



# Значение РСК и ПЦР в диагностике экспериментальной инфекции кроликов, вызванной *Chlamydia psittaci*

В. В. Евстифеев<sup>1,3</sup>, Ф. М. Хусаинов<sup>1</sup>, С. И. Яковлев<sup>1</sup>, Р. И. Шангараев<sup>1</sup>, В. И. Еремец<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Республика Татарстан, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (ФГБНУ ВНИТИП), пос. Биокомбината, Московская обл., Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана» (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ), г. Казань, Республика Татарстан, Россия

## РЕЗЮМЕ

Проведена индикация специфических хламидийных антител в реакции связывания комплемента и генома хламидий методом полимеразной цепной реакции у укротных крольчих при экспериментальной инфекции, вызванной *Chlamydia psittaci*. Развитие инфекционного процесса у зараженных кроликов сопровождалось повышением температуры тела и появлением респираторных симптомов и было подтверждено наличием в их крови специфических хламидийных антител и патологическими родами. При исследовании парных сывороток крови кроликов в реакции связывания комплемента выявили нарастание титров специфических хламидийных антител, которые на седьмые сутки после заражения варьировались в пределах 1:7,5; на четырнадцатые сутки средняя их концентрация была равна 1:40, и к тридцатым суткам средний титр увеличился до 1:60. Однако подтвердить хламидийную этиологию неблагополучных исходов окрота экспериментально зараженных кроликов при исследовании проб патологических материалов, полученных из урогенитального тракта исследуемых животных, методом полимеразной цепной реакции и микроскопией мазков-отпечатков не удалось. При этом молекулярно-генетические исследования проб внутренних органов (печень) мертворожденных крольчат позволили выявить геном хламидий, в результате чего была подтверждена хламидийная этиология патологического исхода окрота кроликов. Следовательно, при прижизненной постановке диагноза на хламидиоз такой ретроспективный метод, как реакция связывания комплемента с хламидийным антигеном, имеет диагностическую ценность.

**Ключевые слова:** хламидиоз, *Chlamydia psittaci*, полимеразная цепная реакция, кролики, серологические исследования

**Для цитирования:** Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Яковлев С. И., Шангараев Р. И., Еремец В. И. Значение РСК и ПЦР в диагностике экспериментальной инфекции кроликов, вызванной *Chlamydia psittaci*. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (3): 222–227. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-3-222-227.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**Для корреспонденции:** Яковлев Сергей Игоревич, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории вирусных антропоонозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, e-mail: arena176@rambler.ru.

## Role of CFT and PCR in diagnosis of *Chlamydia psittaci* in experimentally infected rabbits

V. V. Evstifeev<sup>1,3</sup>, F. M. Khusainov<sup>1</sup>, S. I. Yakovlev<sup>1</sup>, R. I. Shangaraev<sup>1</sup>, V. I. Eremets<sup>2</sup>

<sup>1</sup> FSBSI "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRV1"), Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

<sup>2</sup> FSBI "All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry" (VNIITIP), pos. Biokombinata, Moscow Oblast, Russia

<sup>3</sup> FSBEI HE "Kazan State Academy of Veterinary Medicine by N. E. Bauman" (FSBEI HE Kazan SAVM), Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

## SUMMARY

Specific antibodies against chlamydia were detected using complement fixation test and chlamydia genome was detected using polymerase chain reaction in pregnant rabbits experimentally infected with *Chlamydia psittaci*. The infected rabbits developed a fever and respiratory signs and the infection was confirmed by specific antibodies against chlamydia detected in their blood and by abnormalities in rabbit kindling. Complement fixation test of paired rabbit sera revealed an increase in the titers of specific antibodies against chlamydia, which on Day 7 post infection varied within 1:7.5; on Day 14, mean concentration was 1:40 and by Day 30 mean titer increased to 1:60. However, when pathological materials from the urogenital tract of the experimental animals were tested in polymerase chain reaction and in smear microscopy, it was impossible to confirm that there is an etiological link between chlamydia and kindling problems in experimental animals. At the same time, molecular and genetic tests of internal organs (liver) sampled from stillborn baby rabbits revealed the chlamydia genome, thus, proving chlamydia involvement into the pathological kindling. Therefore, such a retrospective method as complement fixation test with a chlamydia antigen is of high diagnostic value for lifetime chlamydia diagnosis.

**Keywords:** chlamydiosis, *Chlamydia psittaci*, polymerase chain reaction, rabbits, serological tests

**For citation:** Evstifeev V. V., Khusainov F. M., Yakovlev S. I., Shangaraev R. I., Eremets V. I. Role of CFT and PCR in diagnosis of *Chlamydia psittaci* in experimentally infected rabbits. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (3): 222–227. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-3-222-227.

© Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Яковлев С. И., Шангараев Р. И., Еремец В. И., 2023

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of financial/non-financial interests associated with the article.

**For correspondence:** Sergey I. Yakovlev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Viral Anthroozoonosis in Animals, FSBSI "FCRBS-ARRVI", 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, ul. Nauchny gorodok-2, e-mail: arena176@rambler.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Развитие молекулярной биологии, произошедшее в последние десятилетия и, как следствие, создание новых постгеномных технологий привело к разработке методов индикации генома возбудителей, которые позволили значительно усовершенствовать лабораторную диагностику инфекционных заболеваний, в том числе и животных. Одним из таких методов, который приобрел широкое распространение, явилась полимеразная цепная реакция (ПЦР). Ее высокая чувствительность и специфичность, достигающая, по данным некоторых авторов, 99,9% [1–3] и превосходящая все существующие до этого времени методы, а также доступность оборудования для проведения анализа обусловили повсеместное внедрение ПЦР при диагностике инфекционных заболеваний [4–7].

В последнее десятилетие XX века были секвенированы геномы практически всех значимых возбудителей инфекционных болезней животных. Доступность баз данных нуклеотидных последовательностей генов и совершенствование биоинформационных методов, наряду с прогрессом в области генетической инженерии и искусственным синтезом белков, сделавшим возможным процесс получения полипептидной цепи из аминокислот, привели к тому, что синтез специфических праймеров стал рутинной операцией.

Опираясь на высокую специфичность и чувствительность методов, основанных на амплификации нуклеотидов *in vitro*, обнаружение генома возбудителей приобрело главенствующую роль при постановке диагноза, отодвинув все остальные методы диагностики, в том числе и ретроспективную диагностику.

Распространение и доступность метода повлекли за собой изменение диагностических алгоритмов, окончательным звеном которых, не требующим дополнительного подтверждения, стала ПЦР, а значимость серологических методов была сведена лишь к постановке предварительного диагноза и мониторинговым исследованиям с обязательным подтверждением одним из прямых методов выявления антигена или генома хламидий в ПЦР<sup>1</sup>.

Однако научным сотрудникам, медицинским и ветеринарным врачам, а также лабораторным работникам, занимающимся диагностикой инфекционных заболеваний, знакома такая ситуация, когда зачастую ретроспективными методами, чаще в реакции связывания комплемента (РСК) или иммуноферментном анализе (ИФА), выявлялись диагностические титры специфических антител в крови клинически больных животных [8–11]. При этом происходило их нарастание в парных сыворотках в два раза и более, что говорило

об активном инфекционном процессе, а не о перенесенном заболевании, а в ПЦР результат исследований был отрицательным [12–15].

Таким образом, действуя на основании «Методических указаний по лабораторной диагностике хламидийных инфекций у животных», которые отводят ретроспективным методам лишь роль предварительной диагностики, диагноз на хламидиоз не подтверждался. В результате очень часто, ввиду отрицательных результатов ПЦР, в хозяйствах, занимающихся племяржадой, мероприятия по ликвидации и профилактике хламидиоза не проводились, что обуславливало бесконтрольное распространение хламидийной инфекции [16–19]. Это происходило еще и потому, что других методов диагностики, кроме ПЦР, которые выявляют хламидии, антигены или ДНК хламидий в исследуемом материале, как прописано в методических указаниях, в арсенале ветеринарных лабораторий попросту нет.

В главе 3.3.1 действующего «Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных» Всемирной организации здравоохранения животных (ВОАХ)<sup>2</sup> для идентификации возбудителя хламидиоза четко рекомендовано использование методов, основанных на ПЦР и ИФА (для выявления антигена). Однако диагностических тест-систем для ИФА, выявляющих антиген хламидий, на рынке ветеринарных препаратов РФ нет.

Такая ситуация привела к тому, что ПЦР стала единственным доступным методом в практике ветеринарных лабораторий, на основании которого ставится окончательный диагноз на хламидийную инфекцию у сельскохозяйственных животных. Исходя из этого, цель работы заключалась в определении значения РСК и ПЦР в диагностике экспериментальной инфекции кроликов, вызванной *Chlamydia psittaci*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для заражения использовали штамм *C. psittaci* «250», депонированный в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», выделенный из патологического материала абортированного плода коровы в Куйбышевской области в 1973 году, культивируемый на развивающихся куриных эмбрионах с инфекционным титром  $10^{-6.5} \text{ LD}_{50}/0,3 \text{ см}^3$  [20].

