

Роль ПЦР в диагностике видоспецифичного хламидиоза у крупного рогатого скота

Н. А. Безбородова[✉], В. В. Кожуховская¹, О. В. Соколова¹, Е. В. Печура¹, А. С. Романова¹

¹ Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

[✉] E-mail: n-bezborodova@mail.ru

Аннотация. Целью исследований стало изучение практического значения метода ПЦР для видовой идентификации возбудителей персистирующей хламидийной инфекции у крупного рогатого скота. **Методы.** Проведена ПЦР-диагностика биологического материала от коров и телят. **Результаты.** При лабораторных исследованиях было установлено, что в биологическом материале в 17,1 % случаев обнаружено видовое разнообразие хламидий: геномы *Chlamydia spp.* (7,6 %), *Chlamydophila pecorum* (7,6 %) и *Chlamydophila abortus* (1,9 %). Специфические участки ДНК бактерии *Chlamydophila pecorum* были обнаружены в биологическом материале у молодняка в 2,8 % случаев. У обследованных телят наблюдалась острая форма хламидийной инфекции с поражением респираторных органов, а также кератоконъюнктивиты. Геномы *Chlamydophila abortus* были выявлены в биоматериалах от абортировавших коров в 1,9 % случаев, что подтвердило наличие у исследуемых животных латентных и хронических форм заболеваний органов репродуктивного тракта, связанных с инфицированием хламидиями. В пробах положительных по *Chlamydia spp.* дополнительно была обнаружена ДНК *Staphylococcus aureus* в 37,5 % случаев. **Научная новизна.** В настоящее время ПЦР-диагностика бактерий рода *Chlamydophila*, обладающих уникальным циклом развития внутриклеточных паразитов, открывает новые возможности в обнаружении генетического материала хламидий определенного вида у сельскохозяйственных животных. Метод полимеразной цепной реакции показал себя как высокочувствительный и специфичный в отношении диагностики хламидофил у сельскохозяйственных животных при разных течениях инфекционного процесса. Сложность видовой идентификации возбудителей *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila abortus* и *Chlamydophila pecorum*, которые обладают тесным генетическим родством, в настоящее время стала определяться объемом и качеством лабораторно-диагностической базы.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, инфекционные заболевания, хламидиоз, метод ПЦР, генетическое разнообразие, геномы, ДНК, диагностика.

Для цитирования: Безбородова Н. А., Кожуховская В. В., Соколова О. В., Печура Е. В., Романова А. С. Роль ПЦР в диагностике видоспецифичного хламидиоза у крупного рогатого скота // Аграрный вестник Урала. 2021. № 01 (204). С. 30–35. DOI: ...

Дата поступления статьи: 12.08.2020.

Постановка проблемы (Introduction)

В настоящее время среди различных инфекционных заболеваний крупного рогатого скота в мире значительное место занимает хламидиоз. Основные экономические потери сельскохозяйственных предприятий от хламидийной инфекции складываются из снижения воспроизводительных функций у коров, абортот и рождения нежизнеспособных телят, падежа и вынужденного убоя молодняка, а также затрат на лечение и ликвидацию последствий заболевания [1, с. 30], [2, с. 41], [3, с. 1], [4, с. 30].

У крупного рогатого скота при хламидийной инфекции наблюдается разнообразная клиническая картина болезни. Генитальная форма хламидиоза характеризуется нарушениями репродуктивной функции, вагинитом, эндометритом, сальпингитом. У коров основным клиническим признаком инфекции являются аборты (7–9-й месяц стельности). Хламидийный аборт нередко протекает на

фоне вирусных, бактериальных или паразитарных болезней (герпесвирусная инфекция крупного рогатого скота, вирусная диарея крупного рогатого скота, микоплазмоз, сальмонеллез, бруцеллез, неоспороз и др.). У абортировавших животных, чаще у первотелок, происходит задержание последа, впоследствии также развиваются воспалительные заболевания органов размножения, приводящие к бесплодию [1, с. 31], [5, с. 121], [6, с. 2]. У телят сразу после рождения хламидиоз проявляется в виде пневмонии, менингита и полиартрита. У заболевшего хламидиозом молодняка в возрасте от 3 до 10 дней наблюдаются полиартрит, конъюнктивит, бронхопневмония. Бронхопневмония может регистрироваться и у взрослых животных. Нередко респираторная форма хламидийной инфекции протекает в ассоциации с вирусной диареей крупного рогатого скота, инфекционным ринотрахеитом, парагриппом-3 и т. д. [1, с. 33], [7, с. 506], [8, с. 11], [9, с. 9370].

