

# ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ОВЕЦ К ВИРУСУ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ

М.С. Кукушкина<sup>1</sup>, О.А. Рябикина<sup>2</sup>, А.В. Кононов<sup>3</sup>, В.И. Диев<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup> младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kosareva@arriah.ru

<sup>3</sup> заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kononov@arriah.ru

<sup>4</sup> доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: diev@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты изучения чувствительности крупного рогатого скота и овец к вирусу нодулярного дерматита, зараженных вирулентным штаммом «Э-95» в экспериментальных условиях. Установлена более высокая чувствительность крупного рогатого скота к ВНД по сравнению с овцами, инфицирование сопровождалось тяжелым течением болезни, образованием на коже узлов, высокой температурой тела, отказом от корма, истощением. Овцы реагировали на введение вируса образованием узелков и отека в месте введения вирусной суспензии, конъюнктивита, кратковременным снижением аппетита и повышением температуры тела в течение 3–5 дней после заражения. Специфичность заболевания подтверждена в ПЦР и РДСК.

Ключевые слова: вирус нодулярного дерматита, крупный рогатый скот (КРС), овцы, заражение, реакция длительного связывания комплемента, реакция диффузионной преципитации.

# STUDY OF EXPERIMENTALLY INFECTED CATTLE AND SHEEP SENSITIVITY TO LUMPY SKIN DISEASE

M.S. Kukushkina<sup>1</sup>, O.A. Ryabikina<sup>2</sup>, A.V. Kononov<sup>3</sup>, V.I. Diev<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Biology),

FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kukushkina@arriah.ru

<sup>2</sup> Junior Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kosareva@arriah.ru

<sup>3</sup> Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine),

FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kononov@arriah.ru

<sup>4</sup> Doctor of Veterinary Medicine, Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: diev@arriah.ru

## SUMMARY

The paper presents the study results of sensitivity to lumpy skin disease virus of cattle and sheep experimentally infected with "E-95" virulent strain. It was established that cattle is more sensitive to LSDV in comparison to sheep: the disease in cattle was severe with fever, anorexia, cachexia and nodule development. Sheep reacted to virus inoculation with the development of nodules and swelling in the site of virus suspension injection, conjunctivitis, short-term anorexia and fever during 3–5 days post infection. The disease specificity was confirmed by PCR and prolonged complement fixation test.

Key words: lumpy skin disease virus, cattle, sheep, infection, prolonged complement fixation test, diffusion precipitation test.

## ВВЕДЕНИЕ

Нодулярный дерматит (НД) имеет широкое распространение в разных странах Африканского континента, Ближнего Востока, в Турции, Греции, Азербайджане, Сирии и др. В 2015 г. наличие НД КРС зарегистрировано в России: в Республике Дагестан, Чеченской Республике и Республике Северная Осетия — Алания. Вирусы группы Нитлинг являются основным возбудителем нодулярного дерматита. Инкубационный период зависит от вирулентности возбудителя и путей его проникновения в организм и составляет в среднем 7 дней, но может продолжаться до 5 недель. Заболевание характеризуется наличием высокой температуры тела, конъюнктивитом, появлением на коже узелковых образований, увеличением лимфоузлов, отказом от корма, истощением. При тяжелом течении болезни поражаются ротовая полость, органы дыхания и пищеварения. Образование изъязвлений в дыхательных путях вызывает сильный отек, и животное гибнет от удушья. Болезнь продолжается 4 недели, а при осложнениях — дольше. У лактирующих коров поражается вымя, на нем образуются узелки, молоко густое с розовым оттенком. Часто заболевание осложняется вторичной, бактериальной инфекцией с поражением суставов, легких и других органов [1–7].

Источником инфекции является крупный рогатый скот и азиатские буйволы. Однако вирус бугорчатки может вызывать заболевание у овец и диких животных, таких как черная антилопа и жираф, которые оказались

восприимчивы к экспериментальному заражению. Заболевание у них сопровождалось образованием узелков на коже и в месте введения вируса. Оба животных пали, на 6 и 15 день после начала заболевания соответственно [8].

В то же время недостаточно изучена чувствительность КРС и овец к вирусу нодулярного дерматита КРС (ВНД КРС), что послужило основанием для проведения исследований в этом направлении.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовали КРС черно-пестрой породы 1,5-летнего и двух овец романовской породы 3-летнего возраста. Для заражения животных использовали суспензию штамма «Э-95» (Эфиопский) ВНД КРС, прошедшего 8 пассажей на перевиваемой культуре клеток яичников домашней козы (ЯДК-04) с титром  $4,72 \pm 0,25 \text{ lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$ .