Исследование проводили на 5 сукрольных кроликах.

Стерильность (неконтаминированность) патологического материала для реизоляции определяли на питательных средах: мясо-пептонном бульоне (МПБ), мясо-пептонном агаре (МПА), мясо-пептонном печеночном бульоне (МППБ, Китта – Тароцци), среде Сабуро.

Концентрацию специфических антител к возбудителю хламидийной инфекции в крови экспериментально

<sup>1</sup> Методические указания по лабораторной диагностике хламидийных инфекций у животных: утв. департаментом ветеринарии 30.06.1999 № 13-7-2/643. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293757/4293757190.htm>.

<sup>2</sup> Avian chlamydiosis. In: WOAH. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>.

инфицированных кроликов определяли в РСК с применением «Набора антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Россия).

Первоначально для исключения спонтанной хламидийной инфекции у крольчих взяли пробы биоматериала для исследования в РСК с хламидийным антигеном и в ПЦР со специфическим праймером. На следующем этапе опыта крольчих скрестили с самцами. Через 3–7 сут после скрещивания 4 самок заразили вирулентной культурой хламидий. Инфекционный материал в виде 10%-й очищенной суспензии элементарных телец хламидий вводили животным внутривагинально в объеме 1,0 см<sup>3</sup>. Одна особь служила контролем.

Через 23–30 сут после заражения оценивали результаты исхода сукрольности. Потомство, полученное от крольчих, оценивали визуально, проводя ростовые измерения и диагностические исследования на хламидиоз с целью подтверждения этиологии при наличии патологических нарушений репродуктивной функции инфицированных животных.

Микроскопические исследования включали в себя отбор проб, приготовление мазков-отпечатков, их окраску карбол-фуксином по методу Стемпа и изучение микропрепарата под иммерсионной системой светового микроскопа при увеличении 100х.

Забор проб от крольчих осуществляли в соответствии с правилами взятия образцов для ПЦР-исследований. Соскоб со слизистой влажной инфицированных животных проводили урогенитальными зондами, после чего полученные образцы помещали в стерильные пробирки с транспортной средой. Взятие проб для микроскопии производили также урогенитальными зондами, после чего отобранный материал наносили на предметные стекла для изготовления мазков-отпечатков.

Все манипуляции с животными проводили в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Молекулярно-генетические исследования осуществляли методом ПЦР. Обнаружение ДНК хламидий в образцах, отобранных от зараженных животных, проводили с применением тест-системы «ХЛА-КОМ» для диагностики хламидиоза животных и птиц методом ПЦР (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), предназначенной для выявления ДНК микроорганизмов семейства *Chlamydiaceae* в биологическом материале.

Экстракцию ДНК из исследуемого материала осуществляли при помощи комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Детекцию продуктов амплификации производили методом электрофореза в агарозном геле с использованием набора «ЭФ» для приготовления агарозного геля (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Результаты интерпретировали на основании наличия или отсутствия на электрофореграмме специфической полосы амплифицированной ДНК.

Изоляцию хламидий из патологических и клинических материалов осуществляли на развивающихся эм-

брионах кур 6-суточного возраста. Для этого из печени мертворожденных (по 2 плода от каждой крольчихи) крольчат готовили 20%-е суспензии, которыми в последующем инфицировали развивающиеся эмбрионы кур в желточный мешок. Эмбрионы, павшие ранее 4-х сут после заражения, выбраковывались (неспецифика). От эмбрионов, павших на 4–14-е сут, отбирались желточные оболочки, из них делали мазки-отпечатки, которые окрашивали по модифицированному методу Стемпа и исследовали под иммерсионной системой светового микроскопа с целью выявления элементарных телец хламидий в виде розовых точек на зеленом фоне препарата.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Работа была выполнена в отделении вирусологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Первым этапом работы явилась оценка общего состояния исследуемых животных.

При наблюдении за животными, проводимом до оплодотворения и в течение 3–7 сут после оплодотворения, а также до заражения, отметили, что состояние крольчих было в пределах физиологической нормы, о чем свидетельствовали показания температуры тела (38,5–39,5 °С) и поведение животных.

Исследования сывороток крови кроликов в РСК с хламидийным антигеном показали отсутствие специфических антител. При проведении ПЦР в образцах клинического материала от этих животных также не выявили наличия генома хламидий.

До начала опыта были проведены клинический осмотр 4 самцов кроликов, с которыми в дальнейшем было проведено спаривание подопытных крольчих, а также аналогичные лабораторные исследования на спонтанную хламидийную инфекцию. Результаты тоже были отрицательными.

