

3. Высокое защитное действие относительно воздействия исследуемых микотоксинов проявил Токси-Нил® Плюс Юнике из расчета 1,5 кг/т корма, несколько меньшим оно было в энтеросорбентов Микофикс® Плюс 3.Е в количестве 1,5 кг/т корма и березового активированного угля в количестве 3% от сухого вещества корма.

Литература. 1. *Important mycotoxins and the fungi which produce them* / J.C. Frisvad, U. Thrane, R.A. Samson, J.I. Pitt // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2006. – Vol. 571. – P. 3–31. 2. *Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds, and feed ingredients* / E.M.Binder, L.M. Tan, L.J. Chin [et al.] // *Anim. Feed Sci. Tech.* – 2007. № 137. – P. 265–282. 3. Иванов А.В. *Актуальные проблемы профилактики микотоксикозов* / А.В. Иванов, М.Я. Тремасов, Г.М. Нуртдинов // *Ветеринарный врач.* – 2008. – № 2. – С. 2–3. 4. Жуленко В.Н. *Ветеринарная токсикология* / В.Н. Жуленко, М.И. Рабинович, Г.А. Таланов – М. : Колос, 2002. – 384 с. – ISBN 5-9532-0016-1. 5. *Synergistic effects between discussed* [Электронный ресурс] / Katia Pedrosa, Radka Borutova. – Режим доступа: <https://service.admani.com/portal/pls/portal/docs/1/3645871.PDF>. 6. *Mycotoxicosis in poultry. What to look for* [Электронный ресурс] / Dr. Swamy Haladi. – Режим доступа : http://www.knowmycotoxins.com/documents/Dr.SwamyHaladi_000.pdf. 7. Антипов В.А. *Микотоксикозы важная проблема животноводства* / В.А.Антипов, В.Ф. Васильев, Т.Г. Кутыцева // *Ветеринария* – 2007. – № 11. – С.7. 8. *Ветеринарна токсикология: підруч. для студ. ВНЗ / Хмельницький Г.О., Малінін О.О., Куцан О.Т., Духницький В.Б. – К. : Аграрна освіта, 2012. – 352 с. – ISBN 978-966-2007-32-9.*

Статья передана в печать 19.06.2014 г.

УДК 619:579.841.94:579.22

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА 16S rRNA, *CyaA*, *fhaB*, *BfrZ* ШТАММА *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* КМИЭВ В-120, В СРАВНЕНИИ СО ШТАММАМИ КОЛЛЕКЦИИ АТСС (АМЕРИКАНСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ТИПОВЫХ КУЛЬТУР)

*Вербицкий А.А., **Лемиш А.П.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск
** РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

При помощи ПЦР анализа проведена идентификация генов бактерий Bordetella, секвенирование кДНК бордетелл, сравнительный анализ первичных структур 16S rRNA1, 16S rRNA2, BfrZ, fimX, bvgR, Prn, CyaA, FhaS, fhaB, различных форм патогенных бактерий и поиск мутаций, которые могут влиять на функции генов кодирующих факторы вирулентности.

Using PCR analysis of genes of bacteria Bordetella, cDNA sequencing of Bordetella, a comparative analysis of primary structures 16S rRNA1, 16S rRNA2, BfrZ, fimX, bvgR, Prn, CyaA, FhaS, fhaB, various forms of pathogenic bacteria and search for mutations that can affect the functions of the genes encoding the virulence factors.

Ключевые слова: бордетелла, праймер, ген, анализ, секвенирование, вирулентность.

Keywords: bordetella, primer, gene, analysis, sequencing, virulence.

Введение. Бактерии рода *Bordetella* являются патогенными микроорганизмами, широко распространенными в природе.

Bordetella pertussis, *Bordetella parapertussis*, возбудитель коклюша и паракоклюша у человека, был впервые выделен в 1906 году. Коклюш, вызывающий кашель, в настоящее время является одной из десяти наиболее распространенных причин смерти от инфекционных заболеваний. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2002 году во всем мире, в основном среди невакцинированных лиц, чаще всего «третьих стран», было зарегистрировано 50 миллионов случаев заболеваний, повлекших за собой 294 000 смертей. В США, где существует высокий уровень вакцинаций, в 2004 году было зарегистрировано 18957 случаев. В Великобритании, в 2002 году 1054 случая, несмотря на вакцинацию 95% населения (ВОЗ, статистика, 2006). В планах Великобритании стоит введение дошкольной ревакцинации, что по прогнозам, позволит снизить количество госпитализаций вызванных коклюшем за пятилетний период с 28 000, до 1400.

Bordetella bronchiseptica, аналогично с *Bordetella pertussis* у человека, возбудитель бронхолегочных заболеваний у свиней, в ассоциации с *Pasteurella multocida* вызывает атрофический ринит.

Целью исследований явилось выявление генов ответственных за синтез белков клеточной стенки, фимбрий, токсинов в ПЦР и сравнительный сиквенс анализ полученных фрагментов ДНК.

Материал и методы исследований. Исследования проводились в лаборатории молекулярной биологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», в лаборатории белковых молекул ГУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ.

В работе использовали музейные штаммы РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», а также штаммы американской коллекции микроорганизмов:

- *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120;
- *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617;
- *Bordetella bronchiseptica* ATCC 10580;

- *Bordetella parapertussis* ATCC 15311.

В работе было задействовано следующее оборудование:

- микротермостат «BIOSAN-CH100»(Латвия);
- амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США);
- персональный компьютер (Windows XP, 2 GHz, 512 Mb RAM, 80 Gb HDD, CD-RW, USB 2.0, мышь);
- микроцентрифуга высокоскоростная (14 000 об/мин) Jouan (Франция);
- комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария), вместимостью 0,1-2 мкл, 0,5-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 1-10 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров);
- пробирки для микропроб типа «эппендорф» вместимостью 0,5 и 1,5 мл;
- вортекс «BIOSAN» (Латвия);
- пробирки для ПЦР вместимостью 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler»;
- холодильник «Атлант МХМ 1841» (ЗАО «Атлант», РБ);
- система для электрофореза «Consort», (Бельгия);
- Gel Doc XR и программа imageLab Software, BIO-RAD (США);
- термостат SEL LAB (Германия);
- весы RADWAG AS 220/X (Польша);
- система подготовки чистой воды «Crystal В», ADRONA (Латвия).

Применялись следующие реактивы:

- 10x PCR буфер для Tag ДНК-полимеразы (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»);
- 10x TE-буфер pH 8,0 (SIGMA);
- TAE: 0,04M трис ацетат, 0,002M ЭДТА;
- маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва);
- термостабильная ДНК-полимераза (Taq-полимераза, 5 ед/мкл) (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»);
- раствор MgCl₂ (50 mM);
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (25 mM) (Fermentas, Литва);
- праймеры общие и для определения генов кодирующих факторы вирулентности бактериальной клетки (указаны в таблице 1);
- агароза (helicon, Россия);
- буфер для нанесения проб;
- бромистый этидий (SIGMA, США);
- стерильная деионизированная вода.

Поиск праймеров. Поиск нуклеотидных последовательностей проводили по базам данных GeneBank – Национального института здоровья США, EMBL – Европейской молекулярно-биологической лаборатории, DDBJ – Национального института генетики Японии и PDB – базы данных белковых последовательностей при помощи поисковой системы Entrez Национального центра биотехнологической информации США.

