

**ЛЕКЦИОННЫЙ КУРС  
ПО ЧАСТНОЙ ВИРУСОЛОГИИ  
ЧАСТЬ ВТОРАЯ**

# **ЛЕКЦИОННЫЙ КУРС ПО ЧАСТНОЙ ВИРУСОЛОГИИ**

## **ВИРУСЫ ВЫЗЫВАЮЩИЕ БОЛЕЗНИ ОБЩИЕ ДЛЯ МНОГИХ ВИДОВ С-Х ЖИВОТНЫХ**

ДЛЯ СТУДЕНТОВ ФАКУЛЬТЕТА ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Подготовлен:  
ВАСИЛЬЕВЫМ Д.А ЛУГОВЦЕВЫМ В. Ю



УЛЬЯНОВСК 2004

УДК: 619:616.9

«Курс лекций по вирусологии»

Часть вторая – «Вирусы вызывающие болезни общие для многих видов с-х животных»

Учебное пособие по курсу ВСЭ для студентов факультета ветеринарной медицины (Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия).

Кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии, ветеринарно-санитарной экспертизы).

**Данное учебное пособие подготовлено: д б н, академиком РАЕН, профессором Васильевым Д.А. (Ульяновская государственная с-х академия) и DVM, PhD Луговцевым В.Ю (Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, Laboratory of Pediatric Respiratory Viral Diseases. Bethesda, MD 20892, USA)**

Предлагаемое учебное пособие издается кафедрой микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы согласно ее плану, целью которого является оперативный выпуск отдельных учебных изданий. Это позволяет дать студенту либо новую научную или инструктивную информацию, либо более подробно разъяснить ключевые положения разделов учебных дисциплин, преподаваемых на кафедре. Предлагается список литературы использованный при написании данного лекционного материала. Подбор вирусных инфекционных агентов для предлагаемого курса проводился на основе программы лекционного курса вирусологии и ВСЭ читаемого на кафедре.

## **ВВЕДЕНИЕ.**

Вирусы открыты в конце прошлого столетия Бейеринком и Д.И.Ивановским (1892 г. - вирус табачной мозаики), Лефлером и Фрошем (1897 г. - вирус ящура) и Ридом и Кэрролом (1898 г. - вирус желтой лихорадки) на основе измерения их единственной физико-химической характеристики - способности проходить через стерилизующие керамические фильтры, т.е. фильтруемости. Именно это свойство первоначально использовалось для их классификации в качестве отдельной, особой группы патогенных микроорганизмов. Слово вирус (*virus*), которым были названы новые агенты, в исходном смысле означало заразный яд и исторически в научном контексте впервые было применено врачом эпохи Возрождения Петрусом Форестусом (1522-1597). Окончательное определение вирусов как организмов и генетически обособленных индивидуумов дано А.Львовым (1957, 1962 гг.). Вирусы составляют условное «третье царство» *Vira*, наряду с царствами про- и эукариотов.

В предлагаемом учебном пособии представлены наиболее характерные и значимые для человека вирусы из основных семейств .

## Семейство: *Rhabdoviridae*.

### Таксономическая структура семейства.

Семейство: *Rhabdoviridae*

Род: *Vesiculovirus Lyssavirus Ephemerovirus Novirhabdovirus Cytorhabdovirus Nucleorhabdovirus*.

**Характеристика вириона.** *Морфология.* Вирион имеет пулевидную или конусовидную форму (длина 100-430 нм; диаметр 45-100 нм). Вирусы, инфицирующие растения имеют бациллоподобную, пулевидную форму или плеоморфны. Внешняя поверхность вириона покрыта выступами (пепломерами) длиной 5-10 нм и диаметром 3 нм, образованными тримерами гликопротеина G. Нуклеокапсид 30-70 нм в диаметре, спиральной симметрии, окружен липопротеидной оболочкой, имеющий длину в развернутом виде 700 нм и диаметр 20 нм (см. приложение, рис. 30-33). Нуклеокапсид представляет собой комплекс РНК и протеина N, вместе с протеинами L и P. Гликопротеин G, входящий в состав липидной оболочки, взаимодействует с нуклеокапсидом через протеин M. Нуклеокапсид инфекционен и проявляет транскриптазную активность.

Mg (вирион)  $300-1000 \times 10^6$ ; плавучая плотность в CsCl 1,19-1,20 г/см<sup>3</sup>, в сахарозе – 1,17-1,19 г/см<sup>3</sup>; S<sub>20w</sub> 550-1045S ( у рабдовирусов растений это значение выше).

Инфекционность вируса резко снижается при 56 °С, УФ или рентгеновском облучении, при обработке жирорастворителями.

*Геном.* РНК односпиральная, линейная, с негативной полярностью; размер 11-15 kb; Mg  $4,2-4,6 \times 10^6$ ; 1-2% от веса частицы. РНК неполиаденилирована, имеет 5'-концевой трифосфат. Концы содержат инвертированные комплементарные последовательности. При выделении РНК из вирусной популяции могут обнаруживаться дефектные РНК, которые обычно значительно короче полноразмерных (более чем в 2 раза), с негативной полярностью, иногда имеющие шпилечную структуру. Дефектные вирусы могут репродуцироваться только в присутствии гомологичных или реже гетерологичных рабдовирусов-помощников, содержащих функциональные гены. Полноразмерная РНК с позитивной полярностью встречается в общей РНК-популяции вирусов в 5% случаев.

*Другие компоненты вириона.* Вирионы имеют в своем составе 5 структурных полипептидов, обозначаемых L, G, N, P и M. Протеин L (Mg  $220-240 \times 10^3$ ; наблюдаемый размер в SDS-PAGE  $150-190 \times 10^3$ ) является компонентом вирусного нуклеокапсида, принимает участие в транскрипции и репликации. Проявляет активность РНК-зависимой РНК полимеразы и протеинкиназы. Протеин G (Mg  $220-240 \times 10^3$ ) образует поверхностные пепломеры. Протеин G гликозилирован по N-связям. Участвует в проникновении вируса в клетку (прикрепление к клеточным рецепторам, слияние мембран и эндоцитоз), индуцирует образование вируснейтрализующих антител и клеточно-опосредованного иммунного ответа. Проявляет гемагглютинирующую активность. Протеин N (Mg  $47-62 \times 10^3$ ) является мажорным компонентом вирусного нуклеокапсида, ассоциированным с полноразмерной РНК (негативной или позитивной полярности, с дефектными, но не с мРНК). Вновь синтезированные молекулы протеина N участвуют в регуляции транскрипции генома, репликации и считывании сигналов терминации транскрипции и полиаденилирования. Индуцирует развитие клеточно-опосредованного иммунного ответа и образование антител. Протеин P (Mg  $20-30 \times 10^3$ ) является компонентом вирусной полимеразы. Он фосфорилирован и имеет размер в SDS-PAGE  $40-50 \times 10^3$ . Растворимая форма обнаруживается в цитоплазме инфицированных клеток. Участвует в транскрипции;

может предотвращать самоагрегирование протеина N и принимать участие в его ассоциации с РНК. Участвует в развитии клеточно-опосредованного иммунного ответа. Протеин М ( $M_r$  20-30 x 10<sup>3</sup>) является основным внутренним компонентом вириона. В некоторых случаях фосфорилирован. Связан с нуклеокапсидом и цитоплазматическим доменом гликопротеина G. Участвует в регуляции транскрипции геномной РНК, ингибирует транскрипцию клеточной ДНК (обнаруживается в ядрах клеток).

Структурные протеины составляют 65-75% сухого веса вирусных частиц. Для протеинов некоторых вирусов ранее использовалась другая номенклатура: протеин Р (NS, M1 или M2) и протеин М (M1 или M2). Для вируса везикулярного стоматита Индиана (*Vesicular stomatitis Indiana virus*, VSIV) определено следующее количество молекул протеинов в одной вирусной частице: L 20-50; G 500-1500; N 1000-2000; P 100-300; M 1500-4000. Для вирионов описан ряд видов активности, соответствующих следующим ферментам: РНК транскриптаза (L и P), 5'-кэпирующий фермент, гуанил- и метилтрансферазы, протеинкиназа (кодируемая вирусом или клеткой), нуклеозидтрифосфатаза и нуклеозиддифосфаткиназа. Вероятно, данными свойствами обладает протеин L. Функции других протеинов рабдовирусов не ясны. Вирионы состоят на 15-25% из липидов, производных клеточной мембраны, через которую происходило почкование вируса. Фосфолипиды составляют 55-60%, стеролы и гликолипиды – 35-40% всех липидов. Углеводы составляют 3% сухого веса частицы. Они представлены в виде N-связанных гликановых цепей протеина G и гликолипидов. В клетках млекопитающих, в отличие от клеток насекомых, олигосахаридные цепи обычно сложного типа.

**Организация генома и репликация.** Вирусы имеют не менее 5 ORFs располагающиеся в геноме с негативной полярностью в следующем порядке (для VSIV): 3'-N-P-M-G-L-5'. Для некоторых вирусов определены дополнительные гены. Гены транскрибируются как 5'-кэпированные и 3'-полиаденилированные моноцистронные мРНК. Для некоторых вирусов описаны полицистронные мРНК. Короткая некэпированная, неполиаденилированная и нетранслируемая "лидерная" мРНК, комплементарно соответствующая 3'-концу вирусной РНК (например, предшествующая N мРНК) также транскрибируется. В отличие от мРНК она имеет 5'-трифосфатированный конец. Данная РНК обнаруживается в ядре инфицированных клеток. Для отдельных вирусов показано, что мРНК обычно имеет общую 5'-концевую последовательность ( $m^7Gppp(m)AmA(m)CA$ ). Межгенные сиквенсы обычно короткие, реже могут достигать в длину до 50 нуклеотидов. В некоторых случаях 5'-конец мРНК может перекрывать 3'-конец предыдущего гена. Адсорбция вируса начинается с прикрепления протеина G к поверхностным клеточным рецепторам, что приводит к его проникновению внутрь клетки путем эндоцитоза. После проникновения вирусная оболочка удаляется за счет лизосомной активности и транскрипционно активный нуклеокапсид (РНК, N, L, P) оказывается в цитоплазме. Вирусная РНК транскрибируется (первичная транскрипция) вирусной транскриптазой в кэпированные полиаденилированные мРНК, которые транслируются в цитоплазматических полисомах. Трансляция G мРНК происходит на мембраносвязанных полисомах. После трансляции мРНК, в цитоплазме происходит репликация РНК (синтез полноразмерных позитивных и негативных цепей РНК). У некоторых видов мРНК рабдовирусов растений репликация РНК происходит в ядре клетки. Для репликации необходимы вновь синтезированные протеины N, P и L, участвующие в формировании промежуточных репликативных комплексов. После репликации происходят следующие раунды транскрипции (вторичная транскрипция), трансляции и репликации.

Посттрансляционные события протеина G включают транспортировку через мембраны эндоплазматического ретикулума, удаление аминоконцевой сигнальной последовательности и гликозилирование в аппарате Гольджи. В зависимости от клеток, протеин G может двигаться к плазматической мембране, особенно к базолатеральной поверхности поляризованных клеток. Сборка вирусных нуклеокапсидных структур происходит в ассоциации протеина M и липидных оболочек, содержащих протеин G. Место формирования частиц зависит от вируса и клетки-хозяина. У везикуло-, лисса-, эфемеро- и новирабдовирусов нуклеокапсиды синтезируются в цитоплазме, и вирусы почкуются через плазматическую мембрану большинства, но не всех, клеток. Некоторые лиссавирусы почкуются преимущественно через внутрицитоплазматические мембраны, образуя, в некоторых случаях, вирусспецифические цитоплазматические включения, содержащие протеин N (тельца-включения вируса бешенства, называемые тельца Негри). Циторабдовирусы почкуются через внутрицитоплазматические мембраны, ассоциированные с вироплазмами. Нуклеорабдовирусы почкуются через внутреннюю ядерную мембрану и накапливаются в перинуклеарном пространстве. В зависимости от вируса и клетки-хозяина, может наблюдаться ингибирование синтеза клеточных макромолекул, но механизм этого не ясен.

Шесть родов были идентифицированы на основе значительных различий в организации генома, аминокислотных сиквентов структурных протеинов, очагов репликации и по спектру восприимчивых хозяев. Анализ филогенетического родства на основе доступных сиквентов протеинов N, G и L позволяет отнести тот или иной вид в один из родов.

**Антигенные свойства.** Протеин G участвует в нейтрализации и определяет серотип вируса. Протеин N проявляет свойства комплементсвязывающего антигена с перекрестной активностью. Между вирусами, относящимися к разным родам может проявляться слабая перекрестная серологическая активность. Защита может быть достигнута с использованием вакцин на основе аттенуированного или инактивированного вируса, субъединиц, имеющих протеин G (один или в комплексе с рибонуклеопротеидом), или векторов, экспрессирующих протеины G или N.

**Биологические особенности.** Виды вирусов данного семейства инфицируют млекопитающих, рыб, членистоногих и беспозвоночных. Некоторые представители имеют как позвоночных, так и беспозвоночных хозяев. Отдельные вирусы инфицируют растения и определённые виды растительноядных насекомых. Некоторые вирусы позвоночных имеют широкий спектр восприимчивых хозяев. Многие культуры клеток из тканей позвоночных и беспозвоночных восприимчивы к рабдовирусам позвоночных *in vitro*. Вирусы растений обычно имеют узкий спектр хозяев среди высших растений, некоторые реплицируются в насекомых (векторах) и накапливаются в культурах клеток насекомых. Вирус сигма (*Sigma virus*, SIGMAV) впервые был идентифицирован как агент, вызывающий конгенитальную инфекцию у дрозофил (*Drosophila*). Вертикальной передачи рабдовирусов не наблюдается. Некоторые вирусы растений переносятся механически. В качестве векторов могут быть москиты, мухи, клещи, комары, тля, прыгунки и т.п. Некоторые вирусы могут передаваться механически с жидкостями инфицированного организма. Распространение вирусов позвоночных может быть контактным, аэрозольным, через укус, при половом контакте.

**Под:** *Vesiculovirus*. *Типовой вид:* *Vesicular stomatitis Indiana virus* (VSIV) (вирус везикулярного стоматита Индиана).

**Характерные особенности.** Везикуловирусы имеют 5 мажорных полипептидов (L, G, N, P и M). Геном (11,2 kb) включает лидерную последовательность (50 нуклеотидов) предшествующую N, нетранслируемый участок (60 нуклеотидов), следующий за L, и межгенные последовательности. Общие сиквенсы обнаружены перед каждой межгенной последовательностью (3'-AUACUUUUUUU), в начале каждого гена (UUGUCNNUAG) и после межгенных сиквенсов, являющиеся 5'-концами, следующих видов мРНК (обычно m<sup>7</sup>Gppp(m)Am-A(m)CAGNNAUC...).

**Биологические особенности.** Вирусы данного рода были выделены от различных животных, включая млекопитающих, рыб и членистоногих (насекомых). Везикулярный стоматит лошадей, КРС, свиней является одной из давно известных болезней (впервые была описана и дифференцирована от ящура в начале 19 века). Вспышки болезни периодически отмечаются в западном полушарии. Болезнь проявляется хромотой у лошадей и свиней, и потерей молочной продуктивности – у коров. Ряд везикуловирусов (*Chandipura virus*, CHPV; *Cocal virus*, COCV; *Isfahan virus*, ISFV; *Piry virus*, PIRYV; *Vesicular stomatitis Alagoas virus*, VSAV; *Vesicular stomatitis Indiana virus*, VSIV; *Vesicular stomatitis New Jersey virus*, VSNJV) также инфицируют человека. В районах, где данные вирусы эндемичны, часто обнаруживаются антитела к ним у людей, живущих в сельской местности. Естественное или лабораторное инфицирование сопровождается гриппоподобными симптомами. Многие везикуловирусы, инфицирующие млекопитающих, были выделены от естественно инфицированных членистоногих (phlebotomine sandfly), что предполагает их арбовирусную природу. Некоторые везикуловирусы вызывают эпизоотии среди рыб и могут передаваться их эктопаразитами.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Представители данного рода проявляют перекрестную активность в РСК и реакции иммунофлюоресценции; перекрестная нейтрализация проявляется слабо или не проявляется. Сравнение сиквенса геномов показало их сходство. Гомология сиквенсов протеина N между видами составляет 49% (HCPIV и VSNJV) и 68,9% (VSIV и VSNJV). **Виды (9 видов):**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Аббревиатура
<i>Carajas virus</i>	Вирус Караджас	--	CJSV
<i>Chandipura virus</i>	Вирус Чандипура	J04350; M16608; V01208	CHPV
<i>Cocal virus</i>	Вирус Кокал	V01208	COCV
<i>Isfahan virus</i>	Вирус Исфахан	--	ISFV
<i>Maraba virus</i>	Вирус Мараба	--	MARAV
<i>Piry virus</i>	Вирус Пири	Z15093, D26175, M14719, M14714, V01208	PIRYV
<i>Vesicular stomatitis Alagoas virus</i>	Вирус везикулярного стоматита Алагоас	--	VSAV
<i>Vesicular stomatitis Indiana virus</i>	Вирус везикулярного стоматита Индиана	J02428	VSIV
<i>Vesicular stomatitis New Jersey virus</i>	Вирус везикулярного стоматита Нью Джерси	K02379, S61075, J02433, M20166, M14553, K02747	VSNJV

**Предполагаемые виды (19):**

BeAn 157575 (BeAnV-157575)	Mount Elgon bat virus (MEBV)
Boteke virus (BTKV)	Perinet virus (PERV)
Calchaquí virus (CQIV)	Pike fry rhabdovirus (Grass carp rhabdovirus) (PFRV)
Eel virus American (EVA)	Porton virus (PORV)
Gray lodge virus (GLOV)	Radi virus (RADIV)
Jurona virus (JURV)	Spring viremia of carp virus (SVCV)
Klamath virus (KLAV)	Tupaia virus (TUPV)
Kwatta virus (KWAV)	Ulcerative disease rhabdovirus (UDRV)
La Joya virus (LJV)	Yug Bogdanovac virus (YBV).
Malpais Spring virus (MSPV)	

**Род: *Lyssavirus*.** *Типовой вид: Rabies virus (RABV)* (вирус бешенства).

**Характерные особенности.** Лиссавирусы (например, вирус бешенства) имеют 5 мажорных полипептидов: L (Mr 190 x 10<sup>3</sup>), G (Mr 65-80 x 10<sup>3</sup>), N (Mr 58-62 x 10<sup>3</sup>), P (Mr 35-40 x 10<sup>3</sup>) и М (Mr 22-25 x 10<sup>3</sup>). Протеин G вируса бешенства может быть гликозилирован только по двум из трех сайтов для N-связанных гликанов. N и P – фосфопротеины. Геном вируса бешенства (11,9 kb) включает 3'-концевую последовательность (60 нуклеотидов) предшествующую N; нетранслируемый участок (70 нуклеотидов), следующий за L; межгенные ди- или пентануклеотиды, или спейсер (423 нуклеотида) между G и L штамма PV вируса бешенства. У исследованных лиссавирусов межгенные сиквенсы сходны с таковыми везикуловирусов. В нейронах вирус Б индуцирует образование телец Негри.

**Биологические особенности.** Бешенство энзоотично во всех регионах мира кроме Антарктики. Великобритания, Ирландия и Япония свободны от бешенства. Резервуаром инфекции в природе являются многие виды летучих мышей, скунсы, мангусты, еноты, лисы, волки, шакалы, собаки и др. Во многих регионах важной проблемой остается передача инфекции от собак человеку. Передача вируса происходит, как правило, при укусе со слюной (описаны случаи передачи инфекции при трансплантации роговицы). Вирус бешенства нейротропен, репродуцируется в нейронах, и клетках других органов (например, слюнных желез) позвоночных. В клетках, инфицированных вирусом бешенства, не ингибируется синтез клеточных макромолекул.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Антигенные сайты протеина N проявляют перекрестную активность в реакции связывания комплемента и реакции иммунофлюоресценции, и дают возможность идентифицировать представителей данного рода. Антигенные сайты протеина G, распознаваемые в реакции нейтрализации, позволяют идентифицировать вид изолята. Перекрестная нейтрализующая активность антител, специфичных вирусу бешенства, может быть средней (в отношении *European bat lyssavirus 1*, EBLV-1; *European bat lyssavirus 2*, EBLV-2; *Duvenhage virus*, DUVV) или очень низкой (в отношении *Lagos bat virus*, LBV; *Mokola virus*, MOKV). Эти данные, вместе с данными, полученными на основе моноклональных антител, позволяют подразделить род на 4 серотипа (1 - *Rabies virus (RABV)*, 2 - *Lagos bat virus*, LBV, 3 - *Mokola virus*, MOKV и 4 - *Duvenhage virus*, DUVV) и 2 биотипа лиссавирусов европейских летучих мышей (EBLV-1 и EBLV-2). Генетический анализ некоторых участков генома (N, P и G) в совокупности с данными по антигенным свойствам, позволил подразделить представителей рода на 7 геногрупп (1- RABV, 2 - LBV, 3 - MOKV, 4 - DUVV, 5 - EBLV-1, 6 - EBLV-2, 7 - ABLV). Гомология по аминокислотному сиквенсу протеина M варьирует от 78% (MOKV и EBLV-2) до 93% (DUVV и EBLV-1).

Вирусы Kotonkon и Obodhiang, входившие ранее в состав рода, теперь считаются как неклассифицированные, так как данные, полученные на основе серологических и молекулярно-биологических исследований свидетельствуют об их родстве с представителями рода *Ephemerovirus*. **Виды (7 видов):**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома в генбанке	Аббрев-ра
<i>Australian bat lyssavirus</i>	Лиссавирус Австралийских летучих мышей	AF006497	ABLV
<i>Duvenhage virus</i>	Вирус Дювенхейдж	U89483, U22848, AF049115, AF049120	DUVV
<i>European bat lyssavirus 1</i>	Лиссавирус Европейских летучих мышей 1	U22844, U22845, AF049113, AF049117	EBLV-1
<i>European bat lyssavirus 2</i>	Лиссавирус Европейских летучих мышей 2	U22846, U22847, AF049121	EBLV-2
<i>Lagos bat virus</i>	Вирус Лагос бат (летучих мышей Лагос)	U22842, AF049114, AF049119	LBV
<i>Mokola virus</i>	Вирус Мокола	D00491, D00492, D13766, D13767, S59447, S59448, U22843, U17064	MOKV
<i>Rabies virus</i>	Вирус бешенства	D10499, D10482, D42112, J02293, L04522-3, L20672, L40426, M13215	RABV

**Предполагаемые виды (1):** Rochambeau virus (RBUV).

**Род: *Ephemerovirus*. Tunовой: *Bovine ephemeral fever virus* (BEFV)** (вирус эфемерной лихорадки КРС).

**Характерные особенности.** Вирион пуле- или конусовидной формы (длина 140-200 нм, диаметр 60-80 нм); плавучая плотность в CsCl 1,19 г/см<sup>3</sup>, S<sub>20w</sub> 625 S. Вирион наиболее стабилен при pH 7-8, чувствителен к кислой и щелочной среде. Частицы вируса эфемерной лихорадки КРС (BEFV) содержат не менее 5 структурных протеинов: L (Mr 180x10<sup>3</sup>), G (Mr 81x10<sup>3</sup>), N (Mr 52x10<sup>3</sup>), P (Mr 43x10<sup>3</sup>) и M (Mr 29x10<sup>3</sup>). Протеин G может быть гликозилирован по пяти сайтам N-связывания. Протеины N и M – фосфорилированы. В клетках, инфицированных BEFV, обнаружен дополнительный, не входящий в состав вириона, сильно гликозилированный протеин G<sub>NS</sub> (Mr 90 x 10<sup>3</sup>). Между протеинами G и G<sub>NS</sub> обнаруживается гомология, проявляющаяся в меньшей степени с протеином G других рабдовирусов позвоночных. У *Adelaide River virus* (ARV) протеин G (Mr 90x10<sup>3</sup>) содержит 6 сайтов гликозилирования (по N-связям), а протеин G<sub>NS</sub> – 9. Два гликопротеина были идентифицированы в клетках млекопитающих, инфицированных *Berrimah virus* (BRMV).

Геном BRMV (14,9 kb) содержит 10 генов (в порядке: 3'-N-P-M-G-G<sub>NS</sub>-α<sub>1</sub>-α<sub>2</sub>-β-γ-L-5') и межгенные участки по 26-53 нуклеотида. Гены γ и L перекрываются на 21 нуклеотид. Дополнительные альтернативных ORFs могут быть на рамках генов P и α<sub>2</sub>. Каждый ген, кроме α<sub>1</sub>, начинается с последовательности UUGUCC (мРНК: 5'-cap-AACAGG...) и заканчивается в предполагаемом сайте полиаденилирования (GNAV(U<sub>6-7</sub>)-3').

У ARV нет гена γ, а межгенные участки представлены 1-4 нуклеотидами. Гены β и L перекрываются на 22 нуклеотида. Дополнительная ORF может быть на альтернативной рамке гена P. Каждый ген инициируется с вирусной последовательности UUGUC (мРНК: 5'-cap-AACAGG...), однако предполагаемые сигналы полиаденилирования более

вариабельны (по сравнению с BEFV), что может отражаться на синтезе полицистронных мРНК. Между протеинами  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\beta$  ARV и BEFV прослеживается гомология.

Протеин G BEFV имеет 4 сайта вирусной нейтрализации. Очищенный или рекомбинантный протеин G защищает КРС от инфекции. Протеин G<sub>NS</sub> не индуцирует образование вируснейтрализующих антител и не обладает протективной активностью.

**Биологические особенности.** Эфемерная лихорадка КРС является экономически значимой болезнью КРС и водяных буйволов (water buffalo) в тропических и субтропических регионах Африки, Австралии, Среднего Востока и Азии. Инфекция, вызванная BEFV, проявляется внезапной лихорадкой и рядом других клинических признаков, таких как хромота, анорексия, нарушение моторики рубца, и длительным снижением молочной продуктивности. Хотя уровень смертности низок (1-2%), он выше у высокопродуктивных пород КРС. BEFV – арбовирус (распространяется кровососущими членистоногими, в которых может репродуцироваться), выделен от комаров и москитов.

Другие вирусы рода не ассоциируются с патологией животных, хотя некоторые были выделены от КРС (ARV и BRMV) и насекомых (Kimberley virus, KIMV; Malakal virus, MALV; Puchong virus, PUCV).

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Между видами перекрестная активность в реакции нейтрализации проявляется слабо или не проявляется вовсе. Сильная перекрестная активность наблюдается в реакции связывания комплемента и реакции иммунофлюоресценции. В реакции непрямой иммунофлюоресценции может отмечаться слабая перекрестная активность с лиссавирусами. Однако сравнительный анализ сиквенсов вирусов данного рода и других рабдовирусов показал наибольшую эволюционную близость эфемеровирусов с везикуловирусами. Анализ аминокислотных сиквенсов BEFV и ARV показал высокую степень гомологии многих соответствующих протеинов, с наибольшей гомологией у протеинов L и N, и несколько меньшей – у G. По протеину N идентичность составляет 48%. Для других вирусов данных по аминокислотным сиквенсам нет. Только вирусы, кодирующие гликопротеины G-G<sub>NS</sub>, считаются официально идентифицированными. **Виды (3 вида):**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Аббревиатура
<i>Adelaide River virus</i>	Вирус реки Аделаида (Adelaide River)	L09206, L09208, U05987, U10363	ARV
<i>Berrimah virus</i>	Вирус Берримак	--	BRMV
<i>Bovine ephemeral fever virus</i>	Вирус эфемерной лихорадки КРС	M94266, U04166, U18106, U72399	BEFV

**Предполагаемые(3):** Kimberley virus (KIMV) Malakal virus (MALV) Puchong virus (PUCV).

**Род: *Novirhabdovirus*.** *Туповой вид: Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV)* (вирус инфекционного гематопоезического некроза).

**Характерные особенности.** Род включает одну из двух подгрупп рабдовирусов, инфицирующих хозяев, обитающих в воде. Представители другой подгруппы (представляемой Spring viremia of carp virus), на основе доступных данных по сиквенсам, получили статус предполагаемых видов рода *Vesiculovirus*. Температура, необходимая для репродукции, обычно 15-28 °С, а температура инактивации значительно ниже, чем для других рабдовирусов, что связано с особенностью хозяев, являющихся пойкилотермными животными, и их географическим распространением. Вирионы содержат 5 структурных протеинов: L (Mr 150-225 x 10<sup>3</sup>), G (Mr 63-80 x 10<sup>3</sup>), N (Mr 38-47 x 10<sup>3</sup>), P (Mr 22-26 x 10<sup>3</sup>), обозначаемый ранее как M1, и M (Mr 17-22 x 10<sup>3</sup>), обозначаемый ранее как M2. Определен

один небольшой неструктурный протеин NV ( $M_r$  12-14 x 10<sup>3</sup>), экспрессируемый инфицированными клетками, но отсутствующий в очищенных вирионах. Между видами уровень гомологии данного протеина значительно меньше, чем других. Геном (11,1 kb) содержит 6 генов (в порядке: 3'-N-P-M-G-NV-L-5'). Для IHNV известно, что геном содержит лидерный участок (около 60 нуклеотидов), предшествующий участку начала транскрипции гена N, и участок, следующий за сайтом терминации транскрипции гена L. Гены начинаются либо с предполагаемого консервативного сигнала начала транскрипции 3'-CCRWG (vPHK чаще: 3'-CCGUG), либо с сигнала 3'-UUGU, который также найден у большинства генов выше сайта инициации трансляции. Сигнал терминации транскрипции – 3'-ACURUC(U)<sub>7</sub>, а длина межгенных участков – 1 нуклеотид (G или A).

**Биологические особенности.** Новирабдовирусы инфицируют многие виды рыб. Спектр естественных хозяев отдельных видов достаточно широк, часто включая несколько разных видов рыб (например, лососевых и сельдевых). Передаются горизонтально (через воду). Отмечены случаи распространения вируса через контаминированную икру. Естественными резервуарами вирусов считаются рыбы, живущие в естественных условиях. Предполагается о существовании беспозвоночных переносчиков, но их роль пока не ясна. Показано вирусоносительство рыб, после переболевания, вызванного IHNV, но значимость данного феномена тоже не ясна.