Как показали термометрические измерения, заражение животных вирулентным штаммом хламидий вызвало кратковременное повышение температуры тела у всех 4 подопытных крольчих, которое началось на 2-е сут после инфицирования и продолжалось до 6-х сут, когда средняя температура тела по группе была равна 39,62 °С. В последующие дни температура начала стабилизироваться. Кроме того, заражение отразилось на общем состоянии крольчих. Начиная с 3-х сут животные отказывались от корма, их шерстный покров был взъерошенным, они были малоподвижны. На 5-е сут у трех инфицированных кроликов (№ 1, 2 и 3) развилась кашель.

Результаты исхода сукрольности после заражения вирулентной культурой хламидий представлены в таблице 1.

У трех животных инфицирование привело к мертворождению. У крольчихи № 3 из шести рожденных крольчат выжили только четыре. Доля выживших животных по группе составила 18%. У контрольной особи родилось 6 здоровых крольчат.

Следующим этапом работы было изучение динамики формирования гуморального иммунитета у крольчих. Результаты серологических исследований сывороток крови животных опытной и контрольной групп представлены в таблице 2.

Установлено, что до заражения в крови всех кроликов не выявлено антител к хламидийному антигену. Следовательно, у них отсутствовал специфический

противохламидийный иммунитет, что было важно для чистоты эксперимента. На 7-е сут после заражения в сыворотке крови крольчих опытной группы были выявлены комплементсвязывающие антитела, средний титр которых составил 1:7,5. В последующем наблюдали повышение их концентрации. Так, на 14-е сут средний титр был равен 1:40 и к 30-м сут увеличился до 1:60. Повышение уровня антител в парных сыворотках крови инфицированных кроликов свидетельствует о развитии инфекционного процесса хламидийной этиологии. В крови контрольного животного на протяжении всего исследования комплементсвязывающих антител выявлено не было.

С целью проведения микроскопических и молекулярно-генетических исследований по выявлению элементарных телец и ДНК хламидий на 30-е сут после заражения, когда прошли окролы у всех крольчих, были отобраны пробы соскобов со слизистой оболочки влагалища инфицированных животных и пробы из внутренних органов мертворожденных и здоровых крольчат (печень).

Результаты исследования плодов и клинических материалов, взятых после окрота, а также реизоляции хламидий из патологических материалов обобщены в таблице 3.

В ходе проведения микроскопических исследований в мазках, полученных из влагалища инфицированных крольчих, хламидий обнаружено не было. При микроскопии мазков-отпечатков, приготовленных из внутренних органов мертворожденных крольчат, наблюдали наличие элементарных телец возбудителя хламидиоза. При постановке ПЦР в образцах из слизистой влагалища крольчих ДНК хламидий не обнаружено. В пробах печени мертворожденных крольчат методом ПЦР был выявлен генетический материал хламидий, относящихся к виду *C. psittaci*. Аналогичные исследования патологического материала, полученного от контрольного кролика, дали отрицательные результаты.

Для идентификации возбудителя и подтверждения хламидийной этиологии наблюдаемых у крольчих па-

**Таблица 1**  
Влияние экспериментальной инфекции, вызванной *C. psittaci* «250», на исход беременности кроликов

**Table 1**  
Effect of experimental infection with *C. psittaci* "250" on pregnancy in rabbits

Номер животного	Группа	Исход беременности	Всего родилось крольчат	Пало крольчат		Выжило крольчат	
				количество	%	количество	%
1	Опытная	м/р	6	6	100	0	0
2		м/р	5	5	100	0	0
3		роды, м/р	6	2	33	4	67
4		м/р	5	5	100	0	0
Итого по группе			22	18	82	4	18
5	Контроль	роды	6	0	0	6	100

«м/р» – мертворождение (stillbirth).

**Таблица 2**  
Уровень комплементсвязывающих антител в крови инфицированных кроликов

**Table 2**  
Level of complement-fixing antibodies in blood of infected rabbits

Номер животного	Группа	Титр хламидийных антител			
		до заражения	7-е сут	14-е сут	30-е сут
1	Опытная	–	1:10	1:20	1:40
2		–	1:5	1:20	1:40
3		–	1:10	1:80	1:80
4		–	1:5	1:40	1:80
Средний титр по группе		–	1:7,5	1:40	1:60
5	Контроль	–	–	–	–

тологических родов были проведены исследования по реизоляции возбудителя из проб внутренних органов (печени) мертворожденных плодов с положительными результатами ПЦР на развивающихся 6-суточных