Хламидии – грамотрицательные бактерии, ведущие внутриклеточный паразитирующий образ жизнедеятельности. В соответствии с действующей классификацией, семейство *Chlamydiaceae* разделено на два рода: *Chlamydia* и *Chlamydomphila*. Род *Chlamydomphila* включает 6 представителей вида хламидий, патогенными для крупного рогатого скота являются *Chlamydomphila psittaci*, *Chlamydomphila abortus* и *Chlamydomphila pecorum* [3, с. 2], [5, с. 121], [10, с. 2], [11, с. 2]. Иностранцы авторы говорят о том, что *Chlamydomphila psittaci*, патогенная для людей и птиц, часто становится причиной хламидийных абортос у коров, а также вызывает острую пневмонию [12, с. 3]. *Chlamydomphila psittaci* и *Chlamydomphila abortus* обладают зоонозным потенциалом и классифицируются как заболевания класса В, поэтому карантинная проверка на хламидиоз в зарубежных странах рекомендуется в ходе международной торговли [11, с. 2]. В РФ инструкция по профилактике и ликвидации хламидиоза животных, утвержденная 15 апреля 1991 года, действует только в случае выявления у животных *Chlamydomphila psittaci* и не предусматривает введения каких-либо мероприятий по предупреждению, ликвидации и применению лечебных мер при выявлении у животных *Chlamydomphila abortus* и *Chlamydomphila pecorum*. При этом в зарубежной литературе отмечается значительная роль данных инфекционных агентов в возникновении внутриутробной инфекции, приводящей к абортос, мертворождаемости и рождению слабого приплода [3, с. 4], [4, с. 31], [11, с. 3].

Полимеразная цепная реакция – чувствительный специфичный метод выявления нуклеиновых кислот патогенов. Данная диагностика до недавнего времени предлагала специалистам лишь выявление специфического участка ДНК семейства *Chlamydiaceae*. Сложность видовой идентификации хламидофил состоит в том, что они обладают тесным генетическим родством. Применение молекулярных методов позволяет проводить дифференцированный анализ специфических участков ДНК хламидий с определением их видовой принадлежности [7, с. 506], [9, с. 9370], [14, с. 2]. Несмотря на существующие диагностические возможности, отечественные и зарубежные ветеринарные специалисты отмечают, что механизм действия хламидийной инфекции на репродуктивную функцию коров мало изучен и недостаточно данных о патогенетических свойствах отдельных видов хламидофил. Кроме этого, хламидийная инфекция плохо поддается эпизоотическому контролю [6, с. 2], [13, с. 58].

Цель исследований – изучить практическое значение метода полимеразной цепной реакции для видовой идентификации возбудителей персистирующей хламидийной инфекции у крупного рогатого скота.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследования выполнены в рамках направления 160 Программы ФНИ государственных академий наук «Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных» на 2013–2020 гг. в отделе ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабо-

раторией и в отделе мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН.

Методом полимеразной цепной реакции в период 2018–2019 гг. было исследовано 105 биологических проб от коров и телят из 14 сельскохозяйственных организаций Уральского региона.

От животных при подозрении на хламидийную инфекцию отбирали биоматериалы: сыворотку крови; соскобы из влагалища и цервикального канала у коров; образцы синовиальной жидкости, смывы с конъюнктивы у телят; кусочки плаценты; патологические материалы – пробы паренхиматозных органов от абортированных плодов; образцы органов (носовой перегородки, гортани, трахеи, легкого) от павших телят в возрасте 15 дней.