Новирабдовирусы имеют широкое географическое распространение. IHNV энзоотичен на западе Северной Америки, однако случайная транспортировка контаминированной вирусом икры и инфицированной рыбы привели к распространению вируса в Европе, Корее, Тайвани, Японии и Китае. VHSV энзоотичен в Западной Европе, Северо-Восточной части Тихого океана, Балтийском и Северном морях. *Hirame rhabdovirus* (HIRRV) выделен только в Японии. Виды данного рода вызывают экономически значимые болезни у культивируемых рыб. Вспышки болезней, обусловленных IHNV и VHSV, сопровождались гибелью 50-100% поголовья лососевых, разводимых в искусственных условиях. Сообщалось об эпизоотиях, вызванных IHNV, среди дикоживущих лососевых. IHNV и VHSV вызывают болезнь, сопровождающуюся геморрагическими петехиями на внешней поверхности и внутренних органах. При гистоисследовании наибольшие дегенеративные изменения и некрозы обнаруживаются в почках, и гематопозитической ткани.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Внутри рода виды могут быть определены серологически, на основе перекрестной нейтрализации с использованием поликлональной кроличьей антисыворотки. Штаммы внутри вида нейтрализуются одной антисывороткой. IHNV и HIRRV представляют собой отдельные серотипы, а VHSV имеет один мажорный серотип с небольшим числом штаммов. Вирусы разных видов не проявляют перекрестной нейтрализующей активности, хотя при анализе в Western-blot слабая активность может проявляться со специфическими протеинами. Анализ нуклеотидных сиквенсов совпадает с разделением на виды на основе серологических данных. Для штаммов одного вида различия по нуклеотидному сиквенсу составляют 3-4% для генов G и NV IHNV и 18% для гена G Европейских и Северо-Американских VHSV. Идентичность по аминокислотному сиквенсу протеина N между IHNV и VHSV составляет примерно 34%. **Виды (3 вида):**

Название вида вируса	на русском языке	№ генома в генбанке	Аббр-па
<i>Hirame rhabdovirus</i>	Рабдовирус Хирам	D45422, U24073, U47847	HIRRV
<i>Infectious hematopoietic necrosis virus</i>	Вирус инфек гематопозитического некроза	L40883, M16023, U47846, U50401, U50402, X89213	IHNV

<i>Viral hemorrhagic septicemia virus</i> (Egtved virus)	Вирус геморрагической септицемии (Вирус Эгтвед)	D00687,U02624,U02630,U03502,U03503,U28745,U28746, X59241	VHSV
--	---	--	------

**Предполагаемые виды (3):** Eel virus B12 (EEV-B12), Eel virus C26 (EEV-C26) Snakehead rhabdovirus (SHRV).

**Неклассифицированные виды семейства.** Известно 6 серогрупп рабдовирусов животных (всего 20 видов), не включенных в данные роды, а также ряд негруппированных вирусов (37 вирусов животных и 58 вирусов растений).

**Филогенетическое родство внутри семейства.** Для протеинов G показана относительно низкая идентичность сиквенсов разных представителей семейства, что не позволяет их использовать для универсального определения филогенетического родства. Сиквенс протеина L наиболее консервативен, но данных пока недостаточно. Филогенетическое родство, основанное на анализе сиквенса протеина N (119 аминокислот), показало, что наибольшее родство имеют везикуло- и эфемеровирусы.

**Сходство с другими таксонами.** Рабдовирусы имеют общие признаки с представителями семейств *Filoviridae* и *Paramyxoviridae* порядка *Mononegavirales*: геном представлен РНК (несегментированная, одноцепочечная, с негативной полярностью, неинфекционная), спиральный нуклеокапсид, первичная транскрипция инициируется вирусной РНК-зависимой РНК полимеразой, сходная организация генома, один 3'-промотор с коротким концевым нетранскрибируемым участком, межгенные участки. Вирионы представляют собой крупные оболочечные структуры с характерной бахромой выступов. Реплицируются в цитоплазме, почкование происходит в основном через плазматическую мембрану, за исключением вируса бешенства, который иногда почкуется через внутренние мембраны, и рабдовирусов растений из рода *Nucleorhabdovirus*, которые почкуются через внутреннюю ядерную мембрану. Транскрибируют дискретные непротранскрибируемые мРНК.

## ВЕЗИКУЛЯРНЫЙ СТОМАТИТ

Vesicular stomatitis (англ), Stomatite vesiculose (франц), Stomatitis vesicularis (нем)

Везикулярный стоматит (ВС) - остропротекающая болезнь лошадей, мулов, КРС и свиней, проявляющаяся образованием везикул в ротовой полости, поражением сосков вымени, реже тканей области межкопытной щели, венчика и мякишей. Протекает в виде энзоотических вспышек или эпизоотии. Болезнь впервые диагностировали в Южной Америке в 1802 г В 1915-1917 гг.. она возникла из Канады во Францию, затем ее регистрировали в Германии, Англии, Италии, в 1939 г. обнаружена среди лошадей и КРС в Аргентине, в 1944 г - в Венесуэле среди лошадей и свиней В 1949 г в США эпизоотия охватила 14 штатов В 1950 г болезнь распространилась в Мексике За последн.ие годы ВС наблюдается в Северной и Южной Америке, Англии, Франции, Италии, Индии, Китае В РН ВНА к вирусу типа Индиана выявлены в большом проценте случаев у животных, живущих на деревьях, а к вирусу типа Нью-Джерси - у грызунов. У домашних животных и людей титры АТ высоки к обоим типам вируса.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

Вирус везикулярного стоматита открыли Коттон, Олитский, Траум и Шенинг в 1925.

**Морфология и химический состав.** Вирионы пулевидной формы, размер 70-175 нм. Палочковидные субъединицы прикреплены к нити нуклеиновой кислоты, которая свернута в спираль, состоящую из 30 витков с наружным диаметром 49 нм и 4 витков с меньшим диаметром, находящихся в полусферической части вириона. Спиральный

нуклеокапсид заключен в оболочку (толщиной 18 нм), на поверхности которой имеются характерные ворсинки длиной 10 нм. Наружная оболочка вирионов содержит фосфолипиды клетки, а внутренний спиралевидный остов представлен вирусспецифическим АГ. Наружные шиловидные выступы связаны с внутренним спиралевидным компонентом. Они пронизывают оболочку вириона, образуя на его поверхности выступы. Геном ВВС - это нефрагментированная 1-нитевая молекула РНК, с мол.м. 4-4,5 МД. РНК, выделенная из вирионов (около 2%), неинфекционна. Основные белковые компоненты ВВС Р2 и Р5, а также минорные Р1 и Р4, находятся в поверхностной оболочке вируса и частично погружены в липидную мембрану. Компонент Р3, представляющий белок ядра вириона, изолирован оболочкой от внешней среды. При размножении вируса образуются частицы 3-х типов полноценные инфекционные В частицы и неинфекционные дефектные LT и Т- частицы. «В» частицы содержат 42 S РНК, LT- 28 S РНК и Т - 23 S РНК. Предполагают, что 42 S РНК В - частиц, возможно, является продуктом "сшивания" 28S и 23S РНК, причем это "сшивание" может происходить уже на стадии соответствующих нуклеокапсидов. Образование LT и Т частиц в таком случае есть следствие дефекта этого "сшивающего" механизма, приводящего к "надеванию" внешней оболочки "несшитых" 100S и 80S нуклеокапсидов. Нуклеокапсиды «В» частиц имеют константу седиментации 140S, LT100 S и T80S «В» частицы содержат специфическую РНК-полимеразу, которая участвует в двух реакциях в транскрипции и в посттранскрипционной модификации продукта РНК .

**Устойчивость.** Добавление сыворотки к вируссодержащей суспензии способствует защите вируса от неблагоприятных воздействий. Вирус хорошо сохраняется в замороженном (-20°C и ниже) и лиофилизированном состояниях. В 50%-ном забуференном р-ре глицерина (рН 7,5) при 4-6°C вируссодержащие материалы сохраняют активность около 4-х мес.. В инфицированных кормушках и поилках вирус сохраняет активность 3-4 дня, в садовой земле при 4°C - до 30 дн.. Температура 100°C и 2%-ный р-р NaOH убивают его почти мгновенно. Различные штаммы вируса неодинаково чувствительны к протеолитическим ферментам (трипсину и хемотрипсину) Высокочувствительны шт. Индиана и Нью-Джерси, малочувствителен шт. Кокэл и нечувствительны шт. Аргентина и Бразилия. Оба фермента удаляют АГ с поверхности вирионов у шт. Индиана. У шт. Бразилия удаляется около 70% АГ и остальные 30% устойчивы даже при продолжительной обработке. Он имеет поверхности выступы 2-х типов, отличающиеся по своей устойчивости к протеолитическим ферментам.

**Антигенная структура.** Первый растворимый АГ вируса (шт. Индиана), представляющий белок сердцевинки вириона, имеет константу седиментации 20S Второй растворим АГ (константа седиментации 6S) реагирует перекрестно с АГ на вирусную оболочку. Данный АГ в оболочках вирусных частиц 2-х серотипов (Индиана и Нью-Джерси) различен.

**Антигенная активность.** Все штаммы 2-х серотипов (Индиана и Нью-Джерси) при экспериментальной инфекции индуцируют ВНА. Вирус вызывает появление в крови реконвалесцентов специфических ВНА и КСА. Первые обнаруживаются на 7-10 день болезни. КСА у КРС и лошадей можно обнаружить на 6-8 день после заражения, к 9-16-му дню о достигают максимума и, постепенно снижаясь к 50-110-му дню, исчезают. У некоторых животных ВНА в высоких титрах могут сохраняться до 13 и даже 48 мес.. Выздоровевшие животные с высоким уровнем ВНА, но отрицательно реагирующие по РСК, чувствительны повторному заражению гомологичным вирусом.

**Антигенная вариабельность и родство.** Имеется 4 АГ различных типа ВВС: Нью-Джерси, Индиана, Коралл и Керн-Каньон, различающихся в РН иммунологически в опыт перекрестного заражения. Однако в РСК и реакции камедь-агглютинации вирусы дают перекрестные реакции, что свидетельствует о наличии у них общего АГ. При помощи РДП в агаровом геле также удалось выявить общий для обоих серотипов растворимый АГ. Однако субвирусные структуры, полученные при обработке вирусов твином и эфиром или дезоксихолатом натрия в РСК давали значительные перекресты. Вероятно, тип- и штаммоспецифические особенности вирусов определяются белком входящим в состав поверхностных структур, а за реакцию с гетерологичными сыворотками ответствен белок РНП. ВВС не имеет АГ и иммунологического родства с вирусом ящура и с вирусом везикулярной экзантемы. Серотип Нью-Джерси встречается чаще и вызываемая им болезнь протекает тяжелее, чем вызываемая шт. Индиана.

**ГА свойства.** Серотипы Индиана и Нью-Джерси различаются по адсорбции и элюции. Оба активно сорбируются эритроцитами гусей при низкой температуре в узком диапазоне рН (для шт Индиана рН 5,8 для Нью Джерси рН 6,4).

**Экспериментальная инфекция.** Легко воспроизводится на КРС, лошадях, овцах, козах, мулах, свиньях, косулях, белых мышах, морских свинках, хомяках и хорьках и нерегулярно - на кошках, крысах, кроликах, енотах. При заражении КРС в язык или десну, а также при втирании вируса в скарифицированную слизистую оболочку, развивается типичная картина болезни. При аэрозольном заражении клинически болезнь не проявляется, хотя у животных отмечают появление специфических АТ. Контактное заражение в эксперименте не всегда удается. При интрацеребральном заражении у мышей 3-4-нед возраста развивается энцефалит. У морских свинок массой 500-600 г после введения вируса в плантарную поверхность кожи лапки через 44-50 ч появляются везикулы, поражаются также почки и печень. Кроликов удается заразить в язык (не всеми штаммами) и в мозг. Цыплят можно заразить интрацеребрально, но непрерывные серийные пассирования вируса на них не удаются. Можно заразить уток и гусей при введении материала в язык и в плантарную поверхность лапок. Возможно экспериментальное заражение голубей, енотов и лягушек. Последние после инфицирования могут быть носителями вируса в течение многих недель. Возможно случайное заражение человека при манипуляции с вирусом и при контакте с животными.

**Культивирование.** Удаётся в 7-8-дневных КЭ при нанесении материала на ХАО и инкубировании при 35°C. Если эмбрионы в течение 1-2 дн. не погибают, у них развиваются пролиферативные, а затем некротические изменения на оболочке. Вирус размножается также в аллантоисной полости. Кроме КЭ, вирус удаётся культивировать на мышатах-сосунах 7-10-дн. возраста, зараженных интрацеребрально и интраперитонеально. Титры вируса в КЭ и мышатах-сосунах могут достигать  $10^{7,5}$ - $10^9$  ИД<sub>50</sub>/мл. Вирус культивируют также в первичных культурах фибробластов КЭ и клетках почечной ткани морских свинок, КРС, свиней, а также во многих перевиваемых линиях клеток различного происхождения (L, HeLa, KB, КЕМ, СОЦ, Нер, RES и др.). Размножение его сопровождается развитием ЦПИ. В монослойной культуре почечных клеток вирус вызывает образование бляшек. Его можно титровать методом бляшек.

#### **ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

**Источники и пути передачи инфекции.** Животные заражаются во время приема корма, воды, инфицированных слюной больных животных. Перезаражению животных способствуют насекомые: *Stomoxys calcitrans* (6 видов), слепни (3 вида), *Chrysops* и *Aedes*

(4 вида). В циркуляции вируса в природе участвуют дикие крысы. Предполагают, что вирус может сохраняться в почве и на растениях и разноситься кровососущими насекомыми. Эту экологическую особенность объясняют сходством с фитопатогенными вирусами.

**Спектр патогенности в естественных условиях.** В естественных условиях ВС болеют лошади, мулы, КРС, свиньи, овцы, еноты, косули, кабаны. Взрослый КРС более восприимчив, чем телята. Возможно случайное заражение людей в лабораториях или в результате прикосновения руками к пораженным соскам вымени больных коров. У людей болезнь может протекать в латентной форме или напоминать грипп.

**Клинические признаки и патологоанатомические изменения.** Инкубационный период продолжается 2-9, чаще 2-5 дн.. Первыми клиническими признаками болезни являются красные пятна, появившиеся на слизистой оболочке щек, губ, на твердом и мягком не особенно на языке. Затем появляются единичные и множественные болезненные пузырьки, наполненные прозрачной или желтоватого цвета серозной жидкостью, которые, сливаясь, образуют красные пузырьки. Последние быстро лопаются, обнажая ярко-красную кровоточащую поверхность. Такие эрозии иногда поражают большую поверхность языка и десен. Обычно они в течение 3-7 дн. эпителизируются. Перед образованием пузырьков или во время появления их животные угнетены, температура тела повышена до 41-42°C. После разрыва пузырьков снижается до нормальной. При поражении слизистой оболочки ротовой полости происходит обильное слюнотечение. Животные издают чмокающие звуки. У коров часто поражаются соски. На них появляются везикулы, которые увеличиваются и лопаются. Образуются кровоточащие болезненные язвы. Если поражена большая поверхность вымени, развивается мастит. Иногда пузырьки появляются на слизистой оболочке носа, конъюнктиве, зеркальце, на венчике и коже межкопытной щели. Выздоровливают животные на 8-16-й день после разрыва везикул. Этот срок зависит от тяжести поражения. У лошадей пузырьки появляются преимущественно на поверхности языка, затем внутренней и наружной поверхностях губ, в углах рта, на морде, в ноздрях, реже на у на нижней поверхности живота, препуции, на вымени и конечностях. В результате поражения венчика возможно отслоение всего рогового башмака или только его пяточной части. При тяжелых поражениях конечностей животные хромают. Длительность болезни зависит от величины поражения и осложнений. Болезнь продолжается 12-16 дн.. У свиней ВС протекает остро и характеризуется лихорадкой (41-42°C) и появлением везикулярной сыпи на слизистой оболочке ротовой полости, языка, на коже губ, рыла, межкопытной щели, на пяточке, вымени. Инфекция протекает в виде энзоотии (возможно, эпизоотии) с поражением от 5 до 90% (в средн.ем 30%) животных. Первые патизменения появляются в глубине шиловидного слоя эпидермиса. Затем процесс распространяется на базальный и зернистый слои. С распространением патологического процесса цитоплазма во ядра клетки сокращается так, что клетки приобретают вид больших лимфобластов. В результате вокруг ядра и плазмы образуются пузырьки, заполненные жидкостью. Такой пузырек окаймляется лишь тонким ободком. Объем внутриклеточной жидкости увеличивается, прибавляется воспалительный экссудат, вследствие чего цитоплазма становится более жидкой. Ядра клеток изменяются. Вначале клетки уплотняются, а позднее происходит их гранулированное разложение. Многие измененные клетки сливаются и образуются пузырьки, распространяющиеся как вниз на базальный слой, так и вверх на роговой слой эпидермиса. В более глубоких слоях кожи возникают отек и воспалительные процессы с инфильтрацией нейтрофильных

элементов. С развитием патологического процесса содержимое пузырей становится гнойным. Все эти изменения можно наблюдать, примерно, 12 ч.

### **ДИАГНОСТИКА**

Клинически ВС протекает, примерно, так же, как ящур и везикулярная экзантема свиней. Поэтому симптомы болезни и патологические изменения не могут служить основой для диагностики этой инфекции. Кроме анализа эпизоотической обстановки, необходимо выделять вирус из патологического материала, взятого от больных животных, и проводить его идентификацию; ставить биологическую пробу на морских свинках и лошадях. Для подтверждения диагноза ставят РСК и РН в культуре ткани или на КЭ, камедь-агг.лютинацию реакцию ингибиции камедь-агг.лютинации. Для обнаружения ВВС применяют реакцию камедь-агг.лютинации. Суть её состоит в том, что АТ к этому вирусу адсорбируются частицами ионообменной смолы. Покрытые АТ частицы камеди агг.лютинированы вирусом. Результаты исследования сывороток с помощью ингибиции камедь-агг.лютинации четко совпадают с данными РН. С помощью камедь-агг.лютинации можно обнаружить формализованный вирус с утраченной вирулентностью. Между титрами инфекционности вируса и камедь-агг.лютинации прямой связи нет. При дифференциальной диагностике необходимо исключить ящур, везикулярную экзантему свиней (ВЭС), инфекционное папулезное воспаление ротовой полости у КРС, просто пузырьковый стоматит и язвенный ринит у лошадей. Дифференцировать ВВС от ВЯ и ВЭ можно на основании различий их по некоторым физико-химическим свойствам, в частности, по устойчивости к кислой среде (рН 5,0) и чувствительности к эфиру, а также по результатам биопробы. Диагноз на прошедшую инфекцию ставят при помощи РСК и РН, однако исчезновение КСА через 2-3 мес. после переболевания позволяет использовать эту реакцию только для диагностики относительно свежих случаев болезни В противоположность этому ВНА сохраняются до 4-х лет и дольше, что делает использование РН особенно полезной для ретроспективной диагностики, а также для выяснения общей эпизоотологической ситуации путем массовых серологических исследований скота. Выздоровевшие животные высоким уровнем ВНА, но отрицательно реагирующие по РСК, чувствительны к повторному заражению гомологичным вирусом.

### **ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА**

Переболевшие животные приобретают стойкий иммунитет только против определенного серотипа вируса на срок от 6 до 12 мес.. Для активной иммунизации животных применяют вакцину из инактивированного кристаллвиолетом или β-пропилактоном вируса. Вакцина создает полный иммунитет на 1 мес.. и неполный - на 3 мес.. После вторичной прививки иммунизирующее действие вакцины усиливается.

**Ветеринарно –санитарная оценка.** Туши и продукты убоя от больных и подозрительных по заболеванию выпускать в сыром виде запрещается. При наличии дегенеративных или других патологических изменений в мускулатуре тушу с внутренними органами направляют на утилизацию. При отсутствии патологических изменений направляют образцы на бактериологическое исследование на сальмонелллез. В случае обнаружения сальмонелл внутренние органы утилизируют, а тушу направляют на проварку. При отсутствии сальмонелл разрешается перерабатывать на варёные, варёно –копчёные колбасы , консервы или проварку.

### **БЕШЕНСТВО**

Rabies (англ), Tollwut (нем), Lyssa, La Rage (франц), Rabia (исп).

Бешенство (Б) - остро протекающая болезнь теплокровных животных, характеризующаяся поражением ЦНС. Восприимчивы домашние и дикие животные всех видов, а также человек. Клинические признаки заболевания описали Плутарх и Селкус в 100 г. н. э. Е. С. Tierkel относит наиболее ранние ссылки на заболевание в Азии как одно из встречавшихся в античном Вавилоне в XXIII веке до н. э. и в последующем имевшее название Hammurabi. Вопреки античной истории заболевания многие аспекты Б неясны до настоящего времени. Большинство теплокровных животных чувствительны к вирусу бешенства (ВБ). Длительно удерживавшаяся концепция фатального исхода заболевания человека, как и животных всех видов, постепенно меняется - имеют место фактически документированные случаи выздоровления от Б человека и собак после экспериментальной инфекции. Болезнь регистрируется в различных странах земного шара. Не отмечено случаев проявления болезни в Австралии, Великобритании, Японии. В зависимости от резервуаров и особенностей течения распространение Б в мировом масштабе условно принято делить на несколько ареалов. Полярный ареал включает арктическую территорию бывшего СССР, Гренландию, Аляску, где в 60-90% случаев носительство ВБ проявляется дикованием (у песцов). Известны случаи заболевания с летальным исходом людей, контактировавших с больными песцами. Западная, Центральная Европа, азиатская часть бывшего СССР, США, Мексика входят в зону, характеризующуюся многочисленными резервуарами (куницы, лисы, волки, грызуны). Южная и Центральная Америка рассматриваются как самостоятельный тип природной очаговости, где резервуарами являются летучие мыши. В Африканском ареале основным носителем вируса являются мангусты. В последнее десятилетие в Азии, Африке и Латинской Америке от Б ежегодно погибает около 20 тыс. человек, в Индии - около 30 тыс. человек 96% укусов наносят собаки. К 1950 г большинство европейских стран стало свободным от Б собак. Затем инфекция стала распространяться с востока на запад: в период 1960-1970 гг. волна Б среди лисиц охватила ФРГ, Австрию, Бельгию, Францию, Люксембург. Всего за 1972-1989 гг. было зарегистрировано 300 тыс. случаев Б у животных. В 83% случаев болели дикие животные, в основном лисицы (74,5%). В период 1990-1993 гг. собаки были ответственны за 84,1% случаев человеческого Б, летучие мыши - за 7,2, кошки - за 4 и другие животные (обезьяны, волки, койоты) - за 4,7%. В ряде стран передача Б вампирными летучими мышами имеет важное значение для общественного здравоохранения и экономики. С 1987 г. 73 человеческие смерти были вызваны Б, передаваемым вампирными летучими мышами. Помимо собак в распространении Б существенную роль играют кошки. Они составляют обычно не более 5% от общего числа иммунизированных животных. К некоторым штаммам ВБ кошки даже более чувствительны, чем собаки, причем они выделяют большее количество вируса. Санитарные мероприятия по борьбе с Б кошек заключается в исключении контактов их с животными (векторами инфекции) содержание в изолированных условиях и удаление бродячих кошек из инфицированных районов.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ**

**Морфология и химический состав.** Установлен генетический плеоморфизм гена нуклеопротеида Б. Все 69 изолятов ВБ из различных частей мира принадлежат к серотипу 1, причем идентифицировано по крайней мере 12 филогенетических линий в соответствии с географической локализацией хозяина. Селекция, возможно, связана со специфичностью хозяина, ограничивает изменения аминокислотных последовательностей и АГ дрейф.

**Устойчивость.** Низкие температуры консервируют вирус. Температура 23°C инактивирует его через 28-53 дня, 50°C - через 1 ч, 60°C - за 5-10 мин, 70°C - мгновенно. Высушивание инактивирует вирус в течение 10-14 дн. В гниющем материале он гибнет через 15 дн. УФ лучи убивают за 5-10 мин. Дезинфицирующие в-ва (р-ры формальдегида, гидроксида натрия, хлорной извести) действуют на ВБ губительно. Вирус устойчив к рН 5-10 при 4°C.

**Антигенная структура.** Нуклеокапсид ВБ представляет собой спиральные тела, состоящие из белков N, NS и L, составляющих 96% его массы, белок N-вирионной РНК, защищающей ее от действия РНК-азы; высокомолекулярный белок L и небольшой белок NS не связаны с нуклеокапсидом и содержатся в вирионе в незначительном количестве. Внутренним белком вирусной оболочки является негликозилированный мембранный или матриксный (М) белок. Кроме белка М у ВБ в состав внутреннего слоя оболочки входит белок А или клеточный актин с мол.м. 43 кД, содержание которого достигает 1-5% массы вирионных белков. До недавнего времени считалось, что все штаммы ВБ имеют одинаковый АГ состав. Однако с помощью монАТ удается легко различать фиксированные и дикие его штаммы как по нуклеокапсидным, так и по гликопротеиновым АГ. В вирионах ВБ обнаружено 5 белков. Гликопротеин G способен индуцировать образование ВНА и защищать животных от заражения. Нуклеокапсидный АГ индуцирует образование КСА и ПА.

**Антигенная вариабельность и родство.** Ранее все штаммы ВБ рассматривались как единые в АГ отношении. Однако благодаря гибридомной технологии появилась возможность получения монАТ к отдельной АГ детерминанте. МонАТ позволили выявить тонкие АГ связи и различия между штаммами вирусов группы Б. В настоящее время считают, что вирус Б имеет 4 серотипа, что, видимо, обусловлено различием в составе мембранных белков. Учитывая это, была предложена следующая классификация вируса: вирус 1-го серотипа; прототип этого вируса - шт. CVS и сходные с ним полевые и лабораторные штаммы, выделенные в различных частях света; вирус 2-го серотипа; прототип его - шт. Lagos Vat, выделенный из костного мозга летучей мыши в Нигерии; вирус 3-го серотипа; прототип его - шт. Мокола, выделенный от землеройки и человека; вирус 4-го серотипа - шт. Obodhiang, выделен от лошадей, комаров и москитов в Нигерии и еще не классифицирован. Все варианты ВБ в иммунобиологическом отношении родственны. Нуклеопротеидные АГ различных ВБ имеют группоспецифическое родство с другими рабдовирусами. МонАТ к различным штаммам ВБ открыли новую страницу в изучении тонкой АГ структуры лиссавирусов, представили дополнительные возможности для решения теоретических и прикладных задач рабиологии. Показана перекрестная защита мышей против широкого спектра изолятов ВБ. Любой штамм ВБ или его гликопротеин могут быть использованы для вакцинации во всем мире.

**Локализация и выделение вируса.** Многочисленные исследования патогенеза Б позволили условно разделить острую рабическую инфекцию на III основных фазы: I - экстраневральная фаза, без видимого размножения вируса в месте инокуляции, II - интраневральное, центростремительное распространение инфекции и III - диссеминация вируса по всему организму, сопровождаемая появлением симптомов болезни и, как правило, гибелью животного. Распространение ВБ по нервным путям впервые доказано Пастером и Ру. Вирус проникает в организм со слюной в местах укуса и непродолжительное время сохраняется в месте внедрения (до 2-х нед.), а затем по центростремительным нервам продвигается к спинному и головному мозгу. Из мозга по

центробежным нервам он попадает в слюнные железы, где репродуцируется в нервных узлах и после дегенерации нервных клеток выходит в протоки желез, инфицируя слюну. Из мозга вирус также нейрогенным путем попадает в слюну, роговицу, надпочечники. Выделение вируса по слюной начинается за 10 дн. до проявления клинических признаков, поэтому французский регламент предусматривает 15-дн. срок наблюдения за покусавшим животным. У бешеной лисицы накапливается в слюнных железах столько вируса, что можно заразить 67 млн. лисиц. Доказано нахождение вируса во всех внутренних органах и крови, кроме сальника, селезенки и желчного пузыря. Из ЦНС по нервным путям вирус попадает во внутренние органы, а затем в кровь. Таким образом происходит стадия генерализации инфекционного процесса.

**Персистенция вируса.** За последние годы описаны казуистические случаи неоднократного выделения ВБ из слюны здоровых собак на протяжении почти 2-х лет после их инфицирования. Аналогичная картина наблюдалась и у некоторых экспериментально зараженных кошек. В 1981 г. представлены результаты 4-летнего изучения Б мангустов, выловленных в ряде районов Гренады. С помощью ИФ ВБ обнаружен в срезах мозга 100 (2,1%) из 4754 обследованных мангустов. Среди 1675 обследованных животных обнаружены ВНА в пробах 498 сывороток (30%). При сопоставлении результатов обнаружения Б и соответствующих АТ обнаружено, что число больных животных в течение 1971-1974 гг. ежегодно снижалось (с 3,5 до 0,6%), количество мангустов с определяемыми АТ увеличилось с 20,8 до 43,2%. АТ к Б, как отмечено, в опытах с отловленными в природе мангустами (20 особей), циркулировали в крови еще 35 мес. У животных с наиболее высокими титрами АТ (1 : 1400) отмечена и наибольшая скорость их снижения.

Одно из свойств ВБ - способность к персистенции *in vivo* и *in vitro*. Хроническая инфекция клеток Нер-2/2 и ВНК-21/13 фиксированным ВБ сопровождается определенными изменениями клеточного метаболизма. АГ ВБ образуется в цитоплазме клеток независимо от включений. Персистенцию ВБ удается наблюдать при хронической инфекции в клеточных культурах, причем по морфологии и скорости размножения клеток хронически инфицированные культуры не отличались от незараженных. Вирусный АГ передавался при делении клеток. После того, как была показана возможность образования дефектных интерферирующих частиц (ДИЧ) ВБ при первичной инфекции *in vivo*, ДИЧ были выделены и охарактеризованы при хронической инфекции ВБ клеток ВНК. Генерация ДИЧ в нейронах ЦНС может не только определять окончательный исход инфекции, но и объяснять ее латентный характер. В настоящее время данные о роли интерферона и ДИЧ в механизме хронической инфекции ВБ в клеточных культурах противоречивы.