**Таблица 3**  
Реизоляция *C. psittaci* «250» из клинических и патологических материалов от инфицированных крольчих после окрота

**Table 3**  
Re-isolation of *C. psittaci* "250" from clinical and pathological material from infected rabbits after kindling

Номер животного	Группа	Материал для исследования	Результаты микроскопических исследований	Реизоляция хламидий на куриных эмбрионах	Результаты ПЦР-исследования
1	Опытная	соскоб со слизистой влагалища	–	не исследовался	–
		печень плода	+	+	+
2		соскоб со слизистой влагалища	–	не исследовался	–
печень плода		+	+	+	
3		соскоб со слизистой влагалища	–	не исследовался	–
		печень плода	+	+	+
4		соскоб со слизистой влагалища	–	не исследовался	–
		печень плода	+	+	+
5	Контроль	соскоб со слизистой влагалища	–	не исследовался	–
		печень плода	–	–	–

«–» – отрицательный результат исследования (negative test results);

«+» – положительный результат исследования (positive test results).

эмбрионах кур с последующей микроскопией мазков-отпечатков с целью обнаружения элементарных телец хламидий. Хламидии были выделены уже на первом пассаже. Специфическая гибель эмбрионов наступала на 4–8-е сут после заражения 20%-й суспензией патологических материалов. Кроме подтверждения хламидийной этиологии мертворождений у крольчих это свидетельствовало о высокой вирулентности реизолированных от кроликов изолятов хламидий. Введение патологических материалов из печени плодов контрольного кролика в желточный мешок развивающихся эмбрионов кур показало отрицательный результат.

Анализируя полученные в ходе эксперимента данные, можно прийти к выводу, что использование только ПЦР дает неполную картину при прижизненной диагностике хламидийной инфекции у животных. Целесообразным является применение ретроспективных методов, таких как РСК с хламидийным антигеном. Эта реакция позволяет выявлять специфические хламидийные антитела, рост титра которых в крови у животных может свидетельствовать об активной форме инфекционного процесса и служить основанием для постановки диагноза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что инфицирование сукольных крольчих вирулентной культурой штамма *Chlamydia psittaci* «250» вызывает развитие у них активного инфекционного процесса, в ходе течения которого были зафиксированы повышение температуры тела, появление респираторных симптомов и ухудшение общего состояния испытуемых животных. Помимо этого, у всех подопытных крольчих наблюдали патологический исход окролов. Из 22 полученных крольчат выжило только 4. Выживаемость приплода составила 18%. Прижизненно подтвердить хламидийную этиологию патологических процессов у инфицированных животных удалось только в ходе проведения серологических исследований (РСК). Микроскопия мазков-отпечатков и ПЦР-исследования соскобов из уrogenитального тракта больных животных дали отрицательные результаты. Однако хламидийная этиология патологических окролов кроликов была подтверждена при исследовании внутренних органов плодов, полученных от инфицированных животных, методом ПЦР и реизоляцией хламидий на 6-суточных куриных эмбрионах.

Таким образом, использование только ПЦР дает неполную картину при прижизненной диагностике хламидийной инфекции у животных. Следовательно, целесообразным является применение не только молекулярных, но и таких ретроспективных методов, как РСК с хламидийным антигеном, позволяющая выявлять специфические хламидийные антитела, рост титра которых в крови у животных может служить основанием для постановки диагноза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровкова Л. В., Челнокова Е. В. Современные методы диагностики и лечения инфекций, передающихся половым путем. *Медицинский альманах*. 2010; 2 (11): 150–156. EDN: MBFQOB.
2. Герасимова В. М., Марченко В. С., Парфентьева Т. М., Истомина Д. Н. Сравнительная характеристика лабораторных методов диагностики хламидиоза. *Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение*. 2021; 4 (16): 47–52. DOI: 10.24411/2409-4102-2021-10407.

3. Руководство по лабораторной диагностике инфекций уrogenитального тракта. Под ред. М. Домейки, А. М. Савичевой, Е. В. Соколовского, Р. Балларда, М. Унемо. СПб.: Н-Л; 2012. 288 с.

4. Ульянова О. В., Салтыков Ю. В., Зайцев С. С., Хижнякова М. А., Филонова Н. Н., Субботина И. А. и др. Лабораторная диагностика хламидиоза. Методические рекомендации. СарНИВИ; ФГБНУ ФИЦВиМ; 2019. 29 с.

