



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

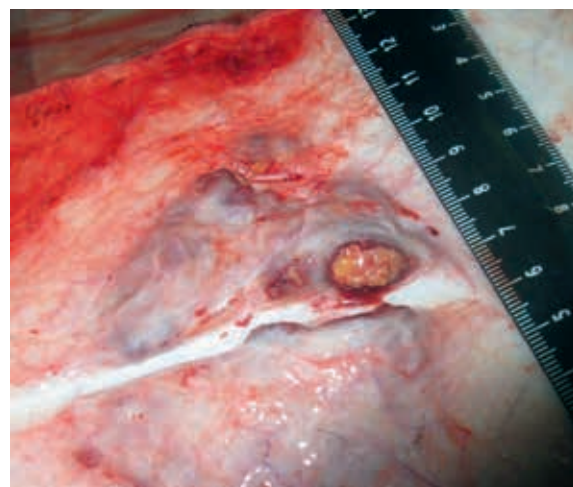


Fig. 11. Lesions at the site of virus suspension injection

«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. - 24<sup>th</sup> 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](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. Луговская<sup>1</sup>, С.Р. Кременчукская<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> 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 непереносимое 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).

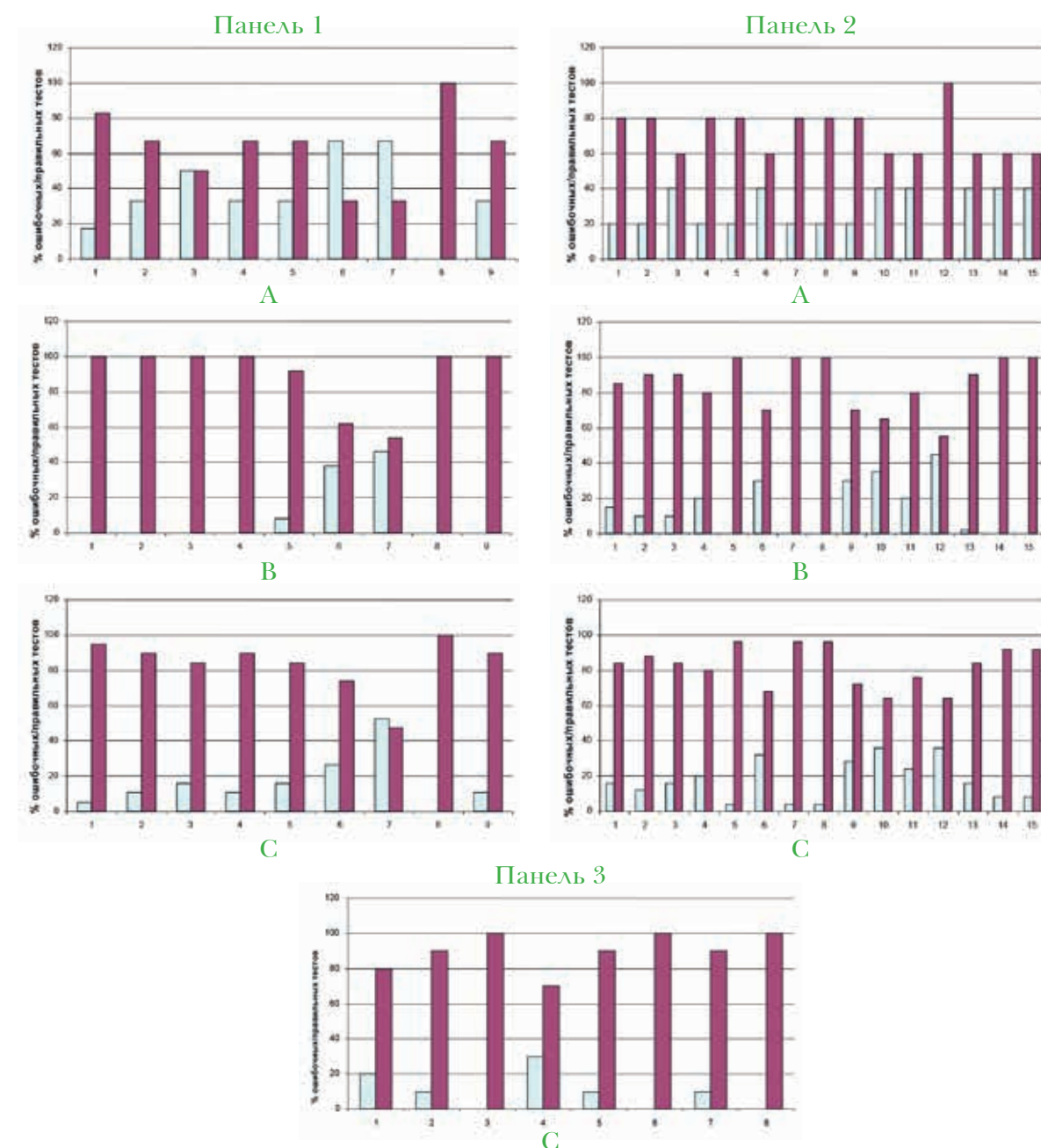


