

ВЫВОДЫ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рекомбинантные неструктурные белки 3А, 3В и ЗАВ вируса ящура: использование для дифференциации вакцинированного и инфицированного крупного рогатого скота / А.С. Яковлева, А.В. Щербаков, А.В. Каньшина [и др.] // Мол. биология. — 2006. — Т. 40, № 1. — С. 165–171.
2. Яковлева А.С. Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного рогатого скота: дис. ... канд. биол. наук. — Владимир, 2005. — 110 с.
3. An overview on ELISA techniques for FMD / L.N. Ma, J. Zhang, H.T. Chen [et al.] // Virol. J. — 2011. — Vol. 8. — URL: <http://www.virologyj.com/content/8/1/419> (дата обращения: 23.03.15).
4. A recombinant truncated FMDV 3AB protein used to better distinguish between infected and vaccinated cattle / C. He, H. Wang, Y. Yan [et al.] // Vaccine. — 2010. — Vol. 28. — P. 3435–3439.
5. Comparative evaluation of non-structural protein-antibody detecting ELISAs for foot-and-mouth disease sero-surveillance under intensive vaccination / G.K. Sharma, J.K. Mohapatra, S. Mahajan [et al.] // J. Virol. Methods. — 2014. — Vol. 207. — P. 22–28.
6. Comparative evaluation of the six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus / E. Brocchi, I.E. Bergmann, A. Dekker [et al.] // Vaccine. — 2006. — Vol. 24. — P. 47–48.
7. Comparison of sensitivity and specificity in three commercial foot-and-mouth disease virus non-structural proteins ELISA kits with swine sera in Taiwan / S.P. Chen, T.M. Ellis, M.C. Lee [et al.] // Vet. Microbiol. — 2007. — Vol. 119. — P. 164–172.
8. Foot-and-mouth disease. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.05_FMD.pdf (дата обращения: 21.04.15).
9. Jacobson R.H. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases // Rev. Sci. Tech. OIE. — 1998. — Vol. 17, № 2. — P. 469–486.
10. Principles and methods of validation of diagnostic assays for infection disease. — URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/1.01.05_VALIDATION.pdf (дата обращения: 23.03.15).
11. Use of continuous results to compare ELISAs for the detection of antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus / A. Dekker, D. Sammin, M. Greiner [et al.] // Vaccine. — 2008. — Vol. 26. — P. 2723–2732.
12. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.
13. http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/.

УДК 619:616.98:578.821.2:616-076

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

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

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

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

UDC 619:616.98:578.821.2:616-076

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

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

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

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

**ФГБУ ВНИИЗЖ ПРОИЗВОДИТ****Вакцины против овец и коз:**

- вирусвакцина против оспы овец культуральная сухая.
- вирусвакцина против оспы коз культуральная сухая.
- вирусвакцина против оспы овец и оспы коз культуральная сухая.

Чумы мелких жвачных животных

- вирусвакцина против чумы мелких жвачных культуральная сухая.

Вакцины предназначены для профилактической иммунизации овец и коз против оспы и ЧМЖ в неблагополучных и угрожаемых пунктах и хозяйствах.

ДИАГНОСТИКА ОСПЫ:

Диагноз на оспу ставят на основании анализа эпизоотологических, клинических, электронной микроскопии, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований, включая биопробу.

Серологический метод диагностики основан на выявлении в сыворотке крови при помощи реакции нейтрализации антител к антигену вируса оспы. Применяют так же другие реакции: связывания комплемента (РСК), иммунофлуоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА). Для выявления возбудителя в пробах биоматериала используют полимеразно цепную реакцию (ПЦР), реакцию диффузной преципитации (РДП).

ДИАГНОСТИКА ЧМЖ

- диагностика путем идентификации вируса, его антигена (РСК, РДП, РТГА, РИФ), специфических антител (РСК, РН в культуре клеток) и вирусспецифических изменений в ткани (внутриядерные и цитоплазматические включения);
- серологическая диагностика, основанная на выявлении в сыворотке крови при помощи ИФА антител к антигену вируса ЧМЖ;
- идентификация генома возбудителя с помощью ОТ-ПЦР.

Сектор продаж ветеринарных препаратов на территории РФ 8-4922-26-15-25, 26-15-51 (доб. 2536)

По вопросам проведения исследований обращаться по тел.: 8-4922-26-15-25 (доб.2135)

ВВЕДЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

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

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

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

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

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

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

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

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

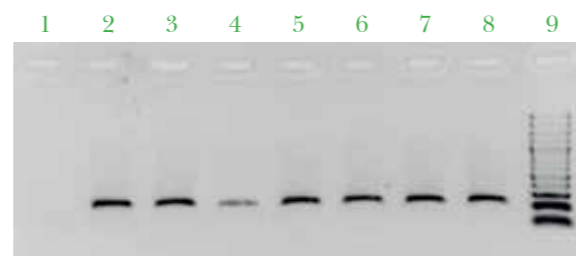


Рис. Обнаружение вируса нодулярного дерматита методом ПЦР

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



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

стям вируса бугорчатки, представленным в биоинформационной системе GenBank.

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

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

ВЫВОДЫ

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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

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

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

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

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

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

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

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

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