5. Harding-Esch E. M., Cousins E. C., Chow S. C., Phillips L. T., Hall C. L., Cooper N., et al. A 30-min nucleic acid amplification point-of-care test for genital *Chlamydia trachomatis* infection in women: a prospective, multi-center study of diagnostic accuracy. *EBioMedicine*. 2018; 28: 120–127. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.12.029.

6. Widdice L. E., Hsieh Y. H., Silver B., Barnes P., Barnes P., Gaydos C. A. Performance of the Atlas genetics rapid test for *Chlamydia trachomatis* and women's attitudes toward point-of-care testing. *Sex. Transm. Dis.* 2018; 45 (11): 723–727. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000865.

7. Федорова В. А., Ляпина А. М., Хижнякова М. А., Зайцев С. С., Салтыков Ю. В., Субботина И. А. и др. Хламидиозы животных и человека. М.: Наука; 2019. 135 с. DOI: 10.7868/9785020402492.

8. Feodorova V. A., Zaitsev S. S., Khizhnyakova M. A., Saltykov Y. V., Evstifeev V. V., Khusainov F. M., et al. Data of *de novo* genome assembly of the *Chlamydia psittaci* strain isolated from the livestock in Volga Region, Russian Federation. *Data Brief*. 2020; 29:105190. DOI: 10.1016/j.dib.2020.105190.

9. Шилова Е. Н., Шкуратова И. А., Ряпосова М. В., Вялых И. В., Козлова Н. А. Эффективность специфических методов диагностики хламидиоза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2014; 4: 21–24. EDN: RZUAIYX.

10. Stothard D. R., Boguslawski G., Jones R. B. Phylogenetic analysis of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein and examination of potential pathogenic determinants. *Infect. Immun.* 1998; 66 (8): 3618–3625. DOI: 10.1128/IAI.66.8.3618-3625.1998.

11. Ripa T., Nilsson P. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. *Euro Surveill*. 2006; 11 (11):E061109.2. DOI: 10.2807/esw.11.45.03076-en.

12. Федорова В. А., Полянина Т. И., Салтыков Ю. В., Зайцев С. С., Ласкавый В. Н., Ульянова О. В., Мотин В. Л. Обнаружение *Chlamydia trachomatis* у абортировавших овец. *Ветеринария*. 2016; 1: 22–26. EDN: VMFVFEV.

13. Федорова В. А., Салтыков Ю. В., Филонова Н. Н., Субботина И. А., Зайцев С. С., Ульянова О. В. и др. Детекция нового шведского варианта *Chlamydia trachomatis* у крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2019; 7: 27–31. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.7.27-31.

14. Ripa T., Nilsson P. A. A *Chlamydia trachomatis* strain with a 377-bp deletion in the cryptic plasmid causing false-negative nucleic acid amplification tests. *Sex. Transm. Dis.* 2007; 34 (5): 255–256. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e31805ce2b9.

15. Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Барбарова Л. А., Равилов А. З. Усовершенствование комплементарного антигена для диагностики хламидиоза животных. *Материалы Всероссийской научно-практической конференции по актуальным проблемам агропромышленного комплекса (29–30 октября 2004 г.)*. Казань: Казанская ГАВМ; 2004; 33–34. EDN: MYSJIL.

16. Unemo M., Olcén P., Agné-Stadling I., Feldt A., Jurstrand M., Herrmann B., et al. Experiences with the new genetic variant of *Chlamydia trachomatis* in Örebro county, Sweden – proportion, characteristics and effective diagnostic solution in an emergent situation. *Euro Surveill*. 2007; 12 (4):E5-6. DOI: 10.2807/esm.12.04.00699-en.

17. Herrmann B., Törner A., Low N., Klint M., Nilsson A., Velicko I., et al. Emergence and spread of *Chlamydia trachomatis* variant, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14 (9): 1462–1465. DOI: 10.3201/eid1409.080153.

18. Feodorova V. A., Polyamina T. I., Konnova S. S., Laskavy V. N. First case of detection of *Chlamydia trachomatis* in livestock in Russia. In: *Proceeding of 5<sup>th</sup> Congress of European Microbiologists (21–25 July 2013, Germany)*. Leipzig: FEMS; 2013; 237.

19. Feodorova V. A., Zaitsev S. S., Saltykov Y. V., Sultanakhmedov E. S., Bakulev A. L., Ulyanov S. S., Motin V. L. An asymptomatic patient with fatal infertility carried a Swedish strain of *Chlamydia trachomatis* with additional deletion in the plasmid *orf1* that belonged to a different MLST sequence type. *Microorganisms*. 2019; 7 (7):187. DOI: 10.3390/microorganisms7070187.