Анализ выбранных нуклеотидных последовательностей на вариабельность и поиск консервативных участков, необходимых для выбора праймеров ,проводили с помощью программы Vector NTI и BLAST on-line (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast).

Выбранные праймеры были синтезированы в ОДО «Праймтех» (г. Минск).

Выделение ДНК на мини-колонокках. Для выделения ДНК из бактериальной культуры в пробирку объемом 1,5 мл с помощью бактериальной петли переносили отдельную колонию бактерий.

В пробу добавляли 800 мкл лизисного буфера. В течение 7-10 минут встряхивали на вортексе при комнатной температуре. 500 мкл раствора наносили на колонку и центрифугировали 1 минуту при 14 000 об./мин, субнатант удаляли. Затем на колонку наносили 500 мкл лизисного буфера и снова центрифугировали 1 минуту при 14 000 об./мин, субнатант удаляли. На следующем этапе сначала на колонку наносили 500 мкл промывочного раствора 1, центрифугировали 1 минуту при 14 000 об./мин, удаляли субнатант, а потом повторяли то же самое с промывочным раствором 2. После вышеуказанных этапов колонки переносили в новые пробирки. Далее на фильтр наносили 200 мкл буфера для элюции, выжидали 5 минут, после чего центрифугировали 2 минуты при 14 000 об./мин. В результате выполненных процедур получили субнатант, в котором присутствует ДНК.

Наличие в субнатанте ДНК и ее чистоту проверяли на спектрофотометре SPEKOL 1300, Analytik Jena (Германия).

Амплификация ДНК. Были оптимизированы условия проведения ПЦР, по методикам, описанным Cobb et al. (1994). Температурные режимы отжига и элонгации были скорректированы для получения оптимальных параметров проведения ПЦР. Для всех реакций был использован амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США). Продукты ПЦР хранили при -20 С.

Во время дизайна праймеров были предприняты меры, чтобы избежать появления возможных внутренних вторичных структур там, где это возможно, а GC фрагмент был подобран в области 3'концевой части праймера. Кроме того, каждый из праймеров был проверен на возможные формирования петель, димеров, вторичных структур праймеров, вычислялась оптимальная температура отжига праймеров согласно следующему уравнению:

$$T_m \text{ } ^\circ\text{C} = 4 (G+C) + 2 (A+T) - 5 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Регистрация продуктов амплификации. Регистрация продуктов амплификации при постановке PCR проводили при помощи электрофореза в 2% агарозном геле. Для этого 10 мкл продуктов амплификации смешивали с 3 мкл буфера для нанесения проб и вносили в лунки геля. Электрофорез проводили при

напряжении 70 В в течение 1 часа, после чего переносили гель на Gel Doc XR с imageLab Software, BIO-RAD (США) и проводили компьютерный анализ полученного изображения, меняя фильтры, а также используя функцию 3D изображения.

Выращивание и получение биомассы бактерий рода *Bordetella*. Бордетеллы выращивали на обычном мясопептонном агаре (МПА), содержащем до 15% дефибринированной крови лошади и 1% глицерина. Чашки Петри с посевами помещались в термостат при температуре 37°C с увлажнителем и инкубировались в термостате до 3-х суток. Выращенные колонии на чашках Петри использовались в дальнейшей работе, хранение осуществлялось в условиях холодильника в течении 7-10 суток.

Результаты исследований. Культуры микроорганизмов, использованные в работе, вначале проверили на биохимические свойства:

- *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120
- *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617;
- *Bordetella bronchiseptica* ATCC 10580;
- *Bordetella parapertussis* ATCC 15311;

Бактериальные культуры, выращенные на чашке Петри, были идентифицированы на диагностическом приборе VITEK 2 фирмы *BIOMERIEUX*. Результаты проверки представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Изучение фенотипических свойств – биохимического профиля

Наименование показателя	Результат			
	<i>Bordetella parapertussis</i> ATCC 15311	<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617	<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 10580	<i>Bordetella bronchiseptica</i> КМИЭВ В-120
Ain Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	-	-	-
ADONITOL	-	-	-	-
L Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-	+	+	-
L-ARABITOL	-	-	-	-
D-CELLOBIOSE	-	-	-	-
BETA-GALACTOSIOASE	-	-	-	-
H2S PRODUCTION	-	-	-	-
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-	-	-	-
Glutaryl Arylamidase pNA	+	+	-	+
D-GLUCOSE	-	-	-	-
GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE	-	-	-	-
FERMENTATION/GLUCOSE	-	-	-	-
BETA GLUCOSIDASE	-	-	-	-
D -MALTOSE	-	-	-	-
D-MANNITOL	-	-	-	-
O-MANNOSE	-	-	-	-
BETA-XYLOSIOASE	-	-	-	-
BETA-Alanine arylamidase pNA	-	-	-	-
L-Proline ARYLAMIDASE	+	+	+	+
LIPASE	-	-	-	-
PALATINOSE	-	-	-	-
Tyrosine ARYLAMIDASE	+	+	+	+
UREASE	+	+	+	+
D-SORBITOL	-	-	-	-
SACCHAROSE-SUCROSE	-	-	-	-
D-TAGATOSE	-	-	-	-
D-TREHALOSE	-	-	-	-
CITRATE (SODIUM)	+	+	+	+
MALONATE	-	-	-	-
S-KETO-O-GLUCONATE	-	-	-	-
L-LACTATE alkalization	+	+	+	+
ALPHA GLUCOSIDASE	-	-	-	-
SUCCINATE alkalization	-	+	+	-
BETA-NACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-	-	-	-
ALPHA-GALACTOSIDASE	-	-	-	-
PHOSPHATASE	-	-	-	-
Glycino ARYLAMIOASE	-	-	-	-
ORNITHINE DECARBOXYLASE	-	-	-	-
LYSINE DECARBOXYLASE	-	-	-	-
L-HISTIDINE	-	-	-	-
COURMARATE	-	-	-	-
BETA GLUCORONIDASE	-	-	-	-
O/129 RESISTANCE	-	-	-	-
Glu-Gly-A/g-ARYLAMIDASE	-	-	-	-
L-MALATE assimilation	-	-	-	-
ELLMAN	-	-	-	-
L-LACTATE	-	-	-	-

Как видно из представленной таблицы, биохимические свойства изучаемых культур микроорганизмов, как музейных ATCC, так и отечественного вакцинного, имеют незначительные различия, свидетельствующие о значительном сходстве фенотипических характеристик.

В дальнейшей работе был проведен генетический анализ изучаемых микроорганизмов, в отношении наличия или отсутствия генов, кодирующих факторы вирулентности по праймерам, представленными в таблице 2, на рисунке 1.