**Антигенная активность.** Животные, иммунизированные против Б, продуцируют ВНА, КСА, ПА, анти-ГА и литические (разрушающие клетки, зараженные вирусом в присутствии комплемента) АТ. Поверхностный гликопротеин G оболочки ВБ - единственный белок, отвечающий за индукцию ВНА и формирование протективного иммунитета, защищая лабораторных животных от латентной инфекции. В отличие от цельных вирионов субвирусный препарат не обладает ГА активностью. Нуклеокапсидный АГ вызывает образование КСА и ПА. Он является группоспецифическим АГ для всех лиссавирусов. Препараты очищенного нуклеокапсида из клеток ВНК-21, зараженных шт. FLURI-HEP и ERA, индуцируют только КСА. Иммуные АТ сыворотки крови в присутствии комплемента лизируют зараженные культуры клеток. Между титрами КСА и ВНА никакой корреляции не обнаружено. Эти

АТ появляются независимо друг от друга и индуцируются, по-видимому, разными АГ. Накопление КСА характеризует ответ на вакцинацию, но этому не обязательно сопутствует накопление ВНА.

**Экспериментальная инфекция.** Легко воспроизводится на теплокровных всех видов, однако в условиях лаборатории - чаще всего на мышах и сравнительно редко (требуется особые условия) на собаках. Показана различная чувствительность мышей к экспериментальному Б в зависимости от патогенных свойств вируса, пола, возраста и способа инфицирования. Показано, что патогенность *v. fixe* Б для взрослых мышей зависит от АГ детерминант поверхностных гликопротеинов вируса. Изменение патогенности коррелирует с замещением аргинина в позиции 333 молекулы гликопротеина другой аминокислотой. Последнее время появились сообщения о возможности выздоровления больных Б животных в естественных и экспериментальных условиях.

**Культивирование.** Помимо интрацеребральных пассажей на кроликах и белых мышках ВБ (шт. Flugi-NEP и Lep) успешно репродуцируется в культуре фибробластов КЭ. Показана высокая чувствительность к ВБ (шт TC-80 и CVS) и высокий уровень накопления АГ в зараженных перевиваемых культурах - почки сайгака (ПС) и почки эмбриона африканской козы (ПЭАК). Показана также возможность культивирования ВБ в культурах клеток слюнной железы и почки собаки, жировой ткани летучей мыши, почек поросенка, кролика, сирийского хомяка, эмбрионов овцы, человека и японских перепелок. ВБ адаптирован и к перевиваемым линиям клеток (ВНК-21/13, эндотелия кролика, диплоидной линии клеток легких эмбриона человека - HDC S, известной под названием Wi-38) Показана возможность его репродукции в перевиваемых линиях клеток пойкилотермных позвоночных, в частности, в клетках рыбы, змеи, черепахи и ящерицы. Наиболее перспективна перевиваемая линия клеток ВНК-21/13, использование которой позволяет накапливать вирус в больших количествах. Не все штаммы с одинаковой легкостью поддаются адаптации к культуре клеток. При адаптации ВБ к культурам клеток прибегают к различным приемам. Интенсивность размножения вируса в культуре клеток можно постоянно контролировать методом ИФ. К ВБ после предварительной адаптации восприимчивы и КЭ. Для культивирования штаммов уличного ВБ обычно используют КЭ.

**ГА свойства.** Обусловлены наличием у вируса ГА АГ, находящегося на поверхности вириона в выступах его оболочки. Было показано, что выращенный в культуре клеток и концентрированный ВБ вызывает феномен гемагглютинации. Между инфекционной и ГА активностью существует линейная зависимость, поэтому титрование вируса по инфекционности может быть заменено тестом определения ГА активности.

**ГАд свойства.** Впервые гемадсорбирующие свойства ВБ (шт. Мочалин), выращенного в культуре первичных клеток почки сирийского хомячка, описаны в 1967 г. Феномен воспроизводился с эритроцитами гуся, курицы, сирийского хомячка, морской свинки и обезьяны при температуре 4°C. Специфичность реакции была подтверждена с помощью иммунной сыворотки; после 3-4-кратного отмывания гемадсорбция не разрушалась и не воспроизводилась с другими штаммами ВБ.

### **ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

**Источник и пути передачи инфекции.** Источник инфекции - больные животные. Для штаммов ВБ, поддерживаемых в организме собак и волков, характерна высокая тропность к ЦНС и низкая к висцеральным органам, поэтому вирус, выделяемый со слюной, может отсутствовать в крови, моче, молоке больного животного. Естественное распространение Б среди собак почти полностью зависит от классической цепи передачи

укус - рана. Почти все случаи передачи Б собакам и волкам человеку и сельскохозяйственным животным также объясняются попаданием вирусосодержащей слюны в раны, нанесенные при укусах, однако возможно заражение при ослонении пораженной кожи. Алиментарный и аэрогенный пути заражения в принципе возможны, но они не играют существенной роли. Доказана возможность трансплацентарной передачи вируса в естественных условиях путем выявления вируса в органах плода КРС. В настоящее время доказана роль летучих мышей различных видов в распространении ВБ. Лисица (*Vulpes vulpes*) является вектором Б в Европе и Северной Америке, обуславливая 60-85% заболевания. Необычная их роль в современной эпизоотологии Б объясняется непомерным увеличением популяции, чрезвычайной восприимчивостью к ВБ, а также возможностью перорального заражения.

**Спектр патогенности в естественных условиях.** Очень широк. Эпизоотические штаммы ВБ различают по вирулентности и другим свойствам. Описанные варианты разделяют на 5 групп. К 1-ой группе относятся так называемые усиленные штаммы (или вирусы ремфорс), характеризующиеся высокой вирулентностью, коротким инкубационным периодом болезни (1-2 дня) и постоянным образованием телец Бабеша - Негри. Во 2-ю группу входят следующие варианты: а) вирус, выделенный от собак (Улу-Фато). Подобные ему штаммы встречаются в различных районах Африки. Характерный признак - внезапное изменение поведения и развитие параличей; б) вирус, выделенный от больного КРС в Кадейросе. Клинически болезнь напоминала чуму, но затем развились параличи. Установлено, что этот вирус передается летучими мышами; в) вирус, выделенный от погибших людей во время эпидемии Б на острове Троица в 1929 г. Одновременно болели и КРС, лошади, мулы, ослы. Возбудитель передавался через укусы летучих мышей-вампиров. К 3-й группе отнесены штаммы, выделенные от песцов и собак при заболевании, именуемом ликованием, встречающемся в северных районах России и Канады. Симптомы ликования несколько отличаются от течения истинного Б. Почти никогда не болеет человек. В 4-ю группу включен вирус, выделенный в США в 1940 г. Личем и Джонсоном из мозга умершей девочки по имени Флури (шт. Флури, неадаптированный). Вирус вызывает у собак, кошек, морских свинок, мышей болезнь, проявляющуюся параличами. Болезнь очень сходна с заболеванием, вызываемым фиксированным вирусом. Кролики малочувствительны. В мозге больных животных данный штамм не индуцирует образования телец Бабеша - Негри. В 5-ю группу объединены вирусы, выделенные от людей. Сюда отнесен вирус, изолированный в 1929 г. Корчнером, вирус Кобояси и герпесподобный вирус ДК. От диких грызунов выделено много полевых штаммов, подобных ВБ и родственных с ним в АГ-отношении. В 1967 г в Суринаме (Южная Америка) из мозга павших телят, зараженных в естественных условиях, изолированы 2 полевых штамма Б (Д-292 и Д-298), подобных штамму-фикс Пастера. Следует отметить, что если Б - в основном летальная инфекция, то при инфицированности вирусами Мокола, Лагос Бат, Ободьянг и Котонкан случаи гибели при экспериментальном заражении относительно редки. Вирусы Котонкан и Ободьянг патогенны только при интрацеребральном заражении мышей-сосунов и патогенны для собак и обезьян при заражении в мозг или внутримышечно. Вирусы Лагос Бат и Мокола апатогенны для мышей при экстраневральном заражении и не вызывают образования телец Бабеша - Негри. Вирус острого энцефалита человека формировал включения в нейронах мозга животных и эктодермальных клетках ХАО зараженных КЭ, но они отличались по структуре от телец Бабеша - Негри имели отчетливую 1-слойную оболочку,

представляли собой РНК-содержащие плотные образования размером 2-4 мкм и выявлялись как в цитоплазме, так и в ядре клеток. Однозначных представлений о рецепторах, обуславливающих проникновение ВВ в ЦНС, не существует. Предполагается роль ацетилхолиновых рецепторов, холинэргических рецепторов мускаринового типа, а также проникновение через тройничные и другие нити. Авирулентные варианты теряют способность проникать в парасимпатические нервные нити, но сохраняют способность к пенетрации в волокна тройничного нерва.

Спектр патогенности ВВ тесно связан с его экологией, которая имеет свои особенности. Так, имеются 2 формы эпизоотии Б: городская и лесная. При 2-й форме возбудитель циркулирует среди диких плотоядных по типу природно-очаговой инфекции. С 60-х гг. Б диких плотоядных снова стало преобладающим. Основным резервуаром и источником инфекции оказались рыжие лисицы, тогда как остальные дикие животные играют второстепенную роль. Чрезмерному увеличению численности лисиц способствовало истребление их естественных врагов - волков, рысей, медведей, орлов и других хищников. Установлено, что средняя плотность популяции лисиц 5 голов и более на 250 га обеспечивает высокий уровень поддержания и распространения эпизоотии Б среди лисиц появляется прежде всего на территориях с массовым распространением грызунов - основного источника корма для них КРС заражается исключительно на пастбищах, входящих в ареалы зараженных лисиц.

При лесном Б большое количество лисиц (40-80%) переживает инфекцию за счет "нелетального" Б. Болезнь у них часто протекает хронически и латентно, обеспечивая персистенцию вируса в естественных условиях. Наоборот, Б собак в городских эпизоотиях, как правило, заканчивается их гибелью, поэтому механизм поддержания вируса иной, он сводится к коротким циклам репродукции в организме и быстрой передаче восприимчивому организму.

**Клинические признаки и патологоанатомические изменения.** У собак инкубационный период варьирует от нескольких недель до года, в среднем 2-8 нед. Его продолжительность зависит от вида, возраста, резистентности животного, количества проникшего вируса и его вирулентности, места локализации и характера раны. Чем богаче нервными окончаниями ткань в месте внедрения вируса, чем глубже рана и больше она ослонена, тем короче инкубационный период. У 70% заболевших домашних животных клинические признаки Б начинают проявляться между 15-60 дн. после заражения, а у остальных - раньше или позже.

В развитии болезни различают 3 стадии: *продромальную, возбуждения и параличей.*

*Продромальная стадия* (стадия предвестников) характеризуется повышением чувствительности животных к шуму, свету, прикосновениям, извращением аппетита, нарушением зрения, повышением температуры тела. Эта стадия длится от 12 ч до 3-х сут. Стадии *возбуждения* свойственны приступы буйства, ярости, расстройства чувствительности и сознания, оглумообразное состояние. Наблюдаются судороги, парезы жевательных мышц и мышц глотки, сужение зрачков, учащенные позывы к мочеиспусканию Лихорадка достигает максимума. В стадию *параличей* снижается и даже исчезает болевая чувствительность. Нарушается деятельность центров кровообращения и дыхания. Температура тела понижается. Течение болезни заканчивается летально. Однако при серологическом исследовании диких животных, собак, кошек и вампиров в сыворотке крови обнаруживают ВНА, что, вероятно явилось результатом бессимптомного переболевания. Течение Б за последние годы претерпело существенные изменения и

проявляется без стадий свойственных классической болезни В последние годы стали преобладать паралитическое и атипичное проявления болезни. У КРС инкубационный период продолжается от 2 нед. до нескольких мес., чаще 3-6 нед. Клинические признаки в начале болезни неспецифичны: потеря аппетита, замедленная моторика рубца, иногда дрожание, затем паралич глотки и связанный с этим отказ от корма, обильное слюнотечение. Стадия возбуждения может отсутствовать. Она лучше выражена у животных выпасного содержания по сравнению с животными стойлового содержания.

Для *буйной формы* характерны возбуждение животного, затрудненное жевание и глотание, прекращение лактации. Затем возбуждение переходит в буйство, животное стремится сорваться с привязи, хрипло мычит, бросается на препятствия, оглядывается на живот, падает на землю. Наблюдаются обильное слезотечение и потоотделение, фибриллярное подрагивание отдельных групп мышц. Зрачки расширены, конъюнктив гиперемирована, иногда возникает зуд на месте укуса и половое возбуждение. Жвачка становится вялой или совсем прекращается, часто повторяются позывы к мочеиспусканию и дефекации. Развиваются параличи нижней челюсти, языка, мышц конечностей. Смерть наступает на 3-6-й день.

*Паралитическая стадия Б* у КРС встречается наиболее часто. Начало болезни характеризуется снижением молочной продуктивности и аппетита. Наблюдается хриплое мычание, животное отстает от стада. Развиваются атония преджелудков, слюнотечение, затрудненное дыхание, глотание, животное подолгу пережевывает корм, но не проглатывает его. Температура тела повышается до 40-41°C. Наблюдаются фибриллярное подергивание мышц, повышение потоотделения, признаки нарушения координации движения, запрокидывание головы. У некоторых животных в период вышеперечисленных признаков появляется возбуждение (в том числе половое, хриплое мычание). Смерть наступает на 3-6-й день. В 1990-1991 гг. в Аргентине наблюдалась эпизоотия паралитического Б среди КРС и людей. В это время отмечались случаи гибели рукокрылых, гематофагов и от них выделяли ВБ.

У собак Б проявляется в *буйной или тихой форме*. При буйном Б различают 3 стадии: продромальная характеризуется угнетением и длится до 3-х сут. Животное угнетено, прячется в темные углы. В иных случаях собака ласкова. К концу стадии животное лает на предметы, извращается аппетит. Иногда на месте укуса возникает сильный зуд, животное вылизывает, расчесывает, грызет это место. Затрудняется глотание, появляется слюнотечение, хриплый лай. Животное бросается на человека, других животных, что свидетельствует о стадии возбуждения, которая продолжается 3-4 дня. Затем наступает стадия параличей, продолжающаяся 1-4 дня. Болезнь длится 8-11 дн. Тихая форма часто проявляется у собак, покусанных инфицированными лисицами. Первые признаки болезни - затрудненное глотание, слюнотечение, затем параличи нижней челюсти, конечностей, туловища. Гибель наступает через 2-4 дня.

У овец, свиней, лошадей болезнь проявляется также в двух формах: *буйной и паралитической*). Лисицы при заболевании поражаются необычным поведением, теряют чувство страха, нападают на собак, коров и людей. Больные животные быстро худеют, часто возникает зуд в области инфицирования. Возможны вялость, паралич, гидрофобии не наблюдается. Считают, что суслики являются естественным резервуаром ВБ и могут служить моделью для изучения его персистенции.

**Патологоанатомические изменения неспецифичны.** Обычно при вскрытии отмечают истощение, шерсть головы и шеи смочена слюной. В желудке иногда

обнаруживают инородные предметы. У жвачных в сетке и книжке находят сухие, плотные кормовые массы. Часто тонкий кишечник воспален, с кровоизлияниями.

**Патогенез.** Рецепторами ВБ на мембранах нейронов служат полисиалогликозиды. Проводимость импульсов на синаптических мембранах зависит от взаимодействия отрицательно заряженной сиаловой кислоты тиогликозида и ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Препараты гликопротеинов выделяли из отдельных частей головного мозга здоровых и экспериментально инфицированных ВБ лисиц. В препаратах определяли отсутствие полисиалогликозидов и концентрацию сиаловой кислоты, ионов кальция, белка. Во всех проверенных частях мозга заразных лисиц обнаружено повышенное содержание сиаловой кислоты, причем в препаратах коры головного мозга и аммонова рога в 20 раз превышала контрольные значения. Это непосредственно приводит к увеличению отрицательного заряда на синаптических мембранах и к более высокой проницаемости этих мембран. Известно о трех путях проникновения вируса от глаз до мозга: по окуломоторному парасимпатическому нерву; перкорнеальный путь заражения; путь по зрительному нерву. Механизм, посредством которого вирус достигает ЦНС, изучался рядом исследователей. При прогрессировании Б на хомячках было показано, что начало продвижения вируса связано с сокращением мышечных клеток около места инокуляции с инфицированным миоцитом и последующим выходом вируса в экстрацеллюлярное пространство. ВБ может распространяться в ЦНС также за счет цереброспинальной жидкости.

### **ДИАГНОСТИКА**

Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, симптомов болезни, патологоанатомических изменений (они имеют меньшее значение) и, главным образом, результатов лабораторных исследований. Лабораторная диагностика заключается в исследовании головного мозга животных с целью выявления вирусного АГ в ИФ, РДП, обнаружении телец Бабеша - Негри и биопробе на белых мышцах.

**Выделение вируса.** В лабораторию для исследования направляют свежие трупы мелких животных, от крупных животных - голову или головной мозг. В некоторых случаях допускается консервирование головного мозга в 50%-ном глицерине. Труп или голова должны быть тщательно упакованы в полиэтиленовый мешок, мозг - в банку с притертой стеклянной или резиновой пробкой, залитой парафином. Материал упаковывается во влагонепроницаемую тару. Для вирусологических исследований пригоден только не консервированный мозг. Необходимо помнить, что вскрытие трупа, извлечение мозга и другие операции с патологическим материалом следует проводить в условиях стерильности и строгого соблюдения мер личной профилактики: прочно фиксируют голову животного, защищают руки 2-мя парами перчаток (хирургические и анатомические), для защиты глаз надевают очки, а на нос и рот - 6-слойную марлевую повязку. Лабораторные исследования материала на Б проводят вне всякой очереди; результаты немедленно сообщают врачу хозяйства и главному врачу района (города).

**Индикация и идентификация вируса.** Порядок проведения исследований: из каждого отдела головного мозга левой и правой сторон (аммонова рога, мозжечка, коры полушарий и продолговатого) готовят по 4 мазка-отпечатки для ИФ и обнаружения телец Бабеша - Негри, с мозговой тканью ставят РДП, при отрицательных результатах ставят биопробу. Обнаружение специфических телец-включений. Мазки-отпечатки окрашивают по Селлерсу, Муромцеву или другими методами. После окрашивания препараты просматривают в световом микроскопе с иммерсионной системой. Положительным результатом считают наличие специфических телец Бабеша - Негри (при окраске по

Селлерсу - четко очерченные овальные или продолговатые гранулярные образования розово-красного цвета в протоплазме, при окраске по Муромцеву - светло-фиолетовые с темно-синими включениями тельца Бабеша - Негри, чаще они расположены вне нервных клеток. Наиболее характерная особенность телец Бабеша - Негри - их внутренняя структура, позволяющая абсолютно точно дифференцировать их. Внутри видны маленькие зернышки - базофильные зернистости темно-голубого, даже черного цвета величиной 0,2-0,5 мкм. Диагностическая ценность обнаружения телец-включений для доказательства заражения ВБ общепризнана. Однако и у здоровых животных, в особенности у кошек и белых мышей, имеются образования, присутствие которых может вызвать диагностические затруднения. В отдельных случаях в мозге кошки можно с уверенностью дифференцировать подобные включения от телец Бабеша - Негри, и здесь рекомендуется воспользоваться методами идентификации, в особенности ИФ. Равным образом и у собак, погибших в результате отравления змеиным ядом или поражения электрическим током, можно найти тельца-включения, напоминающие тельца Бабеша - Негри. Тельца Бабеша - Негри выявляют лишь в 65-85% случаев Б, поэтому отсутствие их не является отрицательным ответом, и материал исследуется в других тестах (ИФ, РДП, биопроба).

**ИФ.** Один из основных тестов при диагностике Б. При высококвалифицированном выполнении получают в 99-100% совпадения с методом биопробы. Обычно в диагностической практике используют прямой метод ИФ, который проводят с применением антирабического флюоресцирующего Ig. Фиксацию препаратов в охлажденном (8-10°C) ацетоне проводят не менее 4-х ч. В качестве отрицательного контроля используют мазки-отпечатки головного мозга здоровых белых мышей. Учитывают результаты визуально в люминесцентном микроскопе на основе оценки интенсивности свечения комплекса АГ-АТ. АГ ВБ выявляется в виде ярких желто-зеленых или зеленых гранул различной формы и величины в клетках (чаще вне клеток). Диагноз считают установленным, если в нескольких полях зрения обнаруживают достаточное количество (не менее 10) типичных гранул с ярким зеленым свечением или множество мельчайших точек. В контроле подобного свечения не должно быть.

Для доказательства специфичности свечения комплекса АГ-АТ используют метод подавления ИФ, который заключается в способности рабического АГ, связанного с нефлюоресцирующими АТ, вторично не вступать в соединение с флюоресцирующими специфическими АТ. Для этого на фиксированные препараты, приготовленные из исследуемого головного мозга, наносят 5%-ный антирабический нефлюоресцирующий Ig, выдерживают 30 мин при 37°C во влажной камере, промывают физраствором, а затем окрашивают флюоресцирующим антирабическим Ig общепринятым прямым методом. В обработанных таким образом препаратах флюоресценции не должно быть.

Метод ИФ дает возможность обнаруживать ВБ в клетках роговицы глаз и предварительно поставить диагноз прижизненно во время болезни животных, а также за 1-2 дня и более до клинического ее проявления. Метод может быть использован для исследования подозреваемых в заболевании Б животных, а также клинически здоровых собак и кошек, покусавших людей и животных. Для этого готовят отпечатки с роговицы, соблюдая все правила личной безопасности, раскрывают глазную щель животного большим и указательным пальцами и на слегка выпяченное глазное яблоко надавливают поверхностью предметного стекла, отступив 0,5 см от конца. Нужно следить, чтобы животное не моргало третьим веком, так как со стекла удаляются эпителиальные клетки и получается некачественный мазок. С каждого глаза делают не менее 2 препаратов,

содержащих по 2 отпечатка. Для контроля аналогичным образом готовят отпечатки роговицы от здоровых животных. Их можно приготовить в хозяйстве. Отпечатки высушивают на воздухе, фиксируют в ацетоне в течение 4 ч при 4°C, упаковывают и отправляют в лабораторию. В препаратах, полученных от больных животных или находящихся в конце инкубационного периода болезни, в цитоплазме многих эпителиальных клеток наблюдаются разной формы ярко светящиеся гранулы разного размера - от пылевидных точек до 2 мкм и более. С целью получения достоверных результатов в каждом препарате просматривают по 50-1 клеток, а всего от животного - не менее 200-400 клеток. Результаты микроскопии считают положительными, если в отпечатках роговицы животного обнаруживают 11% и более клеток с характерными очажками свечения. Необходимо иметь в виду, что в препаратах от здоровых животных (контроль), вследствие аутофлюоресценции, могут встречаться единичные клетки с подобными по форме и свечению очажками.

Важно отметить, что ИФ дает возможность ускорить ответ при окончательной поставке диагноза путем биопробы, поскольку диагноз при Б может быть установлен только на 8-й день после заражения мышей исследуемым материалом, а инкубационный период заболевания мышей может достигать и 20 дн. ИФ может выявлять ВБ в тканях подчелюстной слюнной железы. Из подчелюстных слюнных желез готовят препараты-мазки, беря материал не менее чем из 6 разных участков железы, так как распределение в ней вируса неравномерно. Часто, чтобы получить отпечаток, приходится делать сильный нажим, поскольку из-за обилия муцина на стекле остается мало материала.

Показана возможность идентификации ВБ в коже методом ИФ. С этой целью берут пробы кожи головы, а также фолликулы сенсорных и тактильных волос морды или латеральных сенсорных сосочков (на щеке собаки). Пробы хранят при -20 или -70°C. Из них делают криосрезы, которые обрабатывают флюоресцирующим глобулином. Результаты анализа, полученные при идентификации ВБ в коже, в высокой степени коррелируют с данными, полученными при исследовании мозга того же животного. Есть корреляция между обнаружением АГ вируса в пробах мозга и тканях губы методом ИФ.

**РДП.** Применяют для обнаружения АГ ВБ в неконсервированном головном мозге животных, павших от уличного Б, или мышат, используемых в биопробе. РДП ставят микрометодом на предметных стеклах, используя 1-1,5%-ный агаровый гель по общепринятой методике. Наибольший процент положительных результатов выявляют при использовании следующего трафарета А - аммонов рог (правая сторона), В - кора головного мозга (правая сторона), С - мозжечок (правая сторона), Д - продолговатый мозг (правая сторона), +(плюс) - положительный контроль, -(минус) - отрицательный контроль, 1, 2, 3, 4 - лунки с разведением специфического иммуноглобулина 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 соответственно. Из каждого отдела головного мозга с помощью пинцета готовят гомогенную пастообразную массу, которую и помещают в соответствующие лунки. От мышей исследуют головной мозг. Из отделов головного мозга левой стороны готовят АГ аналогичным образом ( на каждую экспертизу в общей сложности требуется 4 предметных стекла с агаровым гелем). Реакцию учитывают через 6, 24, 48 ч. При наличии 1 или 2-3 линий преципитации между лунками, содержащими АГ и иммуноглобулин, реакцию считают положительной. РДП проста по выполнению и специфична, но процент выявления вирусного АГ следуемом материале составляет 45-70. При исследовании головного мозга мышей, полученного при положительной биопробе, РДП выявляет до 100% случаев. Отсутствие в исследуемом материале телец Бабеша - Негри,

специфической флюоресценции и отрицательная РДП не дают основания исключить наличие вируса. В этом случае окончательный диагноз ставят по результатам биопробы на белых мышах с последующей идентификацией вируса.

**Биопроба.** Считать, что биопроба более эффективный метод, чем обнаружение телец Бабеша -Негри, ИФ и др. Но и она в отдельных случаях оказывалась отрицательной, несмотря на подтверждение диагноза Б путем обнаружения телец-включений и ИФ. Процент отрицательных результатов по биопробе колебался от 1,3 до 12.

Сведения о различной эффективности биопробы могут быть объяснены рядом факторов выбора экспериментального животного, количества их в опыте, способа заражения, способа и срока хранения материала до поступления в лабораторию. Может играть роль и явление интерференции инфекционных частиц неактивными частицами, если для инокуляции используют недостаточно разведенный материал.

В мозге и слюнных железах лисиц и скунсов, павших от Б, обнаружено вещество, ингибирующее инфекционность вируса, что не позволяет провести диагностику болезни у этих животных методом внутримозгового заражения мышей. Наличие ингибирующего вещества в исследуемом материале не препятствует выявлению вирусного АГ методом ИФ, для скунсов и лисиц это самый чувствительный метод диагностики.

Из животных всех видов (кролики, морские свинки, взрослые белые мыши и хомячки), использованных для биопробы, многие отдают предпочтение мышам-сосунам, поскольку они более чувствительны к разным штаммам ВБ и менее опасны в работе. Сирийские хомячки по чувствительности не уступают мышам, но они менее доступны.

**РСК.** Выявление специфического АГ в РСК при диагностике Б применяется реже, чем другие методы. Из присланного для исследования мозга готовят АГ. Для этого мозговую ткань (особенно богаты АГ, связывающим комплемент, кусочки таламуса и стволового отдела мозга) растирают в вероналовом буфере в соотношении 1:10 и оставляют при комнатной температуре на 1 ч, после чего суспензию инактивируют при 56°C в течение 5 ч. Такая обработка убивает вирус и снимает антикомплементарность мозговой ткани, не повреждая специфический АГ. Суспензию центрифугируют 15 мин при 3500 мин<sup>-1</sup>; из надосадочной жидкости, которая представляет собой материал для исследования на наличие АГ, готовят 2-кратно возрастающие разведения от 1:2 до 1:64 и используют для РСК.

**ИФА.** В ИФА специфическое окрашивание АГ в клетках мозга павших от Б животных выявляют как в свежевзятых, хранившихся в глицерине, а также в пробах, хранившихся без глицерина при 20°C 8-18 ч. Данный тест пригоден для рутинной диагностики Б у животных, для выявления АГ ВБ в тканевых парафиновых срезах при фиксации препаратов 10%-ным р-ром формалина с рН 5,3 и последующей обработки препаратов, заключенных в парафин, пепсином. В отличие от РН на мышах и в культуре клеток ИФА позволяет выявить АГ у животных в течение нескольких часов, ИФА - наиболее перспективный лабораторный метод обнаружения АГ и индикации самого вируса. Экспресс-методом диагностики Б является техника захвата и метод ИФ для выявления АГ ВБ. Доказано, что метод выявления АГ ВБ в парафинизированных срезах пероксидазо-антипероксидазным методом значительно превосходит метод ИФ. В 1987 г создан набор для быстрой энзим-иммунодиагностики Б (RREID), приемлемый для эпидемиологических и лабораторных исследований.

**РН.** Используется редко. Рекомендуются модификация с разведением ВБ и постоянной дозы -γ-глобулина ИН 2 указывает на АГ специфичность выделенного вируса.

**Серодиагностика и ретроспективная диагностика.** Эти методы для Б нетипичны, поскольку используются только с целью проверки поствакцинального иммунитета. Для обнаружения и титрования поствакцинальных АГ используют РН, которую ставят общепринятым методом. В качестве АГ используют фиксированный ВБ РН на клетках ВНК-21 была более чувствительной, чем непрямая ИФ при выявлении АГ в сыворотках вакцинированных лис. Кроме того, предложены РТГА и ELISA.

**РТГА.** Пока еще не нашла широкого применения в диагностической практике из-за наличия в сыворотках крови неспецифических ингибиторов, к которым ВБ высокочувствителен, а главное, ГА АГ, не подвергавшиеся достаточной очистке, обладали низкой чувствительностью. Для приготовления ГА АГ ВБ предложено использовать шт. Москва, выращенный в культуре клеток ВНК-21, после его обработки сапонином с последующей очисткой и концентрированным ГА отделяют от других компонентов вириона ультрацентрифугированием. Полученный препарат имел степень очистки 99,92%, обладал высокой ГА активностью (1:128), хорошо сохраняющейся в течение 1 мес. при рН 5-9. Перед постановкой РТГА следует проводить умеренную 2-кратную трипсинизацию гусиных эритроцитов для их сенсibilизации. При использовании 0,25%-ной взвеси трипсинизированных эритроцитов (лучше  $10^7$  клеток в 1 мл) чувствительность РТГА повышается в 4 раза. Для разбавления АГ и сывороток применяют боратно-солевой р-р (рН 9) с добавлением 0,4% бычьего сывороточного альбумина. Взвесь эритроцитов готовят в солевом р-ре с кислым рН, чтобы после соединения со смесью вируса и сывороток, рН которой 9, окончательный рН установился бы в пределах 6,2. После внесения в лунки суспензии эритроцитов панель встряхивают, заклеивают прозрачной пленкой и ставят на лед. Результаты РТГА учитывают через 40-50 мин, а с эритроцитами 2-дн. цыплят или макаки-резус - через 1-1,5 ч.

