздушно-капельной передачи возбудителя происходит быстрое распространение инфекции на значительное поголовье птицы. Из комплекса респираторных болезней птиц особый интерес у ветеринарных специалистов представляет инфекционный ринит (гемофилез) кур. Обусловлено это, с одной стороны, скудностью информации о заболевании, а с другой — отсутствием отечественных средств его специфической профилактики.

Инфекционный ринит (гемофилез) — это острое инфекционное заболевание кур, вызываемое бактериями *Avibacterium paragallinarum*, ранее известными как *Haemophilus paragallinarum* [3, 10]. Заболевание характеризуется катаральным воспалением слизистых оболочек носовой полости, подглазничных синусов и конъюнктивы. Инфекционный ринит зарегистрирован во всех странах мира и наносит ощутимый экономический ущерб птицеводству. Наибольшие экономические потери связаны с отставанием в росте цыплят и снижением яйценоскости кур от 10 до 40%. Может наблюдаться гибель молодняка до 10%. Обычно смертность незначительная, гибель птицы происходит на фоне истощения и осложнений в органах дыхания. Тяжесть течения болезни во многом зависит от свойств конкретных циркулирующих штаммов возбудителя [4, 5, 7–9].

Диагноз на инфекционный ринит (гемофилез) кур устанавливают на основании эпизоотологических данных, клинических признаков болезни, патолого-анатомической картины и результатов лабораторного исследования, которое включает классический бактериологический метод. При лабораторном исследовании патологического материала от павших или вынужденно убитых птиц с целью обнаружения возбудителя (генома, антигена) *A. paragallinarum* кроме бактериологического используются молекулярно-генетический и серологический методы [1, 2, 6]. Бактериологическая диагностика имеет приоритетное значение, так как в этом случае удается получить наиболее полную информацию о биологических свойствах возбудителя, включая его чувствительность к антибактериальным препаратам. Так как большинство видов гемофильных бактерий, включая возбудителя инфекционного ринита кур, нуждаются в V-факторе роста (никотинамидадениндинуклеотид — НАД), то процедура выделения требует использования специальных питательных сред и определенного опыта специалистов [5, 10]. Кроме возбудителя инфекционного ринита кур, из патологического материала часто выделяются непатогенные НАД-зависимые виды *Avibacterium* spp., что значительно усложняет идентификацию [2, 3, 10].

В настоящее время в Российской Федерации мониторинговые исследования на инфекционный ринит кур не проводятся по причине отсутствия нормативно-методических положений по лабораторной диагностике заболевания. Неизвестен масштаб распространения болезни в птицеводческих хозяйствах страны, серотиповое разнообразие и чувствительность возбудителя к антибактериальным препаратам. В этой связи требуется установление целесообразности подготовки документов по диагностике и профилактике инфекционного ринита кур.

Целью работы было проведение исследований по выделению возбудителя инфекционного ринита из патологического материала от кур, включающих идентификацию *Avibacterium paragallinarum* с дифференциацией от апатогенных видов гемофильных бактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для бактериологической диагностики инфекционного ринита кур в лабораторию поступала живая птица разного возраста с признаками поражения респираторного тракта. Клинические признаки заболевания обычно проявлялись в виде водянистого истечения из носовых отверстий. У некоторых птиц, вследствие закупорки носовых отверстий, наблюдали ротовое дыхание с хрипами. Иногда у птиц наблюдали опухшие подглазничные синусы и конъюнктивальные мешки.

Для выделения *A. paragallinarum* из патологического материала использовали кровяной агар Колумбия (Becton, Dickinson and Co.), содержащий 5% дефибрированной крови барана с дополнительным посевом культуры негемолитического штамма *Staphylococcus aureus*. Чистые культуры возбудителя выращивали на шоколадном агаре или сывороточном агаре, содержащем 20 мкг/мл НАД (AppliChem) и 5% сыворотки крови лошади. Культивирование бактерий проводили в течение 24–72 ч при температуре 37°C в условиях обычной атмосферы и повышенного содержания углекислого газа (8–10%).