Рис. 1. Сравнительный анализ результатов тестирования образцов панелей 1, 2, 3 (МСИ–2013/2014)

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 тестированы 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.

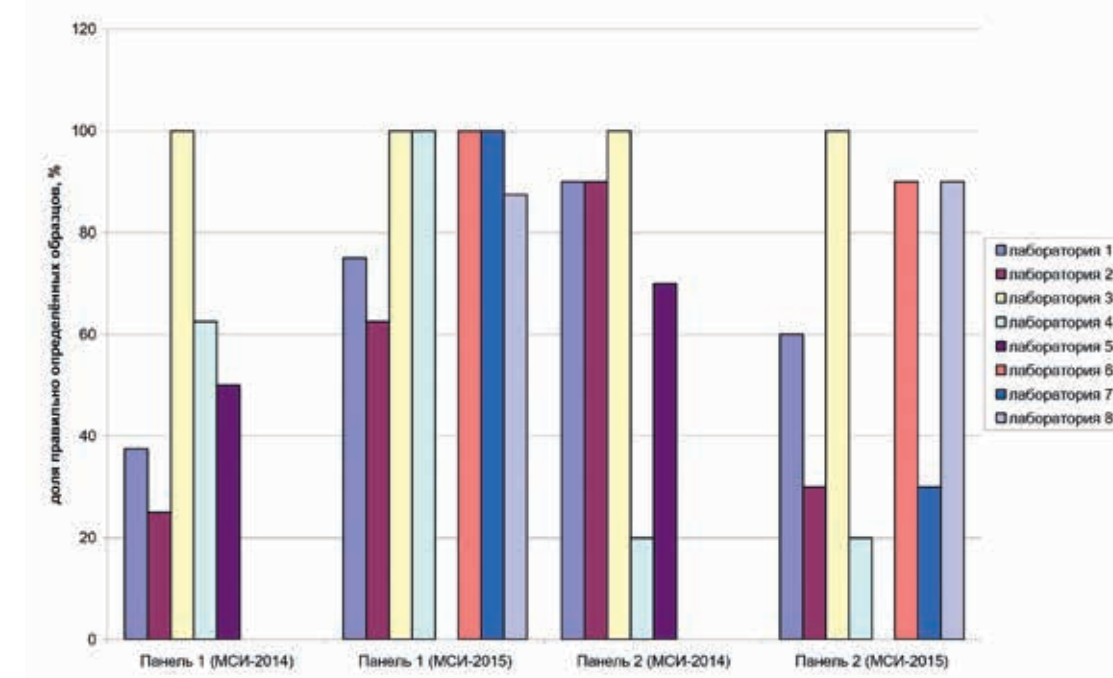
Самой сложной для участников испытаний в постановочном плане оказалась реакция жидкофазного блокирующего «сэндвич»-варианта ИФА для определения уровня противоящурных антител. Эта реакция многоступенчатая и требует большой аккуратности при постановке, тщательного соблюдения всех пунктов инструкции. Несистематический, 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.