Разработан **радиоиммунологический анализ**, основанный на способности АГ связываться с меченым  $^{125}\text{I}$ -АГ ВБ. Меченый IgG, выделенный из антирабической гипериммунной сыворотки, можно применять для обнаружения АГ ВБ твердофазным РИА. Лучшие результаты получены при использовании фосфатно-солевого р-ра (рН 6,0) с ионной силой 0,01 М и меченого IgG с активностью 200-250 тыс. имп./мин.

**Дифференциальная диагностика.** Необходимо исключить болезнь Ауески, при которой больные животные неагрессивны, не бывает извращения аппетита. У собак исключают нервную форму чумы. Подозрение на Б может возникнуть при инфекционном энцефаломиелите лошадей. Комплекс лабораторных исследований позволяет поставить точный диагноз на Б. Предложен новый метод дифференциации различных штаммов ВБ, основанный на рестриктазном расщеплении продуктов амплификации в ПЦР.

### **ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА**

В настоящее время для специфической профилактики Б применяют инактивированные и живые вакцины. В медицине используются только инактивированные, слабо аллергенные и безаллергенные вакцины. Они, в основном, различаются по способу размножения вируса концентрации и степени очистки вирусного АГ В качестве адьюванта используют соли алюминия. Антирабические вакцины, полученные из нервной ткани, уступают в отношении чистоты, активности и безопасности препаратам, приготовленным на клеточных культурах.

Для изготовления инактивированных вакцин вирус выращивают в культурах клеток животных разных видов. Использовали первичные культуры клеток, диплоидные клетки человека, постоянные линии клеток ВНК-21 и Vero. Последние дают более высокий выход

АГ, чем диплоидные культуры клеток человека и животных. Клетки Vero можно выращивать на микроносителях, получая клеточные популяции высокой плотности. Культивирование этих клеток в ферментерах большой емкости обеспечивает возможность крупномасштабного промышленного производства вакцин, что снижает ее стоимость.

**Характеристика антирабических вакцин.** Со времени изготовления Пастером в 1885 г первой вакцины против Б историю антирабических вакцин условно можно разделить на 3 периода. Первый - до 1948 г, когда вакцины готовили из мозга взрослых животных (кролики, овцы, козы), инфицированных фиксированным ВБ. Это вакцины типов Ферми (1908), Семпл (1911), Умедо, Дои (1916), в которых ВБ частично инактивирован фенолом, и вакцины типов Хемпт (1925) и Келсер (1925), инактивированные эфиром + фенол и эфиром + хлороформ соответственно, второй период - с 1949 г по 1955 г, когда готовили живые аттенуированные вакцины (после того, как шт. Флюри ВБ был адаптирован Копровским и Коксом к КЭ) третий период - с 1956 г живые или инактивир-ные вакцины готовят из штаммов ВБ, адаптированных к культуре клеток.

Антирабическая вакцина должна быть безопасна и высокоэффективна для животных, т.е. неэнцефалогенна, содержать минимальное количество балластных белков, индуцировать в короткий срок напряженный и длительный иммунитет при малых дозировках и ограниченном количестве инъекций, обладать защитной способностью при введении животным, уже инфицированным ВБ, быть простой в изготовлении и стабильной при длительном хранении, а также быть пригодной к применению в составе ассоциированных вакцин. Хотя в настоящее время нет антирабической вакцины с такими качествами, достижения современной техники и вирусологии делают ее получение вполне реальным. Требования безвредности и иммунологической эффективности должны соблюдаться при конструировании любой антирабической вакцины.

Для профилактической вакцинации животных мозговые вакцины типа Ферми, Семпла, Хемпта недостаточно эффективны. Поэтому в настоящее время используют живые аттенуированные или инактивированные культуральные антирабические вакцины и реже - вакцины из мозга мышей-сосунов. По данным Fields (76), частично очищенная методом хроматографии и инактивированная вакцина из мозга мышей-сосунов (индекс иммуногенности по методу НИИ 3,15) защищала собак от летальной дозы уличного ВБ (шт. NJc-GA) через 37 мес. после иммунизации Средний титр ВНА в крови привитых собак через 1, 11, 24, 36 мес. составил соответственно 1:512, 1:146, 1:19, 1:6. Через 30 дн. после контрольного заражения уличным вирусом титр АТ повышался до 1:217. К моменту заражения уличным вирусом титр ВНА в крови собак был минимальным или не обнаруживался совсем. Однако все собаки выдерживали летальную дозу вирулентного вируса. Фактором эффективности вакцины является ее способность стимулировать высокий уровень ВНА в течение начального периода после иммунизации животного.

**Серологическая оценка поствакцинального иммунитета.** Механизм поствакцинального иммунитета окончательно не расшифрован. Имеет значение наличие специфических ВНА в крови и особенно в ликворе. Установлено, что сами клетки головного мозга устойчивы к вирусу. Для выяснения роли поствакцинальных АТ у КРС, привитого живой культуральной и мозговой фенолвакциной, использовали РН на мышцах и РДП. Титры АТ после культуральной вакцины варьировали от 1 10 до 1 40, на 60-й день - от 1 20 до 1 30, к 180-му дню - до 149, на 360-й день - 1:59 против 35 ЛД<sub>50</sub> вируса. Динамика поствакцинальных АТ в РДП на фенолвакцину показала, что наибольшие титры выявляются в период с 300 по 180-й день, на 270 и 360-й дни после вакцинации АТ в РДП

уже не обнаруживали. На культуральную вакцину у аналогичной группы КРС АТ в РН были выявлены в период с 10-го по 360-й день, максимальный титр их отмечался с 30-го по 180-й дн. Результаты титрования сывороток в РН показали большую иммуногенность культуральной вакцины. Средний титр ВНА в крови привитых собак через 1, 11, 24, 36 мес. составлял 1:512, 1:146, 1:19, 1:6 соответственно.

У ревакцинированных коров ВНА появлялись через 4-8 дн. после прививки, у иммунизированных впервые - через 18 дн. (титр 1:10-125 и более). У овец, привитых инактивированной культуральной вакциной ВНИТИБП, ВНА обнаруживали в РН через 225 дн. после первой иммунизации. Активность сывороток, выраженная в международных единицах, варьировала от 0,21 до 2. Инактивированная вакцина из мозга мышей-сосунов защищала собак от летальной дозы уличного ВБ через 37 мес. после иммунизации. При этом средние титры ВНА через 1 и 36 мес. составляли 1:512 и 1:16 соответственно, а к моменту заражения титры АТ были минимальными или не обнаруживались совсем. Однако все собаки выдержали летальную дозу вируса. Следует учитывать, что для оценки эффективности вакцинации против Б, как правило, используется РН вируса на мышах или в культуре клеток. Процедура эта достаточно трудоемкая и длительная. Предложен ELISA для выявления сывороточных АТ в крови привитых животных. В качестве АГ используют оболочечный IgG ВБ.

**Поствакцинальные осложнения.** Данный вопрос получил широкое освещение в работах по Б. Значительно большую частоту осложнений при введении вакцины типа Ферми объясняют наличием в препарате не только мозговой ткани, но и незначительного количества живого фиксированного вируса.

**Ветеринарно – санитарная оценка – больных и подозрительных по данному заболеванию на убой на пищевые цели не допускается.**

## Семейство: *Picornaviridae*.

*Таксономическая структура семейства.*

Семейство: *Picornaviridae*

Рода: *Enterovirus, Rhinovirus, Cardiovirus, Aphthovirus, Hepatovirus, Parechovirus*

**Характеристика вируса. Морфология.** Вирион безоболочечный, состоит из капсида, окружающего кор из ssРНК. Диаметр нативных частиц 22-30 нм. Вирион не имеет поверхностных выступов и похож на простую сферу (см. приложение, рис. 40-42). Капсид состоит из 60 единиц (протомеров), каждая из которых образована тремя поверхностными протеинами 1В, 1С и 1D, имеющими  $M_r$  24-41  $\times 10^3$  и, у большинства пикорнавирусов, внутренним протеином 1А ( $M_r$  5,5-13,5  $\times 10^3$ ). Общая  $M_r$  протомера 80-97 $\times 10^3$ . Протеины 1А, 1В, 1С и 1D также, обычно, называются VP4, VP2, VP3 и VP1, соответственно. Протеины 1В, 1С и 1D обладают коровой структурой, составляя восьми-цепочечный “бета-сэндвич” или “бета-цилиндр” (“beta-sandwich”, “ $\beta$ -barrel”). Бета-цилиндры упаковываются в капсид с T=1 псевдо T=3 икосаэдральной симметрией (эти структурные особенности встречаются у определенных вирусов растений, имеющих T=3 или псевдо T=3 симметрию, например, *Sobemovirus* или *Comoviridae*, соответственно). Роды различаются по внешним петлям, которые соединяют между собой  $\beta$ -цепи. Эти петли определяют различия поверхности представителей разных родов и толщину капсидной стенки. Сборка осуществляется через пентамерные промежуточные формы (пентамер = пять протомеров). Протеины, входящие в состав пентамера объединены между собой внутренней сетью (решеткой), образованной N-концами трех мажерных капсидных

протеинов (CP), С-концы которых лежат на внешней поверхности капсида. Пустые капсиды, образуемые некоторыми пикорнавирусами, очень напоминают вирионы, за исключением того, что 1А и 1В обычно замещены неразрезанным предшественником 1АВ. Мг (вирион)  $8-9 \times 10^6$ , плавучая плотность в CsCl 1,33-1,45 г/см<sup>3</sup>, S<sub>20w</sub> 140-165S (пустых частиц 70-80S).

Некоторые вирусы нестабильны при рН ниже 7; многие менее стабильны при низкой ионной силе, чем при высокой. Вирионы нечувствительны к воздействию эфира, хлороформа и неионных детергентов. Вирусы инактивируются на свету, если культивируются в присутствии фотодинамических красителей (нейтральный красный или профлавин). Вирионы стабилизируются бивалентными катионами. Термостабильность у представителей разных родов различается.

**Геном.РНК:** 1 молекула, односпиральная, линейная, с позитивной полярностью, инфекционная; размер 7-8,5 kb, одна ORF. Поли(А)-участок, различной длины, расположен после 3'-концевой гетерополимерной последовательности. Мелкий протеин VPg (Мг  $\pm 2,4 \times 10^3$ ) ковалентно связан с 5'-концом. Нетранслируемые области (NTR) по обоим концам содержат участки, имеющие вторичную структуру, существенную для функционирования генома. Очень длинный 5'-NTR (0,6-1,5 kb) содержит 5'-концевой домен, участвующий в репликации (например, у полиовирусов "листок клевера" ("clover-leaf")), и внутренний сайт входа рибосомы (internal ribosome entry site, IRES), расположенный на 400-450 нуклеотидов выше сайта начала трансляции. Все пикорнавирусные IRES-элементы могут быть представлены 1-2 типами, в соответствии с их вторичной структурой. Между 5'-концевым доменом и IRES может быть один или более псевдоузлов и /или поли(С)-тракт. Длина 3'-NTR, который также может содержать псевдоузлы, может варьировать от 40 до 165 нуклеотидов. Идентичность по полному сиквенсу между вирусами различных родов обычно меньше 40%.

**Другие компоненты вириона.** Помимо мажорных CPs, 1А, 1В, 1С, 1D и 3В<sup>VPg</sup>, описанных выше, небольшое количество 1АВ (VP0) обычно обнаруживается вместо одной или более копий 1А и 1В. Протеин 1А мелкий у гепатовирусов и отсутствует у парэховирусов. В препаратах очищенного вируса могут также обнаруживаться следы РНК-зависимой РНК полимеразы 3D<sup>pol</sup>. Некоторые пикорнавирусы несут сфингозин-подобные молекулы ("rocket factor") в полости ("rocket"), расположенной внутри 1D. Протеин 1А, если таковой имеется, имеет молекулу миристиновой кислоты, ковалентно связанной с аминоконцевым гликаном. Вирусные протеины не гликозилированы

**Организация генома и репликация.** Вирусная РНК инфекционна и может выполнять функции как геномной, так и мРНК. Инициация синтеза протеинов стимулируется IRES. Результатом трансляции единственной ORF является полипротеин (Мг  $240-250 \times 10^3$ ), являющийся предшественником структурных (соответствует участку Р1 генома) и неструктурных (Р2 и Р3 участки) протеинов. У некоторых вирусов протеин Р1 дает начало лидерному протеину (L). Полипротеин разрезается до функциональных протеинов специфическими протеазами, содержащимися среди них. Промежуточные формы обозначаются комбинациями букв (например, 3CD – неразрезанный предшественник 3С и 3D). Вирусная протеаза – протеаза 3С<sup>pro</sup>, серино-подобная цистеиновая протеаза, кодируемая всеми пикорнавирусами, осуществляет большинство разрезов. У вирусов большинства родов 2А также ассоциируется с протеолитической активностью; 2А<sup>pro</sup> кардио- и афтоввирусов функционирует только в *cis*. Лидерный протеин (L<sup>pro</sup>) афтоввирусов имеет протеолитическую активность, хотя для кардиовирусов это не характерно.

Некоторые промежуточные формы стабильны и имеют функции, отличающиеся от функций продуктов разрезания (например, при разрезании полиовирусного Р1 при участии  $3CD^{pro}$ , а не  $3C^{pro}$ ). Разрезание 1АВ, сопровождаемое инкапсидацией РНК, считается утокаталитическим процессом. Репликация вирусной РНК происходит в комплексах, ассоциированных с цитоплазматическими мембранами. Эти комплексы содержат протеины, берущие свое происхождение от участка 2ВС-РЗ полипротеина, включая полимеразу ( $3D^{pol}$ , энзим, удлиняющий цепь РНК) и 2С (АТФаза, содержащая мотив нуклеотидного связывания). Показано, что полиовирусный  $3C^{pro}$  компонент необходим для связывания с 5'-концевыми РНК-структурами ("clover-leaf"). Описано много соединений, ингибирующих репликацию. Сообщалось о мутантных формах вируса, устойчивых или зависимых от химиопрепаратов. Описаны факты генетической рекомбинации, комплементации и фенотипического смешивания. Дефектные чатицы, несущие делеции в СРs или L, были получены экспериментально, но в естественных популяциях вирусов такого не наблюдалось.

**Антигенные свойства.** Серотипы классифицируются на основе тестов перекрестной защиты, нейтрализации инфекционности, РСК, ELISA и иммунодиффузии. Некоторые серотипы могут быть идентифицированы по гемагглютинации. На каждом протомере идентифицировано по 3-4 антигенных сайта, участвующих в нейтрализации.

**Биологические особенности.** Большинство пикорнавирусов специфичны одному или небольшому количеству видов-хозяев. Исключение составляют вирус ящура (FMDV) и вирус энцефаломиокардита (EMCV). Большинство видов могут культивироваться в культуре клеток. Клетки резистентных хозяев (например, клетки мышей в отношении полиовирусов приматов) могут быть инфицированы (один раунд) путем трансфекции свободной (naked) инфекционной РНК. Распространение инфекции происходит горизонтально – алиментарно или аэрозольно. Сведений о существовании членистоногих переносчиков (векторов) нет, хотя EMCV выделялись от клещей и moskitov.

Обычно инфекция цитолитическая, однако персистентная инфекция также часто встречается. Клетки, инфицированные полиовирусом, сильно вакуолизируются, так как мембраны реорганизуются в комплексы вирусной репликации. Инфекция может сопровождаться быстрым ингибированием кэп-зависимой трансляции клеточных мРНК ( $2A^{pro}$  полиовирусов и  $L^{pro}$  афтоввирусов являются сильными ингибиторами), синтеза мРНК и секреторных функций клетки (в этом могут участвовать полиовирусные 2В и 3А).

**Определение вида.** Вид пикорнавирусов представляет собой политетический класс родственных серотипов или штаммов, которые сходны по таким общим признакам, как (1) ограниченный спектр хозяев и используемых клеточных рецепторов, (2) значительная степень совместимости по протеолитическому процессингу, репликации, инкапсидации и генетической рекомбинации и (3) существенно идентичные геномные карты.

**Род: *Enterovirus*. Типовой вид: *Poliovirus* (PV) (полиовирус).**

**Характеристика вириона. Морфология.** Энтеровирусы характеризуются одними из самых крупных по размеру капсидными протеинами 1В, 1С и 1D (у энтеровирусов человека, длина цепи VP1-3 составляет 238-302 аминокислотных остатка), что отражается в наличии типично длинных петель между β-цепями; более толстой капсидной стенки (46 Å); характерным поверхностным рельефом вириона. Округлые возвышенные области по пятиосным вершинам (fivefold axis) являются бороздками (глубиной 25 Å) или "каньонами" внутри которых (у полиовирусов) происходит связывание с клеточными рецепторами. Сайт связывания для покет-фактора ("pocket factor") лежит ниже дна этого

“каньона” внутри 1D  $\beta$ -цилиндра. Вирионы могут быть изменены под воздействием разных факторов (незначительное нагревание, прикрепление к рецепторам или некоторым нейтрализующим антителам), приводящих к образованию “А”-частиц (135S), лишенных VP4 и обладающих измененной антигенностью. Вирионы стабильны при кислых значениях рН. Плавающая плотность в CsCl 1,30-1,34 г/см<sup>3</sup>. В препаратах вируса наблюдаются пустые капсиды и (до 1% популяции) тяжелые частицы (плотность 1,43 г/см<sup>3</sup>).

**Геном.** Геном не имеет поли(С)-тракта; IRES 1 типа. Идентичность сиквенсов разных энтеровирусов и между энтеро- и риновирусами составляет более 50% по полному геному.

**Организация генома и репликация.** Геном кодирует только VPg. Протеиназа 2A<sup>pro</sup>, близкая семейству мелких бактериальных сериновых протеаз, разрезает полипротеин по N-концу. Определенные гидрофобные молекулы, которые связываются с капсидом в конкуренции с покет-фактором, проявляют сильную антивирусную активность путем интерференции за связывание с рецептором и/или раздевание.

**Антигенные свойства.** Нативные вирионы в антигенном отношении проявляют серотипоспецифичность (обозначаются как “N” или “D” для полиовирусов) тогда как “А”-частицы - групповую специфичность (обозначаются как “H” или “C” для полиовирусов).

**Биологические особенности.** Вирусы репродуцируются, в основном, в клетках желудочно-кишечного тракта, но также могут накапливаться и в других тканях, например, нервной, мышечной и др. Часто инфекция может протекать бессимптомно. Клиническое проявление может характеризоваться менингитами (средней тяжести), энцефалитами, миелитами, миокардитами и конъюнктивитами. Кэп-зависимая трансляция клеточных мРНК ингибируется 2A<sup>pro</sup>, которая разрезает эукариотический фактор инициации 4G (eIF-4G). В качестве рецепторов для вирусов могут служить многие клеточные рецепторы.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Представители видов энтеровирусов характеризуются следующими признаками:

- идентичность по аминокислотам более 70% по протеину P1;
- идентичность по аминокислотам более 70% по протеинам 2C+3CD;
- специфичность к ограниченному спектру клеточных рецепторов;
- ограниченный спектр естественных хозяев;
- геномная композиция (G+C), различающаяся не более чем на 1%;
- значительная степень совместимости по протеолитическому процессингу, репликации, инкапсидации и генетической рекомбинации.

Вирус везикулярной болезни свиней [D00435] является свиным вариантом коксакивируса человека B5 (CV-B5) [X67706]. Некоторые вирусы, прежде относимые к эховирусам, теперь относятся к другим таксонам: E8 стал E1, E10 стал реовирусом 1, E28 стал риновирусом человека 1A, E22 стал парэховирусом человека 1, E23 стал парэховирусом человека 2; CV-A23 стал эховирусом человека 9. Энтеровирусы свиней, принадлежащие к группе 1 CPE (CPE group 1), были перенесены в другой таксон, который может быть предложен как новый род пикорнавирусов.

**Виды (8):**

Название вида вируса	Название на русском языке	Аббревиатура
<i>Bovine enterovirus</i> (2 serotypes)	Бычий энтеровирус (энтеровирус КРС)	BEV
<i>Bovine enterovirus</i> 1-2	Бычий энтеровирус 1-2	BEV-1, -2

Human enterovirus A (10 serotypes) Human coxsackievirus A2...3, A5, A7...8, A10, A12, A14, A16, Human enterovirus 71	Энтеровирус человека А (10 серотипов) Коксакивирус человека А2...3, А5, А7...8, А10, А12, А14, А16, Энтеровирус человека 71	HEV-ACV-A2*, - A3, A5, A7, A8, A10, A12, -A14, -A16 EV-71
Human enterovirus B (36 serotypes) Human coxsackievirus B1...4, B5 (including Swine vesicular disease virus), B6, A9, Human echovirus 1...7, 9, 11...21, 24...7, 29...33, Human enterovirus 69	Энтеровирус человека В (36 серотипов) Коксакивирус человека В1-4, В5 (включая вирус везикулярной болезни свиней), В6, А9, Human echovirus 1...7, 9, 11...21, 24...7, 29...33, Энтеровирус человека 69	HEV-B CV-B1...4, -B5, - B6, -A9, E-1-7, -9, -11...21, -24...27, -29...33 EV-69
Human enterovirus C (11 serotypes) Human coxsackievirus A1, A11, A13, A15, A17...22, A24 Poliovirus (3 serotypes) Human poliovirus 1...3	Энтеровирус человека С (11 серотипов) Коксакивирус человека А1, А11, А13, А15, А17...22, А24 Полиовирус (3 серотипа) Полиовирус человека 1-3	HEV-C CV-A1, A11, -A13, A15, A17...22, A24 PV PV-1...3
Porcine enterovirus A (1 serotype) Porcine enterovirus 8	Энтеровирус свиней А (1 серотип) Энтеровирус свиней 8	PEV-A PEV-8
Porcine enterovirus B (2 serotypes) Porcine enterovirus 9...10	Энтеровирус свиней В (2 серотипа) Энтеровирус свиней 9...10	PEV-A PEV-9...10

Примечание: \* - альтернативная аббревиатура CAV-2, CAV-3 и т.д. также широко используется.

<b>Предполагаемые виды</b>	Human coxsackievirus A4 (CV-A4), Human coxsackievirus A6 (CV-A6) Simian enterovirus 1...18 (SEV-1...18) Simian enterovirus N125 (SEV-N125) Simian enterovirus N203 (SEV-N203).	<b>(5):</b>
----------------------------	--	-------------

**Род: *Rhinovirus*. Типовой вид: *Human rhinovirus A* (HRV-A) (риновирус человека А).**

**Характеристика вириона. Морфология.** Риновирусы, также как и энтеровирусы человека, имеют сравнительно неровную поверхность с характерными каньонами вокруг пятиосных вершин (fivefold axis) (сайт прикрепления молекулы-1 (ICAM-1) рецептора межклеточной адгезии), толстостенный капсид, и ямку связывания покет-фактора.

Плавучая плотность вириона в CsCl 1,38-1,42 г/см<sup>3</sup>. Вирионы не стабильны при pH 5-6.

**Геном.** 5'-NTR короче, чем у энтеровирусов и составляет 0,65 kb (из-за делеции примерно 100 нуклеотидов между IRES и сайтом начала трансляции). IRES типа 1. Идентичность сиквенсов полных геномов внутри рода или между энтеро- и риновирусами составляет более 50%, хотя для отдельных участков генома это значение может быть выше или ниже.

Вирусные протеины сходны по размеру с протеинами энтеровирусов человека.

**Организация генома и репликация.** Сходны с таковыми энтеровирусов человека. Описаны противовирусные препараты, связывающие "pocket", аналогичные таковым, действующим против энтеровирусов.

**Антигенные свойства.** Антигенные свойства, включая N-D-конверсию, аналогичны энтеровирусам человека.

**Биологические особенности.** Риновирусы человека могут быть подразделены на мажорную и минорную группы, в зависимости от используемых рецепторов. 89 серотипов (мажорная группа) использует в качестве рецептора ICAM-1, 10 серотипов (минорная группа) связывается с рецепторами семейства липопротеиновых рецепторов низкой плотности (LDLR) и 1 серотип (HRV-87) использует пока еще не идентифицированный

сиалированный мембранный протеин. У человека клиническое проявление инфекции, вызванной риновирусами, обусловлено патологией верхних и нижних дыхательных путей. Кэп-зависимая трансляция клеточных мРНК ингибируется 2A<sup>pro</sup>, которая разрезает клеточный фактор инициации eIF-4G.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.**

Представители видов риновирусов характеризуются следующими признаками:

- идентичность по аминокислотам более 70% по протеину P1;
- идентичность по аминокислотам более 70% по протеинам 2C+3CD;
- сходная чувствительность рецепторного прикрепления к ингибции антивирусными агентами, связывающими “pocket” (“ингибиторы гриппы А или В”).

**Виды (2):**

Название вида вируса	Название на русском языке	Аббревиатура
Human rhinovirus A (18 serotypes)	Риновирус человека А (18 серотипов)	HRV-A
Human rhinovirus 1*, 2, 7, 9, 11, 15, 16, 21, 29, 36, 39, 49, 50, 58, 62, 65, 85, 89	Риновирус человека 1*, 2, 7, 9, 11, 15, 16, 21, 29, 36, 39, 49, 50, 58, 62, 65, 85, 89	HRV-1, -2, -7, -9, -11, -15, -16, -21, -29, -36, -39, -49, -50, -58, -62, -65, -85, -89
Human rhinovirus B (3 serotypes)	Риновирус человека В (3 серотипа)	HRV-B
Human rhinovirus 3, 14, 72	Риновирус человека 3, 14, 72	HRV-3, -14, -72

Примечание: \* - HRV-1 разделен на 2 антигенных субтипа (HRV-1A и HRV-1B).

**Предполагаемые виды:** Bovine rhinovirus, BRV, серотипы, не обозначаемые как виды (82):

**Род: *Cardiovirus*. Типовой: *Encephalomyocarditis virus* (EMCV) (вирус энцефаломиокардита).**

**Характеристика вириона. Морфология.** Пустые капсиды встречаются редко. По толщине капсидной стенки, рельефу поверхности вириона и длине цепей мажорных протеинов, кардиовирусный капсид занимает промежуточное положение между энтеро- и афтовирисами. В месте циркулярного каньона, наблюдаемого у энтеровирусов, находится ямка (fivefold repeated pit). Нет покет-фактора (“pocket factor”). Плавающая плотность вириона в CsCl 1,33-1,34 г/см<sup>3</sup>. Вирионы умеренно стабильны при кислых значениях pH.

**Геном.** EMCV имеет поли(С)-тракт различной длины на расстоянии 150 нуклеотидов от 5'-конца вирусной РНК, тогда как *Theilovirus* такой особенностью не обладает. IRES типа 2. Идентичность сиквенсов полных геномов внутри рода составляет более 50% (например, между вирусом Тейлера энцефаломиелита мышей (TMEV) и EMCV).

**Организация генома и репликация.** Вирусный геном кодирует лидерный протеин L, который, в отличие от L афтовирусов, не обладает протеолитической активностью; L отрезается от P1 вирус-кодируемой протеазой 3C. Соединение 1D/2A также разрезается 3C<sup>pro</sup>, но не 2A. Протеин 2A вызывает разрезание, или прерывание полипептидной цепи, между P1-2A и нижележащей последовательностью –NPGP–.

**Антигенные свойства.** Описано 4 независимых антигенных сайта. Нет данных о N-D-конверсии и А-частицах.

**Биологические особенности.** Вирус энцефаломиокардита был выделен от более чем 30 видов животных, включая млекопитающих, птиц и членистоногих. Клиническая картина у мышей и других животных характеризуется энцефалитами и миокардитами. TMEV могут быть подразделены на 2 биологические подгруппы, которые инфицируют мышей. Одна группа вирусов вызывает острый и фатальный полиоэнцефаломиелит, а другая – хроническую персистентную инфекцию, сопровождающуюся демиелинизацией белого вещества. Вирус Виллоуского энцефалита (VNEV) является этиологическим агентом

дегенеративной неврологической болезни человека, наблюдаемой в регионе Вилюйской долины в Сибири. Кардиовирусная инфекция не сопровождается разрезанием клеточной eIF-4G. Клеточный рецептор, используемый EMCV для прикрепления к эндотелиальным клеткам мышей, идентифицирован как VCAM-1. Однако в клетках из тканей человека обнаружены, но пока не идентифицированы, сиалогликопротеины. EMCV прикрепляется к эритроцитам человека посредством гликопротеина А.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.**

Представители видов кардиовирусов характеризуются следующими признаками:

- идентичность по аминокислотам более 70% по протеину P1;
- идентичность по аминокислотам более 70% по протеинам 2С+3СD;
- общие естественные хозяева; сходная организация генома.

**Виды (2):**

Название вида вируса	Название на русском языке	Аббр-ра
Encephalomyocarditis virus ( <i>1 serotype</i> )	Вирус энцефаломиокардита(1 серотип)	EMCV
Mengovirus	Менговир	
Columbia SK virus	Вирус Колумбия SK	
Maus Elberfeld virus	Вирус Маус Элберфелд	
Theilovirus ( <i>3 strains</i> )	Тейловир (3 штамма)	THV
Theiler's murine encephalomyelitis virus	Вирус Тейлера энцефаломиелитамышей	TMEV
Vilyuisk Human encephalomyelitis virus	Вир Вилюйского энцефал-та человека	VHEV
Rat encephalomyelitis virus	Вирус энцефаломиелита крыс	REV

**Род: Aphthovirus.** Типовой вид: Foot-and-mouth disease virus (FMDV) (вирус ящура).

**Характеристика вириона. Морфология.** Капсид FMDV тонкостенный (толщина 33 Å), с гладкой поверхностью. Длинная мобильная петля (G-H-петля) выдается с поверхности от 1D. По пятиосной вершине находится канал, в котором представлена часть протеина 1С, лежащего ниже. Для некоторых серотипов FMDV характерно накопление пустых капсидов. Плавающая плотность вириона в CsCl 1,43-1,45 г/см<sup>3</sup>. S<sub>20w</sub> (вирион FMDV) 146S (пустых капсидов 75S). Вирионы не устойчивы в кислой среде. Частицы FMDV нестабильны при pH ниже 6,8; вирус ринита лошадей А (ERAV) нестабилен ниже pH 5,5.