Таблица 2 - Наименование генов их функция, олигонуклеотидных последовательностей и длина мишеней

№	Праймер	Последовательность**, 5'-3'	П.н.	Функция гена
1	<i>16S rRNA 1 (f)</i>	CTACGGGGGAAAGCGGGGGA	711	16s субъединица рибосомальной РНК
	<i>(r)</i>	GACCGTACTCCCCAGGCGGT		
2	<i>16S rRNA 2 (f)</i>	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	520	16s субъединица рибосомальной РНК
	<i>2 (r)</i>	GCGGCTGCTGGCACG		
3	<i>BfrZ (f)</i>	GGACGACCAGGATCACATCTTCC	298	Рецептор сидерофора, Транспорт железа
	<i>BfrZ (r)</i>	GCTTTCTGGTAGTTGGCGTAGG		
4	<i>fimX (f)</i>	CACGATCGAGGACCCGAG	123	Синтез субъединицы фимбрии
	<i>fimX (r)</i>	TTGGAGATCGTGGGCAGG		
5	<i>bvgR (f)</i>	TGCTTACCGTCAGCACGTTTCA	104	<i>bvgR</i> репрессивный ген, подавляет синтез факторов вирулентности клетки
	<i>bvgR (r)</i>	GCATACATGAGTTCTGGCATCAG		
6	<i>Pm (f)</i>	CAATGTCACGGTCCAACGCA	587	Синтез пертактина
	<i>Pm (r)</i>	GCCTGCAAGGTGATCGACAG		
7	<i>CyaA (f)</i>	GTGGCTGGCCTGGTTCATGA	1072	Оксидоредуктаза, регуляция окислительно-восстановительных реакций
	<i>CyaA (r)</i>	CGTTGTAAAACAGCGACGCCAACG		
8	<i>FhaS (f)</i>	CCAGCGCGGCCCGCTCAGCC	117	Филаментозный гемагглютинин, прикрепление к слизистому эпителию
	<i>FhaS (r)</i>	GCCGGCACGCACCGACAGCGGTT		
9	<i>fhaB(f)</i>	ggaaaagtctgaattcccgcgc	338	Филаментозный гемагглютинин, прикрепление к слизистому эпителию
	<i>fhaB (r)</i>	CGGTGCAATGCTCGCTCACGG		

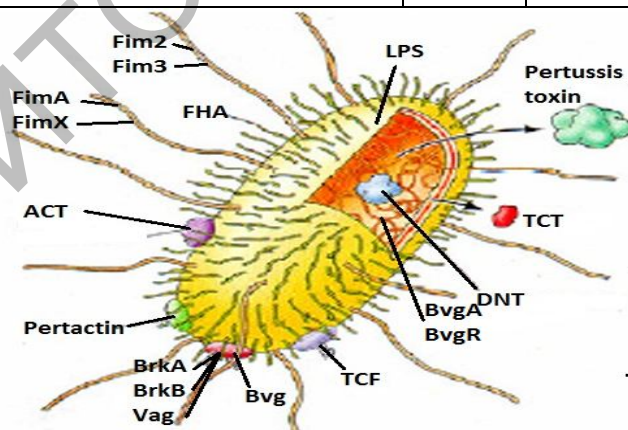


Рисунок 1 - Факторы вирулентности *Bordetella*. Рисунок доработан

<http://www.bio.davidson.edu/people/sosarafova/Assets/Bio307/jolancaster/assets/virulence%20factors.gif>

На представленном рисунке указаны следующие факторы вирулентности *Bordetella spp.*: Fim2/Fim3 FimX/FimA – фимбриальные белки; LPS - липополисахариды; Pertussis toxin – пертуссис токсин (для *B.pertussis*); TCT – трахеальный цитотоксин; DNT – дермонекротический токсин; BvgA/BvgR – двухкомпонентная система регуляции факторов вирулентности; TCF – фактор колонизации трахеи; BrkA/BrkB – фактор резистентности *Bordetella*; Pertactin - петрактин; ACT – аденилатциклаза токсин;

При постановке ПЦП с праймерами *rRNA1 (f/r)* и *16S rRNA2 (f/r)* (рисунок 2) было установлено, что все исследуемые штаммы формируют в электрофорезном геле светящуюся полосу, соответственно имеют специфический ген, кодирующий 16S субъединицу РНК.

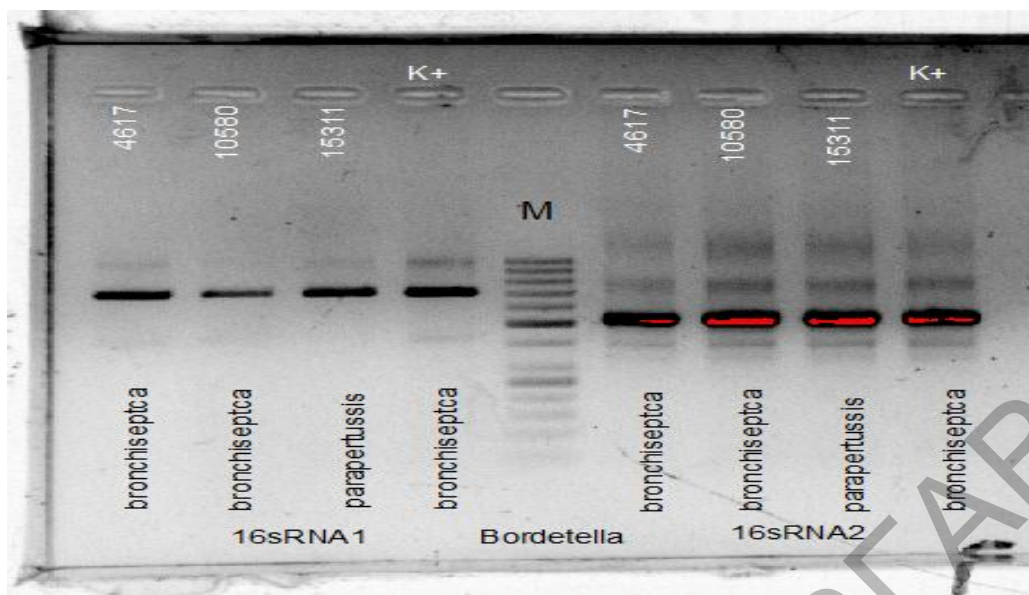
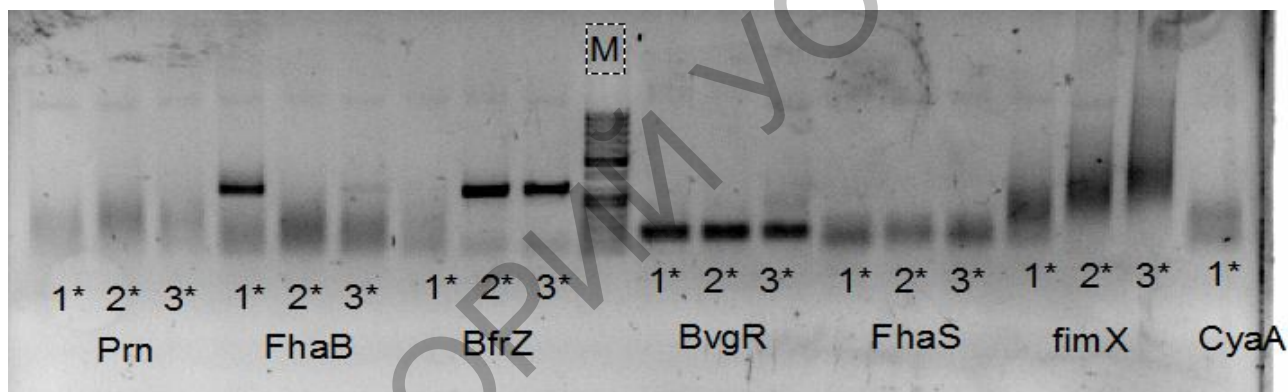


Рисунок 2 - ПЦР с праймерами 16S rRNA1/16S rRNA 2

При постановке ПЦР с набором праймеров, указанных в таблице 1, формирование специфической длины фрагмента светящейся полосы было выявлено только на отдельные праймеры.