В работе использовали набор для выделения ДНК Diatom DNA Prep 200 (ООО «ИзоГен», Москва), набор на определение *Chlamydia spp.* (ООО «ФакторМед», Москва), набор на определение *C. abortus*, *C. pecorum* (ООО «ИзоГен», Москва). Амплификацию проводили с использованием термоциклера Applied Biosystems 2720 (Сингапур). Конечный результат учитывали при проведении электрофореза с применением агарозного геля и мини-камеры Mini-Sub Cell GT (Bio-Rad, США) с визуализацией в камере CHEMIDOC XRS+ и интерпретацией результатов с помощью Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Результаты (Results)

Диагноз хламидийная инфекция по результатам молекулярно-биологических исследований клинических материалов от крупного рогатого скота был установлен в 17,1 % случаев (рис. 1).

Дифференцированный анализ специфических участков выделенных ДНК хламидий установил, что в 7,6 % случаев они идентифицировались как геном *Chlamydomphila pecorum*; в 1,9 % случаев – как геном *Chlamydomphila abortus*, в 7,6 % случаев – как геном *Chlamydia spp.*

Геномы *Chlamydia spp.* были выделены из биологических проб соскобов со слизистой оболочки влагалища от коров, абортировавших на разных сроках беременности. В данных биологических материалах ДНК *Chlamydomphila abortus* и *Chlamydomphila pecorum* не были обнаружены. Необходимо также отметить, что почти у 1/3 этих животных наряду с хламидийной инфекцией диагностирован возбудитель *Staphylococcus aureus*. Полученные результаты подтверждают данные о том, что у коров основным клиническим признаком хламидийной инфекции являются аборты, при этом осложнения у абортировавших животных нередко развиваются и протекают на фоне бактериальных инфекций [5, с. 123], [14, с. 56].

Геном *Chlamydomphila abortus* был выделен только из биологических проб от абортировавших коров. ДНК возбудителя выявлена в образцах соскобов с слизистой оболочки влагалища и плаценты. Как правило, у зараженных *Chlamydomphila abortus* взрослых животных инфекция протекает в латентной или субклинической форме. Манифестация и реактивация инфекционного процесса происходят в период беременности. Возбудитель в этот период размножается в плацентарной ткани, что сопровождается воспалением и некрозом. В результате развивается хрони-

ческая или острая плацентарная недостаточность, что, в свою очередь, может быть причиной аборта [4, с. 31].

Геном *Chlamydia pecorum* в биологических пробах от взрослых особей был выделен менее чем в 1 % случаев. ДНК возбудителя выявлена в образце соскоба из цервикального канала от абортировавшей коровы. Известно, что этот вид хламидий также может приводить к нарушениям репродуктивной функции у сельскохозяйственных животных и являться причиной абортов у коров [5, с. 122], [6, с. 3].

В остальных случаях при выполнении лабораторных исследований геном *Chlamydia pecorum* был выделен из биологического материала от молодняка крупного рогатого скота с признаками кератоконъюнктивита и пневмонии. В первом случае специфические участки ДНК *Chlamydia pecorum* были обнаружены в биологических пробах (суспензия из кусочков органов – носовая перегородка, гортань, трахея, легкие), от павших телят 15-дневного возраста с диагнозом пневмония, что подтверждает острую респираторную форму хламидийной инфекции, которая привела к гибели животных. При этом при исследовании биопроб (кусочки плаценты) от абортировавших коров данного молочного стада крупного рогатого скота были обнаружены геномы *Chlamydia abortus*. Известно, что для хламидийных инфекций характерны стационарность и природная очаговость, на основании чего мы можем предположить, что в обследованной популяции животных циркулируют и *Chlamydia pecorum*, и *Chlamydia abortus* [11, с. 3].