**Геном.** Поли(С)-тракт, длина которого составляет от 100 до более чем 400 нуклеотидов, расположен в 5'-концевой области генома. У FMDV он локализован примерно на расстоянии 360 нуклеотидов от конца. Поли(С)-тракт у ERAV короче (около 40 нуклеотидов) и ближе к 5'-концу. У FMDV РНК имеет вид серии псевдоузлов. Различие по нуклеотидному сиквенсу полного генома ERAV и FMDV составляет примерно 50%.

**Протеины.** Мажерные СРs FMDV имеют короткую длину цепей (208-220 аминокислот), по сравнению со всеми остальными пикорнавирусами; у ERAV они чуть длиннее. На конце 1D G-H-петли FMDV находится консервативный мотив, распознающий интегрин (RGD).

**Организация генома и репликация.** Трансляция начинается с двух альтернативных внутренних (in-frame) сайтов, что приводит к образованию двух форм протеина L (Lab и Lb). В отличие от кардиовирусов L является папаиноподобной цистеиновой протеиназой, самоотделяющаяся от вирусного полипротеина. Полипептид 2А короткий (около 18 аминокислот у FMDV), участвует в NPGP-зависимом прерывании полипептидной цепи по С-концу. Геном FMDV кодирует 3 вида VPg, тогда как у ERAV – только 1.

**Антигенные свойства.** Для FMDV типа О идентифицировано 5 независимых антигенных сайтов, два из которых имеют детерминанты в G-H-петле протеина 1D. Нет данных о N-D-конверсии и А-частицах.

**Биологические особенности.** FMDV инфицирует, в основном, парнокопытных животных, но также был выделен не менее чем от 70 видов млекопитающих. Клиническое проявление инфекции, вызванной FMDV, характерно для ящура, иногда в ассоциации с острым фатальным миокардитом у молодых животных. Инфекция, обусловленная ERAV, сопровождается поражением верхних дыхательных путей у лошадей. Оба вида вирусов могут вызывать персистентную инфекцию верхних дыхательных путей. FMDV инфицирует клетки путем прикрепления к интегративным мембранным протеинам, относящимся к семейству интегринов, посредством D-Н-петли 1D; в качестве рецептора могут служить гепарансульфат протеогликаны.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.** Представители видов афтовировусов характеризуются следующими признаками:

- идентичность по аминокислотам более 50% по протеину P1;
- идентичность по аминокислотам более 70% по протеинам 2C+3CD;
- общие естественные хозяева; сходная организация генома.
- сходная нуклеотидная композиция генома (различия не более 1%); **Виды (2):**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Аббревиатура
Equine rhinitis A virus ( <i>1 serotype</i> ) (formely – Equine rhinovirus 1)	Вирус ринита лошадей А (1 серотип) (прежде – риновирус лошадей 1)	L43052, X96870	ERAV
Foot-and-mouth disease virus (7 serotypes) FMDV type A	Вирус ящура (7 серотипов) Вирус ящура типа А	L11360, M10975	FMDV FMDV-A
FMDV type Asia 1	Вирус ящура типа Азия 1	U01207	FMDV-Asia 1
FMDV type C	Вирус ящура типа С	X00130, J02191	FMDV-C
FMDV type O	Вирус ящура типа О	M35873,	FMDV-O
FMDV type SAT 1	Вирус ящура типа SAT 1	X00871	FMDV-SAT 1
FMDV type SAT 2	Вирус ящура типа SAT 2	Z98203	FMDV-SAT 2
FMDV type SAT 3	Вирус ящура типа SAT 3	--M28719	FMDV-SAT 3

**Род: *Hepatitis A virus*.** Типовой вид: *Hepatitis A virus* (HAV) (вирус гепатита А).

**Характеристика вириона.** Морфология. Плавающая плотность в CsCl 1,32-1,34 г/см<sup>3</sup>. Вирион устойчив при кислых значениях pH и повышенной температуре (60°C – 10 мин).

**Геном.** Между сиквенсом генома гепатовирусов и другими пикорнавирусами отмечается очень слабое сходство, хотя IRES отдаленно напоминает IRES 2-го типа. 5'-NTR содержит 5'-концевую шпильку, два предполагаемых псевдоузла и короткий (около 40 нуклеотидов), богатый пиримидинами, участок, но чисто поли(С)-тракта выше IRES нет. Идентичность по нуклеотидному сиквенсу разных штаммов HAV превышает 80%. РНК вируса энцефаломиелита птиц (AEV) содержит самый короткий (из всех пикорнавирусов) 5'-NTR (494 нуклеотида).

**Протеины.** В отличие от других пикорнавирусов, протеин А1 мал, по-видимому, не миристилирован по N-концу, и не является компонентом зрелой вирусной частицы. Незрелый HAV может содержать неразрезанный 1D2A (PX) протеин-предшественник.

**Организация генома и репликация.** Полипротеин содержит только одну протеиназу (3C<sup>pro</sup>). Нет точных данных о наличии протеина L, и протеин 2A не имеет протеолитической активности. Первичное разрезание полипротеина происходит по месту соединения 2A/2B и катализируется 3C<sup>pro</sup>. Разрезание по сайту 1D/2A может быть

осуществлено пока неизвестной клеточной протеазой, или протеином VP1 может быть предметом С-концевого процессинга (тримминга), как у кардиовирусов.

Репликация происходит медленно с незначительным проявлением ЦПЭ и с относительно низким уровнем накопления вируса. IRES отличается от такового других пикорнавирусов тем, что его активность зависит от интактного eIF-4G.

**Антигенные свойства.** Вирусы гепатита А сильно консервативны по своим антигенным свойствам. Большинство антител имеют специфичность к одному, конформационно зависимому иммунодоминантному антигенному сайту, состоящему из аминокислотных остатков протеинов VP3 и VP1 на поверхности вириона.

**Биологические особенности.** HAV инфицирует эпителиальные клетки тонкого кишечника и гепатоциты приматов. Вирус репродуцируется преимущественно в печени, экскретируясь с желчью, и присутствует в фекалиях в высоких титрах. Вирусовыделение очень непродолжительно и происходит до начала проявления клинических признаков гепатита, который, вероятно, обусловлен иммунопатологическими процессами. Клинически болезнь проявляется лихорадкой, желтухой, нарушением пищеварения, брюшными болями, иногда диареей. При заражении разных культур клеток приматов *in vitro* гепатовирусы обычно вызывают персистентную инфекцию, однако этого не наблюдается *in vivo* и вирусы не ассоциируются с хроническими гепатитами.

HAV могут быть подразделены на 2 биотипа, различающихся филогенетически, и имеющих разных хозяев (все виды приматов: человек, шимпанзе, обезьяны, мартышки – для одного биотипа, и зеленые обезьяны и обезьяны циномольтус – для другого). Эти 2 биотипа имеют антигены, дающие перекрестные реакции, но имеют и биотип-специфические эпитопы, которые идентифицированы моноклональными антителами.

AEV вызывает энцефаломиелит у молодняка кур, фазанов, перепелов и индеек. Передается вертикально и горизонтально (алиментарно); полевые штаммы энтеротропны.

**Критерии подразделения на виды внутри рода.**

Представители видов гепатовирусов характеризуются следующими признаками:

- идентичность по аминокислотам более 70% по протеину P1;
- идентичность по аминокислотам более 70% по протеинам 2C+3CD;
- идентичность по сиквенсу генома в целом более 75%;
- определенный тканевой тропизм и спектр восприимчивых животных;
- сходная нуклеотидная композиция генома (различия не более 1%);
- сходная организация генома.

*Вид (1):*

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Абб-ра
Hepatitis A virus ( <i>1 serotype</i> ,)	Вирус гепатита А (1 серотип, 2шт)		HAV
Human hepatitis A virus	Вирус гепатита А человека	M14707	HHAV
Simian hepatitis A virus	Вирус гепатита А обезьян	D00924	SHAV

**Предполагаемые виды:** Avian encephalomyelitis-like virus (1 serotype) [AJ225173] (AEV).

**Род:** *Parechovirus*. *Типовой вид:* Human parechovirus (HPeV) (парэховирус человека).

**Характерные особенности.** Данных по морфологии вириона и геному нет.

Расчетный сиквенс протеинов парэховирусов очень дивергентный. При сравнении с другими пикорнавирусами уровень идентичности по протеинам не превышает 30%. В отличие от большинства других пикорнавирусов, протеин 1AV парэховирусов, по-

видимому, не разрезается, и его N-конец не миристилирован (что тоже необычно). Таким образом, зрелый капсид включает только 3 протеина: 1АВ, 1С и 1D.

Вирусы первично накапливаются в клетках желудочно-кишечного тракта, что сопровождается диареей и, часто, с признаками поражения респираторного тракта. Инфекция встречается, в основном, среди детей раннего возраста. Цитопатология, наблюдаемая при электронной микроскопии, характеризуется гранулярностью и распределением хроматина в ядре. **Вид (1):**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Аббре-ра
<i>Human parechovirus</i> (2 serotypes)	Параэховирус человека (2 серотипа)		НреV
Human parechovirus 1 (formely – Human echovirus 22)	Параэховирус человека 1 (прежде – Эховирус человека 22)	L02971	НреV-1
Human parechovirus 2 (formely – Human echovirus 23)	Параэховирус человека 2 (прежде – Эховирус человека 23)	AJ005695	НPeV-2

#### **Неклассифицированные виды семейства.**

Название вида вируса	Название на русском языке	№ генома	Аббреви-ра
Equine rhinitis B virus (formely – Equine rhinovirus 2)	Вирус ринита лошадей В (ранее – Риновирус лошадей 2)	X96871	ERBV

**Характерные особенности.** Плавающая плотность ERBV в CsCl 1,41-1,45 г/см<sup>3</sup>. Вирус не стабилен при pH ниже 5. 3'-NTR обычно длинный (167 нуклеотидов). Считается, что по 5'-концу присутствует поли(С)-тракт. Идентифицированы псевдоузлы. IRES 2-го типа. Идентичность по протеинам CPs между ERAV, FMDV и EMCV 25% и 47%, соответственно. Данных о наличии альтернативных сайтов инициации трансляции нет. Протеин L, вероятно, протеиназа, но имеет только 23% и 18% идентичности с протеинами L FMDV и ERAV, соответственно. Протеины 2В и 3С имеют исключительно большую длину цепей (283 и 251 аминокислота). Протеин 2А имеет длину цепи 18 аминокислот, заканчивающейся в NPGP; только 1 VPg. ERBV вызывает болезнь верхних дыхательных путей у лошадей, что сопровождается вирусемией и рассеиванием вируса с фекалиями. Инфекция может быть кратковременной.

Название вида	Название	№ генома	Аббревиатура
Aichi virus	Вирус Аичи	AB010145	AiV

**Характерные особенности.** В отличие от других пикорнавирусов, вирус Аичи (AiV) имеют икосаэдральную поверхностную структуру (при электронно-микроскопическом исследовании). Вирионы стабильны при pH 3,5. Геном богат по G+C составу (примерно 59%) и имеет очень длинный 3'-NTR (240 нуклеотидов). Протеин 1АВ вероятно не разрезается. Лидерный протеин, функция которого не ясна, имеет расчетную длину 170 аминокислот (тогда как у EMCV и FMDV она составляет 67 и 217 аминокислот, соответственно). AiV репродуцируется в культурах клеток (BS-C-1, Vero). AiV считается этиологическим агентом гастроэнтеритов у людей.

Название вида вируса	Название на русском языке	Аббреви-ра
Porcine teschovirus (прежде – Porcine enterovirus 1)	Тесковирус свиней (прежде – Энтеровирус свиней 1)	PTV

**Характерные особенности.** Вирион стабилен при кислых значениях pH. Плавающая плотность в CsCl 1,33 г/см<sup>3</sup>. В препаратах вируса часто наблюдаются пустые капсиды. Геном кодирует один VPg и лидерный (L) протеин. Полипептид 2А очень короткий и заканчивается в NPGP. Клиническое проявление может характеризоваться полиоэнцефаломиелитами, которые могут различаться по тяжести течения.

**Виды со сходными характеристиками:** *Porcine teschovirus 1* (PTV-1) *Porcine enterovirus 2-7* (PEV-2...7) *Porcine enterovirus 11-13* (PEV-11...13).

**Неклассифицированные вирусы семейства (21).**

Название вида вируса	Аббревиатура
Acid-stable equine picornaviruses	EqPV
Avian entero-like virus 2...4	AELV-2...4
Avian nephritis virus 1...3	ANV-1...3
Barramundi virus-1	BaV
Cockatoo entero-like virus	CELV
Duck hepatitis virus 1	DHV-1
Duck hepatitis virus 3	DHV-3
Equine rhinovirus3	ERV-3
Guineafowl transmissible enteritis virus	GTEV
Harbour seals picorna-like virus	SPLV
Ljungan virus*	LV
Sea-bass virus-1	SBV
Sikhote-Alyn virus	SAV
Smelt virus-1	SmV-1
Smelt virus-2	SmV-2
Syr-Daria Valley fever virus	SDFV
Taura syndrome virus of marine penaeid shrimp	TSV
Turbot virus-1	TuV-1
Turkey entero-like virus	TELV
Turkey hepatitis virus	THV
Turkey pseudo enterovirus 1...2	TPEV-1, 2

Примечание: \* вирус Ljungan наиболее близок к параэховирусам.

**Сходство с другими таксонами.** “Суперсемейство” пикорнавирусов включает такие семейства, как *Picornaviridae*, *Sequiviridae*, *Comoviridae* и *Potyviridae*, характеризующиеся общими признаками, приведенными ниже.

**1.Геном.** состоит из 1-й или 2-х (в случае вирусов двудольных растений) молекул (сегментов) односпиральной РНК с позитивной полярностью. Каждый сегмент существует как эксклюзивная мРНК (т.е. нет субгеномных РНК), содержащая 1 ORF, и связанная своим 5'-концом через О-фосфатно-эфирный мостик с остатком тирозина или серина геном-связывающего протеина (VPg).

**2.Экспрессия генов.** Каждым геномным сегментом кодируется один полипротеин, который подвергается протеолитическому процессингу с образованием функциональных протеинов, вирус-кодируемыми протеазами.

**3.Гены.** Все члены “суперсемейства” кодируют, кроме VPg, 2С-подобный протеин, имеющий мотив связывания с нуклеотидным сиквенсом, 3С<sup>pro</sup>-подобную протеазу и 3D<sup>pol</sup>-подобную полимеразу.

**4.Генетическая карта.** Порядок генов, 2С-VPg-3С<sup>pro</sup>-3D<sup>pol</sup>, общий для всех членов “суперсемейства”, ген 3D<sup>pol</sup> всегда расположен по 3'-концу соответствующей ORF. Ген(ы) СР всегда расположены в 5'-области ORF.

**5.Структура вириона.** Отмечается значительная морфологическая вариабельность членов “суперсемейства”, включающего как икосаэдральные, так и палочковидные (rod-shaped) вирусы. Однако известно 2 икосаэдральных представителя с кристаллической структурой

– *Picornaviridae* и *Comoviridae*, проявляющие одинаковую, псевдо T=3, организацию протеиновых субъединиц, которые сами имеют одинаковую  $\beta$ -цилиндрическую ( $\beta$ -barrel) четвертичную структуру.

Значимость перекрестного реагирования между *Cricket paralysis virus* и EMCV пока не известна.

### **ЯЩУР**

Food-and-mouth disease, Aphthous fever, Epizootic apthae (англ. );

Fievre apthouse (Франц.); Maul-und Klauenseuche (Нем.); Fiebre apthosa (Нем.)

Ящур - остро протекающая высококонтагиозная болезнь парнокопытных, людей проявляющаяся лихорадкой, везикулярным поражением слизистых оболочек рта, кожи венчика и вымени; у молодых животных - поражением миокарда и скелетных мышц. Болезнь регистрируется во многих странах мира. Серотипы А, О, С распространены широко; тип Азия 1 выявлен только в азиатских странах; серотипы SAT I, SAT 2, SAT 3 регистрировались в странах Африки, Среднего Востока и Турции .

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ**

Вирус открыт Леффлером и др. в 1898 г.

**Морфология и химический состав.** ВЯ представляет собой небольшую частицу, состоящую из одноцепочной линейной молекулы РНК (мол.м.  $2,8 \cdot 10^8$ ), заключенную в белковую оболочку, состоящую, главным образом, из четырех белков VP1, 2, 3 и 4. Вирионная РНК является инфекционной и имеет ту же полярность, что и РНК в инфицированной клетке. По аналогии с другими пикорновирусами считается, что с нее транслируется один крупный белок. Этот полипротеин затем быстро расщепляется с образованием четырех полипептидов-предшественников, которые являются первичными полипептидами, обнаруживаемыми в инфицированных клетках. Предшественники, в свою очередь, расщепляются с образованием более стабильных структурных и неструктурных полипептидов вируса. В вирусинфицированных клетках накапливается 6 неструктурных полипептидов. Только для одного из них - VP56a - определена функция, а именно - он является РНК-зависимой РНК-полимеразой РНК реплицируется с помощью этой полимеразы, по-видимому, сначала синтезируется комплементарная РНК, с которой затем копируется новая вирионная РНК. Вирионы представляют собой мелкие частицы икосаэдрической формы диаметром 23-25 нм, мол.м.  $7 \cdot 10^6$  Д. Они состоят из внутренней части, представленной РНК, и белковой оболочки (капсида), которая состоит из 32 структурных компонентов (капсомеров), расположенных в кубической симметрии. В вирионе содержится приблизительно 31,5% РНК и 68,5% белка. Он обладает суммарным отрицательным зарядом различной величины.

ВЯ состоит из однополой (+1 РНК), заключенной в белковый капсид, который состоит из 4-х структурных белков VP1, VP2, VP3 и VP4 Основным антигенным белком является VP1. Оптимизированы условия кристаллизации ВЯ типов А22, О и Азия1. Получены совершенные монокристаллы, пригодные для установления пространственной структуры вируса разрешением 3,5А.

Изменение вирулентности штаммов различных вспышек хорошо известно, но также сообщалось и о различиях между изолятами из одной и той же вспышки. Легкость, с которой вирулентные вирусы могут быть аттенуированы путем пассажей на лабораторных животных (мыши, кролики, КЭ) или в культуре клеток или путем обработки *in vitro* также рассматривается как отражение изменчивости вируса.

Различают 7 АТ типов вируса, которые раньше определяли путем теста перекрестной защиты, а сейчас с помощью серологических реакций АГ изменчивость происходит внутри типов, главным образом, в результате процесса ступенчатого "дрейфа", часто приводящего к непрерывному спектру без четкого разделения на отдельные подтипы. Вначале с помощью КС теста было идентифицировано 60 подтипов, но с проверкой новых штаммов проблема дифференциации изолятов стала настолько сложной, что от субтипирования новых изолятов фактически отказались. Показано, что миотропный №4 и аттенуированный №645 варианты ВЯ отличаются от исходного вакцинного штамма по первичной структуре капсидных белков. Не исключена возможность того, что изменение биологических свойств вируса связано с этими структурными особенностями.

Вирионные полипептиды (VP1, 2, 3 и 4) изменяются с различной скоростью VP1 и 3 изменяются очень быстро, тогда как VP4 почти не изменяется В отобранных 70 изолятах, представляющих все 7 серотипов, 69 имели один и тот же VP4 Промежуточное положение занимает и является наиболее удобным для получения эволюционных взаимосвязей - VP2.

**Устойчивость.** ВЯ устойчив к эфиру, хлороформу, 4-хлористому углероду, фреону, ацетону, но быстро инактивируется при рН 6 и ниже. Вирус наиболее стабилен при рН 7-7,5. Сдвиги его, как в кислую, так и в щелочную стороны, ведут к изменению свойств вируса. Известь, хлорная известь, креолин, крезол, фенол, сулема убивают вирус лишь через несколько часов воздействия, р-ры щелочей (2%-ные) - за 10 мин, формальдегид в концентрации 0,009% инактивирует 90% вируса при 4°C за 1 сут. Устойчивость вируса при различных температурах зависит от штамма, субстрата, степени очистки и других факторов. Высокая температура губительно действует на вирус 90% вируса теряют активность при 64°C и рН 7,5 в течение 3 с, при 49°C - за 1 ч, при 37°C - за 21 ч. Он сравнительно устойчив к влиянию факторов внешней среды. В обрывках эпителиальных стенок афт сохраняет вирулентность 67 да Афтозная лимфа, содержащая ВЯ, инактивируется при 31°C за 24 ч. Полную инактивацию вируса типа О в молоке наблюдали при температуре от 66 до 78°C через 40 с. Некоторые штаммы вируса более терморезистентны. Так, в Пакистане выделен полевой изолят, который даже при прогревании до 80°C в течение 30 мин сохранял инфекционность. ВЯ в определенных условиях обладает устойчивостью к многократному воздействию низких температур Устойчивость возрастает при внесении в вирусную суспензию компонентов защитной среды.

Низкие температуры консервируют вирус, при -70°C он сохраняет свои биологические свойства в течение нескольких лет, в навозной жиже - 39 дн, в сточных водах - до 103 дн. На поверхности стогов сена вирус выживает летом один день, в сентябре - 3-6, в октябре -10 дн. внутри стогов погибает через месяц, зимой же только через 7 мес. Лучшими дезинфицирующими средствами являются 2%-е или 3%-е горячие р-ры NaOH и 1%-й р-р формальдегида. В 50%-м р-ре глицерина на фосфатном буфере (рН 7,2) при 4-8°C вируссодержащий материал сохраняет инфекционность 40 дн. Данный консервант широко используют при пересылке материала в лабораторию. Вирус хорошо сохраняется в лиофилизированном виде. В непроваренных изделиях, приготовленных из мяса свиней, убитых в период генерализации инфекции, вирус разрушался в окороках в течение 112-119 дн, в лопаточном жире - 155-169, в костном мозге - 169-179, в жире окорока - 176-183, в беконе - 183-190 дн. Выживание вируса в различных колбасах не превышает 56 дн

**Вирус сохраняется более длительно в жире, чем в мясе. Некоторые штаммы вируса чувствительны к действию протеаз. К веществам, инактивирующим вирус с сохранением его АГ-свойств, относятся формальдегид, этиленмин, глицилальдегид. Трипсин вызывает избирательное расщепление структуры полипептида VP1. Устойчивость вируса зависит от сохранения его электрического заряда как базового свойства вируса**

**Антигенная структура.** Капсид построен из 4 основных полипептидов (VP1, VP2, VP3 VP4). В зрелом вирионе содержится около 60 молекул каждого полипептида. Кроме 140S (полные вирионы), обнаружены 75S-капсиды по размеру и форме подобные вирионам, но не содержащие РНК; белковые субъединицы 12S-14S и Via-антиген (4S) (Virus infection associated) - термолabile КС антиген, образующийся в тканях инфицированного организма или культуре клеток, но не является составной частью вируса. Он представляет собой РНК-репликазу. Via-антиген пригоден для контроля сывороток КРС свиней. Он появляется в культуре ВНК-21 на 8-й день после заражения. Инфекционностью обладают лишь полные вирионы 140S.

**Антигенная вариабельность и родство.** В настоящее время известно 7 АТ типов ВЯ: А, О, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3, и Азия 1. Внутри основных типов существуют варианты, или подтипы, отличающиеся друг от друга. Тип А имеет 32 варианта, тип 0-11, тип С - 5, тип SAT 1 - 7, тип SAT 2-3, тип SAT 3-4, тип Азия 1 - 2 варианта. Известны и другие штаммы вируса, отличающиеся от установленных вариантов. Вначале с помощью РСК было идентифицировано 60 подтипов, но с проверкой новых штаммов проблема дифференциации изолятов стала настолько сложной, что от субтипирования новых изолятов фактически отказались, хотя и предложен тест постановки РСК для типирования.

**Локализация вируса.** В инкубационный период от КРС вирус можно выделять из молока 7 дн. и из спермы 4 дня до появления симптомов болезни. В период, когда болезнь выражена клинически, эпителий и жидкость везикул содержат большое количество вируса (более  $10^8$  ИД/г ткани или 1 мл афтозной жидкости). Аналогичные результаты получены и при исследовании больных свиней и овец. В слюне можно обнаружить еще до появления симптомов болезни в количестве  $10^2$ - $10^{3,7}$  ЛД<sub>50</sub>/мл, а в период проявления их -  $10^{4,5}$ - $10^6$  ЛД<sub>50</sub>/мл для мышат-сосунов. Большинство секретов и экскретов инфекционны 4-5 дн, а слюна - 11 дн. Независимо от способа экспериментального заражения (интраназально, внутримышечно) овец ВЯ обнаруживали в органах дыхания и региональных лимфоузлах, при этом у больных животных наблюдали выделение вируса с пищеводно-глоточной и носовой слизью до 10 дн. (срок наблюдения). В неблагополучном стаде могут быть животные без признаков болезни, но выделяющие вирус со слюной.

Особенно опасны в этом отношении овцы, у которых ящур может протекать без симптомов болезни. Около 50% выздоровевшего КРС выделяют вирус 8 мес., некоторые - до 2 лет. Среди клинически выздоровевших овец 50% животных могут быть носителями вируса в течение 7 мес. У свиней персистентного носительства вируса не установлено. В стадах буйволов инфекцию в течение многих лет поддерживают вирусоносители и животные со скрытым течением инфекции. Показано, что ВЯ в хронически инфицированных культурах клеток (ПТ, ПО, СПЭВ) может длительно персистировать, не вызывая ЦПД, причем культивирование клеток в течение ряда пассажей в присутствии гомологичной ящурной сыворотки не освобождает ее от персистенции Латентную инфекцию удавалось обострить с помощью вируса герпеса.

**Антигенная активность.** В организме естественно восприимчивых животных вирус индуцирует образование типоспецифических ВНА, КСА и ПА. Поверхностный структурный белок VP1 ответственен за образование ВНА, тогда как 3 других структурных белка (VP2, VP3, VP4) такой активностью не обладают. С помощью моНАТ с различной эпитопной направленностью в конкурентном ИФА определяется удаленность эпитопов относительно друг друга.

В сыворотках естественно заболевших животных антитела можно обнаружить на 8-10-й день после появления клинических признаков с максимальным подъемом их титра на 16-21-н день. Затем титр КСА снижается, и к 3 мес. их присутствие не устанавливают, в то время как ВНА сохраняются в крови реконвалесцентов до 24 мес. Резистентность переболевших животных к повторному заражению связана (коррелирует) с титром ВНА.

ВЯ обладает свойствами преципитиногена, поэтому РДП можно использовать для определения его типов и вариантов, изучения АГ структуры Сыворотки крови животных-реконвалесцентов не теряют свою преципитирующую активность в течение 3 лет при 4°C.

**Экспериментальная инфекция.** К экспериментальному заражению чувствительны как естественно восприимчивые, так и лабораторные животные: морские свинки, мышата-сосуны, новорожденные крольчата, котята и хомяки до 60-дн возраста. Адаптационные свойства эпизоотического ВЯ зависят от особенности штамма и системы культивирования. Наиболее быстро он адаптируется к однослойной культуре клеток почек телят, организму мышат и крольчат и более медленно - к переживающей ткани эпителия языка КРС. Культивирование вируса в развивающихся КЭ удается с большим трудом и лишь в отношении некоторых штаммов и после серии перемежающихся пассажей.

**Культивирование.** ВЯ можно поддерживать серийными пассажами на естественно-восприимчивых животных (КРС, свиньях, овцах, козах), однако данный метод дорог и связан с опасностью выноса вируса за пределы учреждения. Поэтому чаще в лабораторных условиях стандартные и полевые штаммы вируса поддерживают на морских свинках, белых мышатах-сосунах, крольчатах и культуре ткани. Наиболее чувствительны к вирусу культура клеток первично-трипсинизированной почки коровы, овцы, свиньи и перевиваемой линии ВНК-21 ЦПД проявляется через 6 ч и достигает максимума к 18-24 ч после заражения. Изменения клеток сопровождаются нарушением межклеточных связей, конденсацией субстрата цитоплазмы, округлением клеток и распадом цитоплазмы. Вирус размножается в цитоплазме. В ядрах происходит укрупнение глыбок хроматина, расположение его вдоль ядерной мембраны, а затем пикноз или рексис ядра. ЦПД ВЯ развивается без образования включений и симпластов. ВЯ относится к вирусам с коротким циклом репродукции, поэтому клеточный монослой быстро разрушается и обычно через 24 ч клетки отторгаются от стекла.

Длительное пассирование ВЯ на лабораторных (естественно-восприимчивых) животных, а также в культуре ткани ведет к аттенуации вируса (при сохранении исходной типовой принадлежности) и непригодности такого вируса в качестве производственного штамма при изготовлении инактивированной вакцины.

### **ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

**Источники и пути передачи инфекции.** Основным источником инфекции являются животные в острой стадии болезни, выделяющие в окружающую среду заразное начало со слюной, лимфой из лопнувших афт, молоком, мочой и каловыми массами. С момента заражения и до появления первых симптомов болезни обычно проходит до 7, а иногда и до 14 дн. За это короткое время больное животное успевает контаминировать

вокруг себя корм, подстилку, кормушки, воду, поилки, молочную посуду, инвентарь (лопаты, вилы, скребницы, метлы), стены и полы помещения, одежду и обувь обслуживающего персонала. Выделяется вирус и с выдыхаемым воздухом.

Наиболее часто заражение происходит вследствие непосредственного контакта больных животных со здоровыми в скотных дворах, на рынках, пастбищах, трассах перегона скота на пастбища и т.д. В распространении ящура серьезную роль играют продукты и сырье животного происхождения молоко, мясо, субпродукты, кровь, кости, кожа, шерсть, копыта и рога от убитого скота. Навоз, подстилочный материал, сено, солома, отруби, загрязненные выделениями больного скота, - источник ящурной инфекции. При несоблюдении правил санитарной и личной гигиены люди, ухаживающие за больными животными, могут переносить ящур на руках, одежде и обуви, а также на предметах ухода за скотом. Переносчиками инфекции могут быть и невосприимчивые к ящуре животные, - собаки, кошки, лошади, а иногда и куры, утки, гуси, воробьи и птицы.