20. Евстифеев В. В., Хусаинов Ф. М., Яковлев С. И., Хусаинова Г. И., Иванова С. В. Результаты клинических испытаний универсальной вакцины против хламидиоза сельскохозяйственных животных. *Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Армавирской биофабрики (20–21 августа 2021 г.)*. М.: 2021; 244–251. DOI: 10.47804/978-5-89904-0290\_2021\_244.

## REFERENCES

1. Borovkova L. V., Chelnokova E. V. The contemporary methods of diagnostics and treating of the sexually transmitted diseases. *Medical almanac*. 2010; 2 (11): 150–156. EDN: MBFQOB. (in Russ.)

2. Gerasimova V. M., Marchenko V. S., Parfentjeva T. M., Istomina D. N. Comparative characteristics of laboratory methods for the diagnosis of chlamydia. *Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Health-care*. 2021; 4 (16): 47–52. DOI: 10.24411/2409-4102-2021-10407. (in Russ.)
3. Guidance on laboratory diagnosis of urogenital infections. Ed. by M. Domeika, A. M. Savicheva, E. V. Sokolovskiy, R. Ballard, M. Unemo. Saint Petersburg: N-L; 2012. 288 p. (in Russ.)
4. Ulyanova O. V., Saltykov Y. V., Zaitsev S. S., Khizhnyakova M. A., Filonova N. N., Subbotina I. A., et al. Laboratory diagnosis of *Chlamydia*. Guidance. SarVI; FRCVM; 2019. 29 p. (in Russ.)
5. Harding-Esch E. M., Cousins E. C., Chow S. C., Phillips L. T., Hall C. L., Cooper N., et al. A 30-min nucleic acid amplification point-of-care test for genital *Chlamydia trachomatis* infection in women: a prospective, multi-center study of diagnostic accuracy. *EBioMedicine*. 2018; 28: 120–127. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.12.029.
6. Widdice L. E., Hsieh Y. H., Silver B., Barnes M., Barnes P., Gaydos C. A. Performance of the Atlas genetics rapid test for *Chlamydia trachomatis* and women's attitudes toward point-of-care testing. *Sex. Transm. Dis.* 2018; 45 (11): 723–727. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000865.
7. Feodorova V. A., Lyapina A. M., Khizhnyakova M. A., Zaitsev S. S., Saltykov Y. V., Subbotina I. A., et al. *Chlamydia* of animals and humans. Moscow: Nauka; 2019. 135 p. (in Russ.)
8. Feodorova V. A., Zaitsev S. S., Khizhnyakova M. A., Saltykov Y. V., Evstifeev V. V., Khusainov F. M., et al. Data of *de novo* genome assembly of the *Chlamydia psittaci* strain isolated from the livestock in Volga Region, Russian Federation. *Data Brief*. 2020; 29:105190. DOI: 10.1016/j.dib.2020.105190.
9. Shilova E. N., Shkuratova I. A., Riaposova M. V., Vyalyh I. V., Kozlova N. A. Effectiveness specific methods of diagnostic chlamydia in cattle. *Veterinariya*. 2014; 4: 21–24. EDN: RZUAYX. (in Russ.)
10. Stothard D. R., Boguslawski G., Jones R. B. Phylogenetic analysis of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein and examination of potential pathogenic determinants. *Infect. Immun.* 1998; 66 (8): 3618–3625. DOI: 10.1128/IAI.66.8.3618-3625.1998.
11. Ripa T., Nilsson P. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. *Euro Surveill*. 2006; 11 (11):E061109.2. DOI: 10.2807/esw.11.45.03076-en.
12. Feodorova V. A., Polyanina T. I., Saltykov Yu. V., Zaitsev S. S., Laskavy V. N., Ulyanova O. V., Motin V. L. Detection of *Chlamydia trachomatis* in aborted ewes. *Veterinariya*. 2016; 1: 22–26. EDN: VMFVEV. (in Russ.)
13. Feodorova V. A., Saltykov Y. V., Filonova N. N., Subbotina I. A., Zaitsev S. S., Ulyanova O. V., et al. Detection of the novel Swedish variant of *Chlamydia trachomatis* in cattle. *Veterinariya*. 2019; 7: 27–31. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.7.27-31. (in Russ.)
14. Ripa T., Nilsson P. A. A *Chlamydia trachomatis* strain with a 377-bp deletion in the cryptic plasmid causing false-negative nucleic acid amplification tests. *Sex. Transm. Dis.* 2007; 34 (5): 255–256. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e31805ce2b9.
15. Evstifeev V. V., Khusainov F. M., Barbarova L. A., Ravilov A. Z. Usovshenstvovanie kompleksnykh vyzyvayushchego antigena dlya diagnostiki khlamidioza zhivotnykh = Improvement of complement-binding antigen for the diagnosis of animal *Chlamydia*. *Materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii po aktual'nykh problemam agropromyshlennogo kompleksa (29–30 oktyabrya 2004 g.) = Proceedings of All-Russian Scientific and Practical Conference on topical problems of the agro-industrial complex (October 29–30, 2004)*. Kazan: Kazan SAVM; 2004; 33–34. EDN: MYSJIL. (in Russ.)
16. Unemo M., Olcén P., Agné-Stadling I., Feldt A., Jursstrand M., Herrmann B., et al. Experiences with the new genetic variant of *Chlamydia trachomatis* in Örebro county, Sweden – proportion, characteristics and effective diagnostic solution in an emergent situation. *Euro Surveill*. 2007; 12 (4):E5-6. DOI: 10.2807/esm.12.04.00699-en.
17. Herrmann B., Törner A., Low N., Klint M., Nilsson A., Velicko I., et al. Emergence and spread of *Chlamydia trachomatis* variant, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14 (9): 1462–1465. DOI: 10.3201/eid1409.080153.
18. Feodorova V. A., Polyanina T. I., Konnova S. S., Laskavy V. N. First case of detection of *Chlamydia trachomatis* in livestock in Russia. In: *Proceeding of 5<sup>th</sup> Congress of European Microbiologists (21–25 July 2013, Germany)*. Leipzig: FEMS; 2013; 237.
19. Feodorova V. A., Zaitsev S. S., Saltykov Y. V., Sultanakhmedov E. S., Bakulev A. L., Ulyanov S. S., Motin V. L. An asymptomatic patient with fatal infertility carried a Swedish strain of *Chlamydia trachomatis* with additional deletion in the plasmid *orf1* that belonged to a different MLST sequence type. *Microorganisms*. 2019; 7 (7):187. DOI: 10.3390/microorganisms7070187.
20. Evstifeev V. V., Khusainov F. M., Yakovlev S. I., Khusainova G. I., Ivanova S. V. Results of clinical trials of a universal vaccine against *Chlamydia* in farm animals. *Nauchnye osnovy proizvodstva i obespecheniya kachestva biologicheskikh preparatov: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu Armavirskoi biofabriki (20–21 avgusta 2021 g.) = Scientific basis for production and quality assurance of biological preparations: proceedings of the international research-to-practice conference dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of the Armavir Biofactory (20–21 August 2021)*. Moscow: 2021; 244–251. DOI: 10.47804/978-5-89904-0290\_2021\_244. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 14.03.2023