Во втором случае, при исследовании молодняка с рецидивирующей формой кератоконъюнктивита и артрита, приводящих к выбраковке животных, в конъюнктивальных смывах от телят были выявлены геномы *Chlamydia pecorum*. Проведенные в первый год регистрации заболеваний микробиологические исследования позволили выявить только бактериальную микрофлору (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp.*), однако проведенная противомикробная терапия в отношении данных этиологических агентов не повлияла на снижение уровня заболеваемости животных. Применение метода ПЦР во второй год регистрации клинических симптомов инфекционного заболевания позволило установить хламидофильный кератоконъюнктивит у заболевших телят (рис. 2). Полученные данные послужили основанием для применения в алгоритмах лечения препаратов, обладающих антихламидийным спектром действия.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

При исследованиях методом полимеразной цепной реакции было установлено, что у обследованного крупного рогатого скота инфекционная этиология заболевания хламидийной инфекцией подтверждается в 17,1 % случаев. Также было обнаружено генетическое разнообразие хламидий. В поступившем на исследование материале были выявлены геномы *Chlamydia spp.* (7,6%), *Chlamydia pecorum* (2,8 %) и *Chlamydia abortus* (6,7 %). Метод ПЦР позволил выявить специфические участки ДНК возбудителей при острых, латентных, бессимптомных и хронических формах течения инфекционного процесса. Острая форма хламидийной инфекции наблюдалась у мо-

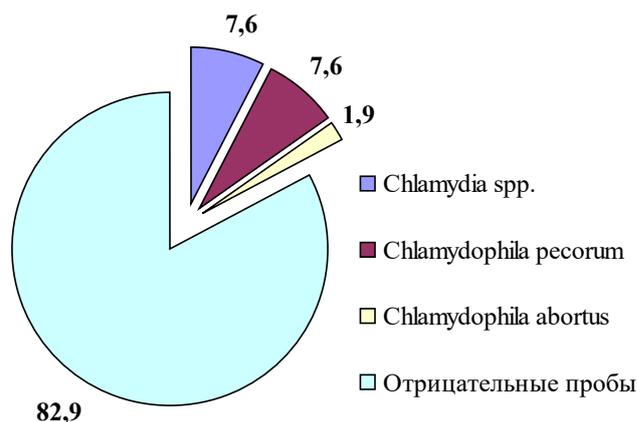


Рис. 1. Результаты исследования по выявлению геномов возбудителей семейства Chlamydiaceae в биопробах крупного рогатого скота молекулярно-биологическими методами (n = 105)

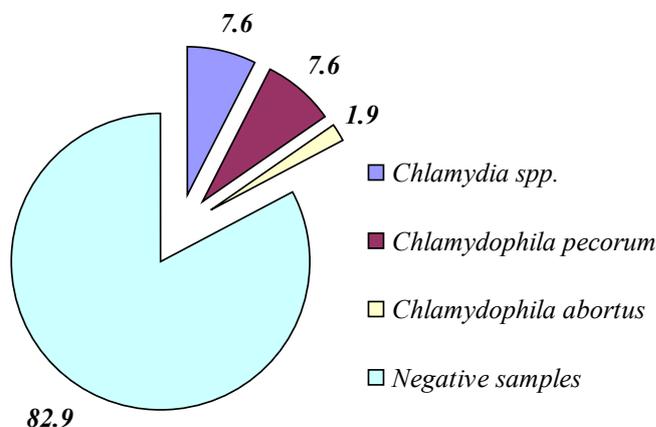


Fig. 1. The results of a study to identify the genomes of pathogens of the family Chlamydiaceae in biological samples of cattle by molecular biological methods (n = 105)



Рис. 2. Хламидофильный кератоконъюнктивит у заболевших телят
Fig. 2. Chlamydia keratoconjunctivitis in diseased calves

лодьяка (2,8 %) с поражением респираторных органов, а также с кератоконъюнктивитами. В биоматериале присутствовали геномы *Chlamydophila pecorum*. Латентные и хронические формы заболеваний органов репродуктивного тракта, связанные с инфицированием хламидиями, были выявлены у абортировавших коров в 14,3 % случаев. В биологических пробах обнаружены ДНК *Chlamydia spp.* и *Chlamydophila abortus*. Полученные нами результаты диагностических исследований согласуются с данными других авторов, которые считают, что *Chlamydophila abortus* является основным абортотенным патогеном наряду с другими инфекционными причинами аборта.