Вирусную суспензию вводили КРС внутривенно в объеме  $7,0 \text{ cm}^3$  в 7 точек в области шеи, а овцам — по  $6 \text{ cm}^3$  в 10 точек в области бесшерстного участка кожи под лопаткой.

Учет результатов заражения проводили в течение 19 дней (срок наблюдения) по общему состоянию, температуре тела, образованию узлов на коже. Специфичность заболевания подтверждали исследованием методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), реакцией длительного связывания комплемента (РДСК) и реакцией диффузионной преципитации (РДП) суспензий проб, полученных из узлов, образовавшихся на коже, подкожной клетчатки, предлопаточного лимфоузла, отобранных после убоя быка через 20 дней после заражения. Учитывая наличие близкородственных связей вируса оспы овец, оспы коз и ВНД КРС, РДСК ставили согласно «Инструкции по применению набора для диагностики оспы овец и оспы коз в реакциях длительного связывания комплемента и диффузионной преципитации» (2014).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наблюдений показали, что у КРС через 6 и 9 дней после заражения ВНД отмечено образование узелков в месте инокуляции вируса в области шеи и живота размером 0,7–0,8 см, а на 12 день — повышение температуры тела до  $40,5^\circ\text{C}$ . Генерализованная форма заболевания, характеризовавшаяся образованием узелков внутрикожной локализации по всей поверхности тела, установлена на 13 день. Узелки на коже достигали размеров 3,0–3,5 см, а на отдельных участках сливались. Выявлена болезненность при пальпации кожи. Региональный предлопаточный лимфоузел увеличился до размеров гусиного яйца. У животного также наблюдали депрессию, снижение аппетита, учащенное дыхание, тахикардию, гиперемии ротовой и носовой полостей, конъюнктивит. Из носовой полости выделялся серозно-слизистый экссудат. В области подгрудка и путовых суставов отмечено образование обширных отеков. Температура тела достигала  $41,1^\circ\text{C}$ , к концу опыта у животного отмечено истощение (табл. 1).

У инфицированных ВНД овец на 5–6 сутки после заражения наблюдали развитие реакции в месте введения вирусной суспензии в виде образования отека плотной консистенции размером до  $4 \times 8 \text{ cm}$  и  $5 \times 15 \text{ cm}$  соответственно. Отмечалось угнетение животных че-

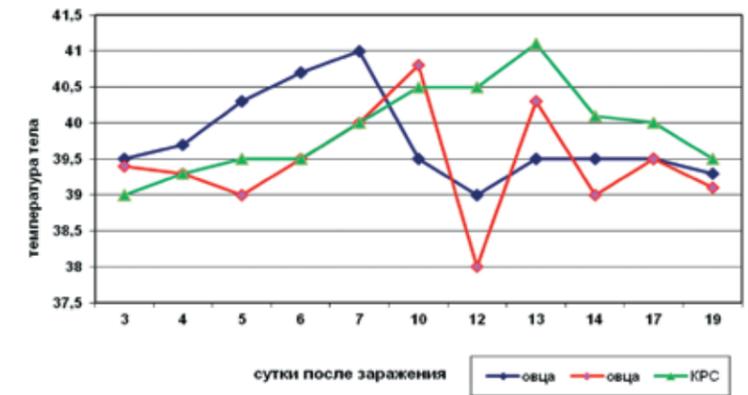


Рис. Температура тела у КРС и овец, зараженных вирусом нодулярного дерматита КРС

рез 6–7 дней после заражения, снижение аппетита, наличие конъюнктивита, серозного ринита, повышение температуры тела до  $40,8^\circ\text{C}$ , достигавшей максимального значения  $41,0^\circ\text{C}$  на 7 и 10 дни после инокуляции вируса. В дальнейшем температура тела у овец понижалась и приходила в норму через 11–12 дней после заражения (рисунок). Спустя 10–14 дней отмечено уменьшение отека кожи в месте введения ВНД, однако при пальпации этих участков выявлено образование под кожей узелков размером с зерно фасоли. Эти изменения сохранялись в течение 17 дней (срок наблюдения). Других изменений в общем состоянии не обнаружено.

Таким образом, сравнительное изучение клинического проявления НД у КРС и овец показало, что у КРС после инфицирования наблюдается развитие типичных клинических признаков заболевания, а у овец сопровождалось образованием узелков, отека в месте введения вируса и кратковременным повышением температуры тела.