Поступила после рецензирования / Revised 12.05.2023

Принята к публикации / Accepted 15.06.2023

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Евстифеев Виталий Валерьевич**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9882-3475>, e-mail: [evstifeev@vnivi.ru](mailto:evstifeev@vnivi.ru).

**Хусаинов Фидайль Миннигалеевич**, доктор ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3101-7740>, e-mail: [fidail63@mail.ru](mailto:fidail63@mail.ru).

**Яковлев Сергей Игоревич**, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4944-6559>, e-mail: [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru).

**Шангараев Рафкат Искандарович**, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3689-1442>, e-mail: [rafkat.shangaraev@mail.ru](mailto:rafkat.shangaraev@mail.ru).

**Еремec Владимир Иванович**, доктор биологических наук, профессор, руководитель научного направления, главный научный сотрудник ФГБНУ ВНИТИБП, пос. Биокомбината, Московская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9539-3756>, e-mail: [vieremec2@yandex.ru](mailto:vieremec2@yandex.ru).

**Vitaliy V. Evstifeev**, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Chief Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9882-3475>, e-mail: [evstifeev@vnivi.ru](mailto:evstifeev@vnivi.ru).

**Fidail M. Khusainov**, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3101-7740>, e-mail: [fidail63@mail.ru](mailto:fidail63@mail.ru).

**Sergey I. Yakovlev**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Viral Anthropozoonoses of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4944-6559>, e-mail: [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru).

**Rafkat I. Shangaraev**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Molecular and Genetic Analysis, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3689-1442>, e-mail: [rafkat.shangaraev@mail.ru](mailto:rafkat.shangaraev@mail.ru).

**Vladimir I. Eremets**, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of Scientific Direction, Chief Researcher, VNIITBP, pos. Biokombinata, Moscow Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9539-3756>, e-mail: [vieremec2@yandex.ru](mailto:vieremec2@yandex.ru).