2* 3*
CyaA

1* - *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617; 2* - *Bordetella bronchiseptica* ATCC 10580; 3* - *Bordetella parapertussis* ATCC 15311

Рисунок 3 - ПЦР с праймерами, определяющими факторы вирулентности

Из представленного рисунка видно, что формирование продукта амплификации произошло только на мишени *FhaB* у штамма *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617 и *Bordetella parapertussis* ATCC 15311, на мишени *BfrZ* у штаммов *Bordetella bronchiseptica* ATCC 10580, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311;

Примечательным является то, что у всех штаммов, полученных из коллекции ATCC, было выявлено наличие гена (*BvgR*), отвечающего за функцию рецессии, т.е. снижения активности белков вирулентности, и отсутствие такового у отечественного вакцинного штамма *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120. Помимо этого у отечественного вакцинного штамма был обнаружен нитевидный гемагглютинин, *FhaB* который является основным фактором вирулентности *Bordetella spp.*, а также основным компонентом бактериальных бесклеточных вакцин.

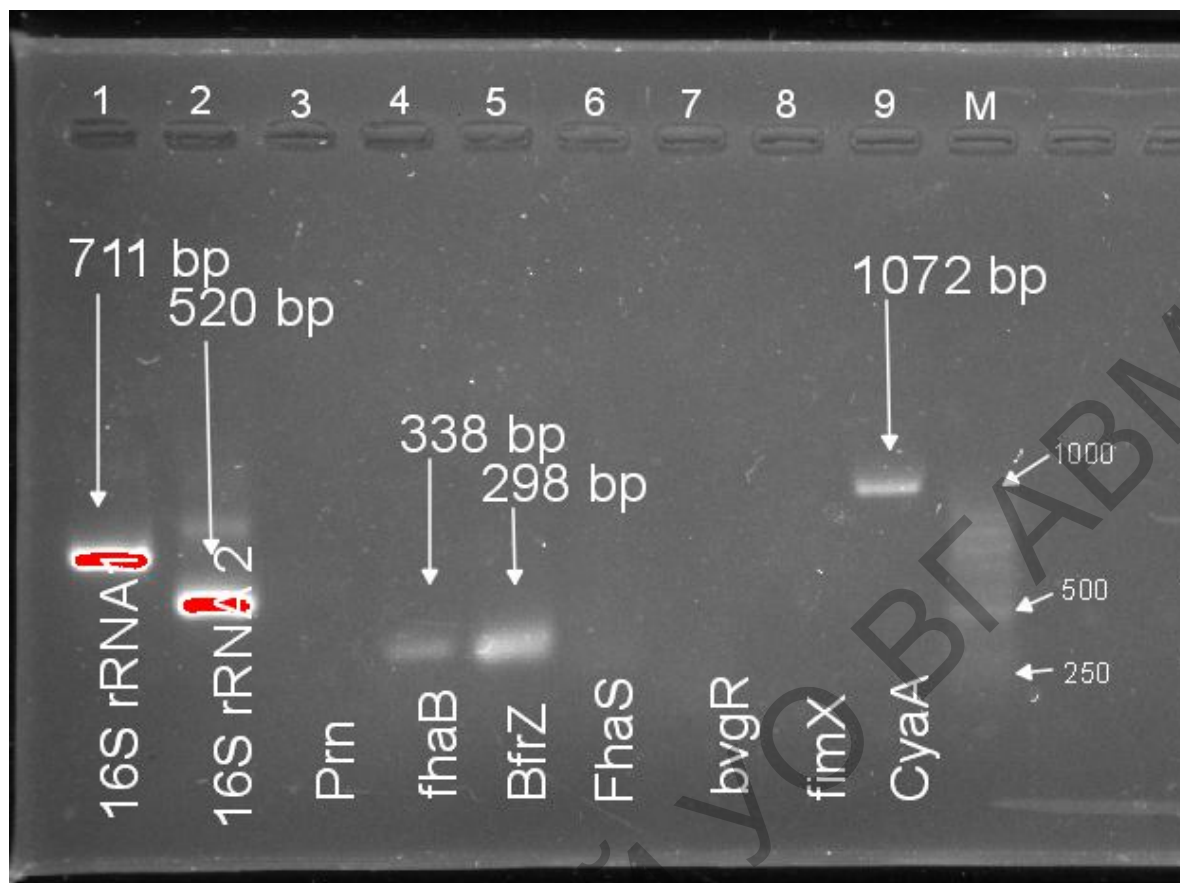


Рисунок 4 - ПЦР анализ *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с праймерами, определяющими факторы вирулентности

Постановку реакции секвенирования осуществляли, используя набор BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Секвенирование каждого образца проводили с прямым (F) и обратным (R) праймерами. Очистку секвенс-продуктов проводили, используя набор Applied Biosystems BigDye XTerminator Purification Kit. Анализ секвенс-продуктов проводили на приборе Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer (POP7 polymer, capillary length 36 cm).

Полученные сиквенсы полностью гомологичны референсной последовательности DNA 'EU082134' *Bordetella* sp. AU3139 16S ribosomal RNA gene, partial sequence, а также штаммам *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311, и *Bordetella bronchiseptica* ATCC 10580. (Рисунок 5-6)

EU082134	(242)	CACTGGG- ACTGAG - ACACGG - CCCAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
1_F	(100)	CACTGGG- ACTGAG - ACACGG - CCCAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
1_R	(136)	CACTGGG- ACTGAG - ACACGG - CCCAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
4617_16SRNA1-F	(100)	-CCTGGG- ACTGAG - A-ACGGCCCTTTTTC AAACGAGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
4617_16SRNA1-R (c)	(60)	CACTGGGG ACTGAG - ACACGGCC CAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT TGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
15311_16SRNA1_F	(99)	CACTGGG- ACTGAG - ACACGG - CCTAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
15311_16SRNA1_R	(31)	CACTGGGG ACTGAG GACACGG - CCCAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
10580_16SRNA1-F	(105)	CACTGGG- ACTGAG - ACACGG - CCCAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT- GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
10580_16SRNA1-R	(60)	CACTGGGG ACTGAG - ACACGGCC CAGACTCCTACG -GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT TGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA
Consensus	(256)	CACTGGG ACTGAG ACACGG CCCAGACTCCTACG GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTT GGACAATGGGGGCAACCCTGATCCA 341 425
EU082134	(322)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
1_F	(180)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
1_R	(216)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
4617_16SRNA1-F	(180)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
4617_16SRNA1-R (c)	(143)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA GCACTTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGTTAATATCCTGTGCA
15311_16SRNA1_F	(179)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
15311_16SRNA1_R	(113)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGTTAATATCCTGTGCA
10580_16SRNA1-F	(185)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA -GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA
10580_16SRNA1-R	(143)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA GCACTTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGTTAATATCCTGTGCA
Consensus	(341)	GCCATCCC CGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA GCAC TTTTGGCAGGAAAGAAACGGCACGGGCTAATATCCTGTGCA 426 510
EU082134	(406)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
1_F	(264)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
1_R	(300)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
4617_16SRNA1-F	(264)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
4617_16SRNA1-R (c)	(228)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
15311_16SRNA1_F	(263)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
15311_16SRNA1_R	(197)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
10580_16SRNA1-F	(269)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
10580_16SRNA1-R	(228)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT
Consensus	(426)	ACTGACGGTACCTGCAGAA TAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATT 511 595
EU082134	(491)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
1_F	(349)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
1_R	(385)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
4617_16SRNA1-F	(349)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
4617_16SRNA1-R (c)	(313)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
15311_16SRNA1_F	(348)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
15311_16SRNA1_R	(282)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
10580_16SRNA1-F	(354)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC
10580_16SRNA1-R	(313)	ACTGGGCGTAAAGCGTGC GCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTTAACCTTGGA ACTGCATTTTTAACTACC