Метод ПЦР показал себя как высокочувствительный и специфичный в отношении диагностики хламидиоза у животных. Он вносит значительный вклад в организацию эпизоотического контроля и оздоровления сельскохозяйственных организаций при хламидийной инфекции.

Во-первых, данный метод относится к прямым методам диагностики инфекции, что важно при первичном установлении диагноза на хламидийную инфекцию и подтверждении циркуляции возбудителя в стаде. Лечебные мероприятия больных хламидиозом животных представляют непростую задачу, так как у хламидий уникальные цикл развития облигатного внутриклеточного паразита, а также устойчивость к антибактериальным веществам. Полимеразная цепная реакция позволяет на основании наличия или отсутствия ДНК патогена в биоматериале от животных контролировать эффективность проводимой эрадикации возбудителя с применением антибактериальных средств, особенно при латентных, субклинической и хронических формах болезни. При этом серологические методы исследований могут выступать методами контроля распространения инфекции в стаде.

Библиографический список

1. Шилова Е. Н., Печура Е. В., Петрова О. Г., Юров К. П. Острые респираторные вирусные болезни крупного рогатого скота // БИО. 2019. № 4 (223). С. 30–33.
2. Порываева А. П., Шилова Е. Н., Нурмиева В. Р., Устьянцев И. В. Напряженность поствакцинального иммунитета к возбудителям острых респираторных вирусных инфекций у телят // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2017. № 6 (61). С. 41–45.
3. Fernández-Aguilar X., Rossi L., Cabezón Ó., Giorgino A., Victoriano Llopis I., Frey J., López-Olvera J. R. Infectious keratoconjunctivitis and occurrence of *Mycoplasma conjunctivae* and *Chlamydiaceae* in small domestic ruminants from Central Karakoram, Pakistan // Veterinary Record. 2017. Vol. 181. Iss. 9. Article number. 237. DOI: 10.1136/vr.103948.
4. Безбородова Н. А., Кожуховская В. В., Петропавловский М. В., Томских О. Г. Полимеразная цепная реакция в диагностике латентных, бессимптомных и хронических форм инфекционных заболеваний крупного рогатого скота // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2019. № 4. С. 30–33. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.4.30.
5. Кочетов В. В., Татарникова Н. А., Кочетова О. В. Морфофункциональные изменения в тканях последа при хламидийной инфекции у крупного рогатого скота // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2015. Т. 221. № 1. С. 121–124.
6. Shatleh-Rantisi D., Tamimi A., Ashhab Y. Improving sensitivity of single tube nested PCR to detect fastidious microorganisms. Heliyon. 2020. No. 6 (1). Article number e03246.2020. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03246.
7. Anstey S. I., Quigley B. L., Polkinghorne A., Jelocnik M. Chlamydial infection and on-farm risk factors in dairy cattle herds in South East Queensland // Australian Veterinary Journal. 2019. Vol. 97. Iss. 12. Pp. 505–508. DOI: 10.1111/avj.12879.
8. Álvarez D., Caro M. R., Buendía A.J., Schnee C., Ortega N., Murcia-Belmonte A., Salinas J. Effect of female sex hormones on the developmental cycle of *Chlamydia abortus* compared to a penicillin-induced model of persistent infection // BMC Veterinary Research. 2019. No. 15 (1). Article number 259. DOI: 10.1186/s12917-019-2013-7
9. Nie F., Gong Q., Yang J., Xi C., Wang Y., Wang G., Zhang L., Li X., Huo D., Hou C. Establishment of a Multiplex Real-Time TaqMan-MGB Polymerase Chain Reaction (PCR) Method for the Simultaneous Detection of Three Animal *Chlamydia* Species // Medical Science Monitor. 2019. No. 25. Pp. 9369–9376. DOI: 10.12659/MSM.918344.
10. Szymańska-Czerwińska M., Mitura A., Niemczuk K., Zareba K., Jodelko K., Pluta A., Scharf S., Vitek B., Aaziz R., Vorimore F., Laroucau K., Schnee C. Dissemination and genetic diversity of chlamydial agents in Polish wildfowl: Isolation and molecular characterisation of avian *Chlamydia abortus* strains // PLOS ONE. 2017. No. 12. Article number e0174599. DOI: 10.1371/journal.pone.0174599.
11. Bommana S., Polkinghorne A. Mini Review: Antimicrobial Control of Chlamydial Infections in Animals: Current Practices and Issues // Frontiers in Microbiology. 2019. No. 10. Article number 113. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00113
12. Opota O., Brouillet R., Greub G., Jaton K. Methods for Real-Time PCR-Based Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, and *Chlamydia abortus* Infections in an Opened Molecular Diagnostic Platform // Methods in Molecular Biology. 2017. No. 1616. Pp. 171–181. DOI: 10.1007/978-1-4939-7037-7_11.
13. Шкуратова И. А., Шилова Е. Н., Соколова О. В., Ряпосова М. В. Программы контроля инфекционных факторов, влияющих на репродуктивную функцию высокопродуктивных молочных коров // Ветеринария и кормление. 2020. № 2. С. 54–57. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-13.
14. Barati S., Moori-Bakhtiari N., Najafabadi M. G., Momtaz H., Shokuhizadeh L. The role of zoonotic chlamydial agents in ruminants abortion // Iranian Journal of Microbiology. 2017. No. 9 (5). Pp. 288–294.
15. Di Blasio A., Traversa A., Giacometti F., Chiesa F., Piva S., Decastelli L., Dondo A., Gallina S., Zoppi S. Isolation of *Arcobacter* species and other neglected opportunistic agents from aborted bovine and caprine fetuses. BMC Veterinary Research. 2019. No. 15 (1). Article number 257. DOI: 10.1186/s12917-019-2009-3.