На втором этапе были проведены серологические исследования сыворотки крови и патологического материала.

Из проб патматериала — кожных узелков — готовили суспензию и исследовали на наличие специфической активности в ПЦР, а также из кожных узелков, подкожной клетчатки и лимфатических узлов в РДСК и РДП. Суспензию готовили на физиологическом растворе в соотношении 1:3.

В суспензии из кожных узлов методом ПЦР было установлено наличие генома ВНД.

В РДСК при постановке с гомологичной сывороткой крови КРС, больного нодулярным дерматитом, и сывороткой крови овец, полученной методом гипериммунизации животных антигеном вируса оспы, все пробы дали положительную реакцию, что подтверждает наличие антигенного родства возбудителей нодулярного дерматита и оспы овец. Титр проб при использовании сыворотки в рабочем разведении был 1:4–1:64 и 1:2–1:64 (табл. 2). Более высокая активность в пределах 1:16–1:64 установлена в суспензии из узлов на коже и подкожной клетчатки.

В РДП все пробы дали отрицательный результат, что, по-видимому, связано с недостаточной чувствительностью этой реакции.

Таблица 1  
Результаты заражения КРС и овец вирусом нодулярного дерматита

Дни после заражения	Вид животных		
	КРС	овцы	
		1	2
6	наличие узелковых образований в месте введения ВНД	конъюнктивит, отек размером 4×8 см	серозный ринит, отек 4×8 см в месте введения ВНД
9	наличие узелковых образований 0,7–0,8 см в области введения ВНД и живота, отказ от корма	угнетение, отказ от корма, серозный ринит, отек 4×8 см в месте введения ВНД	серозный ринит, отек 5×15 см в месте введения ВНД
13	генерализация, температура тела 41,1°C, наличие узелковых образований по всей поверхности кожи, обширный отек в области подгрудка, путовых суставов, увеличение регионарного лимфоузла	общее состояние в норме, наличие отека в месте введения ВНД	общее состояние в норме, уменьшение отека
17	без изменений	общее состояние в норме, незначительное уплотнение в месте введения, под кожей выявлено наличие узелковых образований размером с зерно фасоли	общее состояние в норме, незначительное уплотнение в месте введения, под кожей выявлено наличие узелковых образований размером с зерно фасоли
19	наличие узелковых образований по всей поверхности кожи, увеличение предлопаточных, подколленных, подчелюстных узлов, истощение	без изменений	без изменений

Таблица 2  
Специфическая активность в РДСК суспензии из органов и тканей КРС, зараженного ВНД

Вид материала	Титр с сыворотками крови	
	КРС, больного нодулярным дерматитом	гипериммунная овец к оспе овец
Кожные узелки	1:16	1:2
Подкожная клетчатка узелка	1:64	1:64
Предлопаточный лимфоузел	1:4	1:2

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заражение вирусом нодулярного дерматита сопровождалось заболеванием крупного рогатого скота в тяжелой форме с образованием по всему телу узлов (бугров), наличием высокой температуры тела с отказом от корма, истощением.

При экспериментальном заражении овец вирусом нодулярного дерматита отмечено наличие местной реакции на введение вируса, с образованием узелков и отеков в месте инокуляции вирусной суспензии, температурной реакцией в течение 3–4 дней.

Наряду с ПЦР идентификация возбудителя в пробах патологического материала проведена в РДСК, с использованием «Набора для диагностики оспы овец и оспы коз в реакциях длительного связывания комплемента и диффузионной преципитации», что подтверждает наличие близкородственных антигенных связей между вирусом оспы овец и нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуненков В.В. Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота // Сб. научных трудов ВГНКИ. — М., 2005. — Т. 66. — С. 46–54.
2. Клинические признаки у крупного рогатого скота, зараженного вирусом нодулярного дерматита (бугорчатка) / В.И. Диев, А.С. Назаров, Г.А. Блотова, В.М. Захаров // Вирусные болезни с.-х. животных: тез. докл. Всерос. научно-практ. конф. — Владимир, 1995. — С. 214.

3. Проблема нодулярного дерматита крупного рогатого скота / А.В. Мищенко, В.А. Мищенко, А.В. Кононов [и др.] // Сб. научных трудов Междунар. учебно-метод. конф., посвящ. 95-летию кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. — М., 2015. — С. 127–135.

4. Рябикина О.А., Диев В.И., Кукушкина М.С. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (обзор литературы) // Актуальные вопросы вет. биологии. — 2015. — № 4 (28). — С. 45–52.