Рисунок 5 - Сиквенс анализ участка 16S ribosomal RNA1 gene

		454		523
	NC_01_22f6	(450)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	4617_16SRNA2_F	(105)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	4617_16SRNA2-R	(140)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	4617_16SRNA2_R	(139)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	15311_16SRNA2-F	(44)	GCTGGATCAGGGTTGCGCCCTTATTGAACCAAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	15311_16SRNA2-R	(140)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	10580_16SRNA2-F	(47)	GCTGGATCAGGGTTGCGCCCTTATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	10580_16SRNA2-R	(138)	GCTGGATCAGGGTTG--CCCCATTGT--CCAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
	2_F	(110)	GAGGGGATAACTAC--TGGAAACGGTAGCTAA--TACCGCATAAGTGCGAAGACCAAAGAGGGGGACCT	
	2_R	(140)	GAGGGGATAACTAC--TGGAAACGGTAGCTAA--TACCGCATAAGTGCGAAGACCAAAGAGGGGGACCT	
	KF182272	(135)	GAGGGGATAACTAC--TGGAAACGGTAGCTAA--TACCGCATAAGTGCGAAGACCAAAGAGGGGGACCT	
	<i>B. bronchiseptica</i> 253, rRNA	(129)	CGGGGATAACTAC--GCGAAAGCGTGGTAA--TACCGCATACGCCCTAGGGGGAAAGCGGGGACCT	
	NR_103933	(137)	GGGGGUAUAACUAC--GCGAAAGCGTGGTAA--TACCGCAUACGCCCUAGGGGGAAAGCGGGGACCU	
	Consensus	(454)	GCTGGATCAGGGTT CCCCCATTGT CCAAAAATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGT	
			524	593
	NC_01_22f6	(517)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	4617_16SRNA2_F	(172)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	4617_16SRNA2-R	(207)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	4617_16SRNA2_R	(206)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	15311_16SRNA2-F	(114)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	15311_16SRNA2-R	(207)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	10580_16SRNA2-F	(116)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	10580_16SRNA2-R	(205)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGTAGGCCGTTACC	
	2_F	(177)	TCGGGCCCTTGGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGGC	
	2_R	(207)	TCGGGCCCTTGGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGGC	
	KF182272	(202)	TCGGGCCCTTGGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGGC	
	<i>B. bronchiseptica</i> 253, rRNA	(196)	TCGGGCCCTGCACTATTGGAACGGCCGATATCGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCAAGGGC	
	NR_103933	(204)	UCGGGCCUCGCACUAUUGGACCGGCCGUAUUGGAAUAGCUAUGUUGGUGGGUAACGGCCUAACCAAGGC	
	Consensus	(524)	GTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTGCCTTGGT GGCCGTTACC	
			594	663
	NC_01_22f6	(587)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	4617_16SRNA2_F	(242)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	4617_16SRNA2-R	(277)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	4617_16SRNA2_R	(276)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	15311_16SRNA2-F	(184)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	15311_16SRNA2-R	(277)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	10580_16SRNA2-F	(186)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	10580_16SRNA2-R	(275)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT-----CGGCCGCT--CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCCG-GC	
	2_F	(247)	AGGATCCC TAGCTGGTCTGAGAGGATGACAGGCCACTGGAACTGAGACAGGTCAGACTCCCTAGGGG	
	2_R	(277)	AGGATCCC TAGCTGGTCTGAGAGGATGACAGGCCACTGGAACTGAGACAGGTCAGACTCCCTAGGGG	
	KF182272	(272)	AGGATCCC TAGCTGGTCTGAGAGGATGACAGGCCACTGGAACTGAGACAGGTCAGACTCCCTAGGGG	
	<i>B. bronchiseptica</i> 253, rRNA	(266)	AGGATCCG TAGCTGGTTT GAGAGGACGACAGGCCACTGGGA ACTGAGACAGGTCAGACTCCCTAGGGG	
	NR_103933	(274)	AGGAUCCG UAGCUGGUUU GAGAGGACGACAGGCCACUUGGAAUCUAGACAGGTCAGACTCCCTAGGGG	
	Consensus	(594)	CCACCAACTAGCTAATCCGATAT CCGGCCGCT CCAATAGTGCGAGGCCCGAAGGTCCCC GC	

Рисунок 6 - Сиквенс анализ участка 16S ribosomal RNA2 gene

73 132

B. bronchiseptica 253, partial genome. (67) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGG-AGGCCGTG-CCGGA
 bordetella(13.9)_F (40) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGGTAGGCCGTG-CCGGA
 bordetella(13.9)_R (67) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGG-AGGCCGTG-CCGGA
 bordetella(9.8)_F (34) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGGCCCGG--AGGCCGTG-CCGGA
 bordetella(9.8)_R (57) CTAAATCCTTTGTTCACTCTGTTCTA---TTGCATGA--GAGAAAGG--GG--GGA
 4617_BfrZ-F (43) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGGTAGGCCGTG-CCGGA
 4617_BfrZ-R (68) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGG-AGGCCGTG-CCGGA
 10580_BfrZ-F (1) -----CTA--AAATCCCGCTTAAAGA--ACACGGTGTCCGGA
 10580_BfrZ-R (68) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG-AAATGG-AGGCCGTG-CCGGA
 Consensus (73) CTCCCGCTTCGACACCACGCTGACCTACGAACGCATGG AAATGG AGGCCGTG CCGGA
 133 192

B. bronchiseptica 253, partial genome. (124) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 bordetella(13.9)_F (99) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 bordetella(13.9)_R (124) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 bordetella(9.8)_F (91) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 bordetella(9.8)_R (107) G-AGGAGAA-AACAT-CCGCATCAGCAA--CCGGAA-AGCCCCTA-AAC-GGTCAGTACT
 4617_BfrZ-F (101) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 4617_BfrZ-R (125) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTACAGGTCAGTACT
 10580_BfrZ-F (34) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCCTTCCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 10580_BfrZ-R (125) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA--CCGGAA-CAGCCCCTACTAC-GGTCAGTACT
 Consensus (133) GCAGGAGAACAAACATCCGCATCAGCAA CCGGAA CAGCCCCTACTAC GGTCAGTACT
 193 252

B. bronchiseptica 253, partial genome. (180) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 bordetella(13.9)_F (155) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 bordetella(13.9)_R (180) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCTCCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 bordetella(9.8)_F (147) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 bordetella(9.8)_R (158) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCTCCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 4617_BfrZ-F (157) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 4617_BfrZ-R (182) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCAATACGAAACCGACCGG-CGCCGGTCC
 10580_BfrZ-F (93) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 10580_BfrZ-R (181) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGAAACGAAACCGCGCGGTCAACCGAAACCG
 Consensus (193) ATCCGGTCCCGCGCGACTTCTTCTGGGGCAGCCTCAACGACCGCGCGGTCAACCGAAACCG

Рисунок 7 - Сиквент анализ участка *BfrZ* gene

58 145

BvgR gene (1) -----TGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATCTTCGGCATCGCCCTGA
 4617_Bvg-R (17) AAAGCGAAG--TTGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATTTGGGCTAT-----
 4617_bvgR (58) ACAGGTTCAATTTGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATAAGCG-----
 Consensus (58) AAGG G TTGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA CCTGGACGCTGGAAAT TG GC AT