Об авторах:

Наталья Александровна Безбородова¹, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов диагностики, ORCID 0000-0003-2793-5001, AuthorID 665979; +7 904 981-72-14, n-bezborodova@mail.ru

Вероника Владимировна Кожуховская¹, младший научный сотрудник лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов диагностики, ORCID 0000-0001-7924-6844, AuthorID 1002627; tetramegon@yandex.ru

Ольга Васильевна Соколова¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии органов размножения и болезней молодняка, ORCID 0000-0002-1169-4090, AuthorID 648613; nauka_sokolova@mail.ru

Елена Владимировна Печура¹, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных болезней, ORCID 0000-0003-1344-4834, AuthorID 679245; ev-pechura@bk.ru

Алиса Сергеевна Романова¹, кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории лейкоза, ORCID 0000-0003-0189-2963, AuthorID 762742; alisic_kolotova@mail.ru

¹ Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

The role of PCR in the diagnosis of species-specific chlamydia in cattle

N. A. Bezborodova¹✉, V. V. Kozhukhovskaya¹, O. V. Sokolova¹, E. V. Pechura¹, A. S. Romanova¹

¹ Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

✉ E-mail: n-bezborodova@mail.ru

Abstract. The aim of the study was to study the practical value of the PCR method for the identification of chlamydia species in cattle. **Methods.** PCR diagnostics of biological material from cows and calves was carried out. **Results.** In the course of laboratory studies, it was found that in 17.1 % of cases the biological diversity of the chlamydia species was found in the biological material: the genomes of *Chlamydia spp.* (7.6 %), *Chlamydophila pecorum* (7.6 %) and *Chlamydophila abortus* (1.9 %). Specific DNA regions of the bacterium *Chlamydophila pecorum* were found in biological material from calves in 1.9 % of cases. The examined calves were found to have an acute form of chlamydial infection with respiratory damage, as well as keratoconjunctivitis. *Chlamydophila abortus* genomes were identified in biomaterials in 6.7 % of aborted cows, which confirmed the presence of latent and chronic chlamydial infection of the reproductive tract in them. Samples positive for *Chlamydia spp.* DNA of *Staphylococcus aureus* was detected (37.5 %). **Scientific novelty.** Currently, PCR diagnostics of bacteria of the genus *Chlamydophila*, which have a unique cycle of development of intracellular parasites, open up new opportunities for detecting the genetic material of the *Chlamydia* species in farm animals. The polymerase chain reaction method turned out to be highly sensitive and specific for the diagnosis of chlamydiae in farm animals with acute, latent, asymptomatic and chronic forms of the course of the infectious process. The difficulty in identifying pathogens with close genetic links (*Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila abortus* and *Chlamydophila picorum*) is determined by the quality of laboratory and diagnostic tools.