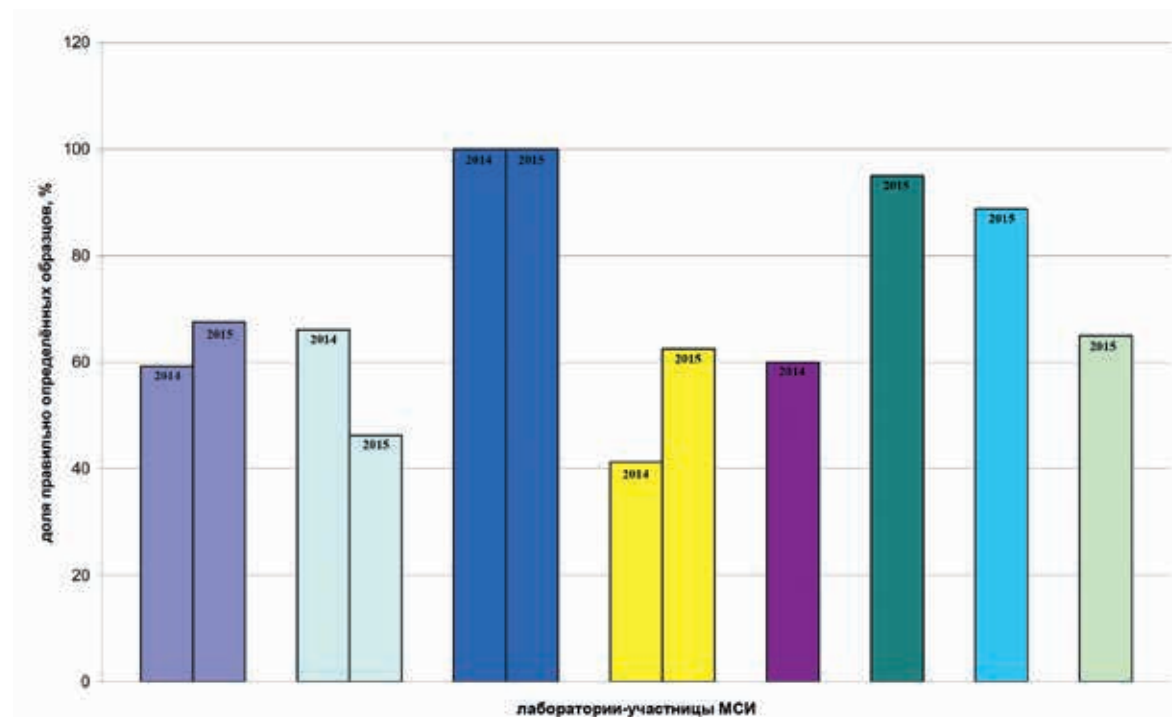


Рис. 3. Правильность определения тестовых образцов в каждой лаборатории, участвовавшей в МСИ по диагностике ящура в 2014 и 2015 гг.

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 тестовых 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 обратная — 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. Lugovskaya<sup>1</sup>, S.R. Kremenchugskaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: [lugovskaya@arriah.ru](mailto:lugovskaya@arriah.ru)

<sup>2</sup> Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: [kremenchugskaya@arriah.ru](mailto: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.