Морфологию бактерий изучали методом микроскопии мазков, окрашенных по Граму. Наличие капсулы у бактерий определяли в мазках, окрашенных по Гинсу. Флуоресценцию колоний изучали в коспроходящем свете под стереоскопическим микроскопом.

Биохимические свойства изолятов изучали при помощи коммерческого набора API NH (bioMerieux) и посева на среды Гисса с моноуглеводами. Определение каталазы проводили на предметном стекле с 3%-м раствором перекиси водорода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2015 г. бактериологическим методом исследовано 84 пробы патологического материала от птиц различного возраста с респираторным синдромом. Для исследований были отобраны следующие пробы: экссудат из носовой полости, содержимое подглазничных синусов и конъюнктивального мешка, легкие. В большинстве случаев выделение *A. paragallinarum* было затруднено из-за наличия в пробах значительного количества других видов микроорганизмов, таких как *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Proteus* spp. и апатогенные виды гемофильных бактерий — *Avibacterium avium* и *A. volantium*. О сложности выделения возбудителя инфекционного ринита кур из патологического материала из-за контаминации другими бактериальными агентами свидетельствуют результаты исследований ряда авторов [2, 3, 10].

Из патологического материала от птиц в возрасте от 38 до 211 суток выделено 9 изолятов *A. paragallinarum*, что составило 10,7%. Возбудителя удалось изолировать из 4 проб экссудата со слизистой оболочки носовой полости, 7 проб экссудата из подглазничных синусов (рис. 1), 2 проб содержимого конъюнктивального мешка и из 2 проб легких (табл. 1). На высокую частоту выделения *A. paragallinarum* из содержимого подглазничных синусов указывают результаты других исследований [2, 5].



Рис. 1. Экссудат в подглазничных синусах птицы

Таблица 1
Локализация возбудителя инфекционного ринита кур

№ изолята	Возраст птицы, сутки	Патологический материал			
		Экссудат из носовой полости	Содержимое подглазничных синусов	Содержимое конъюнктивального мешка	Легкие
1	53	+	+	–	–
2	68	–	–	+	–
3	190	+	+	–	–
4	170	–	–	–	+
5	211	+	+	–	–
6	38	–	+	+	–
7	76	+	+	–	–
8	164	–	+	–	–
9	114	–	+	–	+

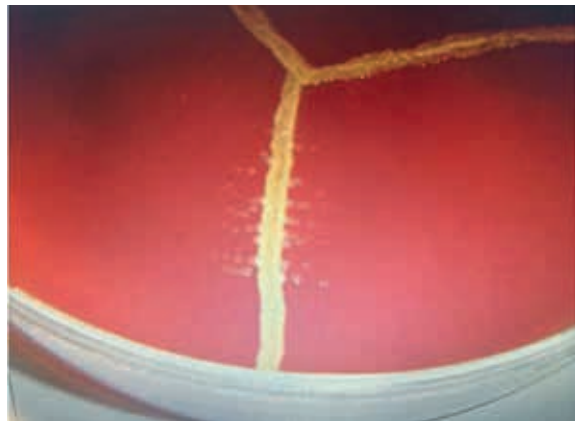


Рис. 2. Сателлитный рост колоний *A. paragallinarum* на кровяном агаре вблизи штамма *Staphylococcus aureus* через 24 ч культивирования (увеличение $\times 2$)

При проведении бактериологического исследования материал высевали на агар Колумбия с добавлением 5% дефибринированной крови барана с последующими посевами по диаметру чашки негемолитичного штамма «бактерии-кормилки» *Staphylococcus aureus*. Посевы инкубировали при 37°C в эксикаторе с 8–10% углекислого газа в течение 24–72 ч.