Keywords: cattle, infectious diseases, chlamydia, PCR method, genetic diversity, genomes, DNA, diagnostics.

For citation: Bezborodova N. A., Kozhukhovskaya V. V., Sokolova O. V., Pechura E. V., Romanova A. S. Rol' PTsR v diagnostike vidospetsifichnogo khlamidioza u krupnogo rogatogo skota [The role of PCR in the diagnosis of species-specific chlamydia in cattle] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2021. No. 01 (204). Pp. 30–35. DOI: ... (In Russian.)

Paper submitted: 12.08.2020.

References

1. Shilova E. N., Pechura E. V., Petrova O. G., Yurov K. P. Ostrye respiratornye virusnye bolezni krupnogo rogatogo skota [Acute respiratory viral diseases of cattle] // BIO. 2019. No. 4 (223). Pp. 30–33. (In Russian.)
2. Poryvaeva A. P., Shilova E. N., Nurmieva V. R., Ust'yantsev I. V. Napryazhennost' postvaksinal'nogo immuniteta k vozбудitel'yam ostrykh respiratornykh virusnykh infektsiy u telyat [Tension of post-vaccination immunity to pathogens of acute respiratory viral infections in calves] // Agricultural Science Euro-North-East. 2017. No. 6 (61). Pp. 41–45. (In Russian.)
3. Fernández-Aguilar X., Rossi L., Cabezón Ó., Giorgino A., Victoriano Llopis I., Frey J., López-Olvera J. R. Infectious keratoconjunctivitis and occurrence of *Mycoplasma conjunctivae* and *Chlamydiaceae* in small domestic ruminants from Central Karakoram, Pakistan // Veterinary Record. 2017. Vol. 181. Iss. 9. Article number 237. DOI: 10.1136/vr.103948.
4. Bezborodova N. A., Kozhukhovskaya V. V., Petropavlovskiy M. V., Tomskikh O. G. Polimeraznaya tsepnaya reaktsiya v diagnostike latentnykh, bessimptomnykh i khronicheskikh form infektsionnykh zabollevaniy krupnogo rogatogo skota [Poly-

merase chain reaction in the diagnosis of latent, asymptomatic and chronic forms of infectious diseases of cattle] // *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*. 2019. No. 4. Pp. 30–33. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.4.30. (In Russian.)

5. Kochetov V. V., Tatarnikova N. A., Kochetova O. V. Morfofunktsionalnye izmeneniya v tkanyakh posleda pri khlamidionoy infektsii u krupnogo rogatogo skota [Morphofunctional changes in the tissues of the afterbirth in chlamydia infection in cattle] // *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana*. 2015. Vol. 221. No. 1. Pp. 121–124. (In Russian.)

6. Shatleh-Rantisi D., Tamimi A., Ashhab Y. Improving sensitivity of single tube nested PCR to detect fastidious microorganisms. *Heliyon*. 2020. No. 6 (1). Article number e03246.2020. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03246.

7. Anstey S. I., Quigley B. L., Polkinghorne A., Jelocnik M. Chlamydial infection and on-farm risk factors in dairy cattle herds in South East Queensland // *Australian Veterinary Journal*. 2019. Vol. 97. Iss. 12. Pp. 505–508. DOI: 10.1111/avj.12879.