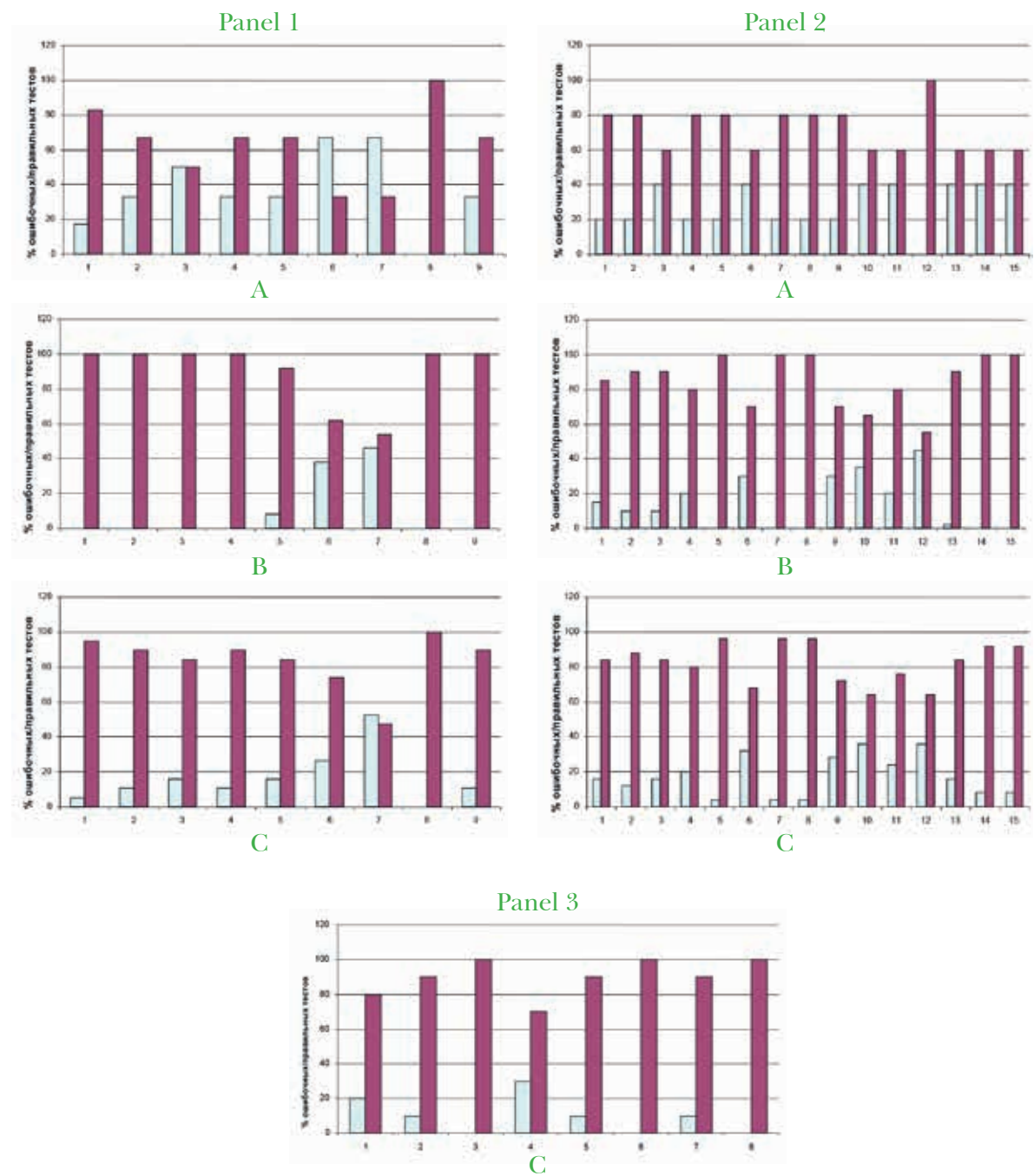
The paper covers analysis of the IPT results.

## 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)**

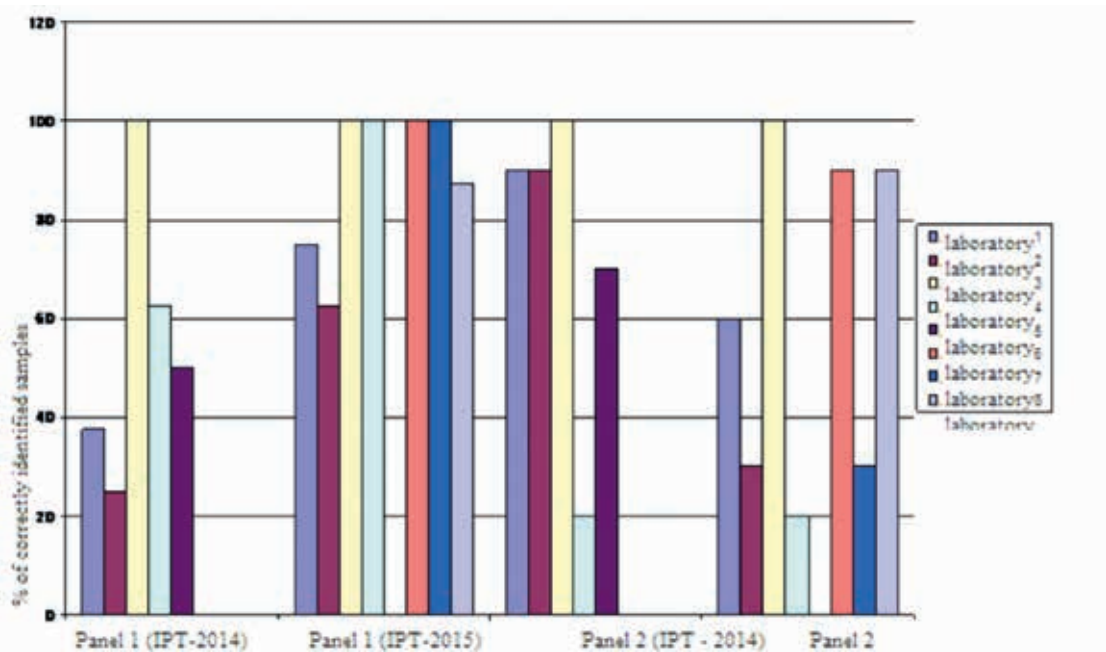
A – laboratories of the CIS countries; B – FGBI «ARRIAH» laboratories;  
C – summarized results for all participants of the proficiency tests;  
Panel 1: column 1-8 – coded antigen samples, 9 – control antigen;  
Panel 2: column 1-10 – coded sera samples, 11-13 – control samples,  
14 – antigen control, 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