На кровяном агаре с «бактерией-кормилкой» все изоляты выросли через 24 ч культивирования в виде мелких (0,1–0,5 мм) сателлитных колоний в зоне 0,5–1,5 см от штриха культуры *S. aureus* (рис. 2). Размер колоний по мере удаления от питающей культуры бактерий уменьшался вплоть до полного исчезновения роста. Сателлитные колонии имели серо-белый цвет, округлую форму, ровные края и гладкую выпуклую поверхность без зоны гемолиза. Аналогичные ростовые свойства штаммов и изолятов *A. paragallinarum* в присутствии «бактерии-кормилки» описаны в работах ряда авторов [2, 7, 9].

Некоторые исследователи указывают на то, что рост изолятов *A. paragallinarum*, выделенных из патологического материала от птиц, часто сопровождается образованием различных типов колоний. Наряду с округлыми и гладкими колониями (S-форма), возбудитель может образовывать на поверхности агаровой

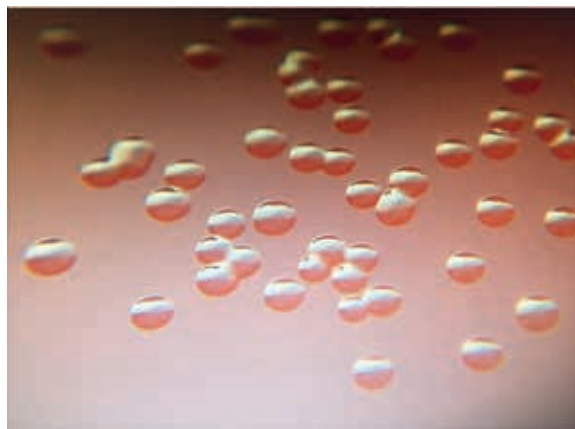


Рис. 3. S-форма колоний изолята *A. paragallinarum* на шоколадном агаре через 24 ч культивирования (увеличение $\times 10$)

среды шероховатые колонии с неровными краями (SR и R-формы) [2, 3, 5].

В данных исследованиях все изоляты через 24 ч инкубирования на шоколадном и сывороточном агаре с добавлением НАД формировали круглые с ровными краями, выпуклые с гладкой поверхностью, серого цвета колонии диаметром 0,5–1,0 мм (S-форма) (рис. 3). Через 48 ч культивирования размеры колоний увеличивались до 1,0–1,5 мм. Характерным признаком 24-часовых культур являлась флуоресценция колоний в коспроходящем свете. У 48-часовых культур интенсивность флуоресценции снижалась, а у старых (72 ч) культур полностью исчезала.

Флуоресцирующие колонии при изучении в пучке коспроходящего света в стереоскопическом микроскопе имели ярко-желтый цвет с зеленым отливом. Нефлуоресцирующие колонии имели тусклую зеленоватую окраску.

На различных питательных средах возбудитель проявлял широкий диапазон морфологической изменчивости. Наиболее стабильная и типичная морфология бактериальных клеток наблюдалась в виде коротких палочек и коккобактерий при культивировании на шоколадном агаре и сывороточном агаре с добавлением НАД (рис. 4).

Значительные морфологические вариации клеток отмечали при выращивании изолятов на кровяном агаре с «бактерией-кормилкой», особенно в колониях, формирующихся в непосредственной близости от питающей бактериальной культуры. В этом случае возбудитель приобретал форму длинных изогнутых палочек и нитей, что, возможно, объясняется воздействием продуктов метаболизма питающей бактериальной культуры. Аналогичные формы бактериальных клеток иногда обнаруживали при смене питательной среды. Однако через 2–3 пассажа на новой питательной среде морфология бактерий восстанавливалась.