**Спектр патогенности в естественных условиях.** К ВЯ восприимчивы КРС, свиньи, овцы, козы, верблюды, буйволы, яки, олени, косули, джейраны, сайгаки, туры, лоси, кабаны, антилопы и другие парнокопытные. В естественных условиях могут заражаться и бессимптомно переболевать собаки и кошки. Вирулентность полевых штаммов варьирует, одни из них чаще инфицируют свиней, чем рогатый скот другие – наоборот. Есть сведения, что ящуром болеют слоны, медведи и зебры. Человек поражается при употреблении необезвреженного молока от больных животных.

**Клинические признаки заболевания.** У КРС и свиней в естественных условиях болезнь протекает остро и, как правило (у взрослых животных), доброкачественно. У КРС инкубационный период длится 1-3 дня, но может быть до 7-10 дн. Вначале отмечается ухудшение аппетита, вялая жвачка, повышенная саливация. Затем повышается температура тела (до 40,5-41,5°C), наступает угнетение, животное отказывается от корма, жвачка прекращается. На 2-3 день на внутренней поверхности верхней и нижней губ, на беззубом крае нижней челюсти, на языке и слизистой оболочке щек появляются афты. У некоторых животных афты образуются в области межкопытной щели и на вымени. Иногда поражаются все четыре конечности. Через 12-24 ч стенки афт разрываются и образуются свежие эрозии. В это время температура тела понижается до нормальной, наступает обильное слюнотечение. В результате чмокающих движений в углах рта появляется пенная масса. Через 2-3 нед эрозии заживают. При поражении конечностей животные хромают и часто ложатся, а при поражении вымени отмечается болезненность при доении, иногда возникает мастит. На фоне острых респираторных инфекций, присущих многим комплексам по доразивайте молодняка КРС, развитие ящура протекает медленно с недостаточно выраженными клиническими признаками заболевания. Необходимо отметить, что при массовом перезаражении коров при ручной дойке у животных наблюдается появление первичных афт сначала на сосках вымени, а затем в ротовой полости. При пастбищном содержании скота отмечено массовое поражение (афты и эрозии) венчика копыт, области межкопытной щели при единичных случаях поражения ротовой полости. Видимо, развитие клинического проявления болезни зависит от ворот инфекции. Наблюдаемые у коров аборты, тяжелые роды, задержание последа и различные послеродовые осложнения являются следствием размножения вируса в плаценте.

У телят ящур протекает в безафтозной форме с явлениями острого гастроэнтерита. При злокачественной форме ящура вначале протекает типично, но в стадии выздоровления,

на 7-10-й день, внезапно наступает резкое ухудшение состояния животного, учащение пульса до 120-140 ударов/мин и 20-25% животных погибают от паралича сердца.

У свиней болезнь проявляется лихорадкой, угнетением, ухудшением аппетита. На коже конечностей, в области межкопытной щели, венчика и мякишей появляются красные болезненные припухлости, затем афты, которые, разрываясь, образуют эрозии. Заболевание конечностей сопровождается хромотой, иногда спадением копытца. Чаще афты появляются на пяточке, сосках и редко - на слизистой ротовой полости. У взрослых свиней ящур длится 8-25 дн. У поросят-сосунов протекает в септической форме и в первые 2-3 дня болезни вызывает гибель 60-80% животных.

У овец инкубационный период продолжается 2-3 дня. Поражаются конечности в области венчика и межкопытной щели, реже - слизистая оболочка ротовой полости. У больных отмечают лихорадку, отказ от корма, прекращение жвачки, хромоту, угнетение. Больные животные отстают от стада, ложатся. Болезнь длится около 2 нед. У ягнят болезнь чаще проявляется гастроэнтеритом и нередко обуславливает гибель животных.

У коз клинические признаки болезни такие же, как и у овец. Довольно часто у них поражается вымя. Выздоровление наступает через 10-14 дн.

При вскрытии обнаруживают изменения (афты и эрозии) в ротовой полости, иногда на слизистой оболочке пищевода и преджелудков. У телят, ягнят, поросят отмечают геморрагический энтерит и дегенеративные изменения в мышце сердца ("тигровое сердце"). При злокачественном ящуре поражения находят в сердечной мышце. Она бледная и дряблая, на разрезе выступают серовато-красноватые пятна и казеозно перерожденные фокусы серо-белого цвета различной величины. Под эпикардом и эндокардом кровоизлияния. Подобные изменения находят также в скелетных мышцах.

**Патологоанатомические изменения.** При доброкачественном течении ящура смертельные случаи среди больных животных крайне редки. У КРС характерными признаками являются афтозно-эрозионные поражения на слизистых оболочках ротовой полости и рубца, безволосых местах кожи носового зеркала, губ, сосков вымени, венчика и области межкопытной щели. Крайне редко афты и эрозии образуются на коже вокруг ануса. При злокачественном течении болезни наряду с афтозно-эрозионными поражениями изменения обнаруживают в сердечной и скелетной мускулатуре. Поражение миокарда - главная причина летальных исходов. При внешнем осмотре сердца и на разрезе миокарда, особенно желудочков и межжелудочковой перегородки, находят множественные желто-серые очажки, пятна и полосы разной формы и величины. В скелетной мускулатуре спины, передних и задних конечностей (сгибатели и разгибатели пальцев, тазобедренная группа мышц), массетерах, мышцах языка, ножках диафрагмы и межреберных мышцах обнаруживают диффузные или очаговые дегенеративные поражения мышечных волокон, пропитанные студневидными желтоватыми инфильтратами. Для тяжелого течения ящура характерно наличие геморрагического диатеза в виде кровоизлияний, которые локализуются на слизистых оболочках пищеварительного тракта, серозных оболочках, в паренхиме легких, почек, печени, головного и спинного мозга. В подкожной клетчатке, особенно в области подгрудка, межмышечной соединительной ткани, подслизистом слое стенки кишечника, средостении, выявляются ограниченные или диффузные серозные инфильтраты желтоватого цвета студневидного характера.

У других видов животных картина вскрытия, в основном, та же, что и у КРС, только у нее свои особенности в зависимости от места локализации инфекционного процесса.

**Гистологические изменения.** Афты на слизистых оболочках представляет собой пузырек различной формы и величины. Гистогенез ее начинается с дегенеративных поражения клеток шиловидного слоя. Клетки набухают, округляются, а ядра пикнотизируются. В сосочковом слое подлежащей соединительной ткани в ответ на дистрофию клеток происходит расширение капилляров, отек и клеточная инфильтрация. Проникновение в толщу пораженных клеток и возникновению мелких внутриэпителиальных пузырьков. По мере продолжения репродукции вируса в клетках шиловидного слоя и накопления серозного экссудата отмечают более обширные разрушения клеток и их дисконфлексацию, слияние мелких пузырьков в один крупный и формирование афты. В связи с нарастающими воспалительными явлениями в сосочковом слое афты заполняется нейтрофильными лейкоцитами. Экссудат становится серозно-гнойным, а затем гнойным. Из-за механических причин и воспалительных процессов стенки афты надрываются и обнаруживается эрозия. Очищение дефекта эпителия от продуктов некротического распада происходит на 5-7-е сут, а эрозивная поверхность полностью покрывается эпителием на 12-е сут. При осложнении пролиферативных процессов в местах эрозии вторичной микрофлорой развивается гнойное воспаление подлежащих тканей с образованием язвенных поражений. Они заживают посредством натяжения с формированием соединительнотканного рубца.

Афтозно-эрозивные поражения на коже протекают по тому же типу, что и на слизистых оболочках. Из-за более частых осложнений вторичной микрофлорой на конечностях в области межкопытной щели нередко развивается пододерматит с последующим отпадением рогового башмака, а в молочной железе - серозно-катаральный или гнойный мастит.

При злокачественном течении наряду с афтозно-эрозивными поражениями обнаруживают тяжелые дегенеративные изменения в сердечной и скелетной мускулатуре. Они развиваются одновременно с появлением афтозно-эрозивных поражений на слизистых оболочках. В пораженных участках миокарда гистологически отмечают дистрофическо-некротические процессы в мышечных волокнах (белковая дистрофия, восковидный некроз, лизис, зернисто-глыбчатый распад), клеточно-пролиферативную реакцию со стороны интерстициальной ткани и явления расстройства кровообращения. Часто наблюдают отложение солей извести в пораженных мышечных волокнах. В начале развития воспалительного процесса в миокарде более выражен альтернативный, а в дальнейшем - пролиферативный компонент. Очаги некроза мышечных волокон сочетаются с участками частичного или полного замещения пораженных волокон клеточным инфильтратом и грануляционной тканью.

В скелетной мускулатуре встречаются дистрофические и некротические изменения мышечных волокон с реактивно-клеточными процессами в интерстиции. Поражения носят обычно очаговый характер.

### **ДИАГНОСТИКА**

Диагностика ящура основана на эпизоотологических данных, клинических признаках болезни, патологических изменениях и лабораторных исследованиях. Подозрение на ящур вызывает любое заболевание восприимчивых животных, характеризующееся появлением везикулярной сыпи в ротовой полости, на конечностях и вымени, повышенной саливацией, чмоканьем, затрудненным приемом и пережевыванием корма, а при осмотре ротовой полости - обнаружением афт и эрозий. Кроме того, обращают внимание на продолжительную хромоту, афты на венчике и в области

межкопытной щели, иногда спадение рогового башмака, афты на сосках и болезненность последних при доении и сосании с сильно выраженным защитным рефлексом.

Эпизоотологический диагноз - высокая контагиозность, избирательное поражение только парнокопытных. Методы лабораторной диагностики ящура варьируют в зависимости от того, необходимы ли раннее обнаружение и типовая (вариантная) идентификация вируса (ранняя диагностика) или обнаружение и идентификация специфических противоящурных АТ у животных-реконвалесцентов (ретроспективная диагностика).

**Выделение вируса.** Эффективность выделения вируса из патологического материала повышается при использовании методов очистки и концентрирования вирусосодержащих суспензий. Благодаря удобству выполнения, экономичности, а главное, возможности быстрого получения результатов, позволяющих одновременно определить типовую и вариантную принадлежность эпизоотического вируса, чаще всего применяют РСК или РДСК. Однако, когда доставленное количество вирусного материала недостаточно для исследования или РСК дает отрицательный результат или неспецифическую задержку гемолиза, то ставят биопробу на КРС (не менее 2 голов) в возрасте 18 мес, вводя 0,1 мл суспензии полученного материала в несколько точек слизистой оболочки языка и мякисей конечностей; общий объем испытуемого материала 2-3 мл. Появление афт на месте введения материала с последующим подтверждением в РСК свидетельствует о наличии ВЯ. Однако метод дорог и связан с опасностью выноса вируса за пределы учреждения. Поэтому в диагностической практике он применяется очень редко. Чаще для биопробы используют мышат-сосунков 4-6-дн возраста, морских свинок массой не менее 500 г и первичную культуру клеток почек телят, поросят, ягнят, щитовидной железы КРС и перевиваемые клетки - ВНК-21, IB-RS-2. Биопроба на мышах удобна и экономична. ИД50 испытуемого штамма на мышатах-сосунках и крупном рогатом скоте одинаковы. Мышата-сосуны более чувствительны к вирусу ящура, чем морские свинки. Однако необходимо иметь в виду, что оценка результатов титрования на мышатах-сосунках нередко затруднительна.

Морские свинки легко заражаются при интрадермальном введении вирусосодержащего материала в плантарную поверхность задних лапок методом тунелирования в дозе 0,2-0,5 мл. Заражают не менее 5 голов. Первичные поражения обычно появляются через 2-5 дн. (по мере созревания). Вторичные поражения - везикулы в ротовой полости - обычно развиваются при заражении штаммами, адаптированными к морским свинкам.

**Индикация и идентификация вируса.** В качестве экспресс-метода в настоящее время широко применяется ПЦР. Это быстрый и чувствительный метод обнаружения ВЯ в тканях путем энзиматической амплификации РНК гена полимеразы.

**РСК** по 100%-ному гемолизу. Применяется для определения типов и подтипов (вариантов) ВЯ, вызвавших заболевание животных, а также для проверки производственных штаммов ВЯ при изготовлении вакцин и лабораторных штаммов в научно-исследовательской работе (см. "Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных" (М. Атропромиздат, 1986 .250-258).

Антигенное родство (R) более 70% свидетельствует о том, что штаммы по антигенным свойствам идентичны друг другу и относятся к одному и тому же варианту, от 10 до 70% - к различным вариантам (подтипам) и менее 10%- к различным типам.

**РСК** по 50%-ному гемолизу. Успешно применяют в работе научно-исследовательских лабораторий и учреждений биологической промышленности.

Разработан способ изучения иммунного статуса вакцинированных против ящура животных в РСК. Он позволяет специалистам на уровне областных ветлабораторий проводить мониторинг за иммунным состоянием стад в простой и достоверной реакции.

**РНГА.** Это простой, ускоренный, чувствительный метод идентификации ВЯ. По чувствительности реакция превосходит общепринятый метод типирования ВЯ в РСК в 8-16 раз. Сущность ее заключается в том, что нагруженные АТ эритроциты агглютинируются при контакте с ящурным АГ гомологичного типа.

**Типирование ВЯ.** Определение типа ВЯ методом перекрестного иммунитета. Испытание перекрестного иммунитета на КРС с целью определения типовой принадлежности полевого штамма ВЯ проводится лишь в том случае, если по лабораторным тестам обнаруживается новый тип ВЯ, ранее не встречавшийся в стране. Определение типа ВЯ методом перекрестного иммунитета возможно и на морских свинках.

Штаммы считают идентичными, если вакцина предохраняет животных от развития генерализованного процесса при заражении используемыми штаммами. В случае иммунологического отличия штаммов вакцинированные животные, инфицированные гетерологичным штаммом, заболевают генерализованной формой ящура. При определении в культуре леток типа ВЯ его относят к тому типу, сыворотка против которого предотвращает ЦПД. Разработан вариант универсальной эритроиммуноадсорбции (УЭИА), позволяющий определять АГ ВЯ в более высоких титрах, чем в РСК и РПГА.

**ИФА.** Высокоэффективен для выявления как 146S-, так и 12Б-компонентов ВЯ. Этот метод в 500 раз чувствительнее РСК при исследовании проб афтозного эпителия. Установлена высокая степень специфичности и чувствительности ELISA для идентификации и тапировки ВЯ всех 7 серотипов в эпителиальных тканях. Установлена высокая чувствительность сэндвич-варианта ИФА (на основе щелочной фосфатазы), который по эффективности превосходит в 207-219 раз, а с хромогенными субстратами - в 4-64 раза. ИФА может быть пригодной в системе лабораторной диагностики ящура при исследовании диагностических штаммов. Для выявления АТ к ВЯ в ИФА можно использовать пробы крови, высушенной на фильтровальной бумаге. Первоначальный объем гепаринизированной крови равен 7,65 мкл.

**Ретроспективная диагностика** с целью определения типа и варианта ВЯ, вызвавшего в прошлом заболевание животных, основана на идентификации АТ в РПСК, РДП и РРИД, РРИФ, реакции серозащиты на мышатах и РН в культуре клеток.

Для достоверного выявления АТ и определения их типовой специфичности пробы сыворотки крови должны быть взяты не ранее 7 дн с момента появления у животных признаков везикулярного заболевания или проведения вакцинации. На исследование следует направлять 5-10 проб сыворотки от каждой возрастной группы. На партию проб сыворотки, направляемой для исследования, оформляют сопроводительный документ.

Выявление, идентификация типовой специфичности и количественное определение АТ ВЯ в РРИД, РПСК, РНСК и РИФ могут проводиться в условиях обычных ветеринарных диагностических лабораторий и не требует создания более строгого санитарного режима, поскольку проводятся с неинфекционными материалами.

Для обнаружения ингибиторных (неполных) АТ применяют РНСК (или РПСК). Эти АТ отличаются высокой авидностью. Они формируют комплекс АГ-АТ, не адсорбирующий комплемент. Связываясь с АГ быстрее полных АТ, они блокируют его, но не связанный при этом комплемент в присутствии гемолитической сыворотки вызывает лизис эритроцитов. Ингибиторные АТ обнаружены сейчас при многих

инфекциях, в том числе при ящуре. Данная реакция применяется для определения типов ВЯ по сывороткам переболевших животных, а также для обнаружения постинфекционных и поствакцинальных АТ.

Типирование ВЯ по сывороткам переболевших животных в РДП. В реакции используют АГ из очищенного и концентрированного лапинизированного ВЯ типов О, А, С и др., сыворотки от переболевших ящуром животных (не пригодны для исследования в РДГ сыворотки крови животных, дважды переболевших ВЯ различных типов), типоспецифические сыворотки, агаровая среда

Постановка реакции в центральные лунки 7-ми 6-угольных систем на агаровых пластинках помещают соответствующие АГ типов О, А, С и др. В периферические лунки помещают пробы испытуемых и контрольных сывороток. Затем пластинки выдерживают во влажной камере при 37°C. Реакцию учитывают через 16, 24, 48 и 72 ч после постановки. Положительная реакция характеризуется образованием одной или двух четких линий преципитации между лункой с АГ и сывороткой. ВЯ относят к тому типу, с АГ которого испытуемая сыворотка дает положительную реакцию В случае обнаружения в сыворотках преципитирующих АТ к 2 и более типам вирус относят к тому типу, с АГ которого испытуемые сыворотки дают наибольший процент положительных реакций.

**РИД.** Сущность ее заключается в формировании зоны специфической преципитации вирусных антигенов антителами, включенными в состав агарового геля. Реакция является типоспецифичной, позволяет провести исследования по типированию и количественному; определению постинфекционных и поствакцинальных АТ

**Встречный ИЭФ.** Может быть с успехом использован для серотипирования ВЯ Чувствительность его такая же, как и РДП, но учет результатов производится через 1,5 ч, тогда как реакция иммунодиффузии требует не менее 24 ч.

**НИФ.** При ящуре позволяет проводить дифференциацию АТ переболевших животных от вакцинированных. Выявление в НИФ специфического свечения свидетельствует о наличии в испытуемой сыворотке постинфекционных антител, т.е. о переболевании животного ящуром. С помощью РНГА определяют напряженность поствакцинального иммунитета у КРС. Установлена корреляция результатов, полученных при РПГА и РН. С помощью монАТ в РН или ELISA определяют не нейтрализуемые варианты ВЯ. В зависимости от чувствительности к монАТ все варианты ВЯ разделены на 3 группы. Варианты 1-й группы имели мутации преимущественно в области 140-160 VP1, варианты 2-й и 3-й групп мутируют в области 204 VP1 и 70, 139, 195 VP3 соответственно. Определены две большие АГ зоны вируса: чувствительная и нечувствительная к трипсину (VP1 140-160 и VP3 соответственно).

**Реакция серозащиты** на мышатах-сосунах. Используется для определения типа ВЯ по сывороткам животных-реконвалесцентов. Для постановки реакции используют эталонные (адаптированные к организму 4-7-дн мышат-сосунов) штаммы ВЯ различных типов. Штаммы должны быть типоспецифическими и иметь титр на мышатах-сосунах не ниже 7 lg в 1 г. ВЯ, вызвавший заболевание животных, относят к тому типу, при заражении которым привитые сывороткой мышата остались живы. Необходимым условием достоверной оценки реакции серозащиты является обязательная гибель контрольных мышат, которым введен вирус, в то время как контрольные мышата, которым вводили только испытуемую сыворотку, должны выжить.

**РН в культуре клеток.** Для постановки РН необходимо иметь 24 пробирки культур клеток. Отсутствие ЦПД в пробирках, в которые внесена смесь вируса с

сывороткой, при четко выраженном ЦПД в контрольных пробирках, указывает на наличие в исследуемой сыворотке АТ против данного типа ВЯ. Специфичность ЦПД можно установить путем исследования в РСК культуральной жидкости, полученной из пробирок с выраженным ЦПД.

**Дифференциальная диагностика.** При дифференциальной диагностике ящура необходимо исключить ВС, ВЕС, ВЭС, катаральную лихорадку овец. Для дифференциальной диагностики в лабораториях используют диагностические наборы, выпускаемые биологической промышленностью, для ящура и ВБС.

Иногда в материале от людей, подозреваемых в заболевании ящуром, выделяли возбудителя энтеровирусной инфекции человека - вирус Коксаки серотипа В. Вирус вызывал видимое ЦПД в перевиваемых культурах клеток в течение 24 ч, имея икосаэдрическую форму, размером 20-30 нм и вызывал гибель мышат при интрацеребральном заражении.

### **ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА**

Продолжительность иммунитета у животных, переболевших ящуром, составляет 8-12 мес, у свиней - 10-12, у овец - около 18 мес. Отдельные животные-реконвалесценты приобретают некоторую устойчивость против гетерологических типов вируса. При ящуре возникает тканевый и гуморальный иммунитет. Местный иммунитет формируется раньше, чем гуморальный, но он короче. Поэтому при реинфекции через 4-7 мес. на месте введения вируса образуются афты, но генерализации процесса не происходит. Установлено, что при ящуре комплекс защитных реакций организма начинает действовать с момента контакта возбудителя со слизистыми оболочками, обуславливая определенную закономерность в развитии специфического местного иммунитета. На белых мышах BALB/c и морских свинках, иммунизированных одинаковыми дозами антигена ВЯ нескольких штаммов типа SAT-1, продемонстрирована связь показателей тестов бласттрансформации, ИФА и сероредукции, которая определялась статистически значимыми коэффициентами корреляции. Эффективность первичной иммунной реакции организма на клеточном уровне может количественно детерминировать развитие гуморального фактора иммунитета. При парентеральной вакцинации КРС противоящурной вакциной уровень местного иммунитета в большей степени, чем гуморального, зависит от концентрации иммунизирующего антигена вируса и количества адьюванта в прививной дозе. Ревакцинация животных даже меньшим, чем прививаемая доза, объемом вакцины способствует усилению местного иммунитета, в то время как уровень ВНА остается неизменным. Это, видимо, указывает на относительную автономность местного иммунитета у КРС при профилактической вакцинации. К концу 1-й нед. вырабатываются ВНА, а спустя еще несколько дней - КСА и затем ПА ВНА сохраняются в течение нескольких месяцев, а КСА и ПА - 2-3 мес.

У животных-реконвалесцентов в отличие от привитых инактивированной вакциной отсутствуют АТ к вирусиндуцированной полимеразе.

Иммунитет обычно длится около года и даже дольше. Он еще сохраняется после исчезновения ВНА и зависит от свойств инфицирующего штамма вируса, а также от реактивности животного и всегда направлен против гомологичного типа вируса.

Доказана возможность пассивной передачи поствакцинального клеточного иммунитета. Показано участие цитотоксических лимфоцитов в ранние сроки формирования противоящурного иммунитета. Клеточный иммунитет связан с

функционированием лимфоцитов, рецепторного аппарата и соединения их с антигеном. За клеточный иммунитет отвечают Т-клетки.

В РФ для применяют гидроокисьалюминиевую вакцину, которую готовят из инактивированного вируса, культивируемого в переживающей ткани слизистой оболочки языка не иммунного к ящуру КРС (метод Френкеля), а также из вируса, полученного в суспензионной культуре клеток ВНК-21/13. Вакцины содержат инактивированный формалином, вирус и сообщают иммунитет взрослым животным до 4 мес. Вирус в производственных условиях концентрируют ультрафильтрацией, полиэтиленгликолем или полиэтиленоксидом, что дает возможность повысить концентрацию антигена в десятки и сотни раз. Первая инактивированная вакцина была предложена Вальдманом и Кобе в 1938 г. В дальнейшем эта вакцина была модифицирована в различных вариантах. В настоящее время для крупного и мелкого рогатого скота, как правило, применяют сорбированные, а для свиней - эмульгированные вакцины Трехвалентная ГОА-формолвакцина из ВЯ типа А №550, О №1618 и С №564 авирулентна, безвредна, стерильна и отличается выраженной иммуногенной активностью. Иммунитет у привитых животных наступает на 10-14-й день и достигает максимума через 3-4 нед. Иммунитет у взрослых животных длится 6-12 мес КРС обычно ревакцинируют 1 раз, свиней - 2 раза в год ВНА в сыворотке крови появляются уже к концу 1-й нед, достигают максимального титра в 3-5 нед, затем их концентрация постепенно снижается. При систематической иммунизации взрослых животных против ящура инактивированными моновакцинами у них поддерживается стабильный уровень АТ не ниже 4,5 log; на протяжении 6 мес. В течение последующих 3 мес идет медленное снижение титров АТ до 3,5-3,7 log; к концу 6-го мес. Колостральный иммунитет хорошо выражен, однако телята, не получавшие молозиво, не имеют сывороточных АТ, несмотря на то, что коровы были иммунизированы. После приема молозива титр АТ в сыворотке телят больше, чем в сыворотке матерей. АТ у телят сохраняются в течение 5 мес (39), хотя пассивная защита продолжается до 3-х мес. Продолжительность колострального иммунитета также зависит от типа вируса. Материнские АТ могут мешать образованию иммунитета у потомства.

Механизм протективного иммунитета к ВЯ *in vivo* отличается от механизма нейтрализации вируса *in vitro*. Образование ВНА у животных-реконвалесцентов вызывают только полные вирионы, (140S-частицы). На этом основании об иммуногенности инактивированных вакцин можно судить по концентрации 140S антигена.

Для свиней применяют инактивированные вакцины. Естественный иммунодефицит у свиней удалось преодолеть благодаря применению масляных адьювантов. Напряженный и продолжительный иммунитет у свиней наступал после 2-кратной вакцинации. Свиней прививают начиная с 2-мес возраста и ревакцинируют спустя 4 мес. Колостральные АТ подавляют вакцинальный иммунитет, особенно если поросят прививают в первые 30 дн. жизни. Вакцины с масляным адьювантом создавали и у телят более выраженный и продолжительный иммунитет, чем ГОА-вакцина. Оказалась возможной одновременная вакцинация КРС против ящура и чумы. Если инактивированную поливалентную ГОА-вакцину против ящура и живую - против чумы вводить одновременно подкожно в область шеи с разных сторон, то образуется такой же иммунитет, как и при отдельной вакцинации против каждого заболевания. Живые вакцины против ящура не разработаны. Многочисленные попытки в этой области не дали положительных результатов. Атенуированные штаммы, оказывались слабоиммуногенными или же реверсидельными.

Разработан метод оценки активности противоящурной вакцины по уровню ВНА. Установлена зависимость от активности вакцины уровня ВНА которая выражена графически. На основании этой зависимости составлены вспомогательные таблицы, позволяющие по установленному уровню ВНА определить иммуногенную активность вакцины.

**Оценка поствакцинального иммунитета.** Максимальные титры (в РН) поствакцинальных АТ обычно отмечаются на 28-й день после вакцинации; их уровень не зависит от разведения вакцины (в диапазоне 1:1-1:16) и прямо коррелирует со специфическим протективным иммунитетом.

На морских свинках показано, что иммуногенность противоящурной вакцины может быть оценена в реакции сероредукции бляшек без контрольного заражения животных. Эта оценка позволяет определить необходимую дозу испытуемой вакцины для обеспечения гарантированного иммунитета. Показана коррелятивная связь между первичным иммунным ответом на клеточном уровне (тест бласттрансформации) и степенью развития гуморальной иммунной реакции (тесты иммуноферментной сероредукции). Реакция гиперчувствительности замедленного типа позволяет изучить *in vivo* развитие противоящурного иммунитета в ранний период после вакцинации. Показано, что у взрослого КРС в зоне высокого радиоактивного заражения после иммунизации концентрированной противоящурной вакциной образуются специфические АТ, однако иммунитет при этом менее напряженный и более короткий по сравнению с необлученными животными.

**Ветеринарно –санитарная оценка.** Туши и продукты убоя от больных и подозрительных по заболеванию выпускать в сыром виде запрещается. При наличии дегенеративных или других паталогических изменений в мускулатуре тушу с внутренними органами направляют на утилизацию. При отсутствии паталогических изменений разрешается перерабатывать на варёные, варёно –копчёные колбасы , консервы или проварку.

## Семейство: Herpesviridae

Таксономическая структура семейства изложена в первой части лекционного курса.

### БОЛЕЗНЬ АУЕСКИ

Pseudorabies, Aujeszky's Disease (англ.), Aujeskysche Krankheit, Morbus Aujeszkyi, Herpesvirus-suis-Infektion, Pseudowut, Infektiose Bulbarparalyse (нем.), Pseudorage (франц.) Болезнь Ауески (БА), - псевдобешенство, инфекционный бульбарный паралич, зудящая чума, бешеная чесотка) - остро протекающая болезнь сельскохозяйственных животных всех видов, пушных зверей и грызунов. Характеризуется признаками поражения головного и спинного мозга, сильным зудом и расчесами (у всех животных, кроме свиней).

Информация об истории БА обобщена в обзорах. БА впервые описана в США в 1813 г среди телят, страдающих экстремальным зудом и в итоге погибших, соответственно заболевание было названо "Maditch " - бешеная чесотка. Термин "псевдобешенство" был впервые использован в 1849 г в Швейцарии, так как клинические признаки у телят были подобны таковым при бешенстве.

В 1902 г А. Ауески установил этиологический агент как небактериальный и в последствии Шмайдохфер подтвердил экспериментальной фильтрацией, что агент был вирусом. В 1934 г Sabin и Wright идентифицировали его как герпесвирус, который был

иммунологически связан с ВГП и герпесом В. Болезнь встречается во всех европейских странах, Южной и Северной Америке, Африке и Азии в виде энзоотий и наносит большой экономический ущерб. Несмотря на единую этиологию, патогенез болезни и ее клиническое проявление зависят от вида, возраста и способа заражения. Наиболее высокий экономический ущерб болезнь, наряду со свиноводством, приносит пушному звероводству. У пушных зверей БА - острая кормовая инфекция. Основным источником ее являются боенские отходы и субпродукты, полученные от больных свиней или животных-вирусоносителей.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ**

**Морфология и химический состав.** Впервые установил и описал болезнь в Европе венгерский ученый А Ауески в 1902 г. Вирионы содержат 2-спиральную линейную ДНК. ВБА состоит из одетого нуклеокапсида, который окружает линейный геном из ДНК. Размер вириона 150-180 нм в диаметре, нуклеокапсида 105-110 нм. Нуклеокапсид состоит по крайней мере из 8 белков от 22,5 до 142 кД. Белки с мол.м. 142, 34 и 32 кД являются преобладающими. Вирусная оболочка имеет из 9 структурных белков с мол.м. от 50 до 130 кД. Восемь из них имеют сахар и относятся к гликопротеинам.