Рисунок 8 - Сиквент анализ участка генома *BvgR* штамма *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617

73 152

BvgR gene fragment (1) TGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATCTTCGGCATCGCCCTGATGCC
 15311_Bvg-F (1) -----ACCTGGACGCGCTGGAAATCTTCGGCATCGCCCTGATGCC
 15311_bvgR (73) TGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATCTTCGGCATCGCCCTGATGCC
 Consensus (73) TGCTTACCCTCAGTACGTTTCGATGCCGAGTGCGCCCGCA--CCTGGACGCTGGAAATCTTCGGCATCGCCCTGATGCC
 153 173

BvgR gene fragment (80) AGAACTCATGTATGC-----
 15311_Bvg-F (45) AGAACTCATGTATGCATTTTC
 15311_bvgR (135) -----
 Consensus (153) AGAACTCATGTATGC

Рисунок 9 - Сиквент анализ участка генома *BvgR* штамма *Bordetella parapertussis* ATCC 15311

Выявленное родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами 16s rRNA (1) (NCBI) представлено в таблице 3.

Таблица 3 - Родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами 16s rRNA (1) (NCBI)

№	Наименование последовательности	Наименование штамма	Родство	Ссылка ID NCBI
1	dbj AP014582.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> DNA, complete genome, strain: S798	100%	AP014582.1
2	Gb KC197061.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain LHZ014 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	KC197061.1
3	emb HE965806.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> 253 complete genome	100%	HE965806.1
4	emb HE965807.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> MO149 complete genome	100%	HE965807.1
5	Ref NR_113628.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain NBRC 13691 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	NR_113628.1
6	Gb EU082176.1	<i>Bordetella</i> sp. AU13667 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082176.1
7	Gb EU082173.1	<i>Bordetella</i> sp. AU13153 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082173.1
8	Gb EU082172.1	<i>Bordetella</i> sp. AU13151 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082172.1
9	Gb EU082167.1	<i>Bordetella</i> sp. AU12238 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082167.1
10	Gb EU082153.1	<i>Bordetella</i> sp. AU8057 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082153.1
11	Gb EU082152.1	<i>Bordetella</i> sp. AU7812 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082152.1
12	Gb EU082150.1	<i>Bordetella</i> sp. AU7176 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082150.1
13	Gb EU082145.1	<i>Bordetella</i> sp. AU6649a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082145.1
14	Gb EU082143.1	<i>Bordetella</i> sp. AU6486 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082143.1
15	Gb EU082141.1	<i>Bordetella</i> sp. AU6102 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082141.1
16	Gb EU082140.1	<i>Bordetella</i> sp. AU5937 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082140.1
17	Gb EU082137.1	<i>Bordetella</i> sp. AU4851 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082137.1
18	emb BX640447.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 11/16	100%	BX640447.1
19	emb BX640449.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 13/16	100%	BX640449.1
20	emb BX640442.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 6/16	100%	BX640442.1
21	emb BX640434.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 12822, complete genome; segment 12/14	100%	BX640434.1
22	emb BX640430.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 12822, complete genome; segment 8/14	100%	BX640430.1
23	emb BX640428.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 12822, complete genome; segment 6/14	100%	BX640428.1
24	Gb AF366577.1 AF366577	<i>Bordetella parapertussis</i> strain B24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	AF366577.1
25	emb X57026.1	<i>B. bronchiseptica</i> 16S ribosomal RNA	100%	X57026.1
26	Gb EU082134.2	<i>Bordetella</i> sp. AU3139 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU082134.2
27	emb AJ278452.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> partial 16S rRNA gene, strain DSM 10303	99%	AJ278452.1
28	emb AJ278450.1	<i>Bordetella parapertussis</i> partial 16S rRNA gene, strain DSM 4922	99%	AJ278450.1
29	Gb JQ404491.1	<i>Bordetella</i> sp. XJ-ZF1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	JQ404491.1
30	Gb FJ626822.1	<i>Bordetella</i> sp. ScyaBb-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	FJ626822.1
31	Gb EU082171.1	<i>Bordetella</i> sp. AU12671 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082171.1
32	Gb EU082169.1	<i>Bordetella</i> sp. AU12461 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082169.1
33	Gb EU082168.1	<i>Bordetella</i> sp. AU12410 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082168.1
34	Gb EU082164.1	<i>Bordetella</i> sp. AU11351 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082164.1
35	Gb EU082155.1	<i>Bordetella</i> sp. AU8574 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082155.1
36	Gb EU082144.1	<i>Bordetella</i> sp. AU6530 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082144.1

37	Gb EU082142.1	<i>Bordetella</i> sp. AU6394 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082142.1
38	Gb EU082163.1	<i>Bordetella</i> sp. AU10666 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082163.1
39	Gb EU082138.1	<i>Bordetella</i> sp. AU4916 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082138.1
40	Gb EU082139.1	<i>Bordetella</i> sp. AU5801 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082139.1
41	emb HE965803.1	<i>Bordetella parapertussis</i> Bpp5 complete genome	99%	HE965803.1
42	Gb AF366578.1 AF366578	<i>Bordetella parapertussis</i> strain B1232 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF366578.1
43	Ref NR_103933.1	<i>Bordetella pertussis</i> CS strain CS 16S ribosomal RNA, complete sequence	99%	NR_103933.1
44	emb HE965805.1	<i>Bordetella pertussis</i> 18323 complete genome	99%	HE965805.1
45	dbj AB682670.1	<i>Bordetella pertussis</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NBRC 107857	99%	AB682670.1
46	Gb CP002695.1	<i>Bordetella pertussis</i> CS, complete genome	99%	CP002695.1
47	emb BX640418.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome; segment 8/12	99%	BX640418.1
48	emb BX640420.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome; segment 10/12	99%	BX640420.1
49	emb BX640417.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome; segment 7/12	99%	BX640417.1
50	Gb AF366576.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF366576.1
51	Gb AF142327.1 AF142327	<i>Bordetella pertussis</i> strain CIP 105.894 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF142327.1
52	Ref NR_025950.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 522 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	NR_025950.1
53	Gb JQ953661.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain 151837083 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953661.2
54	Gb KC794938.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain ZYL1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	KC794938.1
55	Gb FJ969842.3	<i>Bordetella parapertussis</i> strain HT200 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	FJ969842.3
56	Gb AY466114.1	<i>Bordetella holmesii</i> isolate F6119 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AY466114.1
57	Ref NR_025949.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Dog 71 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	NR_025949.1
58	Ref NR_118634.1	<i>Bordetella holmesii</i> strain LMG 15945 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	NR_118634.1
59	Ref NR_121717.1	<i>Bordetella holmesii</i> strain ATCC 51541 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	99%	NR_121717.1
60	Gb CP007494.1	<i>Bordetella holmesii</i> ATCC 51541, complete genome	99%	CP007494.1
61	dbj AB755629.1	<i>Bordetella holmesii</i> gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NMS	99%	AB755629.1
62	dbj AB683187.1	<i>Bordetella holmesii</i> gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, isolate: 2011-063	99%	AB683187.1
63	Gb EU643522.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Bb4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU643522.1
64	Gb EU643520.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Bb2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU643520.1
65	Gb EU643519.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Bb1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	EU643519.1
66	Gb DQ409136.1	<i>Bordetella holmesii</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	DQ409136.1
67	Gb AY466116.1	<i>Bordetella holmesii</i> isolate G9910 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AY466116.1
68	Gb AF469002.1	<i>Bordetella holmesii</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF469002.1
69	Gb AF366579.1 AF366579	<i>Bordetella holmesii</i> strain B436 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF366579.1
70	emb AJ239044.1	<i>Bordetella holmesii</i> partial 16S rRNA gene, isolate MDU9904076	99%	AJ239044.1
71	Ref NR_029173.1	<i>Bordetella holmesii</i> strain CDC F5101 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	99%	NR_029173.1
72	Gb AY466115.1	<i>Bordetella holmesii</i> isolate G6128 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AY466115.1
73	Gb AF142326.1 AF142326	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	AF142326.1
74	Gb KF054765.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain IARI-HHS2-29 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	KF054765.1
75	Gb EU643521.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Bb1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU643521.1
76	emb AM748269.1	<i>Bordetella hinzii</i> partial 16S rRNA gene, strain H062540035	99%	AM748269.1