Капсула у изолятов *A. paragallinarum* сравнительно легко обнаруживалась при окраске по методу Гинса (рис. 5). Наиболее крупные капсулы наблюдали у 24-часовых культур, выращенных на шоколадном агаре или сывороточном агаре с добавлением НАД. Необходимо отметить, что степень выраженности капсульной субстанции у бактериальных клеток была

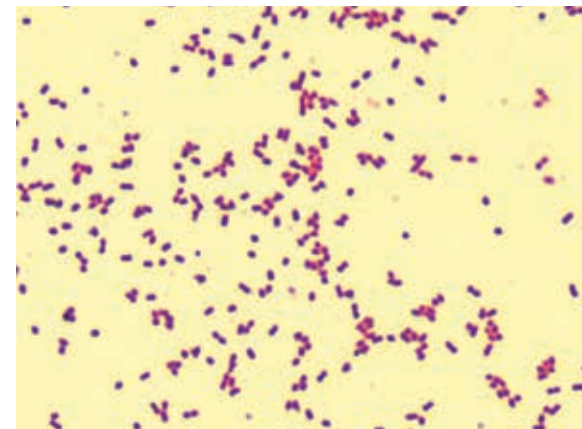


Рис. 4. Морфология бактерий *A. paragallinarum*, выращенных на шоколадном агаре, окраска по Граму (увеличение $\times 1000$)

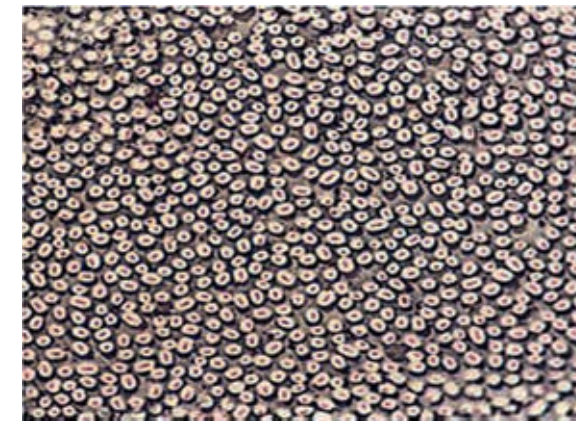


Рис. 5. Наличие капсулы у бактерий *A. paragallinarum*, выращенных на шоколадном агаре, окраска по Гинсу (увеличение $\times 1000$)

прямо пропорциональна интенсивности флуоресценции колоний, что согласуется с результатами других авторов [2, 5].

С целью окончательной идентификации изолятов *A. paragallinarum* дополнительно проводили определение ряда культуральных и биохимических свойств. При этом учитывали способность культур расти на

питательных средах без сыворотки крови, при повышенном содержании углекислого газа в атмосфере, продуцировать различные метаболиты и ферменты, расщеплять углеводы (табл. 2).

Характеристика биохимической активности изолятов *A. paragallinarum* представлена в табл. 2.

Из результатов, представленных в табл. 2, видно, что изоляты возбудителя инфекционного ринита кур по культуральным свойствам и ферментативной активности представляют собой неоднородную группу.

В проведенных исследованиях все изоляты *A. paragallinarum* оказались НАД-зависимыми, хотя в специальной литературе имеются сообщения о выделении и НАД-независимых изолятов возбудителя [8]. Характерными свойствами бактерий являлись способность редуцирования нитратов в нитриты, отсутствие продукции индола, сероводорода, уреазы, каталазы, оксидазы, α -фруктозидазы и β -галактозидазы. Зависимость роста изолятов от наличия в питательной среде сыворотки крови оказалась абсолютной, что согласуется с результатами исследований других авторов [2, 5]. Получить рост *A. paragallinarum* на среде без сыворотки не удалось, даже если она содержала оптимальное количество V-фактора.

Ряд зарубежных исследователей утверждает, что рост возбудителя инфекционного ринита кур возможен только при наличии повышенного содержания углекислого газа (8–10%) в атмосфере [2, 5]. Однако в данных исследованиях только 6 изолятов проявили

Таблица 2
Культуральные и биохимические свойства изолятов *A. paragallinarum*

№ п/п	Свойства бактерий	№ изолята								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Потребность: в V-факторе роста	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	в CO ₂	+	–	–	+	+	–	+	+	+
3	в сыворотке крови	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Редукция нитратов	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Продукция: индола	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	сероводорода	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7	уреазы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
8	каталазы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
9	оксидазы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	α -фруктозидазы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	β -галактозидазы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	Ферментация: глюкозы	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	сахарозы	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	лактозы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
15	маннита	+	+	+	+	–	+	+	–	+
16	манноза	+	–	–	+	+	–	+	+	–
17	трегаллозы	–	–	–	–	–	–	–	–	–
18	галактозы	–	–	–	–	–	–	–	–	–

(+) — положительный результат, (–) — отрицательный результат.