**Устойчивость.** Вирус чувствителен к эфиру, хлороформу, быстро инактивируется желчью, устойчив к широким колебаниям рН (5-9), 1-2%-ный раствор формальдегида инактивирует вирус в течение 15-20 мин. Он устойчив к прогреванию, сохраняет активность при 60°C 40-50 мин, инактивируется через 3 мин при 80°C. Однако замораживание при -20°C способствует его инаktivации. Прямые солнечные лучи обезвреживают его в течение 6 ч, рассеянные солнечные лучи - за 12-48 ч, ультрафиолетовые - за 1 мин. Холод консервирует вирус, при 1-4°C он активен от 130 дн до 4 лет. В 40%-ном растворе глицерина и глицерин-фосфатном буфере с нейтральным рН сохраняется в течение 2-3 лет, в насыщенном растворе NaCl - не менее 3 мес. В тканях высохших трупов грызунов вирус сохраняется до 6 мес., в гниющих трупах - до 1 мес. В моче летом вирус сохраняет активность 3 нед. и 8-15 нед в зимнее время, в навозной жиже - летом в течение 1 мес., зимой - около 3 мес. При биотермическом обеззараживании навоза инактивируется в течение 8-15 дн. Горячий 3%-ный раствор NaOH, 20%-ная взвесь свежегашеной извести, 1%-ный раствор формальдегида убивают вирус за 5-20 мин, однако растворы креолина и карболовой кислоты слабоэффективны..

**Антигенная структура.** В оболочке ВБА различают 3 основных гликопротеина Д1, Д2, Д3, кодируемых U-сегментом вирусного генома. При инъекции свиньям АГ формируются ко всем гликопротеинам. Гликопротеин Д1 состоит из 2 субъединиц с мол. м. около 80 кД - концевой фрагмент Д1 содержит высокоантигенный домен, способный вызывать образование ВНА и защитный эффект Гликопротеины Д2 и Д3 имеют соответственно мол м 110 и 60 кД. Эпитопное картирование вирусных АГ и изучение роли отдельных эпитопов в индукции иммунного ответа имеет важное значение при разработке маркированной вакцины и дискриминирующей диагностической тест-системы. Гликопротеин gI ВБА служит маркерным белком в вакцинах и тест-системах.

**АГ активность.** Вирус продуцирует образование ВНА, КСА и ПА, которые можно обнаружить с помощью РН, РСК и РДП. Специфические КСА появляются в сыворотке кров через 3 дн. после заражения, и титр их не снижается в течение 30-40 да. ВНА появляются в 5-7 дн, достигают максимума через 3-4 нед и титр их сохраняется от 1 г. до 1,5 лет. Вирусные гликопротеины Д1, Д3 и gp50 индуцируют развитие ВН активности

сывороточных АТ. Вакцинированные свиньи и животные-рековалесценты, с титром ВНА 1-801 выше, противостоят экспериментальному заражению. Динамика АТ в период с 5-го по 21 день после заражения 6-нед поросят характеризовалась следующими показателями. На 5-7-е сут после заражения появлялись преимущественно АТ класса М, которые обнаруживали только в РНГА. ВНА начинали появляться только с 12-го дня. Таким образом, РНГА -более чувствительный метод диагностики инфекции, особенно на ранних сроках при наличии АТ класса М (56). ТК вируса и его гликопротеины важны для персистенции вируса в макрофагах и клетках нервной системы.

**АГ вариабельность и родство.** АГ вариантов у ВБА не установлено. Методом перекрестной ИФ установлено АГ родство ВБА и простого герпеса. Предложен метод дифференциации разных штаммов ВБА, основанный на разделении рестриктазных фрагментов ДНК. Полученные фрагменты разделяют электрофорезом. Метод позволяет достаточно четко идентифицировать штаммы ВБА по подвижности этих фрагментов.

**Локализация и выделение вируса.** Вирус пантропен и может быть обнаружен у естественно восприимчивых животных в верхних дыхательных путях, легких и через 48 ч в головном мозге, селезенке, печени, почках, слюнных железах, миндалинах, коже, лимфоузлах. У свиней его можно обнаружить на 1-6-й день болезни в носовой слизи. На 8-й день вирус исчезает из ЦНС, в это время в крови появляются ВНА. Первично вирус попадает в носоглотку, откуда его можно выделять в течение 2-х нед, а затем распространяется прямым нейролимфогенным путем по обонятельному, тройничному и языкоглоточному нервам, достигая ЦНС. При проникновении через кожу вирус быстро размножается в месте внедрения в жировой, соединительной, мышечной тканях и затем лимфогенным и гематогенным путями распространяется по всему организму, обнаруживаясь во всех внутренних органах. Из организма вирус экскретируется с носовыми истечениями и слюной, но может присутствовать и в эякуляте. В крови его обычно можно обнаружить лишь в начале болезни, вирусемия кратковременна. В миндалинах естественно переболевших и экспериментально зараженных подсвинков вирус находится 120 дн, выделение его продолжается не менее 60 дн (до 18 мес) после инфицирования. Вакцинация не прекращает репродукцию вирулентного вируса, который обнаружен в миндалинах всех животных, убитых на 3-6-й день, и в мозге большинства свиней. При подкожной вакцинации свиней шт. БУК он регулярно в течение 2-8 дн выявляется в подкожной клетчатке на месте введения, в региональных лимфоузлах и в 18% случаев в ЦНС.

Кроме указанных органов его часто обнаруживают в надпочечниках. Доказана возможность проникновения в плоды вирулентного и вакцинного штаммов вируса через плаценту. У павших поросят наивысшая концентрация вируса обнаружена в миндалинах, лимфоузлах области головы и легких. Описано невральное распространение вируса у телят, после смерти которых его обнаруживали в ЦНС. У кроликов и свиней он распространяется по кровеносным сосудам. Инфицированные свиньи выделяют ВБА на 24 ч раньше проявления клинических признаков. Свиньи с титром ВНА 3,0-4,5 log<sub>2</sub>, вакцинированные интраназально, также выделяют во внешнюю среду возбудитель, но в значительно меньших количествах. От инфицированных свиней с титром поствакцинальных ВНА 6,8-8,5 log<sub>2</sub> ВБА выделить не удалось. Вирус выделялся от клинически больных или инаппарантно больных в период 2-5 дн. после инкубационного периода ВБА может выделяться из носового экссудата в титрах 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> ТЦД<sub>50</sub> в течение

1-2 нед. и в меньшем количестве из глоточных соскобов, вагинального секрета, препуция, молока и, иногда, мочи.

**Персистенция вируса.** Доказана реактивация *in vivo* и *in vitro* латентного вируса у поросят от вакцинированных свиноматок. В первичной культуре клеток почки свиньи, зараженной шт БУК и АБ, удавалось получить латентную инфекцию, шт. АБ персистировал в инфицированной культуре клеток в течение 193 дн. Переболевшие бессимптомно серые крысы и мыши остаются вирусоносителями 130-140 дн. Длительность вирусоносительства у свиней колеблется в зависимости от возраста переболевших животных, у свиноматок и хряков - свыше 180 дн, у подсвинков моложе 6 мес - более 130 дн, и даже считают, что у выздоровевших свиней БА переходит в латентную форму, при которой вирус может пожизненно персистировать в ЦНС, миндалинах и лимфоузлах, и животные также могут быть источником инфекции. Поэтому трудности искоренения болезни связаны с тем, что выздоровевшие животные остаются носителями вируса и могут его выделять после стрессовых воздействий. Поскольку вирусоносительство при БА широко распространено, то для исключения его необходимо исследовать сыворотки крови в РН от всех вновь поступающих в хозяйство животных.

**Экспериментальная инфекция.** При интраназальном заражении гибель молодых супоросных свиноматок составляет около 40% . Кроме свиней, кроликов, норок, кошек болезнь можно легко воспроизвести на крысах при заражении их подкожно или интраназально. Лабораторные крысы более чувствительны, чем дикие. Заболевшие животные погибают, у крыс-реконвалесцентов АТ не обнаруживают. Здоровые крысы, находившиеся в одной клетке с больными крысами или свиньями, как правило, не заболевают, и АТ у них нет. Это наблюдение дало основание отрицать возможную роль крыс в переносе и резервации инфекции. Мыши в 1 мес. возрасте чувствительны к ВБА при внутримозговом и подкожном заражении. Кортизон повышает их чувствительность. Цыплята 1 сут возраста восприимчивы к вирусу при различных способах заражения. С возрастом смертность зараженных снижается. У больных кроликов с яркой клинической картиной расчесов через 41-75 после заражения установлено размножение вируса в ядрах ганглиозных, оболочечных, реже шванновских и эндотелиальных клеток капилляров.

Заражение всех чувствительных животных смертельно, хотя имеется одно сообщение, которое подтверждает выздоровление зараженной коровы. Некоторые дикие животные также чувствительны к ВБА со смертельным исходом - это опоссумы, еноты, крысы, мыши; практически все животные, окружающие свиноферму. Из приматов чувствительны обезьяны - резусы и мартышки, устойчивы шимпанзе и *Вагбагу*. Сообщения о заражении людей ограничены и недостаточно документированы - не основывались на выделении вируса. В 1987 г. сообщалось о трех больных в Дании и Франции, у которых развивалась низкого уровня сероконверсия к ВБА после заболевания, которое возможно было передано от кошек. Возможно, что в данном случае имела место перекрестная реакция с АТ, индуцированными другими герпесвирусами.

Заражение вирулентным ВБА вакцинированных серонегативных свиноматок приводит к снижению их репродуктивности, трансплацентарной передаче вируса плодам и персистенции вируса у полученных от них поросят.

**Культивирование.** ВБА пассируется на кроликах, белых мышах (предварительно обработанных гидрокортизоном), в первичных культурах клеток КЭ, почек КРС, обезьян, ягнят, свиней, перевиваемых клетках, вызывая образование некротических фокусов - бляшек, число которых пропорционально титру вируса (ба). Клетки КЭМ-Ла неодинаково

чувствительны к различным шт. ВБА, а фибробласты КЭ более чувствительны, чем первичная культура клеток мышиноного эмбриона. В культуре ФКЭ вирус образует бляшки с агаровым покрытием через 48 ч. после заражения. Помимо культур клеток, вирус удается культивировать в КЭ при инокуляции на ХАО после некоторого периода адаптации альтернативными пассажами. На ХАО наблюдаются специфические фокусы поражения и генерализованная инфекция Эмбрионы гибнут через 24-96 ч (в зависимости от степени адаптации).

**ГА свойства.** Показано, что гемагглютинин ВБА легко сорбируется на мышинных эритроцитах при температуре 4, 22 и 37°C. Но не сорбируется на эритроцитах КРС. При этом связавшийся с эритроцитами ГА не элюируется с них в присутствии нейраминидазы. Специфичные для ГА рецепторы мышинных эритроцитов инактивируются трипсином,  $\alpha$ -амилазой, пепсином, КЮ<sub>4</sub>>4 и ЭДТА, но не папаином,  $\beta$ -глюкозидазой, фосфолипазой С, нейраминидазой, этиловым эфиром, хлороформом и др., что указывает на гликопротеидную природу активного компонента ГА.. ГА стабилен при 37°C, разрушается при 60°C. При зональном центрифугировании вирусных препаратов в градиенте плотности сахарозы пик ГА активности совпадает с пиком инфекционности.

### **ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

**Источник и пути передачи инфекции.** Источник инфекции - больные животные. Для БА характерна и горизонтальная передача инфекции от бессимптомного носителя к здоровому животному. Взрослые свиньи, переболевшие легко, являются опасными носителями вируса не только для свиней, но и для животных других видов Вирусный геном персистирует в латентном состоянии пожизненно и может реактивироваться при стрессах с последующей экскрецией вируса. В США (штат Северная Каролина) из миндалин, носового секрета и слюны выделены изоляты ВБА от серопозитивных свиноматок, вакцинированных живыми или инактивированными вакцинами. Изоляты принадлежали к 4-м субтипам, что указывал на множественность типов вируса. Авторы пришли к выводу о том, что вакцинация не предотвращает инфекции и установление латентного состояния.

В естественных условиях заражение животных происходит респираторным путем, а также через корм, воду, загрязненные выделениями больных животных или вирусоносителей. Распространение ВБА в стаде может происходить прямым путем при контакте нос-в-нос, в процессе осеменения через инфицированные вагинальную слизь или сперму или при трансплацентарной передаче. Более общим путем передачи возбудителя является вдыхание аэрозольного ВБА или выпойка воды, содержащей ВБА. Инфицирующий уровень его может сохраняться до 7 ч в воздухе с влажностью 55% и выше. Инфекционность ВБА также сохраняется в необработанной хлорированной воде и закрытых водных лагунах в период до 7 ч и до 2-х дн соответственно. Инвентарь, контаминированный ВБА, является потенциальным источником ВБА для орального заражения чувствительных свиней, однако в условиях ферм пути распространения вируса обычно трудно проследить ВБА обычно имеет низкую выживаемость в окружающей среде. Опасны необезвреженные боенские отходы.

Из организма вирус выделяется с секретами носовой и ротовой полостей, у подсосных маток - с молоком. В таких случаях поросята-сосуны заражаются через инфицированное молоко. Возможно внутриутробное заражение плода. При прямом контакте больного со здоровым животным может произойти заражение через поврежденную кожу, слизистые оболочки носовой полости, глаз, половых органов.

Факторами распространения возбудителя могут быть инфицированные корма, подстилка, помещения, территория лагерей, трупы, в особенности грызунов. Мыши и крысы также играют определенную роль в заносе и распространении инфекции, являясь одним из резервуаров вируса в природе. Возможна передача инфекции по воздуху на большие расстояния. Так, описана вспышка БА в Южной Дании зимой 1990-1991 гг. Заболевание распространялось в направлении ветра. Авторы считают, что БА распространяется воздушным путем, а не является результатом реактивации вируса у латентно инфицированных свиней (88). Основным источником заноса инфекции в хозяйство - свињи-вирусоносители из неблагополучных хозяйств КРС, овцы, козы заражаются при контакте с больными свиньями. Инфицированные свиньи выделяют ВБА на 24 ч раньше проявления клинических признаков болезни.

Вирус стабилен при рН 6-8 при низкой неизменяющейся температуре. Он инактивируется через 1-7 дн. при рН 4-3 или 9-7, при температуре между 37 и 4°С. Инактивация его почти мгновенна при высушивании вируса под прямыми солнечными лучами. В таблице XVI.1 представлено время, необходимое, чтобы инактивировать ВБА при 25°С, если вирус суспендировали в свиной слюне, носовых смывах или глюкозо-солевом растворе и наносили на инвентарь.

Собаки, кошки, еноты, кроты, мыши чувствительны и могут играть роль в распространении БА в стадах. Заражение у этих животных происходит при прямом или непрямом контакте с зараженными свиньями. Заболевание обычно скоротечно - гибель большинства зараженных животных наступает на 2-3-й дн. болезни. Признаки появляются через 2-3 дн. после заражения. Передача животными этими видов ВБА свиньям обычно ограничено единичной фермой. Нет достоверных данных, подтверждающих, что птицы играют роль в эпизоотологии. Некоторые виды птиц заражаются ВБА парентерально

Сохранение ВБА на контаминированных материалах

Инсоляция при 25°С	Срок сохранения инфекционности вируса (дни)			Инсоляция при 25°С	Срок сохранения инфекционности вируса (дни)		
	В р-ре Глюкоз	В слюне	В нос смывах		В р-ре Глюкозы	В слюне	В нос смывах
Контроль	58	4	2	Сталь	18	4	2
Бетон	<1	4	<1	Пластик	8	3	3
Резина	7	2	2	Ткань	<1	<1	<1
Глин. почва	4	7	2	Зел. трава	<1	2	<1
Ракушечник	36	4	2	Комбикорм	3	3	3
М/кост. мука	5	2	2	Люцерна	<1	<1	<1
Солома (подстилка)	3	4	4	Опилки (подстилка)	<1	2	<1
Кал свиней	2	2	2	Мышцы св. при 4°С	19	НД	НД

Попытки заражения оральным путем оказались безуспешными. Было подтверждено, что птицы могут транспортировать вирус на перьях или с кормом, однако ВБА быстро теряет свою инфекционность при внесении его на корм для птиц. Роль насекомых в передаче

ВБА не определена. Домашние мухи, получавшие ВБА с сахарным раствором в течение 5 дней, не обнаруживали зараженности. Однако "период полужизни" вируса в кишечнике варьирует от 13 ч при 10°C до 3 ч при 30°C. Попытки экспериментальной передачи ВБА мухами через роговую оболочку глаза, слизистые оболочки, или поврежденную кожу чувствительных свиней дали различные результаты. Очевидно, что распространение ВБА по воздуху составляет более 2 км. Больше вируса у зараженных норок накапливается в печени, почках, лимфоузлах и головном мозге (lg ТЦД<sub>50</sub> 2,2, 1,83, 1,8, 1,9 соответственно). Для диагностики отбирают головной мозг, печень и лимфоузлы грудной полости.

**Спектр патогенности в естественных условиях.** Он широкий: восприимчивы все сельскохозяйственные животные, пушные звери, дикие плотоядные и грызуны. Рогатый скот и пушные звери болеют реже, чем свиньи, собаки, кошки, лошади - еще реже. Из млекопитающих устойчивы приматы. Молодые животные восприимчивее взрослых. Птицы не чувствительны. Во Франции считают плотоядных и, в частности котят, настоящими "часовыми" БА, так как по количеству случаев заболевания среди кошек можно судить об истинном распространении вируса в природе. Имеются данные о распространении инфекции среди енотов. Все вспышки болезни у енотов ассоциировали с аналогичными заболеваниями среди свиней. Показано, что еноты - естественный резервуар ВБА в природе. Описан случай заражения ВБА маленьких цыплят в хозяйстве, где применялась живая вакцина из вируса, аттенуированного на КЭ. Изоляты ВБА характеризуются гетерологичностью популяции.

**Клинические признаки.** Инкубационный период от 1,5 сут до 15-20 дн. и зависит от метода заражения, вирулентности вируса и устойчивости животного.

У свиней БА протекает без признаков зуда. Особенно тяжело болеют поросята-сосуны и отъемыши. У поросят, зараженных внутриутробно или в первые 10 дн. после рождения, болезнь носит септический характер, такие поросята нежизнеспособны, не могут сосать, постоянно лежат, у них наблюдаются спазмы глотки, икота, слюнотечение. Через 4-12 ч, а иногда через сутки после появления признаков болезни такие поросята обычно погибают. У новорожденных поросят бывает и аполексическая форма болезни: внешне здоровый поросенок падает и в припадке судорог погибает. У поросят от 10 дн до 3-х мес. первые признаки болезни - лихорадка (до 40-42° С), угнетение, слизистое истечение из носа. Затем появляются признаки поражения ЦНС: беспокойство, маневные движения. Больные поросята стремятся вперед, натываются на препятствия, упираются головой в стену или кормушку. Появляются судороги шейных и жевательных мышц, мышц позвоночника - прогибается спина. Нередко возникают припадки судорог. Поросенок падает и, лежа на боку, судорожно двигает конечностями; голова запрокинута, саливация усилена. У некоторых более выражено угнетение. Далее развиваются параличи глотки, гортани, конечностей. Наступает афония, из ротовой полости течет пенная слюна, появляется одышка - следствие отека легких. Болезнь длится от нескольких часов до 3-х сут. Погибают 70-100% заболевших.

Болезнь у свиноматок и подсвинков старше 5-мес возраста проявляется в форме доброкачественного гриппоподобного синдрома, сопровождающегося обильным слюнотечением. Иногда выделяют вирус от свиней, страдающих различными формами пневмонии (кашель, признаки ринита и конъюнктивита). Через 3-4 дн. животные выздоравливают. Признаки поражения ЦНС проявляются редко. Супоросные матки могут абортить. В Китае описаны поражения плаценты у супоросных свиней, естественно зараженных вирусом БА. В природе циркулируют слабовирулентные штаммы,

обладающие относительно низким нейротропизмом. В таких случаях свиньи могут быть вирусоносителями до 12 мес. и более. Острое течение БА проявляется лишь в случае циркуляции возбудителя на поросятах до 5 мес и особенно новорожденных от интактных свиноматок. ВБА патогенен для плодов в период иммунологической ареактивности, и в период иммунокомпетентности.

У крупного рогатого скота повышается температура тела до 41,9°C, прекращается жвачка, появляется сильный зуд в области ноздрей, губ, щек или глаз, реже - в других участках тела. Животные вялые, отказываются от корма, беспокоятся, непрерывно лижут зудящие места, трутся об окружающие предметы, а если это не удается, грызут кожу. Возбуждение нарастает, глаза выражают испуг, животное мычит, стонет, рвется с привязи, но агрессивности не проявляет, пульс и дыхание учащены. Иногда больные животные падают на землю. Расчесанные до крови зудящие места отекают. Нередко наблюдаются судорожные сокращения жевательных и шейных мышц. Частые позывы к мочеиспусканию, сильное слюнотечение, потливость, нервная дрожь. Через 1-2 сут. с момента появления первых признаков болезни наступает смерть. Случаи выздоровления исключительно редки. Иногда зуда и расчесов не бывает, в таких случаях наблюдаются усиленное отделение пота, слюны, атония рубца, жажда. Приступы беспокойства чередуются с периодами оцепенения, сонливости. Описывается болезнь среди КРС, находящегося в прямом контакте со свиньями, протекающая остро и характеризующаяся тимпанией. Смерть обычно наступает при явлении нарастающей слабости.

У овец и коз БА проявляется такими же клиническими признаками, что и у КРС, однако возбуждение бывает редко. Тяжело болеют и часто погибают в 1-е сут ягнята.

У плотоядных животных (пушные звери, кошки, собаки) наблюдается отказ от корма, они становятся пугливыми, беспокойными. Характерный признак - сильный зуд. Он отмечается у большинства больных собак, у кошек зуд бывает реже. У больных собак и кошек иногда появляется возбуждение, напоминающее бешенство: животные грызут палки и различные предметы, нападают на других животных, но агрессивности к людям не проявляют. Вскоре парализуется глотка, в связи с чем повышается саливация. Животные обычно погибают в течение первых 2-3-х сут. Патогенез болезни у плотоядных, проявляется локализацией и распространением вируса невральным путем по аналогии с бешенством; животные не выделяют вирус во внешнюю среду, не являются источником инфекции и служат его экологическим тупиком.

У лошадей болезнь может протекать доброкачественно. У больных незначительно повышается температура тела, снижается аппетит и отмечается некоторое угнетение. Через 2-4 дня эти признаки исчезают.

Разнообразие клинического проявления БА объясняется видовой и возрастной чувствительностью, уровнем иммунореактивности животных, а также пантропностью возбудителя, его способностью поражать клетки иммунной системы, вызывать в организме состояние иммунодефицита.

**Патологоанатомические изменения.** При внешнем осмотре трупов крупного и мелкого рогатого скота, пушных зверей, собак и кошек обращают на себя внимание расчесы и раны кожи в области морды, головы или других частей тела. Шерсть на этих участках отсутствует, кожа покрасневшая, покрыта трещинами, ссадинами, разорвана. Подкожная клетчатка отечна, красного или темно-красного цвета. Слизистая оболочка носовой полости, гортани, глотки застойно гиперемирована. В бронхах пенная, красного цвета жидкость. Легкие темно-вишневого цвета, тестоватые, с поверхности разреза стекает

пенистая красноватая жидкость. Иногда обнаруживают очаговое или разлитое воспаление. Слизистая ЖКТ покрасневшая, набухшая, по складкам покрыта кровоизлияниями и дифтерическими пленками. Под серозными покровами паренхиматозных органов видны мелкие точечные кровоизлияния. Кровеносные сосуды мозга и его оболочек расширены, полнокровны, мозговое вещество отечно. В мозговых желудочках находят большое количество красноватой жидкости.

У свиней, поросят-отъемышей и сосунов расчесы и другие повреждения кожи, как правило, отсутствуют. В миндалинах, на слизистой оболочке надгортанника, глотки часто обнаруживают крупозные дифтерические пленки, некротические фокусы, язвы и эрозии. Резко выражен отек легких. Слизистая ЖКТ диффузно воспалена, отечна, с кровоизлияниями и докрыта дифтерическими пленками. Брыжеечные лимфоузлы увеличены, отечны. У поросят-отъемышей и сосунов в печени, селезенке, почках обнаруживают множественные мелкие некротические очажки. Головной мозг и его оболочки застойно гиперемированы, отечны, иногда покрыты кровоизлияниями. В мозговых желудочках содержится большое количество желтоватой жидкости. У молодых поросят встречается некротический энтерит. Основные видимые изменения обнаруживаются в грудной полости. Сердечная мышца дряблая, с сильными дистрофическими изменениями под эпи-, эндокардом и в миокарде. Легкие застойно гиперемированы и отечны с обильным выделением трансудата. В печени кровоизлияния, лимфоузлы грудной и брюшной полостей вишневого цвета, сочные на разрезе. Сосуды головного мозга кровенаполнены.

**Гистологические изменения.** При гистологическом исследовании в миндалинах, глотке, печени, селезенке обнаруживают очаговый некроз клеток с выраженным кариорексисом, при этом реакция со стороны окружающей ткани отсутствует. В легких альвеолы расширены, просветы их заполнены серозной, иногда с примесью фибрина, лейкоцитов и эритроцитов и десквамированного эпителия жидкостью. В головном и спинном мозге развивается картина негнойного менингоэнцефалита.

**Патогенез.** При попадании на слизистую глотки, гортани, трахеи, легких или через поврежденную кожу вирус проникает в периферическую нервную систему и достигает головного мозга, легких, где размножается. Через 24 ч после заражения вирус обнаруживается в легких; здесь он поражает клетки эпителия, фибробласты, лимфоциты, макрофаги. Позднее в ядрах и цитоплазме этих клеток выявляют капсиды вируса, а в межклеточном пространстве - вирусные частицы. Через 48 ч вирус находят в головном, а затем в спинном мозге, селезенке, печени, в лимфоузлах, мышцах и коже. Во вторичной фазе болезни вирус распространяется лейкоцитами через кровеносную и лимфатическую системы по всему организму. Генерализация длится примерно 7 дн. У некоторых свиноматок ВБА по кровяному руслу проникает в матку и плод. Проявление БА у свиней сильно различается в зависимости от возраста и вирулентности вируса. В течение последних 30 лет в Европе отмечают выраженный пневмотропизм болезни.

Вирусемия способствует развитию лихорадки сосудистых нарушений. У больных животных в месте внедрения вируса нарушается содержание ацетилхолина, гистамина и других веществ, что способствует развитию зуда, расчесов и различных повреждений кожи. В ЦНС и внутренних органах вирус вызывает тяжелые патологические изменения, приводящие к гибели животного.

## ДИАГНОСТИКА

Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, симптомов болезни, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований. Основными методами лабораторной диагностики являются, выделение вируса, прямая и непрямая ИФ, РДП, радиоиммунологический метод, кожная проба, РН, РСК, ELISA и биопроба. Для БА нужна крупномасштабная диагностика в виде серологического обследования свинопоголовья хозяйств - поставщиков (племенных и репродуктивных ферм) на уровне области или республики по аналогии с исследованиями на бруцеллез и туберкулез. Указанные категории хозяйств должны иметь характеристику эпизоотологического статуса по данной инфекции. Современные методы позволяют это осуществляя исследуя пробы почек, селезенки, печени и лимфоузлов на наличие антигена ВБА с помощью РИД, РСК, ИФ, ИФА .

Вирус БА выделяется в культуре клеток ВНК-21 и ПСГК-30 и идентифицируется в РСК, ИФ и РРИД Предложен метод получения высокоактивной специфической сыворотки для диагностики БА. Создан полноразмерный ДНК-зонд ВБА, характеризующийся высокой чувствительностью Зонд использовали как при проведении реакции молекулярной гибридизации, так и для повышения чувствительности рестрикционного анализа. Разработан диагностический тест, позволяющий дифференцировать инфицированных и вакцинированных г1-вакциной животных. Эта тест-система в совокупности с высокоэффективной; маркированной г1-вакциной может быть использована для разработки программы искоренения БА в хозяйствах и регионах. МонАТ можно использовать для обнаружения ВБА в различных материалах. В стаде, в котором взрослые свиньи заражались, ВБА мог длительно циркулировать на свиньях старше 3-4-х мес. Он может быть выделен даже при использовании системы пусто-полно.

**Экспресс-диагностика.** Методика получения высокоочищенной ДНК ВБА для диагностики с использованием методов рестрикционного картирования, ПЦР и секвенирования разработана во ВНИИЗЖ. Можно проводить детекцию ВБА при помощи ПЦР и твердофазной гибридизации в плашках для микротитрования по методу детекции простого герпеса ВПГ-1 и ВПГ-2, поскольку разработан вариант ПЦР, позволяющий проводить одновременную детекцию и генотипирование ВПГ из клинических образцов при использовании меченных флуоресцирующих праймеров, способных амплифицировать полимеразные гены ВПГ-1 и ВПГ-2. При сопоставлении разработанного метода со стандартным культуральным методом индикации вируса показана его 100%-ная чувствительность и 94,2%-ная специфичность.

**Выделение вируса.** *Взятие и подготовка материала.* Для выделения ВБА используют головной мозг, кусочки легких, селезенки, печени, лимфоузлов, миндалин, полученные при вскрытии трупов Миндалины - наилучший материал для выделения вируса. При жизни от больных свиней вирус можно выделить из носовых секретов, в которых он появляется на 4-6-й день после болезни и сохраняется в течение 5 -11 дн после выздоровления. Показана возможность выделения ВБА из ганглиев тройничного нерва латентно инфицированных свиней. От абортировавших используют плоды и плаценту.

При сборе материалов для вирусологического исследования следует помнить о неравномерном распределении вируса в разных участках мозга, поэтому, чтобы избежать ошибок при постановке диагноза, следует брать минимум 2-3 пробы из разных участков мозга, расположенных на некотором расстоянии друг от друга. Обычно при вскрытии отбирают кусочки мозжечка, продолговатого мозга, больших полушарий головного мозга.