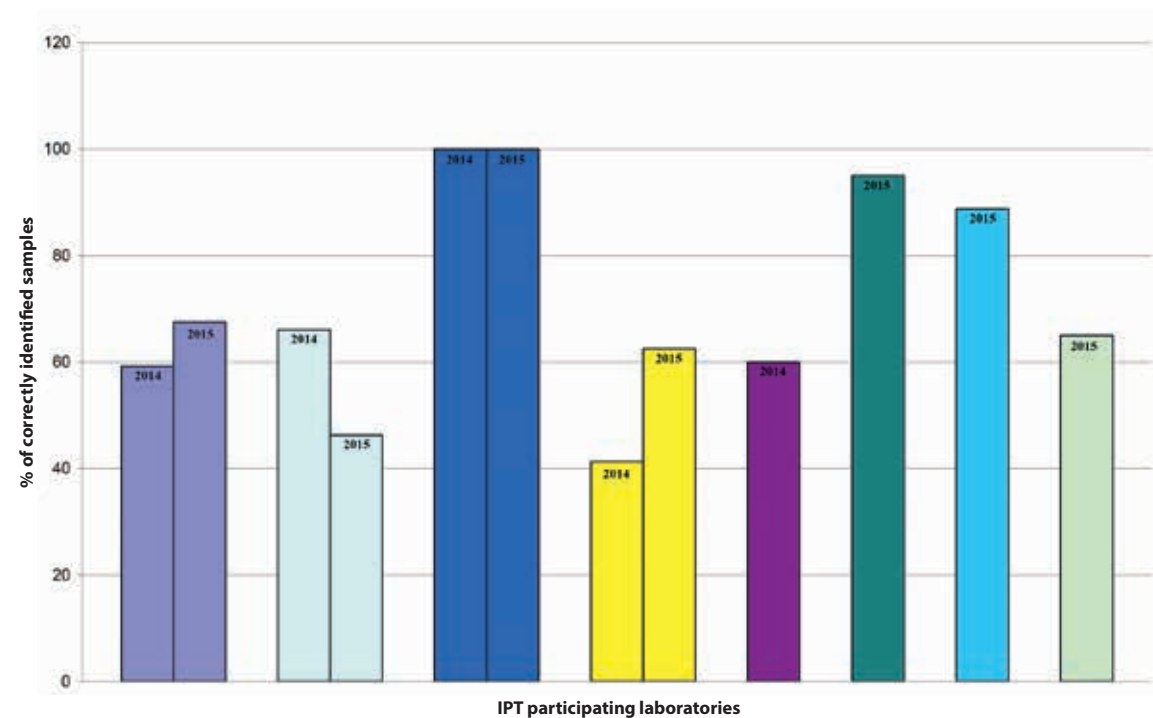


Fig 3. Correctness of test sample identification in each laboratory participating in IPT on FMD diagnosis in 2014 and 2015

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-medika.com/>.
3. Internal and external quality control system in ELISA. Information materials / N.V. Zaleskiy, M.N. Kokoreva, T.V. Sivilova. - 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. Пискунов<sup>1</sup>, А.В. Кононов<sup>2</sup>, А.В. Мищенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [piskunov@arriah.ru](mailto:piskunov@arriah.ru).

<sup>2</sup> заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [kononov@arriah.ru](mailto:kononov@arriah.ru)

<sup>3</sup> заместитель директора по НИР и мониторингу, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [mischenko@arriah.ru](mailto: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 bovis*; англ. *Bovine contagious pleuropneumoniae*; повальное воспаление легких, перипневмония, ПВЛ, КПП КРС) — высококонтагиозная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, фибринозной 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