Таблица 3
Дифференциация *A. paragallinarum* от апатогенных видов гемофильных бактерий, персистирующих в верхних дыхательных путях кур

№ п/п	Признаки	<i>A. paragallinarum</i>	<i>A. avium</i>	<i>A. volantium</i>
1	Потребность: в V-факторе	+	+	+
2	в CO ₂	±	–	–
3	в сыворотке крови	+	–	–
4	Рост на питательных средах	Слабый	Интенсивный	Интенсивный
5	Образование пигмента (чаще желтого)	–	+	–
6	Продукция каталазы	–	+	+
7	Ферментация: трегаллозы	–	+	+
8	галактозы	–	+	+

(+) — положительный результат,
(–) — отрицательный результат.

такую зависимость. Морфология и размер колоний у трех изолятов, выращенных в условиях обычной атмосферы, ничем не отличались от таковых при повышенном содержании углекислого газа. Сахаролитическая активность у выделенных изолятов также оказалась различной. Все изоляты ферментировали глюкозу и сахарозу, но не лактозу, трегаллозу и галактозу. Вариабельность признака наблюдали в отношении маннита и маннозы, о чем свидетельствуют и результаты других авторов [2, 10].

На этапе видовой идентификации выделенных культур *A. paragallinarum* часто возникали затруднения в дифференциации возбудителя от других апатогенных для птиц видов гемофильных бактерий (табл. 3).

Из результатов, представленных в табл. 3, видно, что апатогенные виды гемофильных бактерий *A. avium* и *A. volantium* не нуждались в сыворотке крови, при культивировании на шоколадном агаре характеризовались интенсивным ростом (за 18–24 ч колонии достигали размера 1,5–2,0 мм), продуцировали каталазу, ферментировали трегаллозу и галактозу. Кроме того, колонии *A. avium* имели характерный желтый или кремовый цвет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В 2015 г. бактериологическим методом из патологического материала от птиц выделено 9 изолятов *A. paragallinarum*, что составило 10,7% от общего количества проб. По результатам изучения культурально-морфологических и биохимических свойств изолятов к виду *A. paragallinarum* относятся культуры грамотрицательных капсулообразующих коротких палочек или коккобактерий, нуждающиеся в V-факторе роста и сыворотке крови, не образующие пигмента и каталазы, не ферментирующие трегаллозу и галактозу. Указанных таксономических признаков достаточно для определения видовой принадлежности выделенных культур возбудителя инфекционного ринита кур и дифференциации их от апатогенных видов гемофильных бактерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. An evaluation of serotyping of *Avibacterium paragallinarum* by use of a multiplex polymerase chain reaction / V. Morales-Erasto, J. de J. Posadas-Quintana, M. Fernández-Díaz [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. — 2014. — Vol. 26 (2). — P. 272–276.
2. An update on avian infectious coryza: It's re-emerging trends on epidemiology, etiologic characterization, diagnostics, therapeutic and prophylactic advancements / S. Deshmukh, H.S. Banga, S. Sodhi, R.S. Brar // J. Dairy Vet. Anim. Res. — 2015. — Vol. 2 (3):00037. — URL: <http://dx.doi.org/10.15406/jdvar.2015.02.00037>.
3. Blackall P.J. The avian Haemophilus // Clin. Microbiol. Rev. — 1998. — Vol. 2. — P. 270–277.
4. Blackall P.J., Soriano E.V. Infectious coryza and related bacterial infections // Diseases of Poultry / ed. Y.M. Saif [et al.]. — 12th ed. — Ames, Iowa, 2008. — P. 789–803.
5. Diseases of Poultry / ed. B.W. Calnek [et al.]. — 9th ed. — Wolfe Publishing Ltd., USA, 1991. — P. 186–192.
6. El-Sawah A.M., Soliman Y.A., Shafey S.M. Molecular characterization of *Avibacterium paragallinarum* strains used in evaluation of coryza vaccine in Egypt // J. Amer. Sci. — 2012. — Vol. 8. — P. 253–263.
7. Isolation and identification of *Avibacterium paragallinarum*, the causal agent of infectious coryza (IC) from layer chickens in Bangladesh / S. Akter, M. Ali, P.M. Das, M.M. Hossain // J. Bangladesh Agril. Univ. — 2013. — Vol. 11 (1). — P. 87–96.
8. Mouahid M., Bisgaard M., Morley A.J. Occurrence of V factor independent strains of *Haemophilus paragallinarum* // Vet. Microbiol. — 1992. — Vol. 31. — P. 363–368.
9. Poernomo S., Sutarna R.M., Blackall P.J. Characterization of isolates of *Haemophilus paragallinarum* from Indonesia / Australian Vet. J. — 2000. — Vol. 78 (11). — P. 759–762.
10. Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, [*Haemophilus*] *paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. nov. / P.J. Blackall, H. Christensen, T. Beckenham [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. — 2005. — Vol. 55. — P. 353–362.