5. Lumpy skin disease // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). — 7<sup>th</sup> ed. — 2012. — Vol. 1, Chap. 2.4.14. — P. 762–774.

6. Lumpy skin disease in Jordan: Disease emergence, clinical sing, complications and preliminary — associated economic losses / S.M. Abutarbush., M.M. Ababneh, J.G. Al Zoubi [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. — 2013. — Vol. 62, № 5. — P. 549–554.

7. Scientific opinion on lumpy skin disease // EFSA J. — 2015. — Vol. 13, № 1. — doi: 10.2903/j.efsa.2015.3986.

8. Young E., Basson P.A., Weiss K.E. Experimental infection of game animals with lumpy skin disease virus prototype strain Neethling // Onderstepoort J. Vet. Res. — 1970. — Vol. 37. — P. 79–87.



УДК 619:616.98:578.825.1:615.371

## ИЗУЧЕНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВАКЦИН ПРОТИВ БОЛЕЗНИ АУЕСКИ СВИНЕЙ ИЗ МАРКИРОВАННОГО ШТАММА

Е.П. Баборенко

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

### РЕЗЮМЕ

Представлены результаты сравнительных испытаний двух вакцин производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»: «Вакцины против болезни Ауески свиней из маркированного штамма инактивированной эмульгированной» и «Вирусвакцины против болезни Ауески свиней и овец сухой культуральной из маркированного штамма «ВК». Приведены данные изучения иммуногенных свойств после контрольного заражения.

Ключевые слова: болезнь Ауески (БА), маркированный штамм, антигенность, иммуногенность.

UDC 619:616.98:578.825.1:615.371

## STUDY OF POSTVACCINAL IMMUNITY AFTER USE OF MARKED STRAIN-BASED VACCINE AGAINST AUJESZKY'S DISEASE IN PIGS

E.P. Baborenko

Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: baborenko@arriach.ru

### SUMMARY

The results of comparative testing of the following two vaccines produced by the FGBI "ARRIAH": inactivated emulsion marked-strain based vaccine against Aujeszky's disease in pigs and dry cultural marked-BK strain virus vaccine against Aujeszky's disease in pigs and sheep are presented. The results of immunogenic property study after challenge are given.

Key words: Aujeszky's disease, marked strain, antigenicity, immunogenicity.

### ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Ауески (БА) — остро протекающая болезнь многих видов домашних и диких животных, проявляющаяся расстройством ЦНС, сильным зудом и расчёсами у всех животных, кроме свиней.

Протекает энзоотически, наблюдается в любое время года и проявляется признаками поражения нервной, репродуктивной и респираторной систем. У супоросных свиноматок заболевание приводит к мумификации плода, абортам. Во время острых вспышек заболевания смертность среди новорожденных поросят достигает 100%. Инкубационный период длится от 2 до 15 дней, иногда дольше. Восприимчивость к возбудителю зависит от патогенных свойств штамма вируса, возраста животного, а также воздействия стрессовых факторов. При заболевании свиней в возрасте до 10 дней погибает около 90% заболевших поросят, в возрасте 10–20 дней — 60%, в возрасте до 35 дней — 30%.

Болезнь Ауески на территории России регистрируется ежегодно. По данным ФГБУ «Центр ветеринарии» на территории РФ за период с 1996 по 2009 гг. было зафиксировано 126 вспышек заболевания, а за 2011–2013 гг. было зафиксировано по 1 вспышке в год [1]. Зарегистрированные вспышки БА за последнее время на территории РФ включали типичные случаи заболевания с выраженной клинической картиной и большим уровнем гибели свиней.

Несмотря на официально декларируемое благополучие, утверждать о нем как о действительности не приходится, поскольку распространены скрытые формы течения заболевания, и выявляемые специфические антитела к вирусу БА после применения традиционных вакцин не позволяют дифференцировать инфицируемых животных от вакцинируемых.

При использовании традиционных (немаркированных) вакцин затруднительно вовремя определить циркуляцию эпизоотических штаммов вируса БА в популяции вакцинированных свиней, что в конечном счете осложняет своевременную лабораторную диагностику заболевания, не позволяет осуществлять контроль за оздоровлением хозяйства от БА на привитом поголовье и корректировать мероприятия по борьбе с данным заболеванием [2].

В системе ветеринарно-санитарных мероприятий в свиноводстве в современных условиях одно из ведущих мест занимает профилактика инфекционных