В лаборатории материалы обрабатывают обычными методами. Для большей вероятности выделения вируса и уменьшения количества исследуемых образцов кусочки из различных отделов мозга от одного животного объединяют в общую пробу, которую затем измельчают и обрабатывают антибиотиками.

**Выделение вируса на лабораторных животных.** В качестве лабораторной модели для выделения ВБА обычно используют кроликов массой 2-2,5 кг, которым внутримышечно или подкожно вводят по 1 мл 10%-ной суспензии исследуемого материала. Инкубационный период в этом случае продолжается 36-48 ч, иногда он может длиться 4-6 дн., а в некоторых случаях - даже до 12 дн. Различают энцефалитическую, менингеальную, паралитическую, зудневую и стертую формы болезни. Течение экспериментальной инфекции во многом зависит от способа заражения. Биопробу считают положительной, если кролики погибают с клиническими признаками БА (нервная форма, зуд, расчесы) через 2-10 дн после инокуляции суспензии из патологического материала. Если кролики погибают без признаков БА, биопробу повторяют, используя патологический материал первого пассажа. Считают, что инокуляция материала в переднюю камеру глаза кролика приводит к характерной зудневой форме болезни. Материалом для выделения вируса от погибших кроликов служат ткани головного и спинного мозга, а также паренхиматозные органы (легкие, печень). Гибель кроликов после введения материала от свиней или пушных зверей без признаков зуда и расчесов может свидетельствовать о выделении вакцинных штаммов ВБА.

**Выделение вируса в культурах клеток.** Показано, что культуры клеток так же чувствительны к ВБА, как и кролики, к тому же они могут быть использованы для лабораторной диагностики атипичного течения болезни, при котором опыты по выявлению вируса в мозге свиней путем заражения кроликов дают отрицательные или нетипичные результаты. Обычно используют первичнотрипсинизированные культуры клеток почек и щитовидной железы свиней, семенников телят, фибробластов КЗ, перевиваемые клетки РК-15, ВНК-21. К вирусу высокочувствительны субкультуры первого пассажа клеток почки поросенка и КРС. При первичном выделении вируса признаки ЦПД появляются на 4-5-й день после инокуляции культуры. В последующих пассажах сроки появления ЦПД сокращаются до 15-20 ч, причем оно становится более выраженным. Характер ЦПИ в различных культурах может быть неодинаковым, что обусловлено различным действием вируса на клетки эпителиального и фибробластического типов. В культуре клеток почки поросенка, эмбриона свиньи или крольчонка ЦПД вируса выражается в образовании синцития. Сначала в культуре появляются очаги круглых клеток, границы между которыми исчезают, а ядра перемещаются к центру и образуют конгломераты, окруженные общей оболочкой. Через несколько часов группы этих клеток принимают шарообразную форму, в цитоплазме их появляется зернистость. Затем происходит обильное отслаивание клеток с поверхности стекла. В культуре фибробластов КЭ цитопатогенное действие вируса проявляется в округлении клеток, появлении зернистости и вакуолизации цитоплазмы с последующим отслоением клеток от поверхности стекла.

**Серологическая идентификация.** Для идентификации ВБА используют в основном, РН в культуре клеток или на кроликах, ИФ, РДП и др. Кроме того, для этой цели можно использовать РСК, однако из-за нестандартности АГ и непостоянства результатов самой реакции она не нашла широкого применения.

**РН.** Удобный и надежный метод индентификации выделенного вируса. Используют культуру клеток того же вида, на которой был изолирован вирус. Реакцию ставят по общепринятой методике, чаще используют вариант: различные разведения вируса ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) и постоянную дозу сыворотки. Результаты РН учитывают по ЦПД через 2-5 сут. Вирус считают идентифицированным, если индекс нейтрализации составляет 2 и выше.

**ИФ.** Используют для быстрой индикации и идентификации АГ ВБА в клеточных культурах, инфицированных материалом, содержащим вирус, а также в замороженных срезах ткани мозга кроликов, зараженных суспензией патологического материала, или поросят, заболевших в естественных условиях. Препараты готовят и окрашивают по общепринятой методике. В положительных случаях в срезах мозга обнаруживают специфическую флюоресценцию. В головном мозге поражаются, главным образом, нейроны коры. При малом увеличении можно видеть широкие полосы флюоресцирующих нейронов, в которых заметны только отдельные флюоресцирующие клетки. В срезах мозжечка пораженные клетки распределены более беспорядочно. Часто они видны как флюоресцирующие фокусы в зернистом слое. Иногда в них оказываются вовлеченными единичные клетки Пуркинье, но особого аффинитета вируса к этим клеткам обычно не наблюдают.

Распределение флюоресценции внутри клеток может варьировать в широких пределах. Иногда вирусный АГ обнаруживают как в цитоплазме, так и в ядре, но обычно свечение ядра выражено сильнее. Часто флюоресцирующие массы имеют вид светящейся пыли или мелких гранул. В отдельных случаях удается обнаружить внутриядерные включения типа А Коудри, однако более неправильной формы, чем в препаратах, фиксированных и окрашенных обычными методами. Иногда светится только цитоплазма, причем степень свечения и характер распределения также варьируют. Часто обнаруживают скопление светящихся гранул вокруг ядер. В некоторых районах можно заметить мелкие светящиеся частицы вдоль аксонов. Для выделения вируса инфекционный материал, полученный из мозговой ткани, миндалин и селезенки животных, наносят непосредственно на монослой чувствительных к вирусу клеток и центрифугируют 40-60 мин при 1500g. Затем инокулят заменяют питательной средой, а инфицированные клетки инкубируют в термостате в течение 12-14 ч. После фиксации препараты обрабатывают конъюгатом монАТ с ФИТЦ и исследуют в люминесцентном микроскопе. Результаты ИФ хорошо согласуются с данными биопробы на кроликах и результатами выделения вируса в культуре клеток.

Предложен метод диагностики БА посредством обнаружения вируса в срезах головного и спинного мозга, миндалин, легких, селезенки и бронхиальных лимфоузлов. Точный диагноз удастся поставить в 75-81% случаев. Специфическую ИФ в мазках-отпечатках слизистой глотки поросят наблюдают с 1-го по 12-й дн после экспериментального заражения вирулентным шт., а в препаратах из мозга на 4-й дн. При отсутствии клиники АГ обнаруживают в мазках из глотки и мозга соответственно на 2-10-й и 2-6-й день.

Вирусный АГ в ИФ выявляют в первичных культурах клеток и КЭ через 18-24 ч после заражения. При исследовании в ИФ отпечатков головного, спинного мозга, легких и селезенки больных животных АГ обнаруживают с 3-4-го дн после заражения. С помощью ИФ специфический АГ в культуре клеток тестикул бычка выявляется в оптимальные сроки после заражения (24-40 ч) в титре 5-10 Ig ТЦД<sub>50</sub>/0,2 мл.

**РНГА.** Антиген ВБА с помощью иммуноглобулинового варианта РНГА и РТНГА можно выявлять за 1-3 дн до появления клинических признаков болезни, в период болезни и после переболевания. При приготовлении эритроцитарного иммуноглобулинового

диагностикума используют гипериммунную сыворотку свиней и крыс с титром ВНА 11,5 и 11,0  $\log_2$  соответственно. Данные реакции имеют преимущества перед РН.

**РДП.** Реакцию применяют для идентификации вируса, репродуцированного в культуре клеток. Получены результаты при исследовании полевого материала микрометодом РДП.

**РИЭФ.** Это ускоренный метод распознавания АГ. Антиген ВБА в электрополе движется к аноду, АТ - к катоду, и на месте их встречи образуется линия преципитации. Время появления полос зависит от напряжения тока. РИЭФ значительно чувствительнее и протекает в 15 раз быстрее, чем обычная РДП.

**РСК.** Данная реакция не нашла широкого применения, так как положительные результаты получаются при использовании специального метода изготовления АГ. Однако РСК рекомендуется как диагностический метод при индикации ВБА в инфицированных культурах клеток и патологическом материале в условиях биопредприятий, производящих вакцину против этой болезни, и для практических ветеринарных лабораторий.

**ИФА.** Можно быстро идентифицировать вирус прямым ИФА. Антисыворотку к вирусу для мечения ферментом получают на поросятах 6-мес возраста. ИФА по чувствительности равен ИФ и превосходит метод выделения вируса в культуре клеток. При окрашивании прямым иммунопероксидазным методом в мазках-отпечатках обнаруживали клетки, содержащие АГ вируса в виде красно-коричневых гранул в цитоплазме и ядре нейронов мозга и в эпителии слизистой оболочки фарингеальной области.

**Метод рестрикционного анализа и гибридизации.** С помощью специфических гибридизационных зондов разработана экспресс-диагностика БА у свиней. Предложен метод точечной гибридизации (ДНК-зонда) для выявления вируса в материалах из органов свиней. Чувствительность зондов р ТМ 11 для выявления ДНК ВБА составляла 20 пг вирусной ДНК. Метод дот-блот гибридизации коррелирует с методами выделения вируса из тканей животных, павших при остром течении болезни. Он позволит выявлять геном вируса при латентной инфекции. Гибридизационные зонды, основанные на применении рекомбинантной ДНК, позволяют обнаруживать вирусный геном в костном мозге (50%), макрофагах, лимфоцитах и тимусе (20%) зараженных поросят. Метод быстрой диагностики с помощью гибридизации с использованием биотинилированных ДНК-зондов на фиксированных формалином парафинированных срезах тканей.

**Серодиагностика и ретроспективная диагностика.** При диагностике ВБА к серологическим данным необходимо относиться осторожно, поскольку не исключено, что часть положительных результатов может быть обусловлена другими ГВ КРС или другими штаммами ВБА с низкой вирулентностью. Диагноз на прошедшую инфекцию ставят обычно при помощи РН в культуре клеток, определяя титры ВНА к ВБА в сыворотках крови реконвалесцентов. Для более точной диагностики лучше исследовать парные сыворотки, взятые с интервалом в 3-4 нед. Титры АТ у переболевших животных могут колебаться в широких пределах - от 1-32 до 1:256. У поросят и подсвинков, зараженных ВБА, специфические ВНА появляются к 6-8-му дню после заражения, достигая максимума через 3-4 нед. Через 100 дн. после заражения титры ВНА начинают снижаться, а через 135 дн. АТ уже обычно не находят. У естественно больных и переболевших подсвинков ВНА удается установить примерно в те же сроки, хотя в сыворотках переболевших свиней их иногда удается обнаружить в течение 4,5 лет. АТ также находят и у свиней, перенесших бессимптомную инфекцию. Динамика ВНА у животных других видов недостаточно изучена. Характерным является увеличение титра АТ у свиноматок

непосредственно перед опоросом: новорожденные поросята получают АТ от матерей. Для обнаружения и титрования АТ, кроме РН, применяют РНГА, РДП, РСК, ELISA.

**РН.** ставят с постоянной дозой вируса (1000 ТЦД<sub>50</sub>/0,1мл) и разными разведениями сыворотки (от 1:2 до 1:16) по общепринятой методике. Для выявления животных, инфицированных ВБА в естественных условиях, РН более надежна, чем вирусологическое исследование смывов полости рта и глотки. Наибольшей чувствительностью обладает метод постановки РН в культуре клеток Vero.

**РНГА.** Сообщалось об успешном применении РНГА для выявления специфических антител в молозиве, молоке и сыворотках крови животных. Пробы молока и молозива берут течение недели после опороса свиноматок и консервируют их 1% р-ром борной кислоты. Сыворотку молока и молозива перед реакцией инактивируют при 56°С 30 мин. Для изготовления эритроцитарного диагностикума наиболее пригоден концентрированный культуральный вирус с титром 8,5 ТЦД<sub>50</sub>/мл. Некоторые авторы считают, что РН менее чувствительная, чем РНГА, с помощью РН АТ на ранней стадии болезни не выявлялись, их обнаруживали лишь с 12-го дн, тогда как РНГА - на 5-й дн.

**ВИЭФ.** Рекомендуют для выявления АТ к данному вирусу. АГ для ВИЭФ готовят, выращивая вирус на первичной культуре клеток почек свиней. Результаты ВИЭФ полностью коррелировали с данными РН. Для проведения ВИЭФ были пригодны как нативные, так и инактивированные АГ ВБА в 1%-ной агарозе при напряжении 10 В/см в течение 60 минут. В сыворотках всех больных животных с 7-10-го дня выявляли АТ.

**РДП.** Для ориентировочных диагностических исследований РДП оказалась вполне пригодной в программе борьбы с БА. Для получения АГ после концентрации и очистки вируса применяют химические детергенты (20%-ный дезоксихалат натрия, 20%-ный тритон X, 1%-ный β-меркаптоэтанол) и добиваются АГ фракции такой чувствительности, которая в РДП с сывороткой титра 1:4 дает в 100 и 85-90% случаев четкую положительную реакцию. Есть метод концентрирования вируса БА с помощью ПЭГ.

**ELISA.** Он в 60-100 раз более чувствителен, чем РН. АТ в ELISA обнаруживают на 5-6й дн после заражения, в РН - на 9-10-й. Иммуноглобулины классов IgG и IgM определяют в ELISA с 5-го дня после инокуляции вируса, причем максимум титров IgM приходился на 9-10-е сут, а IgG - на 10-15 сут. ELISA вполне может быть использован вместо РН для диагностики болезни при условии наличия соответствующего оборудования и высококачественных диагностических наборов.

**Латексагглютинация.** Для ускоренной серологической диагностики предложен метод агглютинации частиц латекса, покрытых антигеном ВБА. Наличие в исследуемой сыворотке специфических АТ вызывает агглютинацию частиц, регистрируемую визуально. Реакция с латексом отличается высокой чувствительностью. Ее применение особенно эффективно в ранних фазах инфекции, когда в сыворотке больных животных содержится значительное количество IgM с высокой агглютинирующей активностью.

**РИА.** Для определения специфичных сывороточных АТ превосходит по чувствительности РН и широко применяется в виде непрямого твердофазного микрорадиоиммунологического теста. Обладая высокой чувствительностью, он не зависит от культуры клеток и является быстрым, точным и пригодным для массовых анализов. С использованием монАТ разработаны модифицированные реакции радиальной иммунодиффузии ферментного и микро-иммуноферментного определения АТ к данному вирусу. Оба вируса пригодны для проведения сероэпизоотологического обследования на БА в полевых условиях. Предложен новый метод определения АТ к ВБА в сыворотках

свиней с помощью непрямого иммунопероксидазного окрашивания бляшек. По чувствительности, специфичности он превышает ИФА.

**Аллергическая проба.** Разработан кожный аллергический метод диагностики БА. Он позволяет в короткий срок ставить диагноз непосредственно в хозяйствах. Метод основан на феномене гиперчувствительности замедленного типа у латентно больных животных. При введении убитого нагреванием АГ в нижнее веко, внутреннюю и дорсолатеральную часть грудной клетки, а у поросят в медиальную поверхность бедра, реакция наблюдается через 24-48 ч и выражается образованием отежной припухлости тестоватой консистенции от 2 до 4 см в диаметре с покраснением в центре (место введения АГ). Чувствительность реакции достаточно высокая 72% переболевших животных реагируют положительно. Из числа переболевших без клинических признаков реагируют положительно 47% животных. Реакция проявляется в более поздней стадии болезни, которая сохраняется после прекращения эпизоотии. Ее можно использовать для выявления стационарных очагов инфекции. Высокий титр ВНА и процент положительных кожноаллергических реакций обнаруживали у переболевших животных через 14 и 30 да после заражения. Аллергическая проба выявляет инфицированных животных с 7-го по 20-й день болезни.

**Дифференциальная диагностика.** БА следует дифференцировать у свиней от болезни Тешена, чумы, бешенства, гриппа, сальмонеллеза, отежной болезни, листериоза, дипло, стрептококкоза, гипогликемии, солевого отравления, аскаридоза, авитаминоза; у крупного и мелкого рогатого скота - от бешенства, листериоза, кормового отравления, ценуроза; у лошадей - от менингоэнцефалита, бешенства, отравления; у пушных зверей - от чумы и энцефаломиелита лисиц, у собак - от бешенства, чумы, у кошек - от бешенства.

Для дифференциации от бешенства проводят биопробу на мышатах и ИФ, а также микроскопию для выявления телец Бабеша – Негри. Для исключения чумы, болезни Тешена ставят биопробу на кроликах, гриппа свиней - проводят биопробу и исследуют выделенный вирус в РГА, РТГА Листериоз, сальмонеллез, отежную болезнь и другие бактериальные инфекции исключают бактериологическим исследованием, отравления - по данным лабораторного химического анализа и биопробы .Существует схема дифференциальной диагностики БА с использованием культуры клеток.

### **ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА**

За гуморальный и клеточный иммунитет ответственны гликопротеины оболочки gI и особенно gIV Максимальную защиту телят в экспериментальных условиях обеспечивает gIV, а также безвирусный лизат инфицированных клеток. Гуморальный и клеточный иммунитет проявляется на 7-10-й дн после инфицирования или вакцинации, достигает пика через 30 дн и сохраняется в течение 5-6 мес. Переболевшие свиньи приобретают напряженный иммунитет, сыворотки их содержат ВНА в титре 1:32 – 1:256, начиная с 3-го мес, которые иногда сохраняются до 4,5 лет. АТ иммунных свиноматок не проникают через плаценту в плод, поэтому у поросят АТ к ВБА нет. У поросят, родившихся от иммунных свиноматок, в течение 24 ч после сосания молозива формируется колостральный иммунитет с наличием в сыворотке крови высокого титра ВНА.. При оптимальном потреблении молозива через сутки после опороса устанавливается прямая пропорциональность между титром ВНА в сыворотке и молозиве свиноматок, а также крови поросят-сосунов. Затем концентрация антитела молозиве и в молоке быстро снижается и к 7-10-му дн составляет 50% от первоначального уровня. Выраженный

колостральный иммунитет продолжается, как правило, не менее 3-х нед после рождения. У животных, имевших на момент прививок колостральный АТ, выработка активного иммунитета подавляется. Активная иммунизация свиноматок за 2 нед до опороса способствует защите подсосных поросят от заражения ВБА.

**Живые вакцины.** Для приготовления живых вакцин используют аттенуированные штаммы вируса различного происхождения. Их получали серийным пассированием в первичных и перевиваемых культурах при различных температурах (37 и 28°C) или в присутствии мутагенов. Полученные аттенуированные штаммы различаются между собой многими признаками и в том числе патогенностью для лабораторных животных.

В России и странах СНГ применяют живую вирусвакцину ВГНКИ из штамма, аттенуированного в фибробластах КЭ, а также вакцину из штамма БУК628. Препарат из производственного шт. УНИИЭВ-18 вс оказался универсальным и рекомендован для иммунизации животных многих видов (свиней, КРС, овец, верблюдов и пушных зверей - норка, кролик). Последний является высокоиммуногенным для КРС, овец, верблюдов.

Молозивные АТ препятствуют приживлению вакцинного вируса и снижают эффективность живой вакцины у поросят. Интерференцию между пассивными материнскими АТ и вакцинным вирусом в значительной мере можно преодолеть интраназальным введением живой вакцины. У поросят с низким уровнем материнских АТ интраназальная вакцинация живой вакциной оказалась более эффективной, чем парентеральное введение инаktivированной вакцины. Живая вакцина не предотвращала проникновение патогенного штамма вируса в мозг поросят при интраназальном заражении. Не установлено корреляции между уровнем АТ и устойчивостью вакцинированных животных к заражению. Все используемые вакцинные штаммы авирулентны для свиней различного возраста, КРС и овец. Мутантный шт. М-25 не патогенен для кроликов и мышей. Аттенуация вируса связана с делецией в короткой уникальной области генома. У таких штаммов не синтезируется один из основных вирионных гликопротеинов g1. При применении вирус-вакцины ВГНКИ искоренение БА в неблагополучных хозяйствах часто не удается и они остаются стационарно неблагополучными. Основной причиной этого является невозможность дифференциации постинфекционной и поствакцинальной серопозитивности, вызванной многократной иммунизацией свиней вирус-вакциной, что практикуется в наших хозяйствах, и наличие в неблагополучных стадах свиней-вирусоносителей, как основного резервуара ВБА.

**Инаktivированные вакцины.** С 1980 г. в РФ применяется инаktivированная культуральная вакцина против БА пушных зверей, свиней, овец. Вакцина безвредна, сообщает иммунитет с 8-10-го дн после прививки, у пушных зверей он сохраняется не менее 6 мес., у свиней и овец - 10 мес. Разработана новая высокоиммуногенная инаktivированная культуральная вакцина против БА поросят, овец и пушных зверей из вируса, репродуцированного на перевиваемых клетках СПЭВ. Вакцина не содержит живого вируса, экологически безопасна, не уступает по профилактической активности вирус вакцине и не искажает эпизоотический фон в хозяйствах. Технология изготовления

вакцины заключается в использовании высоковирулентного культурального ВБА (шт. 18-Е), выращенного в монослое перевиваемых клеток СПЭВ, адсорбированного на ГОА, инактивированного с помощью формалина и тепла. Вакцина предохраняет до 84% поросят 2-4-мес возраста, иммунизированных в дозе 2,5-5 мл, до 95% овец. Иммунитет у вакцинированных животных наступает через 7 дн и продолжается до 9 мес (срок испытания). Препарат сохраняет высокие иммуногенные свойства в течение 1 б мес со дня изготовления. Автором разработана система серологического контроля иммунологического и эпизоотологического состояния свиноводческих хозяйств на основе дифференциации поствакцинальной и постинфекционной серопозитивности .

Инактивированные вакцины обеспечивают создание в крови высоких концентраций антител. Эти антитела через молозиво передаются потомству. Однако клеточный иммунитет от инактивированных вакцин активируется в меньшей степени, чем от живых. Напротив, живые вакцины обеспечивают напряженный клеточный иммунитет и относительно слабый гуморальный иммунитет. Иммунизация супоросных свиноматок инактивированными вакцинами обеспечивает защиту поросят раннего возраста, а для поросят- отъемышей и откормочных свиней лучшая защита - живыми вакцинами.

**Оценка поствакцинального иммунитета.** Сроки обнаружения поствакцинальных антител. Выявлена четкая зависимость между клиническими проявлениями заболевания у свиноматки и титром АТ в сыворотке крови и молозиве ее. У поросят 7-дн возраста, вакцинированных аттенуированным штаммом вируса, ВНА появляются на 14-й день, повышение титра их наблюдается на 21-28-й день после прививки ВНА после прививок живыми вакцинами и ревакцинации появляются на 7-е сут, накапливаются в достаточно высоких титрах и уже к 14-м сут достигают оптимального уровня. Показано, что только при 2-х этапной вакцинации, вначале инактивированной, а затем живой вакцинами, происходит резкое возрастание титра ВНА с 1,5-2 до 11,3-12  $\log_2$ . После однократной иммунизации свиней инактивированной вакциной через 3 нед титры ВНА достигали 11  $\log_2$ . Уровень титров поствакцинальных антител не коррелировал с защитой от инфекции. При БА необходимо больше внимания уделять определению местного иммунного ответа, в частности слизистых оболочек респираторного тракта. ИФА можно выявить АТ против гликопротеина I (gl) ВБА (gI-ELISA) и дифференцировать зараженных псевдобешенством свиней от животных, иммунизированных маркерной вакциной (gl) Полагают, что регулярное (и повсеместное) применение ИФА может способствовать эффективности программы по искоренению БА на свинофермах РН и НИФА можно использовать для определения иммунного и эпизоотического статуса по БА и ретроспективного подтверждения циркуляции среди свиней вирулентного вируса. При обнаружении в крови свиней АТ в титрах 3  $\log_2$  и более по данным РН (или непрямой ИФА) хозяйство считают неблагополучным по БА и проводят комплекс мероприятий по ликвидации этой болезни. Специфические КСА и ПА против БА обнаруживаются у вакцинированных вирусвакциной из шт. ВГНКИ животных (свиней) на 7-10-й день после иммунизации. Наибольшие титры КСА - 1 16-1 32 были на 21-30-е сут. У поросят-сосунов, полученных от иммунизированных свиноматок, АТ в РСК и РДП обнаруживаются на 5-7-й день их жизни в титре 12-14. Результаты выявления АТ в РДП коррелируют с таковыми в РСК, однако титры их ниже. Таким образом, показана возможность использования РСК и РДП для налаживания системы иммунологического мониторинга при БА свиней.

Длительность циркуляции поствакцинальных антител. Однократная иммунизация поросят инактивированной эмульгированной масляной вакциной вызывала напряженный гуморальный иммунитет (титр до 1 512 в РН) продолжительностью 29 нед. и более. Наличие остаточных колостральных АТ у 8-нед поросят не снижало уровень поствакцинального иммунитета. В сыворотке крови поросят, родившихся от свиноматок, привитых живой вакциной, колостральные АТ не выявляли после 5 нед., в то же время в сыворотке поросят от свиноматок, вакцинированных инактивированной вакциной, их обнаруживали после 10 нед. Наиболее существенные различия гуморального иммунитета у вакцинированных и зараженных животных отмечали на 18-й день после введения вируса; у инфицированных свиней как в сыворотке крови, так и в мазках выявляли специфические иммуноглобулины всех классов, в то время как у вакцинированных животных только IgG. Различия в выработке АТ классов IgG, IgM, IgA к ВБА установлены с помощью 4-слойного ИФА. Колостральный иммунитет. Колостральный иммунитет при БА имеет огромное значение. У вакцинированных свиней титр молозивных АТ в день опороса составлял 1 128 -1:256, хотя в сыворотке крови их титр (в

РН) не превышал 1:64. У их потомков на 2-й день после рождения титр АТ в сыворотке крови достигал уровня 1:16 – 1:128.

*Связь титров антител с резистентностью.* Между напряженностью иммунитета и высотой титров ВНА корреляции не установлено. Экспериментально определено, что титр ВНА не коррелирует с устойчивостью к вирулентному вирусу. Устойчивость может быть у животных, не имеющих АТ. Все поросята с титром материнских АТ 1:387 и выше оказались устойчивы к интраназальному заражению большой дозой вируса, тогда как АТ в титре 1:264 -1:344 предохраняли лишь 2/3 потомства. Однократная иммунизация серонегативных поросят вызывала напряженный гуморальный иммунный ответ (титр АТ до 1 5120 в ELISA) продолжительностью 29 нед. и более. Через 18 нед 80% иммунизированных поросят были устойчивы к контрольному внутримозговому заражению вирулентным штаммом вируса, а устойчивость к контрольному интраназальному заражению сохранялась свыше 20 нед.

*Связь титров антител с вирусоносительством и вирусовыделением.* Вирулентный вирус может персистировать у клинически здоровых свиней даже после вакцинации и при наличии специфических АТ до 10 мес. После контрольного заражения у вакцинированных подсвинков с максимальными титрами АТ выделяли вирус в титре до 2,5 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл АТ не препятствуют длительному сохранению вируса в ганглиях тройничного нерва при отсутствии клиники. Следует иметь в виду, что устойчивость вакцинированных свиней вовсе не означает отсутствие вирусоносительства и приживляемости дикого вируса - это обстоятельство является важнейшей эпизоотологической особенностью БА.

*Клеточный иммунитет.* При БА, помимо гуморального, имеет место и клеточный иммунитет. Факторы его развиваются на несколько дней раньше гуморальных, стимуляция лимфоцитов и появление ингибиции миграции макрофагов отмечены уже на 4-е сут. Вирусспецифический клеточный иммунитет наблюдается на 4-й день после заражения, а гуморальные АТ обнаруживаются только на 7-й день. Инактивированные вакцины в отличие от живых индуцируют слабый клеточный иммунитет. Положительную кожноаллергическую реакцию у вакцинированных животных обнаруживали в течение 3 мес при содержании в сыворотке крови АТ в титре 3-8 log<sub>2</sub>

**Ветеринарно –санитарная оценка.** Туши и продукты убоя от больных и подозрительных по заболеванию выпускать в сыром виде запрещается. При наличие дегенеративных или других паталогических изменений в мускулатуре тушу с внутренними органами направляют на утилизацию. При отсутствии паталогических изменений образцы на бактериологическое исследование на сальмонеллѐз. В случае обнаружения сальмонелл внутренние органы утилизируют, а тушу направляют на проварку. При отсутствие сальмонелл разрешается перерабатывать на варѐные, варѐно –копчѐные колбасы , консервы или проварку.



**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>Семейства : Rhabdoviridae.....</b>	<b>4</b>
<b>Picornaviridae.....</b>	<b>30</b>
<b>Herpesviridae.....</b>	<b>53</b>

**Список рекомендуемой для студентов монографической литературы по теме лекций.**

1. Бакулов И.А., Ведерников В.А., Семенихин А.Л. Эпизоотология с микробиологией. М. Колос. 1997.
2. Частная эпизоотология. Под редакцией С.Н. Вышелесского. М.ОГИЗ. 1948.
3. Гутира Ф., Марек И., Маннингер Р., Мочи И. Частная патология и терапия домашних животных. М. ГИСЛ. 1961.
4. Жданов В.М., Гайдамович С.Я. Общая и частная вирусология. М. Медицина. 1982.
5. Луговцев В.Ю, Васильев Д.А. Классификация и номенклатура вирусов позвоночных. УГСХА. Ульяновск 2002.
6. Лурия С. и др. Общая вирусология. М. Мир. 1981.
7. Методы вирусологии и молекулярной биологии. М. Мир. 1972.
8. Малоизвестные заразные болезни животных. М. Колос 1973.
9. Николау.Ш.С. и др. Элементы общей инфрамикробиологии. Бухарест 1965.
10. Эпизоотология. Под ред. Сосова Р.Ф. М. Колос 1984.
11. Сюрин В., Белоусова Р., Фомина. Н. Диагностика вирусных болезней животных. М. Агропромиздат 1991.
12. Сюрин В., Самуйленко А и др. Вирусные болезни животных. М.ВНИТИБП. 1998.
13. Гусев В. Вирусные и бактериальные болезни у обезьян. Калуга. Контур. 1998.
14. Фелнер Ф., и др. Биология вирусов животных. М. Мир. 1977.
15. Ющюк. Н., Венгеров Ю. Лекции по инфекционным болезням. М. ВУНМЦ. 1999.

«Курс лекций по частной вирусологии»  
*учебное пособие*

подготовлено - Васильевым Д.А Луговцевым В.Ю