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 ПРЕДСТАВЛЯЕМОЙ 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.

ОСНОВНЫМИ НАПРАВЛЕНИЯМИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЦЕНТРА В ОБЛАСТИ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА ЯВЛЯЮТСЯ:

– деятельность по разработке и производству высокоэффективных диагностических и лекарственных средств для КРС.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» ПРОИЗВОДИТ:

ВАКЦИНЫ:

- против болезней КРС: парагрипп-3, ротавирусная инфекция, коронавирусная инфекция, инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея;
- против ящура всех типов;
- против болезней МРС: чума мелких жвачных, оспа овец.

ДИАГНОСТИКУМЫ:

- на ящур.
- Изучение антигенных свойств эпизоотических изолятов вируса ящура и возбудителей других особо опасных инфекций;
- разработка биологических методов выделения и иммунохимических методов идентификации эпизоотических изолятов возбудителей ящура и других особо опасных болезней;
- разработка методов дифференциальной диагностики ящура и других вирусных болезней животных от клинически сходных болезней иной этиологии;

– диагностические исследования по обнаружению генома, проведение серологических исследований, изучение биологических свойств возбудителей болезней Шмалленберг и блютанга;

– мониторинговые и скрининговые исследования инфекционных болезней жвачных животных, ретроспективная диагностика основных экономически значимых болезней (вирусная диарея КРС, инфекционный ринотрахеит КРС, парагрипп-3, рота- и корона-вирусные инфекции КРС, лейкоз, респираторно-синцитиальная инфекция и др.);

– разработка и совершенствование методов диагностики, комплексное изучение биологических свойств вирусов (изолятов);

– обнаружение и идентификация возбудителей инфекционных болезней жвачных животных с использованием вирусологических и молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики;

– лабораторная диагностика губкообразной энцефалопатии КРС (ГЭ) и медленных инфекций МРС;

– прогнозирование и оценка рисков возникновения и заноса ГЭ КРС, определение порядка действия при возникновении ГЭ КРС.

Важным аспектом деятельности ФГБУ «ВНИИЗЖ» является оказание научно-методической и практической помощи ветеринарным специалистам лабораторий и животноводческих предприятий, разработка мероприятий для профилактики и ликвидации инфекционных болезней крупного рогатого скота. Ученые Центра ведут научное сопровождение продукции ФГБУ «ВНИИЗЖ»



и непрерывную консультационную 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 жвачных животных.

Контакты:

Почтовый адрес: Россия, 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec,
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/UCVPBOvjlZcxbEmJ1Qw3YUcw>