77	Gb EU082166.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain AU11496 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082166.1
78	Gb EU082161.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain AU10570 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082161.1
79	Gb EU082136.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain AU4066 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082136.1
80	Ref NR_027537.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain LMG 13501 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	99%	NR_027537.1
81	Ref NR_025951.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain 18323 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	NR_025951.1
82	Gb KF601904.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain LMG 13500 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	KF601904.1
83	Gb EU082170.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain AU12584 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082170.1
84	Gb JQ953652.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain 231003011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953652.2
85	Gb JX559757.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain B411 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JX559757.1
86	Gb JQ404493.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain XJ145-Z-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	JQ404493.1
87	Gb HQ740275.1	Uncultured organism clone ELU0008-T58-S-NI_000368 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	HQ740275.1
88	dbj AB371725.1	<i>Bordetella hinzii</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: 3224	99%	AB371725.1
89	Gb KF601915.1	<i>Bordetella</i> sp. Mouse#1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	KF601915.1
90	Gb JX188059.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain L0135 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JX188059.1
91	Gb HQ751575.1	Uncultured organism clone ELU0031-T226-S-NIPCRAMgANa_000131 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	HQ751575.1
92	Gb JQ953653.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain 151703011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953653.2
93	Gb JQ953657.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain MP1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953657.2
94	Gb JQ953662.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Maxim 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953662.2
95	Gb EU082175.1	<i>Bordetella hinzii</i> strain AU13283 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082175.1
96	Gb JQ659951.1	<i>Bordetella avium</i> strain R8-551 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ659951.1
97	Gb JQ953663.2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain 361003011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	JQ953663.2
98	Gb EU082146.2	<i>Bordetella</i> sp. AU6712 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU082146.2
99	Gb EU643523.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain Bb5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	EU643523.1
100	Gb GQ416682.1	Uncultured <i>Bordetella</i> sp. clone F1jan.21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	GQ416682.1

Данные таблицы свидетельствуют, что анализ последовательностей *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 по 16s rRNA (1) (NCBI) с бактериями рода *Bordetella* показал 100% совпадений в 31% случаев, 99% совпадений – 69% случаев.

Степень родства *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по нитевидному гемагглютинуину, *FhaB* (NCBI) отражена в таблице 4.

Таблица 4 - Родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по нитевидному гемагглютинуину, *FhaB* (NCBI)

№	Наименование последовательности	Наименование штамма	Родство	Ссылка ID NCBI
1	dbj AP014582.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> DNA, complete genome, strain: S798	99%	AP014582.1
2	emb BX640446.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 10/16	98%	BX640446.1
3	emb HE965806.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> 253 complete genome	99%	HE965806.1
4	Gb AF111796.1 AF111796	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain GP1 adhesin (<i>fhaB</i>) and putative major fimbrial structural subunit (<i>fimA</i>) genes, complete cds	98%	AF111796.1
5	Gb AF111797.1 AF111797	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50 adhesin (<i>fhaB</i>) gene, partial cds	99%	AF111797.1
6	emb BX640432.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 12822, complete genome; segment 10/14	95%	BX640432.1
7	emb X52948.1	<i>B. parapertussis</i> <i>bvg</i> locus (transcription regulators of virulence factors) with <i>bvgA</i> and <i>bvgS</i> genes	95%	X52948.1
8	Gb AF111798.1 AF111798	<i>Bordetella parapertussis</i> adhesin (<i>fhaB</i>) gene, partial cds	96%	AF111798.1
9	emb HE965807.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> MO149 complete genome	93%	HE965807.1

10	emb HE965803.1	<i>Bordetella parapertussis</i> Bpp5 complete genome	92%	HE965803.1
11	emb HE965805.1	<i>Bordetella pertussis</i> 18323 complete genome	91%	HE965805.1
12	Gb CP002695.1	<i>Bordetella pertussis</i> CS, complete genome	91%	CP002695.1
13	emb BX640416.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome; segment 6/12	91%	BX640416.1
14	Gb M60351.1 BPEFHAB1	<i>Bordetella pertussis</i> filamentous hemagglutinin (fhaB) gene, complete cds	91%	M60351.1
15	emb X52156.1	<i>Bordetella pertussis</i> fhaB gene, complete CDS	91%	X52156.1
16	emb X53405.1	<i>B.pertussis</i> FHAB 5'end gene for hemagglutinin	91%	X53405.1
17	emb AJ420989.1	<i>Bordetella pertussis</i> fhaB2 gene for FHA protein	99%	AJ4209

Исходя из таблицы 4, выявлено родство по нитевидному гемагглютинуину, *FhaB* (NCBI) у *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами рода *Bordetella* в пределах 91-99%.

В таблице 5 показано родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по оксидоредуктазе, регулирующей окислительно-восстановительные реакции, *SyaA* (NCBI).

Таблица 5 - Родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по оксидоредуктазе, регулирующей окислительно-восстановительные реакции, *SyaA* (NCBI)

№	Наименование последовательности	Наименование штамма	Родство	Ссылка ID NCBI
1	dbj AP014582.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> DNA, complete genome, strain: S798	100%	AP014582.1
2	emb HE965806.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> 253 complete genome	100%	HE965806.1
3	emb AJ007747.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> cosmid BbLPS1	100%	AJ007747.1
4	emb BX640437.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 1/16	99%	BX640437.1
5	emb BX640423.1	<i>Bordetella parapertussis</i> strain 12822, complete genome; segment 1/14	99%	BX640423.1
6	emb HE965803.1	<i>Bordetella parapertussis</i> Bpp5 complete genome	99%	HE965803.1
7	emb HE965805.1	<i>Bordetella pertussis</i> 18323 complete genome	99%	HE965805.1
8	gb CP002695.1	<i>Bordetella pertussis</i> CS, complete genome	99%	CP002695.1
9	emb BX640411.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome; segment 1/12	99%	BX640411.1
10	emb X90711.1	<i>Bordetella pertussis</i> lipopolysaccharide biosynthesis locus baf gene, waaA, waaB & wlaA,B,C,D,E,F,G,H,I,J & L genes	99%	X90711.1
11	emb HE965807.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> MO149 complete genome	99%	HE965807.1
12	emb AM902716.1	<i>Bordetella petrii</i> strain DSM 12804, complete genome	80%	AM902716.1
13	gb JF933901.1	<i>Bordetella petrii</i> strain Bp4 genomic sequence	81%	JF933901.1
14	gb CP007494.1	<i>Bordetella holmesii</i> ATCC 51541, complete genome	81%	CP007494.1
15	emb AM167904.1	<i>Bordetella avium</i> 197N complete genome	81%	AM167904.1
16	emb AJ427964.1	<i>Bordetella avium</i> nodL, wblL, wblJK, wblH, wblG, wblF, wblE, wblC, wblB, wlaA, wbl.12 and wbl.13 genes	81%	AJ427964.1
17	gb AE016825.1	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472, complete genome	78%	AE016825.1
18	gb CP006958.1	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> NBRC 15126 = ATCC 27061, complete genome	85%	CP006958.1
19	gb CP002287.1	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> A8, complete genome	84%	CP002287.1
20	dbj AP012224.1	<i>Pseudogulbenkiania</i> sp. NH8B DNA, complete genome	76%	AP012224.1
21	emb HG916765.1	<i>Castellaniella defragrans</i> 65Phen complete genome	77%	HG916765.1
22	gb KF117452.1	Uncultured <i>Taylorella</i> sp. clone GL99HRC01BMOTT genomic sequence	89%	KF117452.1
23	gb KF116717.1	Uncultured <i>Bordetella</i> sp. clone GPMKYIG01AYTHH genomic sequence	100%	KF116717.1

Родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими штаммами *Bordetella bronchiseptica* по оксидоредуктазе, регулирующей окислительно-восстановительные реакции, *SyaA* (NCBI) установлено нами на 99 – 100%, с другими микроорганизмами, в том числе и не относящимися к данному роду, процент совпадений варьировал от 76% до 99%.

Установленное родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по рецептору сидерофора, обеспечивающими транспорт железа, *BfrZ* (NCBI) отражено в таблице 6.

Таблица 6 - Родство *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 с другими микроорганизмами по рецептору сидерофора, обеспечивающими транспорт железа, *BfrZ* (NCBI)

№	Наименование последовательности	Наименование штамма	Родство	Ссылка ID NCBI
1	emb HE965806.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> 253 complete genome	100%	HE965806.1
2	dbj AP014582.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> DNA, complete genome, strain: S798	99%	AP014582.1
3	emb BX640451.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genome; segment 15/16	99%	BX640451.1
4	emb AJ251793.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> bupI gene, bupR gene and bfrZ gene	99%	AJ251793.1
5	emb HE965807.1	<i>Bordetella bronchiseptica</i> MO149 complete genome	99%	HE965807.1

По рецептору сидерофора совпадения составили 99-100%.

По сиквенс анализу подтверждается наличие гена *BvgR* в геноме *Bordetella bronchiseptica* 4617, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311. В качестве референсной последовательности использовался фрагмент гена *BvgR* *Bordetella bronchiseptica* 253.

Заключение. 1. Проведенные исследования свидетельствуют об относительной консервативности изучаемых мишеней, ответственных за вирулентные свойства, что, по-видимому, обусловлено участием данных структур в росте и развитии патогенных бордетелл.

2. Сравнение последовательностей у бактерий рода *Bordetella* позволило выявить сходство и отличие в генах, кодирующих факторы вирулентности, а также был обнаружен оперон рецессии *BvgR* *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311, двухкомпонентной системы регуляции уровня экспрессии генов, отвечающих за вирулентность бактерий. Были идентифицированы следующие отличия: в гене *BvgR* найдена замена Т/С (данная мутация не приводит к аминокислотной замене, молчащая мутация).

3. Установлено отсутствие оперона рецессии *BvgR* у штамма *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120, что позволяет сделать заключение о пригодности данного штамма к производству вакцинных препаратов.

4. Ввиду сходства фенотипических признаков (биохимические свойства) изучаемых культур, сделать равнозначное заключение о пригодности культур к вакцинопроизводству, основываясь только на биохимических тестах, не представляется возможным, необходимо проводить более углубленное изучение в ПЦР по предложенной нами схеме.

Литература. 1. Hewlett, EL (1995). "Bordetella species." In: *Principles and Practice of Infectious Diseases* (Mandel, GL, Bennett, JE, Dolin, R, eds.). Churchill Livingstone, Inc., New York, NY, pp. 2078–2084. 2. Ryan KJ; Ray CG (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. ISBN 0-8385-8529-9. 3. Finger H, von Koenig CHW (1996). *Bordetella*. In: *Barron's Medical Microbiology* (Barron S et al., eds.) (4th ed.). Univ of Texas Medical Branch. (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1. 4. Coote JG (2001). "Environmental sensing mechanisms in *Bordetella*". *Adv Microb Physiol* 44: 141–81. doi:10.1016/S0065-2911(01)44013-6. PMID 11407112. 5. Mattoo S, Foreman-Wykert AK, Cotter PA, Miller JF (2001). "Mechanisms of *Bordetella* pathogenesis". *Front Biosci* 6: E168–86. doi:10.2741/Mattoo. PMID 11689354. 6. Diavatopoulos DA, Cummings CA, Schouls LM, Brinig MM, Relman DA, Mooi FR (2005). "Bordetella pertussis, the Causative Agent of Whooping Cough, Evolved from a Distinct, Human-Associated Lineage of *B. bronchiseptica*". *PLoS Pathog* 1 (4): e45. doi:10.1371/journal.ppat.0010045. PMC 1323478. PMID 16389302. 7. Lawhorn, Bruce. "Atrophic Rhinitis" (PDF). Texas Agricultural Extension Service. Retrieved 2006-11-23. УДК 619:616. 619:579.841.94:579.22

Статья передана в печать 03.06.2014 г.

УДК 619:616. 619:579.841.94:579.22

ПОДБОР ШТАММА *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Вербицкий А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Иммунизация лабораторных животных инактивированным штаммом *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ-120 защищает их от гибели в 100% случаев после контрольного заражения. У вышеуказанного штамма обнаружен нитевидный гемагглютинин *FhaB*, который является основным фактором вирулентности *Bordetella* spp. и установлено отсутствие оперона рецессии *BvgR* обеспечивающего активность белков вирулентности, что подтверждает пригодность к производству биологических препаратов.*

*Immunization of experimental animals with inactivated *Bordetella bronchiseptica* strain KMIEV-120 protects against death in 100% of cases after challenge. In the above strain detected filamentous haemagglutinin *FhaB*, which is a major virulence factor of *Bordetella* spp. and found to lack operon recession *BvgR* providing virulence activity of proteins, which confirms the suitability for production of biologicals.*

Ключевые слова: *Bordetella bronchiseptica*, штамм, атогенность, иммуногенность, генетический анализ.

Keywords: *Bordetella bronchiseptica*, strain, pathogenicity, immunogenicity, genetic analysis.

Введение. Доминирующее положение в общей патологии у свиней занимают респираторные болезни. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению они весьма разнообразны. Одной из причин инфекционной патологии органов дыхания является *Bordetella bronchiseptica*. Заболевание, вызванное этим видом микроорганизма (бордетеллез, бронхосептикоз, бордетеллезная инфекция), регистрируется в странах с промышленным ведением свиноводства. Ассоциация бордетелл с *Pasteurella multocida* приводит к развитию атрофического ринита у свиней.

Основным звеном в мероприятиях по борьбе с бордетеллезом и атрофическим ринитом является специфическая профилактика. Для создания качественных биологических препаратов важно иметь высокоиммуногенные штаммы бактерий не теряющие вирулентные свойства при пересевах. Исходя из