8. Álvarez D., Caro M. R., Buendía A.J., Schnee C., Ortega N., Murcia-Belmonte A., Salinas J. Effect of female sex hormones on the developmental cycle of *Chlamydia abortus* compared to a penicillin-induced model of persistent infection // *BMC Veterinary Research*. 2019. No. 15 (1). Article number 259. DOI: 10.1186/s12917-019-2013-7

9. Nie F., Gong Q., Yang J., Xi C., Wang Y., Wang G., Zhang L., Li X., Huo D., Hou C. Establishment of a Multiplex Real-Time TaqMan-MGB Polymerase Chain Reaction (PCR) Method for the Simultaneous Detection of Three Animal Chlamydia Species // *Medical Science Monitor*. 2019. No. 25. Pp. 9369–9376. DOI: 10.12659/MSM.918344.

10. Szymańska-Czerwińska M., Mitura A., Niemczuk K., Zaręba K., Jodelko K., Pluta A., Scharf S., Vitek B., Aaziz R., Vorimore F., Laroucau K., Schnee C. Dissemination and genetic diversity of chlamydial agents in Polish wildfowl: Isolation and molecular characterisation of avian *Chlamydia abortus* strains // *PLOS ONE*. 2017. No. 12. Article number e0174599. DOI: 10.1371/journal.pone.0174599.

11. Bommana S., Polkinghorne A. Mini Review: Antimicrobial Control of Chlamydial Infections in Animals: Current Practices and Issues // *Frontiers in Microbiology*. 2019. No. 10. Article number 113. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00113

12. Opota O., Brouillet R., Greub G., Jaton K. Methods for Real-Time PCR-Based Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, and *Chlamydia abortus* Infections in an Opened Molecular Diagnostic Platform // *Methods in Molecular Biology*. 2017. No. 1616. Pp. 171–181. DOI: 10.1007/978-1-4939-7037-7_11.

13. Shkuratova I. A., Shilova E. N., Sokolova O. V., Ryaposova M. V. Programmy kontrolya infektsionnykh faktorov, vliyayushchikh na reproduktivnyuyu funktsiyu vysokoproduktivnykh molochnykh korov [Programs for controlling infectious factors affecting the reproductive function of highly productive dairy cows] // *Veterinariya i kormlenie*. 2020. No. 2. Pp. 54–57. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-13. (In Russian.)

14. Barati S., Moori-Bakhtiari N., Najafabadi M. G., Momtaz H., Shokuhizadeh L. The role of zoonotic chlamydial agents in ruminants abortion // *Iranian Journal of Microbiology*. 2017. No. 9 (5). Pp. 288–294.

15. Di Blasio A., Traversa A., Giacometti F., Chiesa F., Piva S., Decastelli L., Dondo A., Gallina S., Zoppi S. Isolation of *Arcobacter* species and other neglected opportunistic agents from aborted bovine and caprine fetuses. *BMC Veterinary Research*. 2019. No. 15 (1). Article number 257. DOI: 10.1186/s12917-019-2009-3.

Authors's information:

Natalya A. Bezborodova¹, candidate of veterinary sciences, senior researcher of the department of veterinary laboratory diagnostics with a testing laboratory, ORCID 0000-0003-2793-5001, AuthorID 665979; +7 904 981-72-14, n-bezborodova@mail.ru

Veronika V. Kozhukhovskaya¹, junior researcher of the department of veterinary laboratory diagnostics with testing laboratory, ORCID 0000-0001-7924-6844, AuthorID 1002627; tetramegon@yandex.ru

Olga V. Sokolova¹, candidate of biological sciences, senior researcher at the laboratory of pathology of reproduction organs and diseases of young animals, ORCID 0000-0002-1169-4090, AuthorID 648613; nauka_sokolova@mail.ru

Elena V. Pechura¹, candidate of veterinary sciences, senior researcher at the laboratory of viral diseases, ORCID 0000-0003-1344-4834, AuthorID 679245; ev-pechura@bk.ru

Alisa S. Romanova¹, candidate of technical sciences, senior researcher of the department of veterinary laboratory diagnostics with a testing laboratory, ORCID 0000-0003-0189-2963, AuthorID 762742; alistic_kolotova@mail.ru

¹ Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia