

ISSN 2304-196X

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»**

ВНИИЗЖ

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

АВГУСТ №3 {10} 2014



ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



Ведущий центр разработчиков и производителей ветеринарных препаратов для профилактики и диагностики болезней птиц, свиней и рогатого скота (производится около 100 наименований вакцин и около 50 наименований диагностических наборов).

- Референтная лаборатория по бешенству в РФ
- Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ
- Испытательный центр
- Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья
- Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру

Деятельность осуществляется в соответствии с международными стандартами ISO 9001-2008

600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьеvec
Тел./факс: (4922) 26-38-77, 26-15-25, 26-15-51, 38-30-30, 26-18-56
Тел.: (4922) 26-06-14, 26-17-65
E-mail: mail@arriah.ru http://www.arriah.ru



Ветеринария сегодня №3 (10) 2014 научный журнал

Главный редактор: Василий Александрович Грубый, доктор экономических наук, профессор, академик РАЕН, директор ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Шеф-редактор: Анна Глаголева

Выпускающие редакторы: Ольга Борисова, Юлия Трофимова, Ольга Лесных, Юлиана Бададгулова
e-mail: veterinarytoday@yandex.ru, **тел.:** +7915 477 78 36

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:

– **Ю.А. Пивоварчик** - первый заместитель директора Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия – Главный государственный ветеринарный инспектор Республики Беларусь

– **Г.С. Исаева** - д.ф.н., к.с.-х.н., вице-министр Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан

– **О.А. Борисова** – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ» – выпускающий редактор;

– **К.Н. Груздев** – доктор биологических наук, член-корреспондент РАЕН, главный эксперт по болезням свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.В. Макаров** – доктор биологических наук, профессор, академик РАЕН, заведующий кафедрой ветеринарной патологии РУДН (г. Москва);

– **В.А. Мищенко** – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.С. Русалеев** – доктор ветеринарных наук, профессор, ученый секретарь ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **О.В. Прунтова** – доктор биологических наук, профессор, гл. эксперт по пищевой безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **В.Н. Ирза** – доктор ветеринарных наук, зав. лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **С.К. Старов** – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, заместитель директора по качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **А.С. Иголкин** – кандидат ветеринарных наук, зав. лабораторией ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

– **Л.Б. Прохвятилова** – кандидат биологических наук, доцент, начальник отдела координации НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Дизайн и верстка: Олеся Михайлина, Анастасия Константинова

Корректор: Лариса Грибникова

Менеджер по подписке и дистрибуции: Игорь Алпатов +7 (925) 357 20 61

Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № ФС77-47033 от 21 марта 2012 г. Тираж 2000 экземпляров. Цена свободная.

Учредитель: ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Издатель: ООО «Успех»
105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д.13, оф. 402

Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Типография: ООО «Юнион Принт», 603022, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, Окский Съезд, д. 2, тел.: (831) 439-44-99
Подписано в печать 13 августа 2014 года

СОДЕРЖАНИЕ

5

А.А. Егоров, С.С. Рыбаков
Национальная программа по контролю губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота в Канаде

18

А.В. Потехин, В.Ф. Ковалишин
Актинобациллёзная плеввропневмония свиней: диагностика, профилактика и меры борьбы

30

В.В. Макаров, М.И. Гулюкин, О.И. Сухарев
Ортобуньявирусы – важный фактор эмерджентности инфекций

35

М.Н. Гусева, Д.А. Лозовой, Е.Г. Кузнецова, М.А. Шевченко, Д.С. Большаков
Изучение изменений аминокислотного состава питательных сред в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17

43

О.В. Кухаркина, И.А. Борисова, О.А. Борисова
Анализ литературы по африканской чуме свиней

CONTENTS

5

A.A. Yegorov, S.S. Rybakov
National program of bovine spongiform encephalopathy control in Canada

24

A.V. Potekhin, V.F. Kovalishin
Actinobacillosis pleuropneumonia (APP): diagnosis, prevention and control measures

30

V.V. Makarov, M.I. Gulyukin, O.I. Sukharyov
Orthobunyaviruses – significant factor for infection emergence

39

M.N. Guseva, D.A. Lozovoy, E.G. Kuznetsova, M.A. Shevchenko, D.S. Bolshakov
Changes of amino acid composition of culture media during BHK21/2-17 cultivation

51

O.V. Kukharkina, I.A. Borisova, O.A. Borisova
Analysis of publications on African swine fever

УДК 619:578.89:614.91

НАЦИОНАЛЬНАЯ ПРОГРАММА

ПО КОНТРОЛЮ ГУБКООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В КАНАДЕ

А.А. Егоров¹, С.С. Рыбаков²

¹научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: egorov@arriah.ru

²начальник отдела, доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

Представлено описание губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота, содержание Национальной программы по контролю губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота в Канаде, меры по обеспечению пищевой безопасности в связи с риском губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота, принятые Канадским агентством по инспекции пищевых продуктов; перечислены основные мероприятия в целях снижения риска распространения губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота.

Ключевые слова: губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота; статус популяции КРС, содержащейся в Канаде, по риску ГЭ; международные стандарты, рекомендованные МЭБ.

UDC 619:578.89:614.91

NATIONAL PROGRAM OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY CONTROL IN CANADA

A.A. Yegorov¹, S.S. Rybakov²

¹Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: egorov@arriah.ru

²Head of the Department, Doctor of Science (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir

SUMMARY

The paper demonstrates description of bovine spongiform encephalopathy (BSE), content of the Canadian national program of BSE control, BSE risk-associated food safety control measures taken by the Canadian Food Inspection Agency. Key arrangements for reduction of BSE spread risk are listed.

Key words: bovine spongiform encephalopathy; Canadian cattle population status according to BSE risk; OIE recommended international standards.

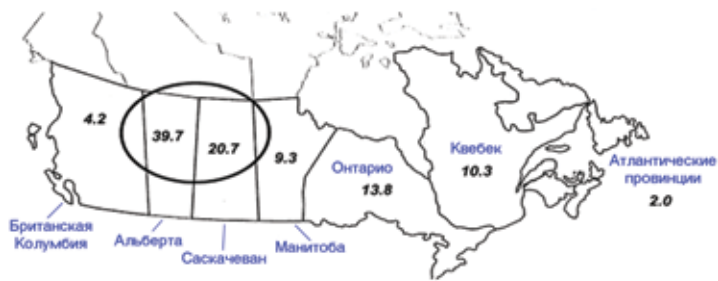


Рис. 1. Распределение популяции КРС (%) в разных провинциях Канады

ВВЕДЕНИЕ

Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС, BSE) была впервые зарегистрирована в 1986 году в Великобритании. В последующие годы болезнь распространилась за пределы Великобритании и была выявлена в 27 странах, закупавших в Великобритании корма животного происхождения, содержащие мясокостную муку из тканей крупного рогатого скота, которая является основным фактором распространения ГЭ КРС.

В России случаев этого заболевания не было выявлено. Меры по снижению риска заноса и возникновения ГЭ КРС были приняты ГУ ветеринарии МСХ СССР в 1989-1991 гг., продолжены Департаментом ветеринарии МСХ РФ и, начиная с 2004 г., – Россельхознадзором [1]. Усилены меры по предотвращению закупок мясopодуKтов, полученных от инфицированного КРС. Кроме того, введены ограничения на ввоз живого КРС из стран и регионов, в которых существует риск заражения его возбудителем этой болезни. Для принятия правильного решения по импорту необходим сбор информации о принимаемых ветеринарной службой мерах борьбы и профилактики ГЭ КРС в странах-экспортерах.

Канада является страной высокоразвитого животноводства. Породы КРС, выращиваемые в племенных предприятиях Канады, сочетают высокую продуктивность и адаптированность к северному климату. Импорт таких животных является важным фактором повышения продуктивности российского животноводства, и обеспечение безопасности такого импорта

в части предотвращения заноса ГЭ КРС является актуальной задачей. Согласно оценке канадской Федерации экспорта мяса (the Canada Beef Export Federation, CBEF), в 2009 г. весь экспорт говядины из Канады составил около 32 млн долларов, из них в Россию – около 10 млн долларов. Экспорт племенного КРС по контракту 2009 г. между канадской фирмой Hawkeye Land & Livestock Ltd. и российской Северной агропромышленной компанией составил 10 000 голов [2].

Целью данной статьи являлся анализ эпизоотической ситуации по ГЭ КРС в Канаде, описание основных мер по предотвращению заражения КРС возбудителем ГЭ, проводимых ветеринарной службой страны в соответствии с национальной программой контроля данного заболевания.

1. Эпизоотическая ситуация по ГЭ КРС в Канаде

Меры по профилактике ГЭ КРС в Канаде начаты в 1992 г. Надзор основан на рекомендациях МЭБ с учётом характера популяции скота в Канаде. Динамика количества случаев ГЭ КРС в Канаде по годам следующая: 1993 – 1; 2003 – 2; 2004 – 0; 2005 – 2; 2006 – 5; 2007 – 3; 2008 – 4; 2009 – 1; 2010 – 1; 2011 – 1. В 2012-2013 годах и в текущем году случаи этого заболевания в стране не были зарегистрированы. Наибольшее количество случаев ГЭ КРС в Канаде наблюдали в 2006-2008 гг. [3].

При анализе инцидентности (количество случаев ГЭ КРС на 1 млн голов скота старше 24 месяцев) по годам получены следующие величины: 2003 – 0,17; 2004 – 0,15; 2005 – 0,15; 2006 – 0,74; 2007 – 0,48; 2008 – 0,64; 2009 – 0,17; 2010 – 0,18; 2011 – 0,18 [4].

Количество диагностических исследований в 2004-2013 гг. и выявленных положительных случаев ГЭ КРС представлено в таблице 1 [5, 6, 7].

Характеристики выявленных в Канаде случаев ГЭ КРС представлены в таблице 2.

Объектами надзора за ГЭ КРС являются животные групп риска, имеющие клинические признаки ГЭ, вынужденно убитые и павшие животные в возрасте от 30 месяцев.

Наибольшее количество случаев ГЭ КРС было зарегистрировано в провинции Альберта, в которой сосредоточено большое поголовье КРС (рис. 1).

Таблица 1. Количество диагностических исследований на ГЭ КРС в Канаде в 2004-2013 гг. и выявленных положительных случаев этой болезни

Год	Количество исследованных на ГЭ КРС животных	Выявлено случаев ГЭ КРС
2004	23550	0
2005	57768	2
2006	55420	5
2007	58177	3
2008	48808	4
2009	34618	1
2010	35655	1
2011	33458	1
2012	27371	0
2013	31021	0

Последний по дате рождения заболевшего животного случай ГЭ КРС в провинции Британская Колумбия был выявлен 23 июня 2008 г. – тринадцатый случай в стране (если исключить «экспортированный» в США случай от 23.12.2003 г.). Дата рождения заболевшего животного – 22.04.2003 г. Последний по дате рождения заболевшего животного и дате регистрации случай ГЭ КРС в провинции Альберта и в стране (восемнадцатый) был выявлен 18 февраля 2011 г. у животного, возраст которого составлял 77 мес., дата рождения заболевшего животного по расчёту – сентябрь 2004 г., т.е. до введения более строгого запрета на кормление белком жвачных в 2007 г.

2. О некоторых основных мерах по предотвращению заражения КРС агентом ГЭ в Канаде

Обязательное уведомление о выявлении случаев ГЭ КРС действует в Канаде с 1990 г. Программу надзора за ситуацией по ГЭ КРС среди животных высоких групп

риска ввели в действие в 1992 г. Запрет на кормление КРС и других жвачных животных кормами, содержащими белок жвачных, был введён в 1997 г. [10]. Следует отметить, что эффективность этого запрета была невысока, поскольку 13 случаев ГЭ КРС из 19, зарегистрированных в Канаде, выявлены у животных, рожденных после 1997 г. Вероятная причина в том, что запрет на кормление КРС мясокостной мукой из тканей свиней, птицы и рыбной мукой, как в странах ЕС, не вводили, а риск перекрестной контаминации кормов был существенным. С декабря 2000 г. был запрещен импорт мясокостной муки независимо от вида животных, ткани которых были использованы для её изготовления, из стран, не свободных от ГЭ КРС.

Запрет на импорт живого КРС и говядины из стран, не свободных от губкообразной энцефалопатии, вводили сразу после сообщения о первом случае. Программу идентификации КРС с целью контроля его перемещений начали вводить с 2001 г. [10].

До 12.07.2007 г. отсутствовал запрет на кормление

Таблица 2. Характеристики случаев ГЭ КРС, выявленных в Канаде в 2003–2011 гг.

№	Дата выявления	Возраст	Провинция	Прочие сведения
1	20.05.2003	70 мес.	Альберта	Животное из провинции Саскачеван, дата рождения 22.03.1997.
2	23.12.2003	80 мес.	Альберта	Выявлен в штате Вашингтон, США, животное из провинции Альберта, дата рождения 09.04.1997.
3	02.01.2005	99 мес.	Альберта	Дата рождения 05.10.1996. (до введения запрета на кормление МКМ жвачных)
4	07.01.2005	93 мес.	Альберта	Дата рождения – 21.03.1998.
5	22.01.2006	69 мес.	Альберта	Дата рождения – 15.04.2000. Нашли кормозавод, производивший корма для жвачных и нежвачных на одной линии.
6	16.04.2006	72 мес.	Британская Колумбия	Дата рождения – 29.04.2000.
7	03.07.2006	16-17 лет	Манитоба	Год рождения 1989-1990
8	13.07.2006	50 мес.	Альберта	Дата рождения – 22.04.2002.
9	23.08.2006	9-10 лет	Альберта	Дата рождения – 1996-1997
10	07.02.2007	79 мес.	Альберта	Дата рождения – март-май 2000 г.
11	02.05.2007	66 мес.	Британская Колумбия	Дата рождения – 10.11.2001.
12	08.12.2007	165 мес.	Альберта	Дата рождения – 15.03.1994.
13	26.02.2008	73 мес.	Альберта	Дата рождения – 21.12.2001.
14	23.06.2008	61 мес.	Британская Колумбия	Дата рождения – 22.04.2003.
15	15.08.2008	77 мес.	Альберта	Корова мясной породы, дата рождения – 20.03.2002.
16	17.11.2008	95 мес.	Британская Колумбия	Корова молочной породы, дата рождения – 01.01.2001.
17	15.05.2009	80 мес.	Альберта	Корова молочной породы, дата рождения (согласно расчёту) – 09.2002.
18	25.02.2010	71 мес.	Альберта	Корова мясной породы, дата рождения (согласно расчёту) – 03.2004.
19	18.02.2011	77 мес.	Альберта	Корова молочной породы, дата рождения (согласно расчёту) – 09.2004.

свиной и птиц кормами, содержащими белок жвачных, в том числе материалы специфического риска (specific risk material, SRM). Затем был введён «более строгий запрет на корма», который запрещал использование материалов специфического риска для производства удобрений, кормов, предназначенных всем видам животных, включая домашних плотоядных, а также запрет на применение ранее произведённых кормов из указанных материалов, что, по прогнозу экспертов, позволит ликвидировать ГЭ КРС в Канаде в последующие 10 лет.

Канада, в соответствии с решением 77-й сессии МЭБ, принятым в мае 2009 г., является страной контролируемого риска ГЭ КРС [11].

3. Производство говядины в Канаде и её реализация

Согласно статистическим данным, в Канаде поголовье КРС на 1 января 2013 г. составило 12,2 млн голов, животные содержались на 95 105 фермах (рис. 1).

На рисунке 1 видно, что основное поголовье КРС сосредоточено в двух провинциях: Альберта и Саскачеван – 60,4%. Большая часть популяции КРС сосредоточена на западе страны (Британская Колумбия; Альберта; Саскачеван; Манитоба). В течение 2011 г. было убито для производства мяса и мясной продукции 3,5 млн взрослого КРС и телят.

С 2006 года наблюдается незначительное снижение общего количества КРС. Производство говядины в Канаде выросло на 87% по сравнению с 1970 г. Возникновение случаев ГЭ КРС в Канаде отрицательно сказалось на экспорте говядины, который снизился на 69%. В 2013 г. экспорт говядины и КРС составил около 50% от уровня 2002 г., из них 74% приходится на долю США. Общий экспорт в 2011 г. составил 336 954 тонн, что в денежном выражении равно 1,33 млрд долларов.

4. Меры, принятые в Канаде с целью профилактики и борьбы с ГЭ КРС

Известно, что многие страны мира принимают решение о ввозе живого скота и продукции, полученной от КРС, на основании сведений об уровне проводимых в стране-экспортере мер по контролю ГЭ КРС и статуса, присвоенного ей МЭБ.

После регистрации ГЭ КРС в Великобритании (1986 г.) в Канаде были приняты меры по снижению риска заноса этого заболевания [10] (рис. 2). На рисунке видно, что возбудитель ГЭ КРС циркулировал в популяции КРС с начала 1990-х годов до 2004 года, а случаи этой болезни регистрировали с 2003 по 2011 гг.

1989 г. – был введён запрет импорта скота из Великобритании.

1990 г. – введена обязательная регистрация случаев ГЭ КРС и регистрация скота, ввезённого из Великобритании.

Правительством Канады в 1992 г. разработана национальная программа надзора, основанная на рекомендациях Всемирной организации по охране здоровья животных (МЭБ). Программа была направлена на выявление скота с клиническими признаками, характерными для ГЭ КРС.

До 2003 г. в стране были тестированы пробы более чем от 10 500 животных с одновременным проведением образовательной программы и повышением осведомлённости персонала (с 1989 г.); обязательным уведомлением и расследованием всех случаев при подозрении на ГЭ КРС (с 1990 г.).

1992 г. – начат надзор за болезнью с применением методов лабораторной диагностики.

1993 г. – выявлен один случай ГЭ КРС у скота, ввезённого из Великобритании.

1994 г. – в Канаде ликвидирован весь скот, импортированный из Великобритании, несмотря на то, что были проведены диагностические исследования на ГЭ КРС и получены отрицательные результаты.

В том же году подтверждён запрет на ввоз КРС из стран, неблагополучных по ГЭ КРС.

1997 г. – введён запрет на кормление скота (жвачных) МКМ, полученной из млекопитающих. Аналогичные меры введены в США и Мексике. Следует отметить, что не только этот запрет, но и большинство других мер по предупреждению и контролю ГЭ КРС выполнялись одновременно в Канаде и США.

2000 г. – проведена оценка географического фактора риска экспертами научного управляющего комитета EFSA, после которой было сделано заключение, что ГЭ КРС в Канаде маловероятна, но не исключена. Затем была проведена оценка стад по риску ГЭ КРС.

Программа тестирований была усилена после обнаружения первого случая ГЭ КРС у местного скота в 2003 г. с целью:

- получения более точного представления об уровне распространённости ГЭ КРС;
- оценки эффективности запрета кормления мясокостной мукой, введённого в 1997 г.

5. Национальная программа борьбы с ГЭ КРС в Канаде

Национальная программа борьбы с ГЭ КРС была разработана в связи с выявлением в мае 2003 г. ГЭ КРС у животного, рождённого в Канаде и экспортированного в США.

Прежде всего была усилена программа надзора, основными целями которой были:

- более точная оценка превалентности болезни в стране;
- повышение эффективности мер защиты людей и животных.

В том же году при убое КРС начато удаление SRM с целью уменьшения опасности получаемых продуктов.

В 2004 г. – были исследованы более 30 000 проб, взятых от скота групп риска, что позволило выполнить рекомендации МЭБ, разработанные для неблагополучных по данному заболеванию стран.

В дополнение к тестированию клинически подозреваемых животных, программа ориентирована на анализ как минимум 30 000 проб мозга КРС старше 30 месяцев из следующих групп животных:

1. вынужденно убитый;
2. неамбулаторный (лежачий скот);
3. скот, у которого выявлены как при содержании на ферме, так и при предубойном обследовании какие-либо нарушения в состоянии здоровья (включая клинические признаки);
4. скот, павший при перевозке на бойню.

В период с 2004 г. по май 2013 г. более 390 тысяч проб, взятых от КРС, были тестированы после получения их из различных источников: ферм, федеральных и провинциальных скотобоен и др.

Проведение интенсивных мер по надзору способствовало повышению вероятности выявления новых случаев и позволило получить более объективную картину ситуации по ГЭ КРС в Канаде.



6. Удаление материалов специфического риска

Определение материалов специфического риска (SRM) приведено в разделе 6.1 Health of Animals Regulations [14]. Использование SRM в кормах для сельскохозяйственных животных, в кормах для домашних животных и для производства удобрений было запрещено в Канаде в 2007 г. К SRM относятся следующие ткани:

- дистальная подвздошная кишка (часть тонкой кишки) крупного рогатого скота всех возрастов;
- череп, мозг, ганглии тройничного нерва (нервы, прилегающие к мозгу), глаза, миндалины, спинной мозг и ганглии (нервы, отходящие к тонкой кишке) крупного рогатого скота в возрасте 30 месяцев и старше.

Удаление SRM в Канаде было введено с 23 августа 2003 г., после распоряжения от 24 июля 2003 г. об изменениях в правилах инспекции мясной продукции – контроле удаления SRM [10]. SRM – ткани крупного рогатого скота, потенциально содержащие возбудитель этой болезни в значительно больших количествах, чем другие ткани. Удаление SRM – очень важная процедура, особенно на ранних фазах развития инфекционного процесса, до того, как возбудитель ГЭ КРС может быть выявлен скрининговыми лабораторными диагностическими методами.

Основная цель удаления SRM – исключение контаминации возбудителем ГЭ КРС продукции, предназначенной для потребления человеком или в корм животным.

Удаление SRM проводится при убое скота старше 30 месяцев: череп (полностью, поскольку при убое может быть контаминирован тканью мозга), головной мозг, ганглии тройничного нерва, глаза, миндалины, спинной мозг, дорсальные корневые ганглии, позвоночник. Если SRM по какой-либо причине не отделены от остальных тканей и органов, то все они классифицируются и окрашиваются как SRM.

Рис. 2. Динамика случаев ГЭ КРС и даты основных противоэпизоотических мероприятий, проведённых в Канаде в связи с возникновением этого заболевания

Дистальный отдел тонкого кишечника является SRM у крупного рогатого скота всех возрастов и удаляется при убое животных независимо от возраста. Подтверждение этому было получено при посещении инспекторами Россельхознадзора предприятия № 454, где проводили убой 3-7-месячных телят. При убое у телят удаляли подвздошную кишку, собирали ее в отдельный контейнер и отправляли на сжигание.

Процедура удаления подвздошной кишки введена в технологическую цепочку на основе научных данных, в которых показано, что возбудитель ГЭ КРС накапливается в этом отделе на ранних стадиях у инфицированного животного.

Возраст животных определяют следующими способами:

- из регистрационных документов Ассоциации по идентификации пород;
- по зубам (если возраст животного составляет более 30 месяцев, то на нижней челюсти видна первая пара постоянных резцов и хотя бы один из второй пары выступает над десной).

Если скот не идентифицирован по возрасту, то он рассматривается как имеющий возраст более 30 месяцев. В цехе обработки туш головы и оба бока таких животных после снятия шкуры маркируют (синей краской) цифрой 3 или цифрой 3 в треугольнике.

Для разрезания спинного мозга при отрезании головы применяют отдельный нож с ручкой другого цвета, чем обычные ножи, для того чтобы их не перепутать.

Удаление дорсальных ганглиев – фактически это удаление всего позвоночника до хвоста без применения механической обвалки. После разрезания туши вдоль позвоночника и удаления спинного мозга ваку-

умным отборником маркируют синей краской позвоночник от шейных позвонков до крестцовых с целью их идентификации и удаления на последующих этапах разделки туши.

При обычной ручной обвалке мяса с позвоночника дорсальные ганглии остаются на позвоночнике, однако при использовании механической обвалки кольцевым виброножом (тримминге) есть риск контаминации продукции материалом дорсальных ганглиев. В связи с этим после тримминга мяса проводится досмотр на наличие оставшихся дорсальных ганглий, и образцы тканей направляют в лабораторию для исследования на отсутствие тканей ЦНС.

Предприятия, перерабатывающие скот, обязаны разработать систему обеспечения безопасности в соответствии с нормами HACCP (анализа опасности и контроля в критических точках). Они также должны проводить переработку скота в соответствии с нормами «усиленной программы безопасности продовольствия» – FSEP. В частности, запрещен убой инструментом для пробивания черепа с пневматическим приводом, поскольку введение воздуха в полость черепа (эмболия мозга) является фактором риска контаминации мяса тканями мозга.

На предприятии № 454, где проводится убой телят от 3-7 месяцев методом оглушения, т.е. в соответствии с рекомендациями ст. 11.5.1 п. 3 Кодекса МЭБ [12], «крупный рогатый скот, из которого получено сырое мясо или мясные продукты, предназначенные на экспорт, перед убоем не был оглушен с помощью механизма, вводящего сжатый воздух или газ в черепную коробку, и не был подвергнут проколу ткани мозга».

С июля 2007 года:

- материалы специфического риска были запрещены для кормления наземных и водных животных всех видов и исключены из кормовой цепи, а также из технологии производства удобрений;

- только жир, содержащий не более 0,15% нерастворимых примесей, можно применять для кормления крупного рогатого скота и других жвачных животных [13].

Размещение утильзаводов на территории Канады представлено на рис. 3. В Канаде имеется 51 утильзавод, которые по степени риска делятся на 5 категорий:

1. Перерабатывает SRM в комбинации с запрещенным и/или незапрещенным материалом.
2. Перерабатывает только SRM.
3. Перерабатывает запрещенные и незапрещенные материалы.
4. Перерабатывает только запрещенный материал.
5. Перерабатывает только незапрещенный материал.

Степень риска уменьшается от 1 к 5 категории. С учетом степени риска в 2013 году CVS проводит по первым 3-м категориям 4 инспекции в год, по 4-й категории – 2 и по 5-й категории предприятий – 1 инспекцию в год.

Запрещенный материал (ЗМ), указанный в пункте 162 (1) Health of Animals Regulations [14, 15], включает все, что содержит любой белок млекопитающих, за исключением:

- а. белков свиней и лошадей;
- б. молока или молочных продуктов;
- в. желатина, полученного исключительно из шкур, или продуктов из желатина, полученного исключительно из шкур;
- г. крови или продуктов из крови, либо топленых

жиров, полученных из тканей жвачных животных, содержащих не более 0,15% нерастворимых примесей.

Аналогичные требования действуют в отношении импортируемых кормов и кормовых добавок [15]. Производители кормов могут использовать только компоненты, которые перечислены в списках IV и V Feeds Regulations [16].

В Канаде мясокостная мука (МКМ) запрещена для использования в кормах для жвачных животных, но может быть использована в кормах для нежвачных животных, таких как птицы, свиньи, кошки или собаки, или в качестве удобрения.

В рамках расширенной в 2007 г. программы кормового запрета [13] для того, чтобы использовать в производстве корма для непродуктивных животных ткани, полученные от КРС, они не должны содержать SRM. Удаление SRM из кормовой цепи проводится с целью снижения потенциального воздействия возбудителя ГЭ КРС. Это может произойти при перекрестной контаминации кормов, предназначенных жвачным и нежвачным животным, которые могут содержать запрещенные материалы (ЗМ).

Усиление запрета на корма снижает риск распространения других прионных болезней в Канаде, например, скрепи овец и хронической изнуряющей болезни оленей и лосей.

7. Национальная программа идентификации скота

Канадское агентство идентификации скота (CCIA – Canadian Cattle Identification Agency) было создано в 1988 г.

Проблему идентификации скота в Канаде начали решать в середине 90-х годов в связи с ящуром, классической чумой свиней и диоксином, а также с целью определения происхождения ввезенного скота. Начало деятельности по созданию системы идентификации КРС в Канаде – 2001 г.

Важным направлением в борьбе с ГЭ КРС является проведение анализа популяционной структуры КРС по следующим показателям:

- скот рожден до или после запрета кормления МКМ из млекопитающих в 1997 г. или запрета на использование МСР в кормах для всех видов животных 2007 г.;

- к какой из категорий «4D» («dead, dying, diseased, disabled» — «павшее, умирающее, больное, травмированное») относится обследуемое животное;

- географическое происхождение и перемещение скота – регистрация перемещений от стада происхождения до бойни с учетом географических факторов.

С целью выполнения этой задачи в 2001 г. была начата национальная программа идентификации скота [10], которой подлежит весь скот, покидающий ферму. Животное обязан идентифицировать владелец до того, как оно покинет стадо происхождения, присвоенный ему номер считывается на бойне или при экспорте и сообщается в CCIA (иначе владельцев ожидают большие штрафы). С весны 2005 г. начали вводить радиочастотные ушные метки (точнее считывание и намного меньше риск потери, поскольку радиочастотная метка круглая и маленькая).

В рамках программы по надзору введены правила:

- недопущение использования каких-либо материалов от скота групп риска до получения окончательного результата диагностического исследования;
- только после получения отрицательного резуль-

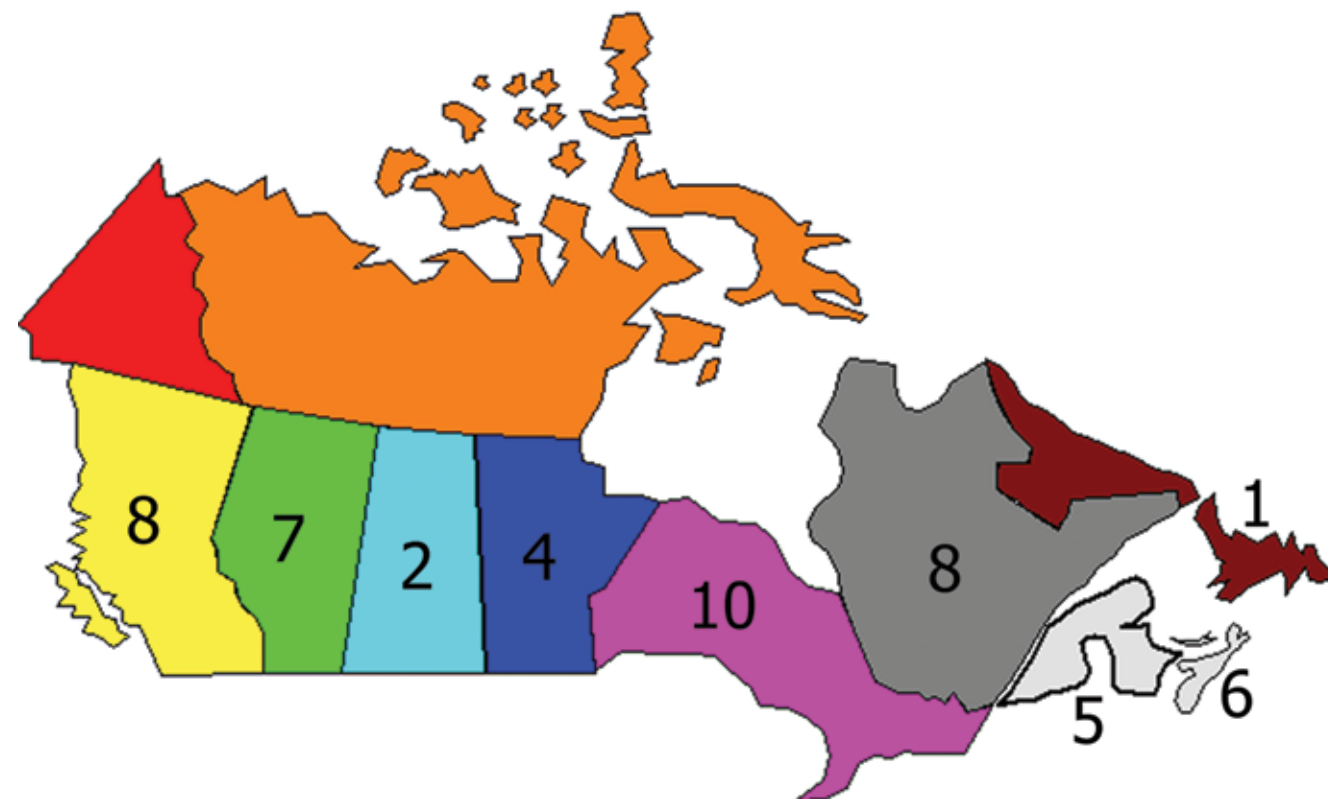


Рис. 3. Количество заводов по утилизации боенских отходов и трупов животных в провинциях Канады

тата исследования может быть дано разрешение на переработку на непищевые цели;

- туши скота, позитивного по ГЭ, подлежат сжиганию или закапыванию (на глубину более 10 футов, или 3,048 м) на выделенных властями провинций специальных участках, где сухой грунт, низкий уровень грунтовых вод, нет водозабора грунтовых вод и нет опасности размывания и выноса на поверхность. Оба варианта приняты МЭБ.

Ключевым фактором, способствующим выявлению болезни, является финансовая компенсация, которую получают все стороны, задействованные в ветеринарных консультациях, транспортировке скота, туши или пробы и их переработке или анализе [17]. Ими являются:

- владелец скота;
- ветеринарный врач-практик;
- операторы по переработке отходов и павшего скота;
- прочие организации или лица (персонал боен, перевозчики скота и отходов и т.д.).

Программа по идентификации предусматривает создание базы данных по количеству ферм и численности популяции содержащихся в них сельскохозяйственных животных, по степени внедрения идентификации животных разных видов и т. д. Следует отметить, что из всех видов животных идентификация КРС разработана наиболее полно [18]. Основная цель программы – идентификация КРС и бизонов.

Национальная система идентификации скота включает CCIA, предприятие-изготовитель ушных меток, их дистрибьюторы, владельцев скота и мясокомбинаты. CCIA дает предприятию-изготовителю меток значения номеров, дистрибьюторы приобретают ушные метки и отчитываются перед CCIA о том, какие номера продали владельцам скота. Владельцы скота сообщают в CCIA о номерах, проданных на аукционе или отправленных на бойню или о других перемещениях, а также о передаче павшего скота компании по утилизации

или уничтожению животных. Мясокомбинаты сообщают в CCIA номера животных, доставленных с целью убоя. CCIA постоянно поддерживает базу данных по идентификации скота. Техническая сторона обслуживания базы данных (хранение, резервирование и т.д.) обеспечивается другими фирмами.

При считывании информации отображается путь номера или ушной метки от CCIA через предприятие-изготовитель и дистрибьюторов владельцу, и, если животное использовано для производства продукции, в последней строке указан мясокомбинат.

Обязанности CFIA (Canadian Food Inspection Agency) в отношении системы идентификации скота заключаются в проведении следующих мероприятий:

- установление нормативной базы для обеспечения деятельности системы идентификации;
- поддержка производителей в развитии программ отслеживания скота;
- обеспечение регулирования и регистрации произошедших изменений;
- наблюдение за ситуацией в животноводческой отрасли;
- аудит (контроль возраста и других характеристик, поддерживаемых базой данных);
- обеспечение прямого доступа пользователей к базам данных.

В 2013 г. программа идентификации была поддержана приблизительно 97% владельцев скота. Идентифицированные животные на аукционах составляли 95-99%, на федеральных бойнях 95-99% и на местных бойнях 90-99%.

Информация о перемещениях скота поступает с аукционов скота, боен, от дистрибьюторов ушных меток, аттестованных участков мечения скота, предприятий по сбору и уничтожению павшего скота, экс-

Таблица 3. Количество тестируемых в 2004 г. проб головного мозга КРС.

Провинции	Когортные с заболевшими ГЭ КРС	Фермы, КРС групп риска	Бойни, КРС групп риска	Павшие	Здоровые животные с мяскокомбинатов	Подозреваемые в заболевании ГЭ КРС (с клиническими признаками)	Общее к-во
Британская Колумбия	0	164	35	0	0	0	199
Альберта	12	8060	1843	2375	0	78	12368
Саскачеван	0	2591	292	0	0	10	2893
Манитоба	0	0	308	978	141	2	1429
Онтарио	0	0	85	2284	0	13	2382
Квебек	0	337	133	3518	0	5	3993
Нью Брансуик	0	18	20	0	0	2	40
Новая Шотландия	0	141	62	0	0	2	205
Остров принца Эдварда	0	0	0	38	0	0	38
Остров Ньюфаундленд	0	1	0	0	0	0	1
Территория Юкон				0	0		2
Общее к-во	12	11314	2778	9193	141	112	23550

портеров и импортеров, предприятий по переработке отходов, сборных площадок скота.

Все перемещения скота должны регистрироваться, кроме случаев, когда он перемещается на расстояние менее 10 км без смены владельца. В отношении идентификации ГЭ КРС роль CFIA заключается в:

- инвентаризации номеров животных, подлежащих карантинированию в связи с выявлением в стаде ГЭ КРС;
- получении сведений о размещении и перемещениях животных, подлежащих карантину;
- регистрации сведений о животных из инфицированного стада, убитых на мяскокомбинатах или павших;
- получении информации о скоте, экспортированном в другие страны;
- проведении исследований по сравнению номеров карантинированного скота и сведений о поиске родственных животных по ДНК-маркерам;
- розыске животных, когортных по рождению и кормлению.

В провинции Квебек существует аналогичная по целям ССИА независимая организация АТQ, занимающаяся идентификацией и трассировкой всей сельскохозяйственной продукции. В настоящее время вводятся радиочастотные ушные метки. Они являются средством контроля передвижений, поскольку считывание возможно автоматически и дистанционно при перемещении животного вблизи детектора. В провинции Квебек такие метки были введены в 2002 г., в остальных провинциях Канады в молочном секторе начали вводить в январе 2004 г., в мясном – в январе 2005 г.

Вводимые средства идентификации скота позволяют контролировать перемещения на бойню, импорт, экспорт и захоронение павшего скота практически полностью. ССИА в рамках сотрудничества с CFIA ставит целью обеспечение полного контроля всех перемещений скота.

Важным направлением является сбор данных о датах рождения животных (в Канаде в связи с ус-

ловиями содержания мясного скота у фермеров – практически неконтролируемый выпас в течение всего года на очень больших огороженных пастбищах – датой рождения считают сезон отела с марта по май и учет родившегося за сезон скота проводят по окончании сезона). CFIA рекомендует ввести обязательную подачу сведений о возрасте скота.

В направлении сбора сведений о датах рождения животных ССИА ставит следующие цели:

- обеспечить доступ к данным всем производителям по имени и паролю через Интернет;
- обеспечить возможность ревизии данных и проверки на месте;
- обеспечить для переработчиков также возможность оперативного доступа к данным о возрасте поступившего на переработку скота.

Трассировка заключается в идентификации трех параметров: непосредственно номеров животных, помещений для содержания животных и перемещений животных.

Кроме ССИА в Канаде есть организация более высокого уровня с близкими функциями – Canadian Livestock Identification Agency (CLIA) [19], для которой источниками информации являются правительства провинций, ССИА, АТQ и промышленные группы, а потребителями – CFIA, ветеринарные службы провинций и другие ветеринарные службы.

CLIA поддерживает данные о животноводческих хозяйствах (принадлежность, контактные имя и координаты, виды животных, тип помещения), о перемещениях и об идентификационных номерах животных.

8. Лабораторное тестирование проб мозга на ГЭ КРС

Согласно рекомендациям Кодекса наземных животных МЭБ, Канада должна, в соответствии со статьёй 11.5.22, выполнять надзор за ситуацией по ГЭ КРС типа Б, проводить 150 000 анализов за 7 лет, т.е. около 22 тысяч в год. Проведение надзора по типу Б позволяет обнаруживать расчётную превалентность ГЭ КРС,

минимум равную 1 случаю на 50 000 голов во взрослой популяции КРС с доверительным уровнем 95%.

8.1. Количество тестируемых проб

Для выполнения рекомендаций МЭБ в Канаде была создана сеть диагностических лабораторий, которая имеет следующую структуру:

- федеральные диагностические лаборатории CFIA;
- провинциальные лаборатории;
- частные и университетские лаборатории.

Все перечисленные лаборатории в случае выявления сомнительных или положительных проб направляют их в Национальную референтную лабораторию по ГЭ КРС, находящуюся в Виннипеге, при Национальном центре по инфекционным болезням животных.

Для диагностики применяли в разное время различные тест-системы, основанные на различных методах:

- Prionics Check Western – основной метод;
- Bio-Rad TeSeE – основной метод;
- Prionics prio-strip – как дополнительный метод;
- Enfer ELISA – как дополнительный метод;
- IDEXX – как дополнительный метод.

Для подтверждения использовали:

- иммуногистохимический метод с применением нескольких антител на 30-40 срезах ткани мозга;
- OIE SAF western blot;
- гистопатологический метод.

Если не согласовывались результаты скрининга и подтверждающего исследования, то использовали Prionics Check Western, а для выявления атипичных случаев – OIE SAF western blot.

После выявления первого случая ГЭ КРС уверенность канадских потребителей в безопасности продукции снизилась. Для ее повышения при плане исследования на 2004 г. в 8 000 проб фактически были исследованы 23 500 (табл. 3), большинство которых были получены из провинции Альберта, в которой был выявлен первый случай; при плане исследования на 2005 г. 30 000 проб были исследованы более 50 000 проб. Исследования репрезентативны по возрастным категориям групп риска. Из 4 положительных проб 2 были от мясного и 2 от молочного скота.

В дополнение к тестированию клинически подозреваемых в заболевании животных программа была ориентирована, как минимум, на исследование 30 000 проб головного мозга крупного рогатого скота возрастом более тридцати месяцев из следующих групп риска ГЭ КРС:

1. павших животных;
2. животных, которые являются неамбулаторными (лежащие);
3. вынужденно убитых животных;
4. животных, направляемых на убой, поведение или состояние которых отличается от нормального (больные).

В период с 2004 г. по май 2013 г. были протестированы более 390 тысяч проб, взятых от крупного рогатого скота из различных источников:

- на фермах;
- при продаже скота;
- на федеральных и провинциальных бойнях.

Анализируя приведённую в данном разделе информацию, следует отметить, что Канада выполняет рекомендации МЭБ по количеству анализируемых проб мозга КРС.

8.2. Категории скота, подлежащие тестированию на ГЭ КРС

В соответствии с рекомендациями Кодекса наземных животных МЭБ [12] необходимо тестировать пробы от скота следующих групп риска:

1. вынужденно убитого;
2. неамбулаторного (лежащий скот);
3. скот, у которого выявлены какие-либо нарушения в состоянии здоровья (включая клинические признаки ГЭ КРС) и выявленные на ферме, при перевозке или при предубойном обследовании;
4. скот, павший при перевозке на бойню.

Пробы от здорового скота исследовать не рекомендуется.

С целью получения необходимых сведений важен доступ ветеринарных служб к животным разных групп риска на всех стадиях производственного цикла.

Обследование животных выполняют:

1. на фермах – частный врач, или федеральный, или провинциальный инспектор, который при выявлении скота групп риска сообщает сведения в CFIA или провинциальной ветеринарной службе и направляет пробы мозга в диагностическую лабораторию;
2. на федеральных бойнях – инспектора CFIA;
3. на провинциальных бойнях – инспектора провинции или CFIA (в зависимости от категории бойни делят на провинциально инспектируемые и инспектируемые CFIA);
4. на предприятиях по переработке отходов животноводства и операциях с павшим скотом – инспектора провинции или CFIA.

В случае выявления болезни исследованию подлежат следующие категории скота:

1. потомство, рожденное от заболевшей коровы за 2 года до ее заболевания;
2. когорта животных по кормлению;
3. когорта животных по рождению.

9. Меры по снижению риска ГЭ КРС в Канаде

Риск ГЭ КРС складывается из оценок по следующим трем параметрам:

- определение эффективности запрета на кормление скота МКМ;
- определение превалентности ГЭ КРС;
- определение эффективности защиты пищевой цепи человека.

МКМ из млекопитающих производится в Канаде на объектах, которые работают при наличии разрешения и регулярных проверок инспекторами CFIA на соответствие с Feeds Regulations и Health of Animals Regulations [14, 16]. Частота инспекций зависит от риска, который в свою очередь связан с природой производимых компонентов.

В Канаде имеется 490 комбикормовых заводов, расположение которых указано на карте (рис. 4). Наибольшее количество комбикормовых заводов находится в провинциях Онтарио (165) и Квебек (133).

Мясная и костная мука животных могут быть использованы для кормления сельскохозяйственных животных только в том случае, если они не содержат тканей от жвачных животных. Если они содержат их, то должны быть помечены, предупреждая о том, что данная мясная и костная мука не могут быть использованы для изготовления корма жвачным животным. Хотя не введено лицензирования или выдачи разрешений коммерческим предприятиям по производству

кормов, они по-прежнему подлежат ежегодным проверкам, частота которых основана на степени риска.

Для коммерческих комбикормовых заводов определены 4 категории риска:

1. высокий риск по ТГЭ (трансмиссивные губкообразные энцефалопатии) + высокий риск по препаратам;
2. высокий риск по ТГЭ + низкий риск по препаратам;
3. низкий риск по ТГЭ + высокий риск по препаратам;
4. низкий риск по ТГЭ + низкий риск по препаратам.

Из 490 комбикормовых заводов приблизительно по 50 заводов относятся к 1-й и 4-й категории. Ко 2-й и 3-й категории относятся 390 заводов. Факторы риска снижаются от 1-й к 4-й категории. Эти факторы риска используются для определения частоты инспекций объектов, занятых производством кормов. Заводы, относящиеся к 1-й категории, инспектируются 1-3 раза в год; 2-й и 3-й — 1-2 раза в год; 4-й категории — 1 раз в год.

МКМ от крупного рогатого скота и других жвачных животных запрещена для приготовления кормов для жвачных животных, но может быть использована в корм для нежвачных животных, таких как птицы, свиньи, кошки, собаки, или в качестве удобрения.

В рамках расширенного кормового запрета 2007 г., для того чтобы использовать в производстве корма для непродуктивных животных, ткани крупного рогатого скота не должны содержать SRM [13]. Удаление SRM из кормовой цепи приведёт к дальнейшему снижению потенциального воздействия возбудителя ГЭ КРС. Это особенно важно в случае перекрестной контаминации кормов для жвачных животных кормами, предназначенными нежвачным.

Канада по классификации МЭБ по риску ГЭ КРС относится к категории стран контролируемого риска [11]. Признание Канады страной, свободной от этой болезни, зависит не только от МЭБ или самоопределения. CFIA использует методологию оценки рисков, чтобы определить, присутствует ли опасность в стране, и оценивает риск передачи возбудителя в результате ввоза животных, продуктов животного происхождения или субпродуктов. Импортёры кормов должны получить разрешение на импорт в целях соблюдения пункта 166 (1) Health of Animals Regulations [15]. Дополнительную информацию об импорте непищевой продукции можно получить на сайте CFIA.

Кроме того, все импортные корма для скота должны быть зарегистрированы с целью того, чтобы соответствовать Feeds Regulations. В некоторых случаях для кормов, которые содержат субпродукты животного происхождения, может потребоваться как регистрация, так и разрешение на импорт в соответствии с Health of Animals Regulations [14].

Запрещенные материалы не могут быть использованы для жвачных животных. Корма для КРС могут содержать только утвержденные ингредиенты, полученные из:

- а. белков свиней и лошадей;
- б. молока или молочных продуктов;
- в. желатина, полученного исключительно из шкур, или продукты из желатина, полученного исключительно из шкур;
- г. кровь или продукты крови, либо топленые жиры, полученные из жвачных животных, которые содержат не более 0,15% нерастворимых примесей.

Опыт Великобритании позволил сделать выводы о том, что основной эффект был достигнут в результате запрета кормления жвачных животных МКМ из жвачных в 1988 г., последующие меры снизили риск перекрестной контаминации. 2/3 животных, родившихся после запрета и заболевших ГЭ КРС, были рождены в первые 2 года после введения запрета. У фермеров в этот период времени оставался корм, содержащий МКМ, произведенный до запрета 1988 г.

В последующее время важнейшим фактором, способствующим циркуляции возбудителя и распространению ГЭ КРС, стала перекрестная контаминация при производстве, перевозках, хранении и применении МКМ. Этот фактор был в большой степени снижен в 1994 г. путем запрета кормления жвачных МКМ из млекопитающих. Третий фактор риска – кормление скота кормами для свиней и птицы, содержащими МКМ, был в значительной степени снижен в 1996 г. запретом кормления млекопитающих МКМ из млекопитающих.

Для уменьшения опасности контаминации проводится:

- разделение запрещенных и разрешенных белков животных, что позволяет предотвратить кормление жвачных контаминированными кормами;
- корма, содержащие запрещенные белки, должны быть тщательно помечены, чтобы предотвратить их непреднамеренное скармливание жвачным животным.

10. Особенности борьбы с ГЭ КРС в Канаде

Инфицированный агентом ГЭ КРС скот попал в Канаду и США одновременно на пике эпизоотии этого заболевания в Великобритании.

Структура животноводческой отрасли США и Канады практически одинакова, и до запрета на торговлю животноводческой продукцией и скотом (после обнаружения первого случая ГЭ КРС у местного скота в Канаде в мае 2003 г.) животноводческий рынок США и Канады был общим. До 2003 г. были одинаковыми ветеринарное законодательство, структура популяций скота, способы содержания животных и переработки продукции и отходов. Никаких специальных мер против ГЭ КРС, кроме запрета на кормление скота МКМ в 1997 г., в Канаде до 2003 г. не применяли.

Был введен запрет на кормление жвачных животных (крупный рогатый скот, овцы, козы, олени, лоси, и т.д.) белками большинства млекопитающих, как описано в Health of Animals Regulations, часть XIV, разделы 162-171 [14]. Первоначальный запрет на кормление жвачных животных белком в Канаде был более строгим, чем определённый рекомендациями МЭБ. Кормление скота МКМ не характерно для Канады и США, поскольку есть большое количество рапсовой и соевой муки.

Скармливание скоту помета птицы и пищевых отходов, содержащих мясо жвачных животных, никогда не практиковалось в Канаде. Одним из отличий от системы кормления в США является то, что в Канаде не используют и никогда не использовали подстилку с птицефабрик в качестве корма для скота.

Однако в Канаде существовали и существуют некоторые факторы, снижающие эффективность запрета на кормление скота МКМ:

- существовавшие запасы кормов для скота после запрета 1997 г. не были изъяты из оборота;
- технология переработки отходов КРС позволяет

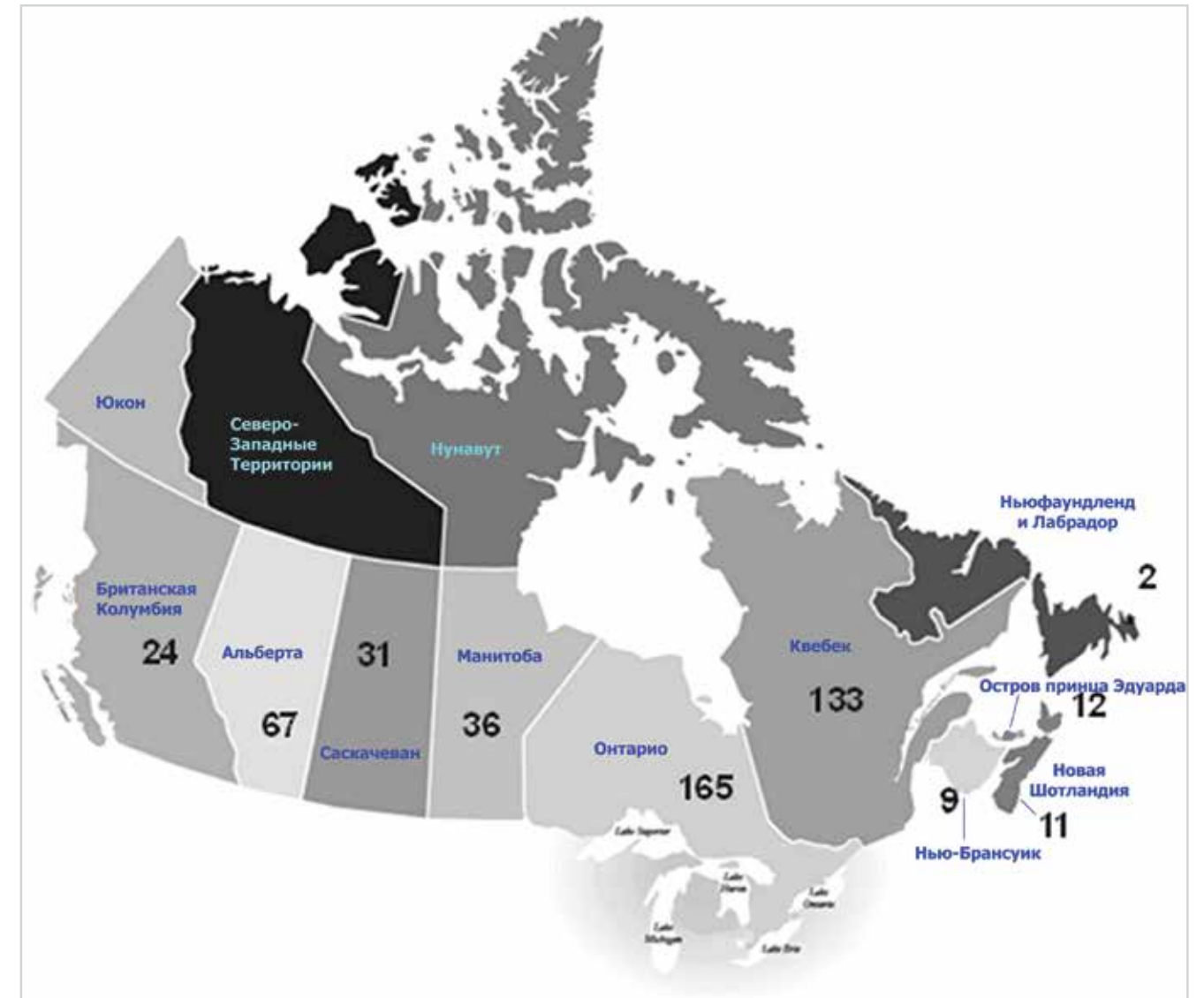


Рис. 4. Распределение комбикормовых заводов по провинциям

снизить количество агента BSE в продукции только на 90-99% (европейский стандарт переработки обеспечивает снижение более чем на 3,1 lg, т.е. более чем на 99,9%);

– максимальный фактор риска в настоящее время – перекрестная контаминация, поскольку корма для скота, свиней и птицы производят на одних заводах, возможна контаминация при перевозках, применении и т.д.

Существуют программы обучения мерам предотвращения кормления скота МКМ для переработчиков отходов животноводства, кормопроизводителей и персонала, занятого кормлением скота.

Была проведена статистическая оценка эффективности запрета на кормление скота МКМ 1997 г. и превалентности ГЭ КРС в Канаде. Показана высокая эффективность запрета, превалентность по расчету составляла 0,6 случая на миллион поголовья старше 30 мес.

В 2004 г. было предложено исключить материалы специфического риска, получаемые от КРС на бойнях, из последующей переработки на корма для свиней и птиц, а также ввести систему контроля кормов на отсутствие биоматериалов КРС. Рассматривались варианты «некормовой» утилизации SRM, без риска для животных. Однако эти вопросы в то время не были решены ввиду большого влияния экономических фак-

торов на кормовую промышленность. Вопрос был решен положительно в 2007 г.

После обнаружения первого случая ГЭ КРС у местного скота в 2003 г. и последующих случаев этой болезни был рассмотрен и усилен запрет на кормление путем внесения дополнительных предложений. Канада 12 июля 2007 года расширила свой кормовой запрет и потребовала запретить использование SRM для всех наземных и водных животных, а также для получения удобрений [13].

Известно, что заражение теленка происходит, преимущественно, в первый год его жизни, поэтому очень важно выполнять запреты в этот период содержания животных.

Животным, поступающим на убой на предприятие № 454, из компонентов, полученных от жвачных животных, в рацион был включен жир. Жир КРС не относится ни к SRM, ни к ЗМ, если он содержит не более 0,15% нерастворимых примесей. При расследовании происхождения жира было установлено, что он получен на канадских предприятиях, в тех провинциях, где не было случаев ГЭ КРС.

Защиту пищевой цепи человека от агента ГЭ КРС эксперты CFIA считают эффективной, поскольку превалентность болезни низкая, большинство животных



Мясокомбинат в одной из западноевропейских стран, полутуши на конвейере, спинной мозг (материал специфического риска) полностью удален



Отбор пробы ствовой части мозга КРС через большое затылочное отверстие для диагностического исследования на губкообразную энцефалопатию

не доживают до опасного возраста, т.к. мясной скот обычно перерабатывают в возрасте около 24 месяцев. Кроме того, все выявленные случаи ГЭ КРС были у животных старше 2-3 лет. Животные, выявленные положительными по ГЭ КРС в начале 2005 г., имели нейрпатологические признаки и не могли быть использованы для производства продукции с целью потребления человеком. Ключевой фактор защиты человека – удаление SRM у всех животных.

На основании перечисленных факторов сделан вывод о высокой степени эффективности защиты продукции, предназначенной для потребления человеком, от попадания агента ГЭ КРС.

Скрепи овец, как фактор риска ГЭ КРС, не оказывают влияния, поскольку популяция овец в Канаде мала. Кроме того, действует программа по ликвидации скрепи, в частности, существует запрет на кормление овец МКМ, а также предприятия по переработке отходов животноводства на корма для свиней и птиц не берут в переработку овец и оленей (эта норма была введена ранее 1997 г.).

11. Импорт крупного рогатого скота из Канады в Россию

В связи с выявленным в мае 2003 г. первым случаем ГЭ КРС у животного, рожденного в Канаде, ввоз как племенного, так и пользовательного КРС из этой страны в Россию был запрещен распоряжением Де-

партамент ветеринарии МСХ РФ № 13-8-01/4494 от 22.05.2003 г.

Ввоз племенного КРС из Канады в Российскую Федерацию был разрешен распоряжением ФС-ЕН-2/3309 от 13.04.2007 со всей территории Канады, за исключением провинции Британская Колумбия. Основная причина – инцидентность ГЭ КРС в Британской Колумбии в 2006 г. превышала 1 случай на 1 млн поголовья взрослого КРС. В этой провинции был выявлен один случай у животного в возрасте менее 6 лет при численности популяции взрослого КРС около 300 тыс. голов. Для провинции Манитоба ограничение было решено снять, так как единственный случай ГЭ КРС в 2006 г. был выявлен у животного возрастом более 16 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпизоотическая ситуация по ГЭ КРС в Канаде заметно улучшилась по сравнению с 2006-2008 гг. В 2009-2011 гг. было зарегистрировано всего по 1 случаю ежегодно, в последние 2 года случаев ГЭ КРС не было зарегистрировано. Это достигнуто благодаря применению ветеринарной службой Канады ряда эффективных ветеринарно-санитарных мероприятий, среди которых, в первую очередь, можно выделить запрет 12 июля 2007 г. на использование SRM всем наземным и водным животным, а также для получения удобрений.

Способ убой скота и удаления материалов специфического риска соответствуют рекомендациям МЭБ. Уровень диагностических исследований на ГЭ КРС (количество и представительность исследуемых проб) отвечают нормам, принятым МЭБ для стран контролируемого риска по ГЭ КРС.

С учетом успехов, достигнутых Канадой в борьбе с этим заболеванием, на 80-й Генеральной сессии МЭБ, состоявшейся в мае 2006 г., 169 стран МЭБ официально признали Канаду страной контролируемого риска по ГЭ КРС. Этот уровень был подтвержден на основании ежегодных отчетов о результатах мониторинга и мер контроля ГЭ КРС в 2008-2013 гг. В 2015 г. Канада планирует подать заявку в МЭБ на получение статуса страны незначительного риска по ГЭ КРС.

К положительным моментам можно также отнести отказ Канады от повышения возраста животных, подлежащих тестированию на наличие инфекционной формы прионного белка, до 72 мес., как было принято в странах ЕС с 01.07.2011 г. В Канаде, в отличие от ЕС, не стремятся к повышению возраста тестируемых животных и для этого есть основания, т.к. большинство выявленных случаев ГЭ КРС в Канаде наблюдали у животных сравнительно молодого возраста.

При ввозе бескостной говядины из Канады должны быть учтены следующие условия:

- а. продукция должна быть получена от идентифицированных ССИА животных, возраст которых точно известен и составляет не более 24 месяцев;
- б. животные, продукция из которых предназначена для экспорта в Таможенный союз (ТС), не должны быть связаны происхождением с фермами, на которых были выявлены случаи ГЭ КРС.

При ввозе живого КРС при прочих требованиях, указанных в ветеринарном сертификате ТС, обязательно учитывать:

- а. чтобы животные происходили из хозяйств, в которых не было зарегистрировано случаев заболевания ГЭ КРС;



б. CFIA официально подтверждает эту информацию, когда экспортёр представляет перечень хозяйств, из которых происходит КРС;

в. животные должны быть получены от родителей, в родословных которых не зафиксировано случаев заболевания ГЭ КРС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рыбаков С.С., Егоров А.А. Меры, направленные на предотвращение возникновения и заноса ГЭ КРС в Россию // Российский ветеринарный журнал – 2009. – № 1. – С. 32-35.
2. Blair Andrews. Russia Expands Imports of Canadian Beef and Livestock // The Farm Connection. url: <http://farmconnection.wordpress.com/2009/10/13/russia-expands-imports-of-canadian-beef-and-livestock/>.
3. Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide* (excluding the United Kingdom). OIE, 2014, url: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-reported-cases-worldwide-excluding-the-united-kingdom/>.
4. Annual incidence rate of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in OIE Member Countries that have reported cases, excluding the United Kingdom. OIE, 2014, url: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/annual-incidence-rate/>.
5. BSE Enhanced Surveillance Program. Sample Status and Testing Results 2004-2007. url: <http://www.collectionscanada.gc.ca/webarchives/20071115055040/http://www.inspection.gc.ca/english/animal/heasan/disemala/bseesb/surv/surve.shtml>.
6. BSE Enhanced Surveillance Program. Sample Status and Testing Results 2007-2010. url: <http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/cfia-acia/2011-0921/www.inspection.gc.ca/english/animal/disemala/bseesb/surv/surve.shtml#num>.
7. BSE Enhanced Surveillance Program Sample Status and Testing Results 2011-2013. url: <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial-animals/diseases/reportable/bse/eng/1323991831668/1323991912972>.
8. BSE Completed Investigations, cases 1-10. url: <http://www.collectionscanada.gc.ca/webarchives/20071115054705/http://www.inspection.gc.ca/english/animal/heasan/disemala/bseesb/comenqe.shtml>.
9. BSE Completed Investigations, cases 11-15. url: <http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/cfia-acia/2011-09-21/www.inspection.gc.ca/english/animal/disemala/bseesb/comenqe.shtml>.
10. Bovine Spongiform Encephalopathy. How Does Canada protect food safety and animal health from BSE? url: <http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/cfia-acia/2011-09-21/www.inspection.gc.ca/english/animal/disemala/bseesb/bseesbfse.shtml>.
11. Recognition of the Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Status of Members. OIE Final Report 2009. 77-th General Session, Paris, 24-29 May 2009. – P. 160-161.
12. OIE Terrestrial Animal Health Code, Ch. 11.5, Bovine spongiform Encephalopathy. OIE, 2013. url: http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_1.11.5.htm.
13. Enhanced Animal Health Protection from BSE - Specified Risk Material (SRM). url: <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial-animals/diseases/reportable/bse/srm/eng/1299870250278/1334278201780>.
14. Health of Animals Regulations. url: http://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/C.R.C.,_c._296/index.html.
15. Animal Health Import Requirements for Rendered and Inedible Products. url: <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial-animals/imports/policies/animal-products-and-by-products/2002-10/eng/1321114625865/1321114984376?roe2>.
16. Acts and Regulations. url: <http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/cfia-acia/2011-09-21/www.inspection.gc.ca/english/reg/rege.shtml>.
17. Compensation for Destroyed Animals Regulations (SOR/2000-233). url: <http://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/SOR-2000-233/>.
18. Canada advances system for cattle traceability. url: <http://www.inspection.gc.ca/about-the-cfia/newsroom/news-releases/cattle-traceability/eng/1323652437109/1323652437110>.
19. CLIA, Tracking and Traceability. url: http://www.cyberus.ca/~baddog/CLIA/eng/faqs_e.htm.

АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНАЯ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЯ СВИНЕЙ: ДИАГНОСТИКА, ПРОФИЛАКТИКА И МЕРЫ БОРЬБЫ

А.В. Потехин¹, В.Ф. Ковалишин²

¹ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир; e-mail: potehin@arriah.ru

²ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

Проведен анализ распространения актинобациллезной плевропневмонии свиней на территории Российской Федерации с 2006 по 2013 гг. Высокую превалентность имели серотип 5 (23,8%) и серотип 2 (22,3%). В 2013 г. из патологического материала выделены 5 изолятов возбудителя, относящиеся к 5, 7 и 9 серотипам. Высокоактивными по отношению ко всем изолятам оказались амоксицилин, левомицетин (хлорамфеникол) и флорфеникол. Антибиотики группы фторхинолонов проявляли высокую активность только в отношении четырех изолятов. Слабую чувствительность наблюдали у всех изолятов возбудителя к гентамицину, эритромицину и тетрациклину. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработана универсальная субъединичная вакцина против всех известных серотипов возбудителя актинобациллезной плевропневмонии свиней, где в качестве антигенов использованы анатоксины АрхI, АрхII, АрхIII и белки внешней мембраны возбудителя. Препарат в настоящее время успешно проходит широкие производственные испытания в ряде свиноводческих хозяйств Российской Федерации.

Ключевые слова: актинобациллезная плевропневмония свиней, серотипы, токсины, антибиотики, вакцины.

ВВЕДЕНИЕ

Актобациллезная плевропневмония свиней (АПП) – это инфекционное контагиозное заболевание, характеризующееся геморрагической, фибринозно-геморрагической и гнойно-некротизирующей пневмонией, а также серозно-фибринозным плевритом, перикардитом и артритом. Возбудителем заболевания является бактерия *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) [5, 6, 7].

A. pleuropneumoniae обладает выраженным тропизмом к тканям воздухоносных путей свиньи. К болезни восприимчивы свиньи всех возрастов, но наиболее чувствительны поросята 2–6-месячного возраста. Такие факторы, как скученность поголовья и неудовлетворительный микроклимат, играют важную роль в распространении заболевания. Переболевшие свиньи приобретают серотипспецифический иммунитет, но на долгий период времени могут оставаться субклиническими носителями возбудителя.

Основными факторами патогенности *A. pleuropneumoniae* являются: капсульные полисахариды, липополисахариды, трансферин-связывающие белки внешней мембраны и Арх-токсины [6].

Антигенная структура возбудителя сложна и разнообразна. По капсульному антигену различают 15 серотипов возбудителя, вирулентность которых зависит от структуры капсулы, набора липополисахаридов и токсигенности. Все серотипы возбудителя

продуцируют в различных комбинациях четыре типа экзотоксинов: АрхI, АрхII, АрхIII и АрхIV. Токсин АрхI определяет сильные гемолитические и цитотоксические свойства бактерий, экспрессируется серотипами 1, 5, 9, 10, 11 и 14. АрхII обладает умеренными гемолитическими и цитотоксическими свойствами и продуцируется всеми серотипами, кроме 10 и 14. АрхIII является исключительно слабым цитотоксином, но не гемолизин, выделяется 2, 3, 4, 6, 7, 8 и 12 серотипами. АрхIV – слабый гемолизин, продуцируемый всеми серотипами возбудителя *in vivo*, что является важным отличием от других (непатогенных) видов рода *Actinobacillus*. Для определения статуса стада в отношении АПП широко используется серологический тест ИФА, направленный на обнаружение специфических антител к токсину АрхIV в сыворотках крови свиней. Серотипы 1, 5, 9, 10 и 11 являются высоковирулентными, 2, 4, 6, 7 и 8 – имеют среднюю вирулентность, 3 и 12 – низковирулентные. Классификация *A. pleuropneumoniae* по типам продуцируемых токсинов имеет решающее значение при расшифровке патогенеза болезни и отборе штаммов для изготовления вакцин [8].

Эпизоотологический анализ заболевания базируется на серотипировании возбудителя. Географическая распространенность различных серотипов *A. pleuropneumoniae* и их превалентность сильно варьирует в разных странах. Так, 1, 5 и 7 серотипы являются наиболее распространенными в США и в Канаде, 2 и 9 – в Европе, а недавно описанный 15 серотип является одним из наиболее распространенных в Австралии [4, 8].

В отечественной литературе весьма скудно освещены вопросы бактериологической диагностики актинобациллезной плевропневмонии свиней. Кроме того, отсутствуют данные о распространении и серо-вариантном профиле возбудителя на территории Российской Федерации.

Цель данной работы заключалась в определении масштаба распространения актинобациллезной плевропневмонии свиней на территории Российской Федерации, а также рекомендации основных мероприятий по профилактике и мерам борьбы с данным заболеванием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Патологический материал. В работе использовали свежие или замороженные кусочки легких от свиней с респираторной патологией.

Лабораторная диагностика АПП. Для индикации и типовой идентификации возбудителя актинобациллезной плевропневмонии свиней в патологическом материале использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Выделение *A. pleuropneumoniae* проводили бактериологическим методом в соответствии с временными «Методическими указаниями по лабораторной диагностике гемофильной плевропневмонии свиней» [1].

Определение чувствительности к антибиотикам. Определение чувствительности возбудителя актинобациллезной плевропневмонии свиней к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом в соответствии с «Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время на территории Российской Федерации встречается широкий спектр серотипов *A. pleuropneumoniae*, включающий 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и 12. Также обращает на себя внимание тенденция к увеличению числа хозяйств, неблагополучных по актинобациллезной плевропневмонии свиней. Если в 2006 году в Российской Федерации заболевание было выявлено только в 2 хозяйствах, в 2009 году АПП была диагностирована в 21 хозяйстве, то в 2013 году – уже в 67 (рисунок 1). Резкое увеличение числа хозяйств, неблагополучных по АПП, объясняется, главным образом, двумя обстоятельствами. Во-первых, за последние годы в РФ ввезено много серопозитивных к АПП племенных свиней из Западной Европы и Канады, при этом данное заболевание не входит в список инфекций, от которых, согласно ветеринарным требованиям, должны быть свободны ввозимые в РФ живые свиньи. За счет такого поголовья было сформировано много новых

свиноводческих хозяйств, а некоторые ранее функционировавшие в России свинокомплексы провели полную или частичную замену поголовья. Большинство хозяйств, в которых обнаруживалась АПП, относились к одной из этих двух категорий. Вторая причина распространения АПП – торговые операции между российскими хозяйствами: многие «старые» свинокомплексы закупают серопозитивных к АПП ремонтных свиней в «новых» хозяйствах, сформированных из импортных племенных животных [3].

В настоящее время болезнь регистрируется уже не только в пользовательских, но и в племенных хозяйствах. Заболевание проявляется в виде вспышек геморрагической некротизирующей пневмонии или же протекает в виде субклинической инфекции.

Определенные изменения произошли и в серотиповом пейзаже возбудителя. Однако второй и пятый серотипы *A. pleuropneumoniae* и по сей день остаются наиболее часто регистрируемыми (табл. 1).

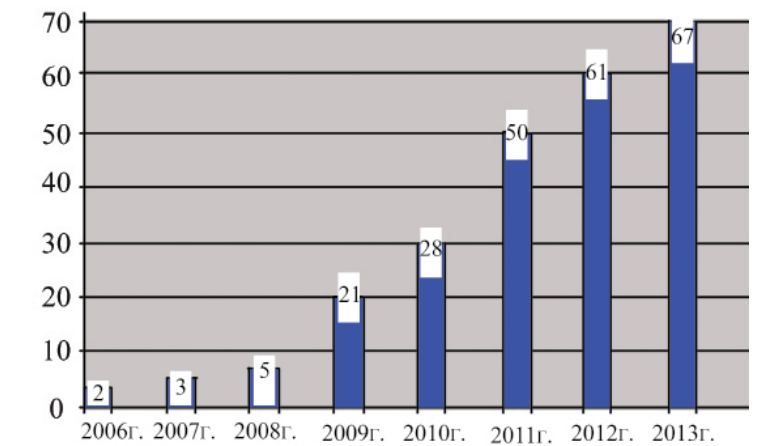


Рис. 1. Динамика роста количества свиноводческих хозяйств РФ, в которых обнаружен геном возбудителя актинобациллезной плевропневмонии свиней

Таблица 1. Серотиповой состав возбудителя актинобациллезной плевропневмонии свиней, обнаруженного в хозяйствах РФ с 2006 по 2013 гг.

№ п/п	Обозначение микроорганизма и его серотип	Количество неблагополучных хозяйств
1	<i>A. pleuropneumoniae</i> 2	15
2	<i>A. pleuropneumoniae</i> 3	2
3	<i>A. pleuropneumoniae</i> 5	16
4	<i>A. pleuropneumoniae</i> 6	4
5	<i>A. pleuropneumoniae</i> 7	7
6	<i>A. pleuropneumoniae</i> 8	1
7	<i>A. pleuropneumoniae</i> 9	3
8	<i>A. pleuropneumoniae</i> 10	4
9	<i>A. pleuropneumoniae</i> 12	1
10	<i>A. pleuropneumoniae</i> н/т	17
	Всего:	70

н/т – не типизируемый

Клинически АПП проявляется респираторным синдромом и протекает в сверхострой, острой, подострой и хронической формах и иногда можно наблюдать все четыре формы течения болезни.

Сверхострое течение болезни чаще наблюдают у молодняка 35-120-суточного возраста. У животных регистрируют повышение температуры тела до 41,5-42,0 °С. Животные отказываются от корма, угнетены, лежат, дыхание затрудненное с хрипами. Отмечают цианоз кожи ушных раковин, пяткачка, грудной и брюшной стенки. У некоторых животных появляются диарея и рвота. Смерть животных наступает в течение 6-24 часов после появления первых клинических признаков. Незадолго до гибели поросят из носовых отверстий и ротовой полости отмечают выделение пенистой кровянистой жидкости. Трупы свиней, павших при сверхостром и остром течении, имеют хорошую упитанность. Кожные покровы в области подгрудка, живота и ушей багрово-красного и темно-фиолетового цвета. При патологоанатомическом вскрытии поросят обнаруживают геморрагическое воспаление легких с отеком интерстициальной соединительной ткани, а также геморрагическое воспаление бронхиальных и средостенных лимфатических узлов.

Острая форма болезни длится 2-5 суток. Температура тела животного повышается до 41,0 °С и выше, дыхание учащенное с хрипами, появляется кашель. Из носовых отверстий выделяются серозно-слизистые и кровянистые истечения. Кожа ушей, подгруд-

ка, нижней стенки живота синюшна. В грудной полости часто обнаруживают от 50 до 500 мл геморрагического экссудата, иногда с хлопьями и нитями фибрина.

Подострое течение болезни характеризуется ремитирующей лихорадкой, снижением аппетита; больные животные отстают в росте. Болезнь длится 6-15 сут. На вскрытии у павших животных регистрируют фибринозно-геморрагическую или гнойно-геморрагическую пневмонию, фибринозный плеврит и перикардит.

Хроническое течение болезни характеризуется периодическим кратковременным повышением температуры тела; животные кашляют, отстают в росте и развитии. При осложнении болезни секундарной микрофлорой наблюдают гибель свиней. Выздоровевшие животные остаются заморышами и остаются бактерионосителями. У павших свиней наблюдают гнойно-некротическое очаговое воспаление легких и фибринозный плеврит.

Диагноз на АПП ставится на основании комплекса исследований: эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований.

В настоящее время лабораторная диагностика АПП проводится с помощью бактериологического, молекулярно-биологического и серологического методов [7].

A. pleuropneumoniae достаточно легко выделить из легких от вынужденно убитых больных или павших от острой/подострой формы течения заболевания животных, определить серотип и чувствительность

Таблица 2. Чувствительность полевых изолятов *A. pleuropneumoniae* к антибактериальным препаратам

№ п/п	Антибактериальный препарат	Содержание активного вещества в диске, мкг	Номер изолята и зона подавления его роста, мм				
			1	2	3	4	5
1	Бензилпенициллин	6 (10 Ед)	20	21	17	13	11
2	Ампициллин	10	28	23	19	16	14
3	Амоксициллин	2	14	18	20	14	12
4	Амоксиклав	20/10	26	25	27	26	24
5	Окситетрациклин	30	9	14	12	13	12
6	Доксициклин	30	9	15	13	14	12
7	Триметоприм с сульфаметоксазолом	1,25/23,75	12	25	28	12	15
8	Гентамицин	10	14	15	15	15	11
9	Эритромицин	15	15	18	14	12	12
10	Азитромицин	15	14	25	22	16	12
11	Левомецетин	30	27	21	24	20	21
12	Котримоксазол	25	12	22	24	12	14
13	Офлоксацин	5	23	10	31	25	18
14	Норфлоксацин	10	22	10	30	28	20
15	Энроксил	5	21	6	26	29	18
16	Левифлоксацин	5	23	10	24	26	18
17	Флюмеквин	30	21	13	23	21	20
18	Флорон	30	27	26	30	25	26

Диаметр зоны задержки роста 21 и более – микроорганизм высокочувствителен; зона 16–20 – умеренно чувствителен; зона 11–15 – слабочувствителен; зона ≤10 – устойчив.



Рис. 2. Выделение пенистой кровянистой жидкости из носовых отверстий.

выделенной культуры к антибактериальным препаратам. Изоляция возбудителя при бессимптомном бактерионосительстве может быть затруднена по причине контаминации миндалин комменсальной микрофлорой, населяющей верхние дыхательные пути, включая такие непатогенные виды бактерий рода *Actinobacillus*, как *A. minor*, *A. porcinus*, *A. indolicus* и другие.

ПЦР широко используется для выявления животных с клинической и скрытой формой заболевания, а также бактерионосителей. Данный метод может с успехом применяться в проведении скрининговых исследований, как альтернатива выделению микроорганизма, с очень высокой чувствительностью и специфичностью.

При появлении подозрения на наличие в стаде АПП необходимо принять срочные меры по установлению точного диагноза. Если для проведения ПЦР-исследования время отбора проб и режим доставки материала в лабораторию на качество результатов особенно не влияют, то для успешной бактериологической диагностики необходимо соблюдать ряд нюансов:

а) отбирают материал от павших животных не позднее 4-6 часов после смерти или от вынужденно убитых животных в начале заболевания;

б) материалом для исследования являются: кровь из сердца, экссудат из плевральной полости, кусочки пораженных легких, средостенные и бронхиальные лимфатические узлы;

в) материал отправляют в лабораторию срочно, без его консервирования, допускается однократное замораживание.

При постановке диагноза хозяйство объявляют неблагополучным и проводят ряд мероприятий в зависимости от установленного серотипа возбудителя и эпизоотической ситуации:

- ограничивают ввод и вывод из него животных, а также перегруппировки внутри хозяйства, вывоз кормов и предметов ухода;

- всех животных, за исключением больных и подозреваемых в заболевании, вакцинируют против АПП

в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемой вакцине;

- больных и подозреваемых в заболевании удаляют из стада и лечат, используя антибиотики, сульфаниламиды и другие противомикробные препараты, предварительно определив чувствительность выделенного возбудителя к антибактериальным препаратам.

При исследовании патологического материала от свиней на АПП в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2013 году использовали ПЦР для индикации возбудителя и его типовой идентификации, а также бактериологическое исследование с определением чувствительности выделенных культур к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом. За указанный период было выделено и изучено пять изолятов возбудителя, принадлежащих к 5, 7 и 9 серотипам *A. pleuropneumoniae* (табл. 2).

Как видно из данных табл. 2, чувствительность полевых изолятов к отдельным антибиотикам несколько отличается. Высокоактивными по отношению ко всем 5 изолятам *A. pleuropneumoniae* оказались только амоксиклав, левомецетин (хлорамфеникол) и флорон (флорфеникол).

Антибиотики группы фторхинолонов проявляли высокую активность только в отношении четырех изолятов. Варьирующую активность наблюдали у бензилпенициллина, ампициллина, амоксициллина, триметоприма с сульфаметоксазолом, азитромицина и котримоксазола. Слабая активность наблюдалась у всех изолятов возбудителя к окситетрациклину, доксициклину, гентамицину и эритромицину.

Несмотря на высокую чувствительность культур возбудителя к большой группе антибиотиков, лечебные мероприятия не всегда дают хорошие результаты. Эффективность антибиотикотерапии зачастую варьирует в различных хозяйствах. Это лишний раз подчеркивает необходимость определения чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам в каждом конкретном хозяйстве.

Терапевтическое действие лекарственных препаратов во многом зависит от стадии болезни, в которой



Рис. 3. Геморрагическая пневмония



Рис. 4. Геморрагический экссудат в грудной полости



Рис. 5. Фибринозный плеврит

они применяются. Так, при наличии обширных некротических очагов в легочной ткани результативность антибиотикотерапии незначительная. При сверхостром и остром течении болезни лечение эффективно только на ранних ее стадиях. В связи с этим необходим повседневный тщательный контроль за состоянием поголовья неблагополучных ферм. В крупных свиноводческих хозяйствах промышленного типа это осуществлять трудно. В данном случае положительный результат достигается преимущественно при профилактических обработках животных неблагополучных групп в целом. Очень часто в хозяйствах с профилактической и лечебной целями используется введение в корм антибиотиков тетрациклиновой группы, однако предупредить и купировать болезнь таким способом не всегда удается, особенно если возбудитель

проявляет к ним слабую чувствительность. Безуспешными также оказываются попытки дачи антибиотиков с кормом с целью санации бактерионосителей.

При использовании антибактериальных препаратов следует помнить, что длительное, бесконтрольное применение противомикробных средств снижает их терапевтическую эффективность и приводит к появлению устойчивых к ним форм микроорганизмов. Антибактериальные препараты в зависимости от их химико-фармакологической характеристики всегда должны назначаться курсом согласно действующим инструкциям по их применению.

Комплектование свинокомплексов животными, свободными от возбудителя АПП, будет неэффективным, если для молодняка не будут созданы условия для сохранения этого статуса. С другой стороны, мероприятия, проводимые на свинокомплексах (свинофермах), дадут мало пользы, если завозимое поголовье уже инфицировано АПП. Вновь завозимых животных необходимо размещать в карантинном отделении на 30 сут., а поступающих по импорту — на 60 дней. За время пребывания животных на карантине проводят серологические исследования на наличие антител к токсину АрхIV и подвергают клиническому осмотру. После окончания карантина и перевода серонегативных животных в производственные помещения в первые шесть месяцев их подвергают каждые 30 сут. тщательному клиническому осмотру.

Мероприятия по профилактике АПП должны быть направлены против всех звеньев эпизоотической цепи. Прежде всего это недопущение заноса в хозяйство возбудителя инфекции, особенно на фермы с промышленной технологией. Приобретать животных на стадии первичной комплектации основного поголовья стада и в дальнейшем необходимо из хозяйств, благополучных по АПП. Однако нужно иметь в виду, что в стадах, где возбудитель циркулирует длительное время, создается определенного уровня специфический стадный иммунитет, поэтому выраженные клинические признаки и патологоанатомические изменения при этом могут отсутствовать, хотя животные-бактерионосители в хозяйстве имеются. Самыми опасными источниками возбудителя являются животные-реконвалесценты и находящиеся в инкубационном периоде. Длительность бактерионосительства при АПП не определена. Указанное обстоятельство свидетельствует об актуальности проведения серологических исследований на наличие антител к токсину АрхIV.

Иммунопрофилактика АПП осуществляется вакцинами различных составов, по различным схемам. Для специфической профилактики обычно используют инактивированные вакцины, содержащие в своем составе цельные бактериальные клетки (бактерин), цельные клетки с добавлением анатоксинов (бактерин-токсоидные) или компоненты клеток с добавлением анатоксинов (субъединичные). Наличие анатоксинов в составе любой вакцины против АПП делает ее более эффективной и универсальной. Одним из существенных недостатков бактеринов являются сопутствующие серьезные поствакцинальные реакции. Кроме того, результатом иммунизации свиней вакцинами такого типа является, прежде всего, антительный ответ, направленный против липополисахаридов, которые являются специфическими для определенного серотипа *A. pleuropneumoniae* и, следовательно, не являются защитными против другого серотипа. Существующие живые вакцины против АПП также не лишены недо-

статков, связанных с риском реверсии штаммов и, следовательно, с возможностью развития заболевания у привитых животных.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработана универсальная субъединичная вакцина против всех известных серотипов возбудителя АПП, где в качестве антигенов использованы анатоксины АрхI, АрхII, АрхIII и белки внешней мембраны возбудителя. Препарат в настоящее время успешно проходит широкие производственные испытания в ряде свиноводческих хозяйств РФ. Для обеспечения продолжительного напряженного иммунитета вакцина имеет форму множественной эмульсии на основе масляного адъюванта Montanide ISA206, рекомендованного фирмой Seppic (Франция) для использования в свиноводстве.

Высокий профилактический эффект от использования вакцин против АПП удается получить только при сочетании иммунизации как маточного поголовья, так и молодняка, особенно при «ранней» форме заболевания поросят. В данном случае вакцинация только поросят не даст высокого положительного результата. Вакцинация свиноматок позволит не только защитить поросят от заболевания до 60-сут. возраста посредством материнских иммуноглобулинов, но и создать относительно ровный иммунный статус поросят в стаде. В то же время вакцинация супоросных свиноматок в последующем не исключает вакцинации поросят.

Сроки вакцинации поросят против АПП в каждом конкретном хозяйстве могут быть различны в зависимости от времени появления клинических признаков заболевания в стаде, но, как показывает опыт, начинать иммунизацию молодняка раньше 7-недельного возраста не стоит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение необходимо отметить, что в последние годы в Российской Федерации наблюдается увеличение числа хозяйств, неблагополучных по актинобациллезной плевропневмонии свиней. В свиноводческих хозяйствах нашей страны циркулируют различные сероварианты *A. pleuropneumoniae* со своим спектром чувствительности к антибактериальным

препаратам. Особого внимания заслуживает факт распространения высоковирулентного 5-го серотипа, что влечет за собой большой экономический ущерб для отрасли.

Основное условие для эффективной борьбы с актинобациллезной плевропневмонией свиней – это своевременный и точно поставленный диагноз с установлением серотипа возбудителя. Как показывает опыт специалистов зарубежных стран и наши наблюдения, борьба с АПП в крупных свиноводческих хозяйствах представляет сложную, но решаемую проблему.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Временные методические указания по лабораторной диагностике гемофильной плевропневмонии свиней: утв. ГУВ МСХ СССР 16 апреля 1981 №115-6а.
2. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2.1890-04, утв. главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 04 марта 2004 г.// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – М., 2004, – Т.6. – С. 306–359.
3. Тимина А.М., Бирюченкова М.В., Щербаков А.В. Генодиагностика актинобациллезной плевропневмонии свиней // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. – Владимир, 2010. – Т. 8. – С. 114–122.
4. Blackall P.J., Klaasen H., Van Den Bosch H. Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15 // *Veterinary Microbiology*. – 2002. – Vol.84. №1–2. – P. 47–52.
5. Diseases of Swine / ed. B. E. Straw [et al.]. – 8th ed. – Ames, Iowa, 1999. – P. 343–354.
6. Frey J. Virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* and the RTX toxins / *Trends in Micro*. – 1995. – Vol. 3. – P. 257–261.
7. *Actinobacillus pleuropneumoniae* // Diseases of Swine / ed. B.E. Straw [et al.]. – 9th ed. – Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2006. – P. 563–576.
8. Gottschalk M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes, pathogenicity and virulence // American Association of Swine Veterinarians, 2007. – P. 381–384.

ACTINOBACILLOSIS PLEUROPNEUMONIA (APP): DIAGNOSIS, PREVENTION AND CONTROL MEASURES

A.V. Potekhin¹, V.F. Kovalishin²

¹Leading researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: potekhin@arriah.ru

²Leading researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir

SUMMARY

Spread of actinobacillosis pleuropneumonia in pigs in the territory of the Russian Federation from 2006 to 2013 was analyzed. Serotype 5 (23.8%) and serotype 2 (22.3%) were highly prevalent. In 2013 five agent isolates belonging to serotypes 5, 7 and 9 were recovered from pathological material. Amoxiclav, chloramphenicol and florfenicol demonstrated high activity towards all the isolates. Fluroquinolones were highly active towards only four isolates. Weak sensitivity to gentamycin, erythromycin and tetracyclines was observed in all agent isolates

A universal split vaccine against all known serotypes of actinobacillosis pleuropneumonia in which anatoxins ApxI, ApxII, ApxIII and the agent outer membrane proteins were used as antigens was developed in the FGBI ARRIAH. The preparation is widely tested on several pig farms of the Russian Federation now with successful results.

Key words: actinobacillosis pleuropneumonia in pigs, serotypes, toxins, antibiotics, vaccines.

INTRODUCTION

Actinobacillosis pleuropneumonia in pigs (APP) is an infectious contagious disease characterized by hemorrhagic, fibrinous hemorrhagic and purulonecrotic pneumonia as well as by serofibrinous pleuritis, pericarditis and arthritis. The disease agent is *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) bacteria [5, 6, 7].

A. pleuropneumoniae exhibit a marked tropism for porcine respiratory tract. Pigs of all ages are susceptible to the disease, but 2-6 month aged piglets are most susceptible. Such factors as a high density of population and unsatisfactory microclimate play an important role in the disease spread. Reconvalescent pigs acquire serotype-specific immunity but may remain subclinical agent carriers for a long time.

The main factors of *A. pleuropneumoniae* pathogenicity are: capsular polysaccharides, lipopolysaccharides, outer membrane transferring-binding proteins and Apx toxins [6].

Antigenic structure of the agent is complicated and varied. There are 15 serotypes of the agent distinguished by the capsular antigen; their virulence depends on the capsule structure, lipopolysaccharide set and toxigenicity.

All serotypes of the agent produce four types of exotoxins in different combinations: ApxI, ApxII, ApxIII and ApxIV. ApxI is responsible for strong hemolytic and cytotoxic properties of bacteria and is expressed by serotypes 1, 5, 9, 10, 11 and 14. ApxII has moderate hemolytic and cytotoxic properties and is produced by all serotypes other than 10 and 14. ApxIII is a very weak cytotoxin but not a hemolysine and is produced by serotypes 2, 3, 4, 6, 7, 8 and 12. ApxIV is a weak hemolysine produced by all serotypes of the agent in vivo, and that distinguishes it significantly from other (non-pathogenic) *Actinobacillus* species. ELISA is used to determine APP status in a herd which is targeted at the detection of specific antibodies to Apx IV toxin in porcine sera. Serotypes 1, 5, 9, 10 and 11 are highly virulent; 2, 4, 6, 7 and 8 are of moderate virulence; 3 and 12 are low virulent. *A. pleuropneumoniae* classification by the types of produced toxins is extremely important for the disease pathogenesis interpretation and selection of strains for vaccine production [8].

The epizootological analysis of the disease is based on the serotyping of the agent. The geographic spread of different *A. pleuropneumoniae* serotypes and their prevalence varies a lot in different countries. Serotypes 1, 5 and 7 are mostly widespread in the USA and Canada; 2 and 9 in Europe and a recently described serotype 15 is one of the most spread ones in Australia [4, 8].

National literature gives a rather poor presentation of the issues related to APP bacteriological diagnosis. Besides, there is a lack of data about spread and agent serovariant profile in the territory of the Russian Federation.

The aim of this paper is to determine APP spread scale in the territory of the Russian Federation as well as to give recommendations concerning major measures aimed at the disease prevention and control.

MATERIALS AND METHODS

Pathological material. Fresh or frozen pieces of lungs from pigs with respiratory pathologies were used.

APP laboratory diagnosis. Polymerase chain reaction (PCR) was used for indication and type identification of APP agent in pathological material. *A. pleuropneumoniae* was isolated using bacteriological method in accordance with temporary "Methodical Guidelines for Laboratory Diagnosis of Hemophilic Pleuropneumonia of pigs" [1].

Determination of sensitivity to antibiotics. Sensitivity of APP agent to antibiotics was determined using disc diffusion test in accordance with "Methodical Guidelines to Determine Sensitivity to Antibiotics" [2].

RESULTS AND DISCUSSION

Currently a wide spectrum of *A. pleuropneumoniae* serotypes is present in the territory of the Russian Federation; it includes serotypes 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 and 12. A tendency towards increase in number of APP affected farms also stands out. If in 2006 the disease was detected only on 2 farms and in 2009 on 21 farms, then in 2013 APP was confirmed on as many as 67 farms (see Figure 1). A sharp increase in the number of APP affected farms can be mainly attributed to two factors. First of all, many APP seropositive breeding pigs were imported into the RF from Western Europe and Canada in the last years and it should be taken into account that the disease is not included into the list of diseases which pigs imported into the RF should be free from according to veterinary requirements. With the use of such pigs many pig farms were established and some previously existed farms replaced their populations partly or completely. The most part of the farms where APP was detected belonged to one of these two categories. The second reason for APP spread is trading operations between Russian farms: many "old" pig farms purchase APP seropositive replacement pigs from "new" farms populated with imported breeding animals [3].

Currently the disease is registered not only on commercial but also on breeding farms. The disease is manifested as outbreaks of hemorrhagic, necrotising pneumonia or proceeds in the form of subclinical infection.

The serotype picture of the agent has also undergone certain changes. However, serotypes 2 and 5 of *A. pleuropneumoniae* are still the mostly often registered ones (Table 1).

Clinically APP manifests as a respiratory syndrome and may have peracute, acute, subacute and chronic forms and sometimes all four forms altogether.

Peracute form is most commonly observed in young animals of 35 – 120 days of age. Increase in body temperature up to 41.5–42.0 °C is registered. Animals demonstrate loss of appetite, depression, they lie and have obvious breath difficulties. Cyanotic skin of an external ear, snout, abdominal and chest wall is observed. Some animals suffer from diarrhea and vomiting. Animals die within 6 – 24 hours of showing clinical signs. Shortly before death piglets show a bloodstained frothy discharge from the nose and mouth. Carcasses of pigs died of peracute and acute forms of the disease look corpulent. Skin of jowl, abdomen and ears is purple red or dark purple. Post-mortem examination reveals hemorrhagic inflammation of lungs with interstitial tissue edema and inflammation of bronchial and mediastinal lymph nodes.

Acute form of the disease lasts for 2 – 5 days. Animals develop fever up to 41.0 °C and higher, demonstrate panting and coughing. Pigs suffer from sero-mucous and bloody discharge from nostrils. Skin of ears, jowl and lower abdomen is cyanotic. 50 – 500 ml of hemorrhagic exudates sometimes with flakes and fibrin fibers are often found in the chest cavity.

Subacute form of the disease is characterized by remittent fever and loss of appetite; sick animals are growth retarded. The disease lasts for 6 – 15 days. The post-mortem examination reveals fibrinous hemorrhagic

Table 1. APP serotype profile on RF pig farms in 2006 – 2013

No.	Microorganism and its serotype	Number of affected farms
1	<i>A. pleuropneumoniae</i> 2	15
2	<i>A. pleuropneumoniae</i> 3	2
3	<i>A. pleuropneumoniae</i> 5	16
4	<i>A. pleuropneumoniae</i> 6	4
5	<i>A. pleuropneumoniae</i> 7	7
6	<i>A. pleuropneumoniae</i> 8	1
7	<i>A. pleuropneumoniae</i> 9	3
8	<i>A. pleuropneumoniae</i> 10	4
9	<i>A. pleuropneumoniae</i> 12	1
10	<i>A. pleuropneumoniae</i> n/t	17
	In total	70

n/t- non-typed

or purulous hemorrhagic pneumonia, fibrinous pleurisy and pericarditis.

Chronic form of the disease is characterized by periodic transient fevers; animals cough, and are growth and development retarded. In case of complications caused by secondary microflora pigs die. Convalescent animals remain weakened and bacteria carriers. Dead animals show purulous necrotic local inflammation in lungs and fibrinous pleurisy.

APP diagnosis is based on a set of data like epizootological information, clinical signs, post-mortem lesions and laboratory testing.

Currently laboratory diagnosis for APP is carried out using bacteriological, molecular biological and serological methods [7].

It is rather easy to isolate *A. pleuropneumoniae* from lungs of emergency slaughtered affected or dead animals died of acute/subacute forms of the disease, to determine its serotype and sensitivity of recovered culture to antibiotics. The isolation of the agent from asymptomatic carriers may be difficult due to contamination of glands with commensal microflora inhabiting upper respiratory tract including such non-pathogenic *Actinobacillus* bacteria as *A. minor*, *A. porcinus*, *A. indolicus* etc.

PCR is widely used for identification of animals with clinical and latent forms of the disease as well as bacterial carriers. This method can be successfully used for

screening tests at a very high sensitivity and specificity as an alternative to the microorganism isolation.

In case of APP suspicion in the herd it is necessary to take urgent measures aimed at clear diagnosis. And if in case of PCR the sampling time and mode of transportation to the laboratory do not essentially affect the quality of the results then for successful bacteriological diagnosis the following several aspects should be taken into account:

a) material is collected from dead animals not later than 4-6 hours post death or from emergency slaughtered animals during the onset of the disease;

b) tested materials are: blood from heart, exudates from pleural cavity, pieces of affected lungs, bronchial and mediastinal lymph nodes;

c) sample is immediately sent to the laboratory, it is not preserved, single freezing is admitted.

If the disease is diagnosed, the farm is declared affected and corresponding measures are taken according to the detected serotype and the whole epizootic situation;

- Restrictions are imposed on entry of animals into the farm and their exit out of the farm, regrouping of animals within the farm and transportation of feed and care items out of the farm shall be also restricted;

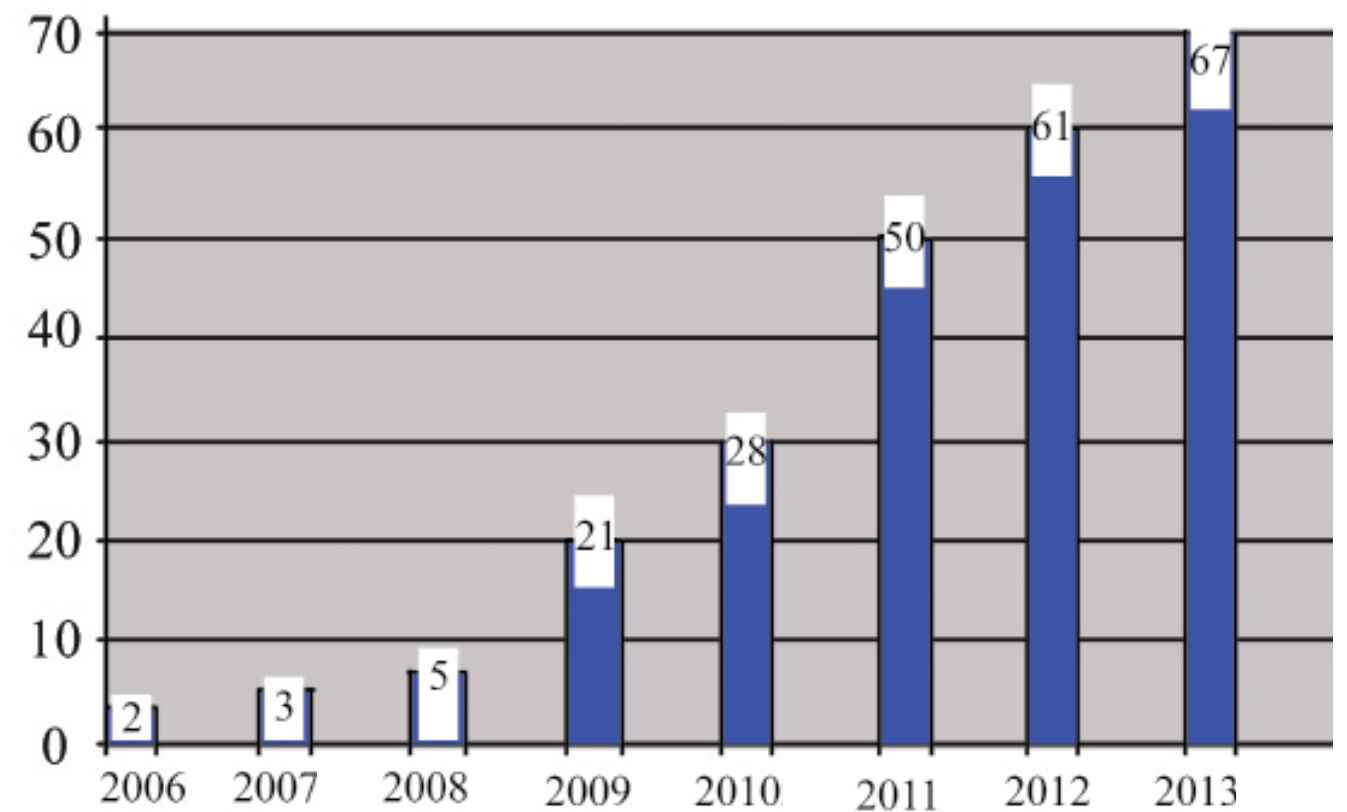
- All the animals except for the diseased and suspect ones are vaccinated against APP in compliance with the insert attached to the used vaccine;

- The diseased and suspect animals are taken out of the

Table 2. Sensitivity of *A. pleuropneumoniae* Field Isolates to Antibacterial Preparations

No.	Antibacterial drug	Active material content in the disk, µg	Isolate number and isolate growth inhibition zone, mm				
			1	2	3	4	5
1	Benzylpenicillin	6 (10 units)	20	21	17	13	11
2	Ampicillin	10	28	23	19	16	14
3	Amoxicillin	2	14	18	20	14	12
4	Amoxiclav	20/10	26	25	27	26	24
5	Oxytetracycline	30	9	14	12	13	12
6	Doxycycline	30	9	15	13	14	12
7	Sulfamethoxazole and trimethoprim combination	1,25/23,75	12	25	28	12	15
8	Gentamycin	10	14	15	15	15	11
9	Erythromycin	15	15	18	14	12	12
10	Azithromycin	15	14	25	22	16	12
11	Chloramphenicol	30	27	21	24	20	21
12	Co-trimoxazole	25	12	22	24	12	14
13	Ofloxacin	5	23	10	31	25	18
14	Norfloracin	10	22	10	30	28	20
15	Enroxil	5	21	6	26	29	18
16	Levofloxacin	5	23	10	24	26	18
17	Flumecvin	30	21	13	23	21	20
18	Floron	30	27	26	30	25	26

Diameter of the isolate growth inhibition zone - 21 and more – the microorganism is highly sensitive; 16-20 – moderately sensitive; 11- 15 - poorly sensitive; ≤ 10 – stable.



herd and treated with antibiotics, sulfanilamides and other antimicrobial drugs; sensitivity of the recovered agent to the antibacterial drugs is preliminarily determined.

The FGBI ARRIAH used PCR to test samples of pathological material for APP in 2013 to indicate the agent and identify its type; bacterial tests were carried out and sensitivity of the recovered cultures to antibacterial drugs was determined using disk diffusion test.

Five isolates belonging to *A. pleuropneumoniae* serotypes 5, 7 and 9 (Table 2) were isolated and studied.

Based on Table 2 sensitivity of field isolates to some antibiotics differs. Only amoxiclav, chloramphenicol and floron turned out to be highly active in relation to all the 5 *A. pleuropneumoniae* isolates. Varying activity is observed in benzylpenicillin, ampicillin, amoxicillin, sulfamethoxazole and trimethoprim combination, azithromycin, co-trimoxazole. Poor activity was observed in all the isolates to oxytetracycline, doxycycline, gentamycin, erythromycin. Despite high sensitivity of the agent cultures to a great group of antibiotics, treatment is not always effective. Effectiveness of antibiotic treatment varies on different farms. It demonstrates once again the necessity to determine agent sensitivity to antibacterial preparations on every individual farm.

Therapeutic effect of the drugs mostly depends on the disease stage when the drug is used, i.e. in case of gross necrotic lesions in lungs effectiveness of antibiotic treatment is insignificant. In case of peracute and acute disease form, the treatment is effective only at early stages. Therefore, thorough daily control of herd status on the affected farms is required. It is rather difficult to ensure this type of control on large commercial pig farms. Success can be achieved mostly if prophylactic treatment is provided for animals from affected groups. Introduction of tetracycline antibiotics into the feed is pretty often used on the farms for prophylaxis and treatment, however, it is

Fig. 1. Dynamics of increase in number of RF pig farms where actinobacillosis pleuropneumonia agent genome was found

not always possible to prevent or contain the disease in such a way, especially if the agent demonstrates poor sensitivity to them. Attempts to give antibiotics with feeds in order to sanitize bacteria carries have also failed.

When antibiotics are used, it shall be borne in mind that therapeutic effects of antibiotic treatment are negated, if antibiotics are used uncontrollably and for a long time. Finally such treatment results in occurrence of new antibiotic-resistant microorganisms. Depending on chemical and pharmacological properties of the antibiotic preparations, they shall be always prescribed in a course in accordance with the current drug package insert.

It is not effective to bring APP-free animals to the pig farms if no conditions are provided to retain the status of freedom for the young animals. On the other hand, the measures taken on the pig farms will be of little use, if the animals brought into the farms are already APP –affected. Newly brought animals shall stay in a quarantine pen for 30 days and the imported ones shall be kept there for 60 days. During the quarantine serological tests are carried out to detect antibodies for ApxIV toxin and the animals are clinically examined. When the quarantine is over and seronegative animals are brought to the production area, the animals shall go through clinical examination every 30 days during the first six months.

APP prophylactic measures shall be carried out at all the stages of the epizootic chain. Primarily, it is related to prevention of the infection introduction into the farm especially to the farms with manufacturing processes. Animals populating the basic herd shall be initially and further brought from the APP-free farms. However, it shall



Fig. 2. Bloody-foam nasal discharges



Fig. 3. Hemorrhagic pneumonia

be borne in mind that the herds where the agent has been circulating for a long time can develop the so-called specific herd immunity, therefore, clear clinical signs and post-mortem lesions can be absent, though, the bacteria-carriers can be still there on the farm. Reconvalescent animals and those in the incubation period are the most dangerous sources of infection. Duration of the bacteria-carrier state caused by APP is not determined. This fact is suggestive of urgency of the serological tests carried out for antibodies against ApxIV toxin.

Immune-prophylaxis against APP is carried out with the help of different vaccines and using different vaccination schemes. Inactivated vaccines containing whole bacterial

cells (bacterin), whole cells with anatoxins (bacterin-toxioids) or cell components with anatoxins (subunits) are mostly used for specific prophylaxis. Anatoxins make any vaccine against APP more effective and universal. Accompanying severe post vaccination reactions are one of the basic bacterin disadvantages. In addition to it, vaccination of pigs with vaccines of the type primarily results in antibody response against lipopolysaccharides specific to a certain *A. pleuropneumoniae* serotype and they are not protective against another serotype. The live vaccine against APP also has some disadvantages associated with the risk of strain back mutation and a possibility to infect vaccinated animals.

The FGBI «ARRIAH» developed a universal subunit vaccine against all the known APP serotypes where anatoxins ApxI, ApxII, ApxIII and proteins of the agent outer membranes can be used as antigens. The preparation is now successfully going through production trials on a number of RF pig farms. In order to ensure long-term strong immunity the vaccine shall be a multiple emulsion based on Montanide ISA206 oil adjuvant recommended by Seppic company (France) for pig production.

Vaccination against APP can successfully ensure prophylactic effect only when both breeding stock and the young pigs are vaccinated together; especially it is effective at the early stage of the disease in piglets. In case only piglets are vaccinated, no positive results can be achieved. Vaccination of sows will help not only to protect piglets from the disease before they are 60 days old, but also to achieve a relatively stable immune status in the piglet herd. At the same time vaccination of pregnant sows does not exclude vaccination of piglets.

Time intervals of the piglet vaccination on every individual farm can be different and depends on appearance of clinical signs in the herd, but as the experience shows it is not worth vaccinating the young animals before they are 7 weeks old.

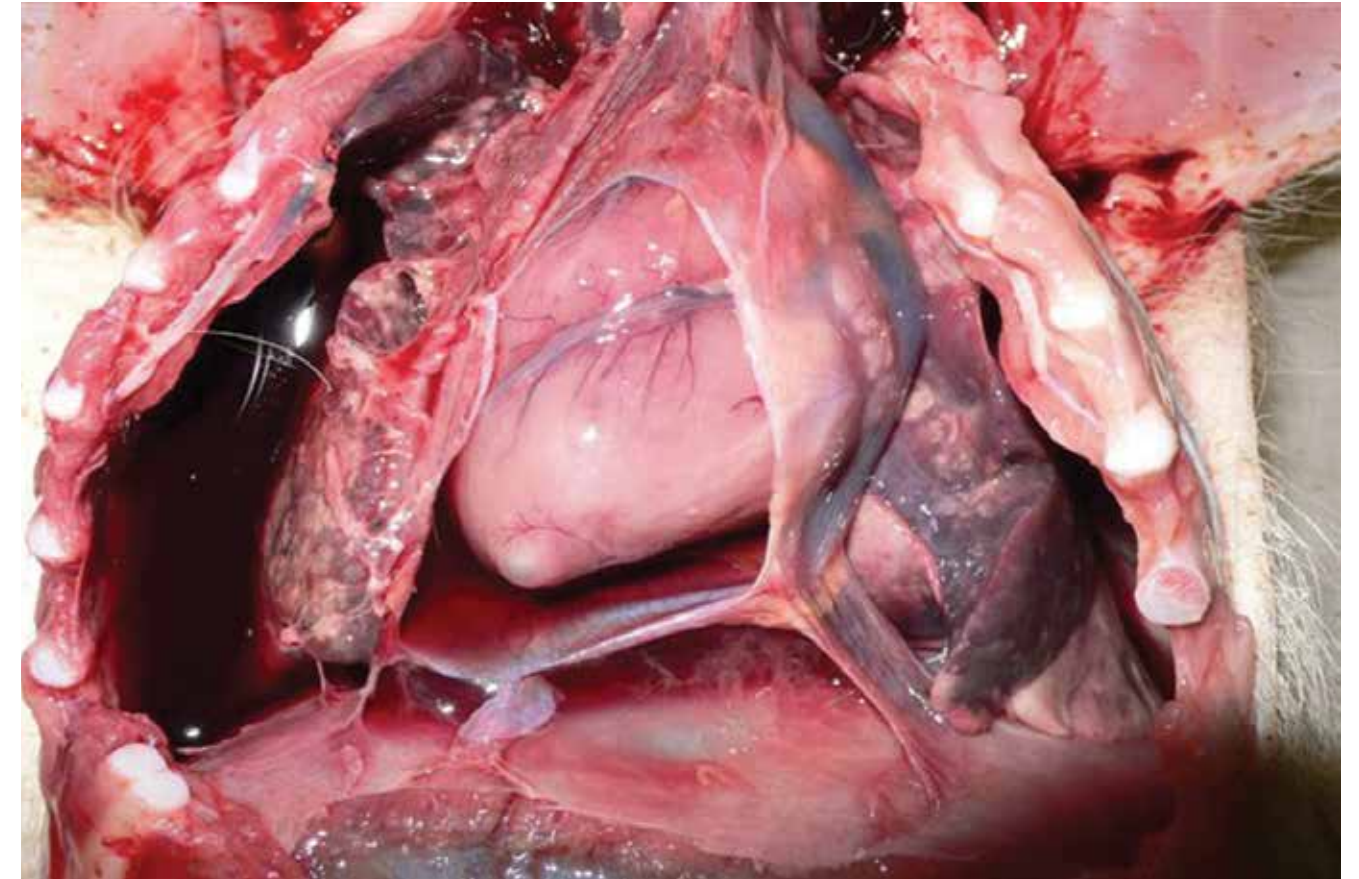


Fig. 4. Hemorrhagic exudates in the chest

CONCLUSIONS

It shall be concluded that the number of farms affected by *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) has been growing over the recent years in the Russian Federation. Different serovariants of *A. pleuropneumoniae* demonstrating their own specificity to antibacterial preparations are circulating now on the farms of our country. Special attention shall be paid to the spread of highly virulent serotype 5 causing gross economic damage for the whole industry.

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) can be effectively controlled if the disease is timely and accurately diagnosed and the agent serotype is determined. Foreign experience and our observations show APP control on large pig farms is a challenge but it can be coped with.

REFERENCES

1. Temporary guidelines for laboratory diagnosis of *Haemophilic Pleuropneumonia* in pigs: app. GU MoA USSR dd. 16.04. 1981 No. 115-6a.
2. Methodical guidelines to determine sensitivity of microorganisms to antibacterial preparations. MUK 4.2.1890-04, app. by the Chief State Medical Officer G.G. Onischenko on the 4th of March, 2004//Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy.- M., 2004, -Vol. 6. - p. 306-359.
3. Timina A.M., Biryuchenkova M.V., Scherbakov A.V. Gene diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* // Proceedings of the Federal Centre for Animal Health. - Vladimir, 2010. -vol. 8. - p. 114-122.
4. Blackall P.J., Klaasen H., Van Den Bosch H.. Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15 //Veterinary Microbiology. - 2002. - Vol.84. №1-2. - P. 47- 52.



Fig. 5. Fibrinous pleurisy

Diseases of Swine / ed. B. E. Straw [et al.]. - 8th ed. - Ames, Iowa, 1999. - P. 343 - 354.

5. Frey J. Virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* and the RTX toxins / Trends in Micro. - 1995. - Vol. 3. - P. 257- 261.

6. Gottschalk M., Taylor T. *Actinobacillus pleuropneumoniae* // Diseases of Swine / ed. B.E. Straw [et al.]. - 9th ed. - Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK, 2006. - P. 563 - 576.

7. Gottschalk M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes, pathogenicity and virulence // American Association of Swine Veterinarians, 2007. - P. 381- 384.

ОРТОБУНЬЯВИРУСЫ – ВАЖНЫЙ ФАКТОР ЭМЕРДЖЕНТНОСТИ ИНФЕКЦИЙ

В.В. Макаров¹, М.И. Гулюкин², О.И. Сухарев³

¹доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов, г. Москва, e-mail: vvm-39@mail.ru

²доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии, г. Москва

³доктор ветеринарных наук, Российский университет дружбы народов, г. Москва

РЕЗЮМЕ

В аналитической статье охарактеризованы систематика и таксономия ортобуньявирусов, к которым относятся малоизученные опасные и новые вирусы болезней Акабана, Айно, Шмалленберга, долины Кэш, лихорадки Оропуш, Икитос. Обсуждается значение реассортационного механизма их возникновения и разнообразия.

Ключевые слова: ортобуньявирусы, болезни Акабана, Айно, Шмалленберга, долины Кэш, лихорадки Оропуш, Икитос, реассортация.

ORTHOBUNYAVIRUSES – SIGNIFICANT FACTOR FOR INFECTION EMERGENCE

V.V. Makarov¹, M.I. Gulyukin², O.I. Sukharyov³

¹Doctor of Science (Biology), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, e-mail: vvm-39@mail.ru

²Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, RAS Academician, All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine, Moscow

³Doctor of Science (Veterinary Medicine), Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

SUMMARY

The analytic paper describes the system and taxonomy of orthobunyaviruses which include poorly investigated dangerous and new viruses of Akabane disease, Aino disease, Schmallenberg virus disease, Cache Valley virus disease, Oropouche fever and Iquitos virus disease. Significance of reassortation mechanism for their emergence and diversity is discussed.

Key words: orthobunyaviruses, Akabane disease, Aino disease, Schmallenberg virus disease, Cache Valley virus disease, Oropouche fever, Iquitos virus disease, reassortation.

ВВЕДЕНИЕ

Явление эмерджентности на рубеже миллениумов становится одной из важнейших проблем эпизоотологии и эпидемиологии. К настоящему времени категория новых, кардинально меняющих стереотипы и возвращающихся инфекций животных и человека, преимущественно полипатогенных зоонозов, насчитывает более 200 нозоединиц, пополняя и без того огромный перечень заразных болезней и патогенов минимум на одну десятую часть. Исходя из основной концепции наличия непредсказуемых зоонотических пулов в природе и изменений взаимосвязей и взаимоотношений в системах **хозяин – патоген – среда** как причины возникновения явления, следует и в дальнейшем предполагать рост его значимости.

В числе прочего этому способствуют разноплановые аспекты техногенной и социальной человеческой деятельности в глобальном масштабе, в результате которой возникают различные комбинации кофакторов синергирующего порядка, таких как драматический рост перемещений людей и коммерческой активности, изменение жизненных стандартов во взаимоотношениях человек–животные (вплоть до социальных аномалий и зоомании), экологические трансформации, безудержная гуманизация природы и урбанизация, увеличение производства продуктов животного происхождения. Вследствие этого все чаще возникают ситуации, когда именно человеческий фактор становится первостепенной движущей силой эпизоотических процессов, а эмерджентность инфекций – в буквальном смысле «рукотворной».

Например, особо значимой безусловно явится реализация в ближайшее десятилетие глобальных программ типа «Революции в скотоводстве» («Livestock revolution») путем создания в относительной близости от Российской Федерации и ЕС так называемого Евразийского коридора жвачных (Eurasian ruminant street) от Восточно-Средиземноморского бассейна до Центральной Азии, включая территории Турции, Ирана, Пакистана, Афганистана, Аравийского полуострова. При этом неизбежное увеличение животного населения будет создавать беспрецедентные условия инкубации эмерджентных патогенов, опасных как для животных, так и человека, и потребует особого внимания науки и практики.

Приблизительно треть из общего числа эмерджентных болезней приходится на инфекции, вызываемые трансмиссивными вирусами. Впечатляющим примером является масштабная экспансия типично тропической инфекции жвачных – блютанга начиная с 1998 г. на неэндемичной территории юга и северо-запада Европы с формированием новых пространственно-временных типологических эпистем и возникновение там же неизвестной ранее науке болезни Шмалленберга, объясняемые тотальным потеплением [1, 2].

В настоящей статье анализируются некоторые вопросы, связанные с особой ролью в контексте обсуждаемой проблемы представителей рода *Orthobunyavirus*.

СИСТЕМАТИКА И ТАКСОНОМИЯ

Ортобуньявирусы – один из пяти родов семейства *Bunyaviridae*. За исключением хантавирусов, остальные представители семейства являются арбовирусами, передающимися членистоногими насекомыми и клещами. Буньявирусы – самая многочисленная группа возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций, многие из которых имеют весьма серьезное значение в инфекционной патологии

Таблица 1. Зооантропогенные ортобуньявирусы: серогруппы, виды, вирусы, векторы [4, 5]

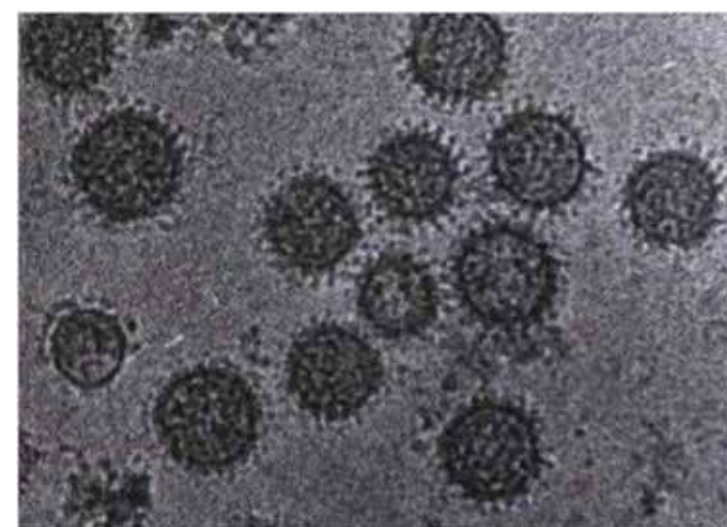
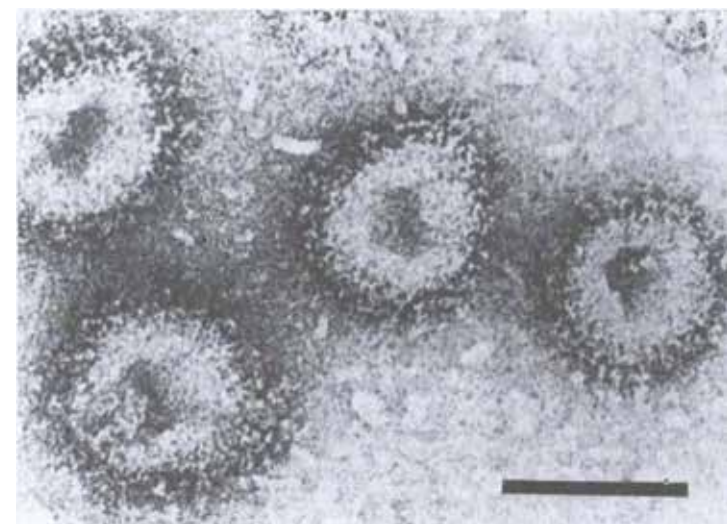
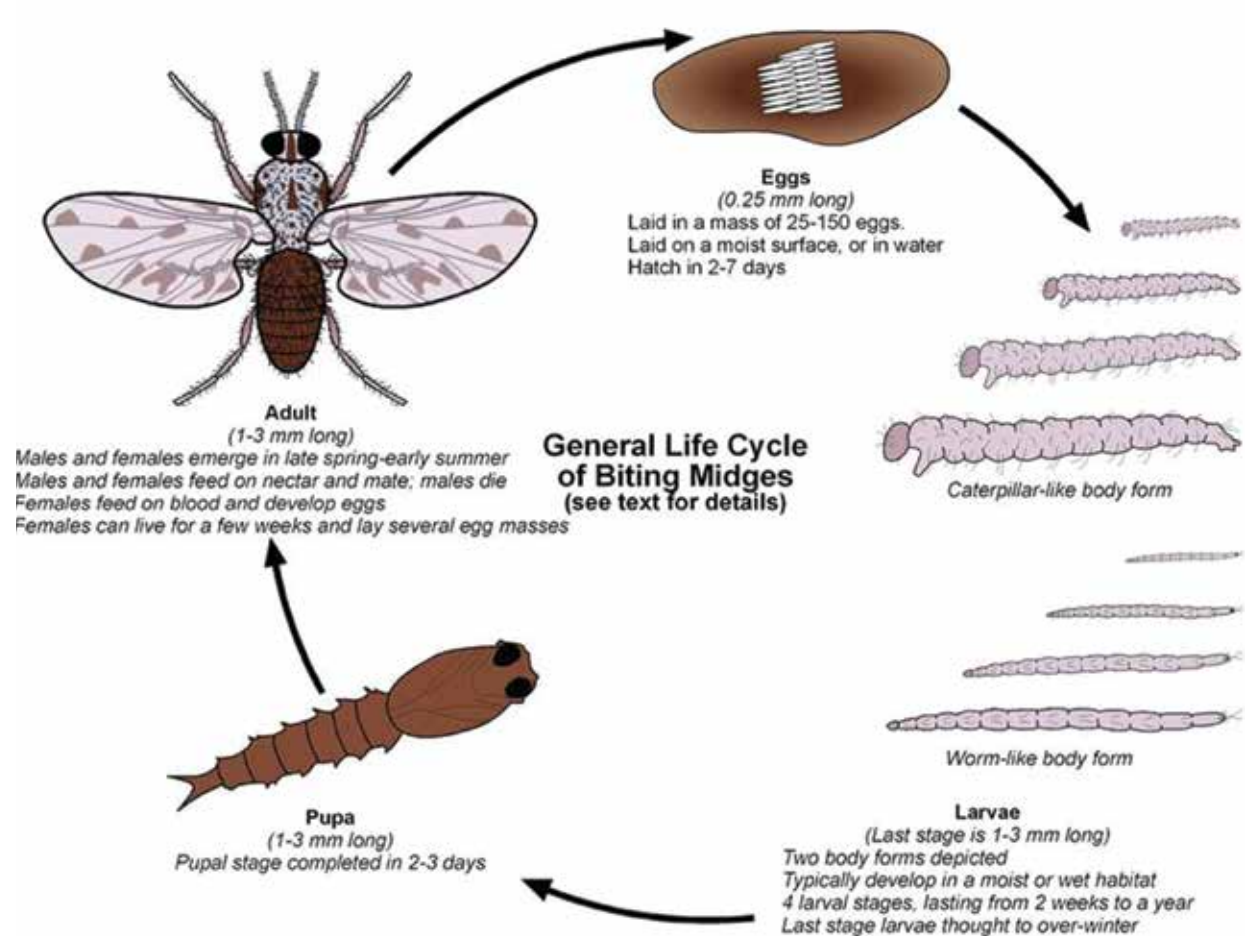
Серогруппы	Виды (<i>virus</i>), серокомплексы (комплекс)	Изоляты, штаммы	Векторы
Simbu	Akabane	Akabane	мокрецы, комары
		Sabo	мокрецы
		Tinaroo	мокрецы
	Manzanilla	Buttonwillow	мокрецы
	Oropouche	Ikitos	мокрецы
		Oropouche	мокрецы, комары
	Sathuperi	Duglas	мокрецы
		Sathuperi	мокрецы, комары
	Shamonda	Peaton	мокрецы
		Shamonda	мокрецы, комары
Shuni	Aino	мокрецы, комары	
	Shuni	мокрецы, комары	
Simbu	Shmallenberg	мокрецы	
	Simbu	мокрецы, комары	
Bunyamvera	<i>Bunyamvera</i>	Cache valley	мокрецы, комары
California encephalitis	<i>California encephalitis</i>	California encephalitis	комары
		La Crosse	комары



Рис. 1. Артрогрипоз (слева) и гидранэнцефалия (справа) плодов овец при болезни Акабана [USAHA, 2008]

животных и человека, вызывая вспышки, эпидемии, эпизоотии, создавая эмерджентные ситуации, в том числе и на неэндемичных территориях, сопровождающиеся разнообразными патологическими процессами (например, острые эпидемические лихорадки – вирус Оропуш, энцефалиты – вирус Ла-Кросс, геморрагический синдром – лихорадка долины Рифт, тератогенные эффекты – вирус Акабана, летальность).

Эти сферические, имеющие оболочку вирусы диаметром 80–120 нм содержат сегментированный геном – три односпиральных молекулы (-)РНК, инкапсулированные в рибонуклеокапсиды. Три сегмента генома длиной 1, 4,5 и 6,5 кД, обозначенные по размеру S, M и L (малый, средний и большой), кодируют пять белков – соответственно белки нуклеокапсиды с высококонсервативными терминальными последовательностями и неструктурный (N и NS), полипротеин-предшествен-



ник, кливируемый клеточной протеазой на два гликопротеина вирусной оболочки и дополнительный неструктурный белок (Gn, Gc и NSm), и вирусную РНК-полимеразу (L). Как и для других вирусов с сегментированным геномом, буньявирусы характеризует возможность геномной реассортации с образованием новых вариантов при одновременной коинфекции одной клетки [8].

Род *Orthobunyavirus* насчитывает более 170 видов, штаммов, изолятов, имеющих преимущественно топонимические названия. Таксономия ортобуньявирусов в пределах рода относительно неопределенна, затруднительна и условна ввиду недостаточности биохимических характеристик большинства из них; секвенировано только небольшое количество вирусных геномов, и уже показано, что некоторые из них являются реассортантами и могут быть реклассифицированы.

Виды первично определяются по серологическим критериям. Несмотря на ограниченность данных, о видовых границах может свидетельствовать также неспособность одного из ортобуньявирусов к образованию реассортантов с другими или различия аминокислотных последовательностей нуклеокапсидного белка не менее 10%.

Среди ортобуньявирусов на основании серологических различий N белка в РСК официально выделены 18 серогрупп, по антигенным отличиям оболочечных гликопротеинов в кросс-реакциях нейтрализации и задержки гемагглютинации идентифицированы 48 видов (серокомплексов). Наибольший интерес в контексте ветеринарного и медицинского значения представляют серогруппа Симбу, включающая не менее 25 представителей, в которой определены семь видов, серогруппы Буньямвера и Калифорнийского энцефалита (табл. 1).

Ортобуньявирусы распространены в тропическом поясе по всему миру, наиболее разнообразны в Аф-

Таблица 2. Естественные реассортанты ортобуньявирусов, имеющие эпидемическое и эпизоотическое значения [6, 7, 8, 9, 10]

Реассортанты	Сегменты генома (вирусы-«доноры»)			Нозоареал	Год регистрации	Ссылки
	S	L	M			
Tinaroo	Akabane	Akabane	НИ*	Австралия	-	Kobayashi et al., 2007
Jatobal	Oropouche	НИ	НИ	Бразилия	1985	Saeed M. et al., 2001
Ikotos	Oropouche	Oropouche	НИ	Перу	1995	Aguilar P. et al., 2011
Ngari	Bunyamvera	Bunyamvera	Batai	Кения, Сомали	1997	Briese T. et al., 2006
Shmallenberg	Shamonda	Shamonda	Sathuperi	Северо-Запад Европы	2011	Yanase T. et al., 2012

* неизвестный ортобуньявирус

рике, Австралии и Океании. Большинство передается мокрецами, поражает преимущественно крупный и мелкий рогатый скот, хотя в Западном полушарии регистрируются патогенные для человека представители рода – американские вирусы калифорнийского энцефалита, Ла-Кросс, Оропуш и Икитос. В числе зоопатогенных – эпизоотически значимые вирусы болезни Акабана, болезни Айно, долины Кэш, болезни Шмалленберга, потенциально патогенные вирусы Дуглас, Питон, Сатхупери, Симбу, Тинару, Шамонда, Шуни и др., участвующие в образовании вирулентных реассортантов [3, 4, 6–10].

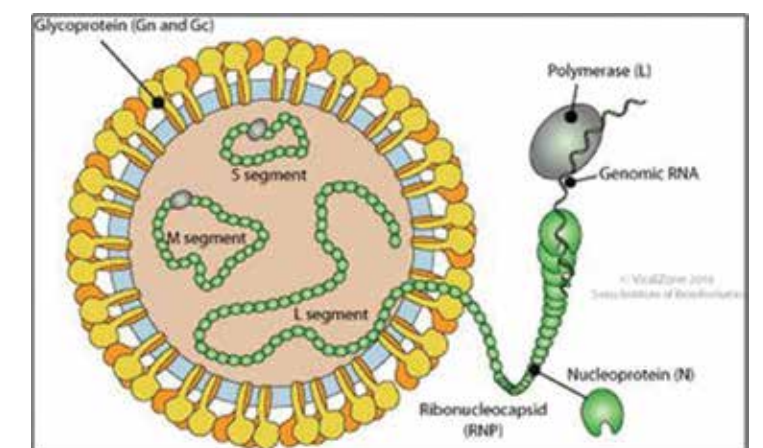
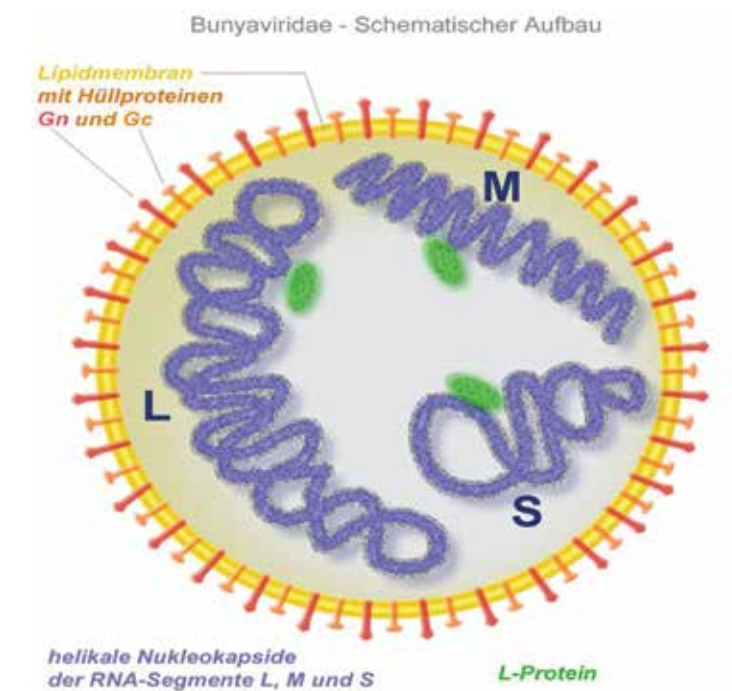
ДИВЕРСИФИКАЦИЯ

Способность к реассортации сегментов генома, очевидная для ортобуньявирусов, особенно серогруппы Симбу, реализуется как механизм естественного возникновения новых, близкородственных в пределах серогрупп штаммов, изолятов и их прогрессивного разнообразия. Несмотря на недостаточность генетических данных, имеющиеся примеры свидетельствуют о генетическом обмене в условиях естественной циркуляции вирусов с формированием эмерджентных вспышек, эпизоотий и эпидемий (табл. 2).

Помимо известных данных относительно происхождения вирусов болезни Шмалленберга и Икитос [7, 8], реассортантную природу имеет вирус Нгари, ассоциировавшийся с недавними вспышками геморрагической лихорадки на востоке Африки: его комбинированный геном представлен S и L сегментами РНК вируса Буньямвера и M сегментом вируса Батаи (оба серогруппы Буньямвера). Геном бразильского вируса Жатобал – комбинация S сегмента вируса Оропуш, M и L сегментов неизвестного вируса серогруппы Симбу [8, 10].

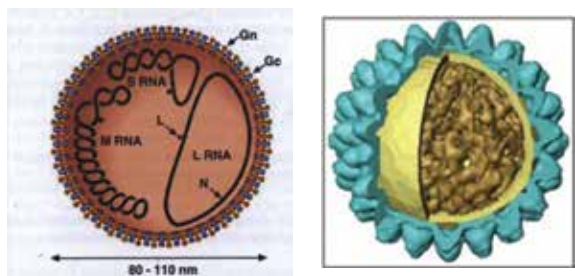
Сравнительный антигенный и генетический анализ вирусов Акабана и Тинару показал, что последний является реассортантом S и L сегментов РНК вируса Акабана и M сегмента также неизвестного вируса серогруппы Симбу. Филогенетическое изучение M и S геномных сегментов вирусов Акабана, Айно и Питон свидетельствовало о реассортантном механизме образования этих вирусов внутри рода [6].

Реассортация ортобуньявирусов в пределах серогрупповой принадлежности теоретически безгранична. Основным условием ее реализации в природе должна быть социркуляция во времени и пространстве участников генетического обмена (микстинфек-



ция de facto установлена в ряде исследований). География центров возникновения известных вирулентных реассортантов, проявивших нозогенность в качестве индикаторов процесса (табл. 2), позволяет предполагать его глобальный потенциал и распространение.

Видимо, неслучайно процесс затрагивает главным образом M сегмент вирусного генома, кодирующий мутабельные оболочечные гликопротеины. Именно



эти антигены обуславливают сегрегацию видов, штаммов, изолятов ортобуньявирусов, ответственны за иммунитет и по этим компонентам идет их направленный естественный отбор и изменчивость в эпизоотиях под давлением такого селекционирующего фактора, как популяционный иммунитет, в принципе аналогично эволюции вирусов гриппа.

В этом плане интригующий интерес представляет происхождение болезни Шмалленберга в Европе: его «прародители» – вирусы Сатхупери и Шамонда – циркулируют на территории Японии, Индии и Нигерии, ранее на территории Европы не регистрировались, как и все вирусы группы Симбу [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изложенные материалы свидетельствуют, что ортобуньявирусные инфекции представляют активно эволюционирующую ветвь инфекционной патологии и источник эмерджентности. На это указывает эпизоотическая и эпидемическая обстановка, делающая реальную угрозу экспансии опасными вирусами неэндемичных территорий. Этому способствует глобальное распространение и популяционная плотность переносчиков, в основном мошек рода *Culicoides*, временная и территориальная динамика их векторной компетентности и способности (на примере блютанга в Северо-Западной Европе в 2006-2012 гг. [2, 10], растущее количество буньявирусов (и без того значительное), в том числе наиболее опасной серогруппы Симбу. Судя по патогенетическому потенциалу, центрам происхождения вновь возникающих вирулентных реассортантов и нозоареалам вызываемых ими инфекций, предполагается некий обобщенный глобальный пул S, M и L самостоятельных блоков (сегментов) ортобуньявирусного генома, который обуславливает диверсификацию и эволюцию внутри серогрупп с высоким нозогенным потенциалом.

2. Ортобуньявирусные инфекции отличает своеобразный двухфазный патогенез: острое, обычно субклиническое течение с выздоровлением и приобретенным иммунитетом у всех небеременных животных и, в случае беременности, по прошествии определенного инкубационного периода, отложенный тератогенез как весьма тяжелое и необратимое осложнение.

Трансплацентарное проникновение вирусов сопровождается поражением самых активно размножающихся клеток в зараженном организме (канон вирусного патогенеза) – формирующегося плода. Условия, благоприятствующие вспышкам тератогенных инфекций, – достаточная плотность популяций восприимчивых жвачных животных в состоянии ранней беременности и векторная способность переносчиков – свойственны естественным тропическим ареалам их распространения. Роль паразитосистемного хозяина при этих инфекциях вероятнее всего принадлежит крупному рогатому скоту, исходя из субклинической неконтагиозной персистенции с нанесением ему минимального вреда и преимущественной серопревалентности.

Большинство ортобуньявирусов патогенны в естественных условиях для рогатого скота, трансмиссивны, представляют опасность для человека. Различные ортобуньявирусы серогруппы Симбу обнаруживаются у многих домашних и диких жвачных животных, свиней, однокопытных, ассоциируются со случаями абортов, мертворождаемости, врожденной мальформации плодов жвачных (рис.1).

3. До последнего времени наиболее серьезным (и наиболее описанным) в этом отношении был вирус болезни Акабана. Болезнь Шмалленберга – первый прецедент возникновения и широкого, эпизоотического распространения нового представителя этой группы вирусов вне традиционных тропических нозоареалов, в экономически развитой зоне мира, со всей очевидностью свидетельствующий об их эмерджентном потенциале.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь Шмалленберга: молекулярно-биологические особенности и клиническая картина (обзор) / А.В. Спрыгин, А.В. Кононов, Ю.Ю. Бабин и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – №6. – С. 24–34.
2. Макаров В.В. Трансмиссивные экзотические инфекции животных на неэндемичных территориях // Пест-менеджмент. – 2012. – № 2. – С. 17–30.
3. Aino Disease. Animal Disease Factsheets / The Center for Food Security and Public Health.–Ames, Iowa, SU, 2006.
4. Bunyaviral diseases of animals // OIE. Terrestrial Manual. 2014, – Chap. 2.9.1. – 16p.
5. Family Bunyaviridae / A. Plyusnin, B. Beaty, R. Elliott [et al.] //Virus taxonomy: 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / ed. A.M.Q. King [et al.] – Boston. 2012. P. 725–741.
6. Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates / T. Kobayashi, T. Yanase, M. Yamakawa [et al.] // Arch.Virol. – 2012. – Vol. 157. P. 1611-1616.
7. Iquitos Virus: A Novel Reassortant *Orthobunyavirus* Associated with Human Illness in Peru / P. Aguilar, A. Barrett, M. Saeed [et al.] // Negl. Trop. Dis. – 2011. Vol. 5, №9: e1315. doi:10.1371/journal.pntd.0001315.
8. Molecular Epidemiology of Oropouche Virus, Brazil / H.Vasconcelos, M. Nunes, L.Casseb [et al.] //Emerging Infectious Diseases. 2011. – Vol. 17, № 5. – P. 800–806.
9. «Schmallenberg» virus: Analysis of the epidemiological Data Assessment of Impact //EFA Journal. –2012. – 10, №6:2768 [89 pp.] doi:10.2903/j.efa.2012.2768.
10. Schmallenberg virus pathogenesis, tropism and interaction with the innate immune system of the host / M. Varela, E. Schnettler, M. Caporale [et al.] // PLoS Pathog. –2013. – Vol. 9, № 1. – doi:10.1371/journal.ppat.1003133.

УДК 619:576.34:57.082.26

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД В ПРОЦЕССЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ВНК-21/2-17

М.Н. Гусева¹, Д.А. Лозовой², Е.Г. Кузнецова³, М.А. Шевченко⁴, Д.С. Большаков⁵

¹ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир; e-mail: starikov@arriah.ru

² заведующий лабораторией профилактики ящура, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

³ ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

⁴ аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

⁵ младший научный сотрудник, кандидат химических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

В статье приведены данные по изучению аминокислотного состава гидролизата белков крови и перевара по Хоттингеру, входящих в состав питательных сред, предназначенных для суспензионного культивирования клеток ВНК-21-2/17. Также представлены результаты исследований, связанных с изменением аминокислотного состава самих сред в процессе культивирования клеток.

Ключевые слова: клетки ВНК-21/2-17, аминокислоты, аминокислотный состав, гидролизат белков крови, перевар по Хоттингеру, питательная среда.

ВВЕДЕНИЕ

При рассмотрении любой клеточной культуры различают клеточную и жидкую фазы. Клеточная фаза представлена непосредственно культивируемыми клетками, жидкая – представляет собой питательные среды различного состава и свойств и обеспечивает жизнедеятельность клеток. Среда многокомпонентна. В их состав могут входить как естественные продукты (амниотические жидкости, сыворотки животных), так и субстраты, полученные в результате частичной обработки естественных продуктов (эмбриональные экстракты, гидролизат лактальбумина, гидролизат белков крови (ГБК), аминокислоты и т.д.), а также синтетические химические чистые вещества (аминокислоты, витамины, соли).

Специальными исследованиями Eagle Н. и соавт. установили, что для роста и деления клеток позвоночных вне организма необходимы 13 аминокислот (изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, треонин, триптофан, валин, аргинин, глутамин, гистидин, тирозин, цистин) [1, 5], в то время как для живых организмов достаточно первых 8 аминокислот.

Все аминокислоты участвуют в биосинтезе разнообразных белков и нуклеиновых кислот. Выполнение аминокислотой той или иной функции *in vitro* во многом зависит от условий культивирования. Одной из причин необходимости присутствия в среде пяти аминокислот, которые не требуются для целого организма, является ограниченный их синтез в культуре [4].

Некоторые авторы отмечают, что потребность в этих органических кислотах может различаться у клеток различных типов. Часто аминокислоты добав-

ляют для того, чтобы либо компенсировать неспособность некоторых клеток синтезировать их, либо для компенсации их утечки в среду. Концентрация аминокислот обычно определяет максимальную плотность культуры и при достижении равновесия влияет на выживаемость клеток и скорость их роста [10].

Различные аминокислоты потребляются из питательной среды растущими клетками с неодинаковой скоростью. Отмечено, что регулярное прибавление аргинина (20–40 мг/дм³) и увеличение количества глутамина до 450 мг/дм³ благоприятствуют росту взращенных культур [11]. Кроме того, в процессе культивирования аминокислоты, как правило, утилизируются только на 20–25%, при этом рН среды снижается обычно на 0,4–0,7 [6].

В последнее время самое широкое распространение получили питательные среды на основе ферментативных гидролизатов, которые эффективны при выращивании различных культур клеток и используются как добавки к другим средам [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12]. За последние 10–15 лет в клеточной биотехнологии сформулировано и интенсивно развивается направление, связанное с конструированием питательных сред, содержащих в качестве питательной аминокислотно-пептидной составляющей гидролизаты белкового сырья [6].

Все гидролизаты обычно содержат 16-20 аминокислот в варибельной концентрации, а также полипептиды разной молекулярной массы [5, 9].

Гидролизат белков крови содержит до 65% свободных аминокислот, необходимых для роста клеток ВНК-21/2-17.

Так как в последнее время возрастает использование клеток млекопитающих в промышленных технологиях и все большее значение придается различным аспектам культивирования, то установление оптимального состава питательной среды для суспензионного культивирования клеток является первоочередной задачей. Цель работы – исследование аминокислотного состава гидролизата белков крови и перевара по Хоттингеру, входящих в состав питательных сред, а также изменений аминокислотного состава самих сред, происходящих непосредственно в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17.

Таблица 1. Изучение корреляции между концентрацией клеток ВНК-21/2-17 и изменением количества аминокислот

Коэффициент корреляции R	Аминокислоты															
	Аланин	Аргинин	Валин	Гистидин+н-лейцин	Глицин	Глутамин+глут-к-та	Изолейцин	Лизин	Метионин	Пролин	Серин	Тирозин	Треонин	Триптофан	Фенилаланин	Цистин
0,4969	-0,8585	-0,8819	-0,9083	0,0173	-0,7649	-0,8284	-0,9105	-0,9802	-0,7857	-0,9364	-0,8779	-0,8259	-0,7519	-0,7519	-0,8695	

Таблица 2. Качественный и количественный аминокислотный состав стандартной среды Игла МЕМ и производственной

№	Аминокислоты	Стандартная Игла МЕМ (мг/дм ³)	Производственная среда (мг/дм ³)
1	аланин	-	120
2	аргинин	126,4	120
3	валин	46,9	300-500
4	гистидин	41,9	250-300
5	глицин	-	58-66
6	глутаминовая кислота	-	30-60
7	изолейцин (в сумме с лейцином)	52,5+52,5	130-160
8	лизин	73,06	160-200
9	метионин	14,9	50
10	пролин	-	60-90
11	серин	-	80-105
12	тирозин	36,22	80-95
13	треонин	47,64	140-175
14	триптофан	10,2	42-58
15	фенилаланин	33,02	100-110
16	цистин	31,3	90-140
17	глутамин	292,3	не опред

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали:

- клетки ВНК-21/2-17;
- культиваторы металлические рабочим объемом до 250, 1000 и 1800 дм³(КМ);
- стандартную питательную среду для выращивания клеток, изготовленную согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов».

Качественный и количественный аминокислотный состав питательных сред определяли на различных этапах культивирования клеток ВНК-21/2-17 и в различных пассажах.

Жидкий ГБК характеризовали путем определения сухого остатка, аминного азота и полипептидов (ТУ 100913791 от 1991 г.).

Аминокислоты определяли в соответствии с методикой М-04-38-2009 «Корма, комбикорма и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель»».

Концентрацию клеток ВНК-21/2-17 в суспензии определяли с помощью камеры Горяева для счета форменных элементов крови, dA0.000.851, которая соответствует ТУ 64-1-816-84.

Величина индекса пролиферации (ИП) рассчитывалась как отношение конечной концентрации клеток к исходной в одном пассаже, минимальный индекс для данной культуры не менее 4.

Для воспроизведения стандартных условий культивирования (объемы культивируемой клеточной суспензии, барботаж и др.) исследования проводились на протяжении трех пассажей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В более ранних исследованиях был проведен анализ различных серий гидролиза белков крови согласно ТУ 100913791 от 1991 г. [11]. Серии ГБК проверяли на количество сухого остатка (%), аминного азота (мг%), полипептидов (%).

Было отмечено, что количество аминного азота влияло на пролиферацию клеток ВНК-21/2-17. Так, при аминном азоте до 1000 мг% индекс пролиферации был 4,88±0,13 (n=166), а при аминном азоте свыше 1000 мг% – 4,45±0,13 (n=134). Различия существенны, p<0,001. При исследовании влияния количества полипептидов на рост клеток ВНК21/2-17 существенные различия обнаружены не были.

Так как аминокислоты представляют собой органические соединения, в молекуле которых одновременно содержатся карбоксильные и аминные группы, то следующим этапом исследований было определение аминокислотного состава ГБК и перевара по Хоттингеру, которые использовали для приготовления питательных сред. Результаты исследований представлены на рис. 1. Из представленных данных видно, что количество аминокислот и в ГБК, и в переваре по Хоттингеру равнозначно. И в ГБК, и в переваре по Хоттингеру в наибольшем количестве содержится изолейцин в сумме с лейцином (12340,5±742,3 и 12493,3±468,2 мг/дм³, соответственно). В наименьшем количестве содержатся такие аминокислоты, как аргинин (882,5±17,7 мг/дм³ – в ГБК и 362,7±19,0 мг/см³ – в переваре); метионин (1178,0±75,1 мг/дм³ – в ГБК и 2256,7±182,1 мг/дм³ – в переваре); триптофан (1560,5±119,4 мг/дм³ – в ГБК и 1533,3±82,1 мг/дм³ – в переваре) p<0,0.

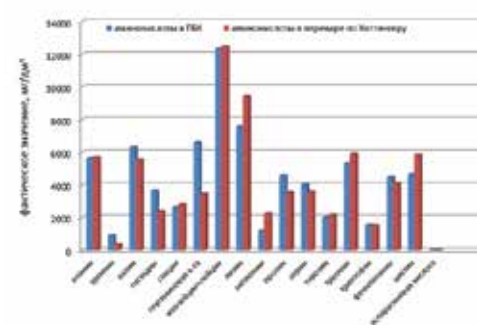


Рис. 1. Количество аминокислот в ГБК и в переваре по Хоттингеру

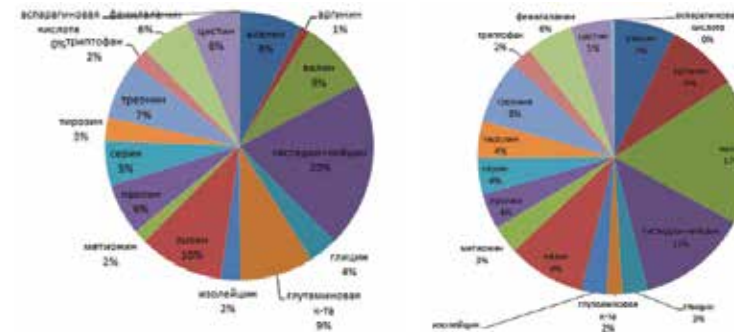


Рис. 2. Процентный состав аминокислот в ГБК **Рис. 3. Процентный состав аминокислот в питательной среде**

Процентное соотношение аминокислот в ГБК и питательной среде представлено на рис. 2 и 3.

В результате проведенных исследований установлено, что количество глутаминовой кислоты в питательной среде меньше в 4,5 раза, чем в ГБК (2 и 9%, соответственно). Количество гистидина с лейцином также было меньше в 1,54 раза (20 и 17%, соответственно). Однако аргинина в питательной среде было больше в 9 раз, чем в ГБК (1 и 9%, соответственно), а валина – в 1,9 раз (9 и 17%, соответственно).

На следующем этапе работы исследовали изменения аминокислотного состава питательных сред в процессе суспензионного культивирования клеток ВНК-21/2-17. Результаты исследований представлены на рис. 4а, в, с, д.

В соответствии с представленными данными очевидно, что утилизация различных аминокислот в питательной среде происходила по-разному. Больше всего клетки потребляли валина, изолейцина и серина (до 70, 70 и 92%, соответственно). Также достаточно хорошо утилизируются аргинин (до 42%), глутаминовая кислота (до 42%), метионин (до 44%), тирозин (до 45%). Так как глутаминовая кислота – это кислота, образующаяся из глутамин, а с помощью используемой нами методики возможно определить только глутаминовую кислоту, можно предположить, что глутамин также усиленно потреблялся клетками в процессе их суспензионного культивирования. Кроме того, был отмечен рост концентрации аланина (от 5 до 49% в разных пассажах).

В результате проведенных исследований было отмечено, что после загрузки суспензии клеток в реактор для культивирования происходило уменьшение количества аминокислот на 10–25% по сравнению с питательной средой, взятой до загрузки клеток. Вероятно, это связано с тем, что загружаемая при очередном пассировании клеточная суспензия за 48 ч культивирования уже утилизовывала часть аминокислот. Кроме того, разбавление суспензии клеток свежей питательной средой при загрузке реакторов большего объема также ведет к уменьшению концентрации аминокислот по сравнению с их первоначальным содержанием в среде культивирования.

При исследовании корреляции между концентрацией клеток ВНК-21/2-17 и изменением количества аминокислот (табл. 1) было отмечено, что почти для всех исследуемых аминокислот существовала обратная зависимость между их концентрацией и концентрацией клеток ВНК-21/2-17. Причем коэффициент корреляции варьировал от -0,7519 до -0,9802, что

говорило о наличии тесной корреляционной связи между изучаемыми признаками. Отсутствовала связь между концентрацией глицина и концентрацией клеток (R=0,0173). Был отмечен рост количества аланина в зависимости от концентрации клеток. При этом коэффициент корреляции составил R=0,4969 (средняя зависимость между признаками).

В табл. 2 приведен качественный и количественный аминокислотный состав стандартной среды Игла МЕМ и производственной (по «Регламенту»). Из представленных в таблице данных видно, что добавление ГБК и перевара по Хоттингеру обогащает среду: количество некоторых аминокислот увеличивается в 3–5 раз, к среде добавляются заменимые аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутаминовая кислота, пролин и серин, которые отсутствуют в стандартной среде Игла МЕМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведено исследование аминокислотного состава гидролизата белков крови и перевара по Хоттингеру, входящих в состав питательных сред, а также изменений аминокислотного состава питательных сред в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17.

В результате проведенных исследований было установлено, что количество аминокислот в ГБК и в переваре по Хоттингеру равнозначно. При исследовании процентного соотношения аминокислот в питательной среде и в ГБК было отмечено, что в среде больше аргинина и валина (соответственно – в 9 и 17 раз), но меньше – по процентному соотношению глутаминовой кислоты, а также гистидина вместе с лейцином (в 4,5 и 1,54 раза, соответственно).

При исследовании изменений аминокислотного состава питательных сред в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17 определили, что больше всего уменьшалось количество таких аминокислот, как валин (до 70%), изолейцин (до 70%), серин (до 70%), аргинин (до 42%), глутаминовая кислота (до 42%), метионин (до 44%), тирозин (до 45%).

Очень важна для обеспечения жизнедеятельности клетки такая аминокислота, как глутамин [10]. К сожалению, применяемая нами методика могла ее определить только опосредованно. Так как глутаминовая кислота – это кислота, получаемая из глутамин, то можно предположить, что процент утилизации глутамин был достаточно высоким.

Аланин и глицин являются заменимыми аминокислотами. В процессе жизнедеятельности клеток ВНК-

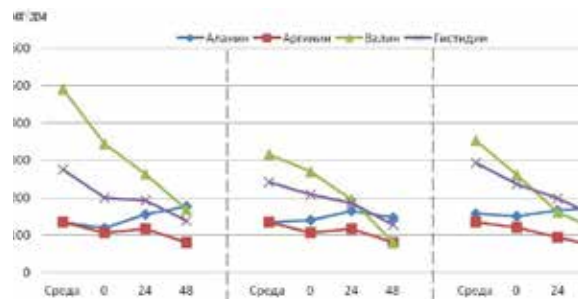


Рис. 4а. Динамика изменения аминокислотного состава питательной среды в различных пассажах (по аминокислотам аланин, аргинин, валин, гистидин)

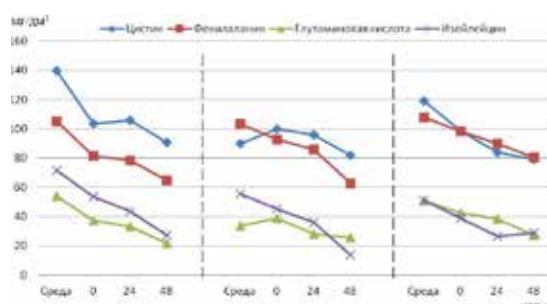


Рис. 4б. Динамика изменения аминокислотного состава питательной среды в различных пассажах (по аминокислотам цистин, фенилаланин, глутаминовая к-та, изолейцин)

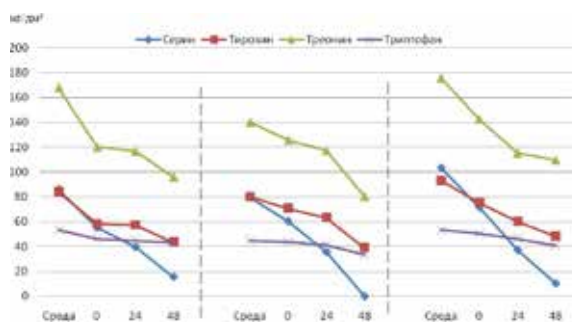


Рис. 4с. Динамика изменения аминокислотного состава питательной среды в различных пассажах (по аминокислотам серин, тирозин, треонин, триптофан)

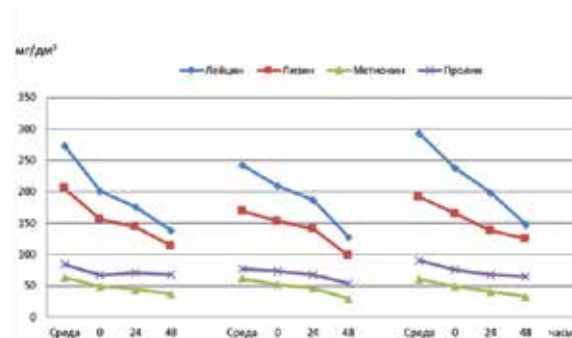


Рис. 4д. Динамика изменения аминокислотного состава питательной среды в различных пассажах (по аминокислотам лейцин, лизин, метионин, пролин)

21/2-17, вероятно, происходили процессы, ведущие к образованию данных аминокислот, поэтому был отмечен рост концентраций аланина и оставалось постоянным количество глицина.

Была найдена корреляция между концентрацией клеток и концентрацией аминокислот, она составляла от -0,7519 до -0,9802. Между концентрацией клеток и концентрацией глицина корреляции не обнаружено.

Полученные результаты исследований предполагают проведение дальнейшей работы по оптимизации состава производственной питательной среды для выращивания клеток ВНК-21/2-17.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гизитдинов Н.Н. Питательные среды для выращивания культур клеток и вирусов // Достижения науки и техники. – 1992. – №6. – С. 22–23.

2. Гудимо О.С., Колесникова Н.А., Шошиев Л.Н. Культивирование клеток HeLa на питательных средах с гидролизатами сыворотки крови человека и животных // Вопросы вирусологии. – 1961. – №3. – С. 375–379.

3. Доценко В.В. Изготовление и исследование эффективности новых основ питательных сред для культивирования клеток и вирусов // Научные основы промышленного производства ветеринарных биологических препаратов: тез. докл. 5 Всерос. конф. – Щелково, 1996. – С. 36–37.

4. Дьяконов Л.П. Культуры клеток животных: современные аспекты биотехнологии и взаимодействия клеток с инъекционными патогенами // Цитология. – 1994. – Т. 36, №6. – С. 503–504.

5. Дьяконов Л.П., Строкина Г.М., Конюхов А.Ф. Гидролизаты молочных мышечных и растительных белков как основы питательных сред для культивирования клеток и вирусов // Цитология. – 1994. – Т. 36, №6. – С. 522.

6. Конюхов А.Ф. Метаболические потребности клеточных культур сельскохозяйственных животных и конструирование питательных сред на основе отечественных компонентов // Ветеринарная иммунология и биотехнология. – 1988. – Т. 66. – С. 125–129.

7. Куликова И.Л., Дьяконов Л.П., Жидков С.А. Культура клеток сосудов телят и чувствительность клеток этой культуры к вирусу диареи крупного рогатого скота // Цитология. – 1992. – Т. 34, №9. – С. 75.

8. Питательная среда для выращивания культур клеток животных: пат.1025722 СССР: МПК3 С12Н1/00 / Г.Е. Панкова [и др.]; – Заявл.30.10.81; опубл.30.06.83.

9. Строкина Г.М. Конструирование питательных сред для культивирования клеток животных на основе гидролизатов белков сыворотки молока // Питательные среды и сыворотки для культивирования клеток.: тез. докл. Всесоюз. конф., Кольцово, 14-17 окт. 1991. – Новосибирск, 1991. – С. 12.

10. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 691 с.

11. Юрчишин В.Д., Михалишин В.В., Гусева М.Н. Влияние сроков хранения гидролизатов белков крови на пролиферативную активность ВНК-21/2-17 и репродукцию вируса ящура // Ветеринария и кормление. – 2011. – № 6. – С. 51–53.

12. Benjakul S., Morrissey M. Protein hydrolysates from Pacific white shrimp waste // Agr. Food Chem. – 1997. – Vol. 45, №9. – P. 3425–3430.

UDC 619:576.34:57.082.26

CHANGES OF AMINO ACID COMPOSITION OF CULTURE MEDIA DURING BHK21/2-17 CULTIVATION

M.N. Guseva¹, D.A. Lozovoy², E.G. Kuznetsova³, M.A. Shevchenko⁴, D.S. Bolshakov⁵

¹Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir; e-mail: starikov@arriah.ru

²Head of the Laboratory for FMD Prevention, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir

³Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir

⁴Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH", Vladimir

⁵Junior Researcher, Candidate of Science (Chemistry), FGBI "ARRIAH", Vladimir

SUMMARY

The paper presents data obtained during investigation of amino acid composition of plasma protein hydrolysates and Hottinger broth included in culture media used for BHK-21/2-17 cultivation. Findings on amino acid composition of the media during cell cultivation are also demonstrated.

Key words: BHK-21/2-17 cells, amino acids, amino acid composition, plasma protein hydrolysate, culture medium

INTRODUCTION

During examination any cell culture is differentiated as cellular phase and liquid phase. Cellular phase is represented by the cells being cultivated. Liquid phase includes cultural media of various composition and properties and ensures cell vitality. The media are polycomponent. They may include both natural components (amniotic fluid, animal sera) and substrates resulted from partial treatment of natural products (embryonic extracts, lactalbumin hydrolysate, plasma protein hydrolysate (PPH), aminopeptides, etc) as well as synthetic chemical pure substances (amino acids, vitamins, salts).

Eagle H. et al specifically report that thirteen amino acids are necessary for in vitro growth and mitosis of vertebrates' cells (isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophane, valine, arginine, glutamine, histidine, tyrosine, cystine) [1, 5], while only eight of the listed are sufficient for live organisms.

All amino acids are involved in biosynthesis of different proteins and nucleic acids. One or other in vitro function of an amino acid mostly depends on cultivation conditions. Limited amino acid synthesis in cell culture is one of the reasons for presence of five amino acids in the media that are not required for the whole organism [4].

Some researchers remark that the need for these organic acids may be different for different types of cells. Amino acids are often added to compensate either inability of some cells to synthesize such acids or to compensate their escape in the media. Amino acid concentration generally defines maximal density of the cell culture and as soon as equilibrium is attained it stipulates the cell survival and their growth rate [10].

Growing cells consume different amino acids from the culture media at different rate. It was reported that regular addition of agrinine (20–40 mg/dm³) and increase of glutamine amount up to 450 mg/dm³ facilitate growth of submerged cultures [11]. In addition, during cultivation only 20-25% of amino acids are generally consumed, herewith pH of the medium usually decreases by 0,4–0,7 [6].

Recently enzymatic hydrolysate-based media have become wide spread. They are effective for cultivation of different cells and used as supplements to other media [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12]. During recent 10–15 years a separate direction related to construction of culture media involving protein hydrolysates as nutritional amino acid and peptide component is established and intensively developed [6].

All hydrolysates usually contain 16-20 amino acids in various concentrations as well as polypeptides of different molecular weight [5, 9].

Plasma protein hydrolysate contains up to 65% of free amino acids necessary for BHK-21/2-17 growth.

As lately utilization of mammalian cells in commercial technologies is increasing and growing attention is given to different aspects of cultivation, determination of optimal composition of culture medium for cell suspension cultivation is a task of the highest priority. The work is aimed at investigation of amino acid composition of plasma protein hydrolysate and Hottinger broth included in culture media as well as at examination of changes of amino acid composition of the media occurring directly during BHK-21/2-17 cultivation.

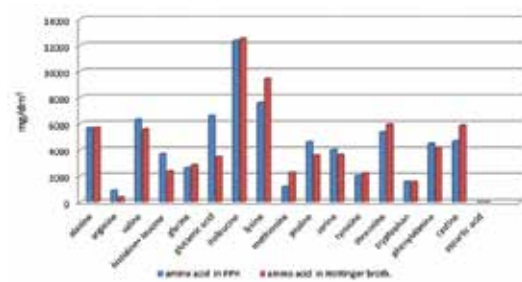


Fig. 1. Amino acid amount in PPH and Hottinger broth

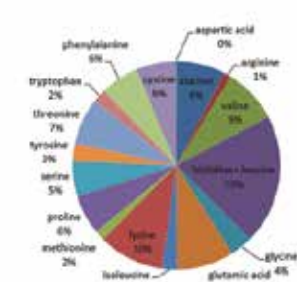


Fig. 2. Amino acid percentage in PPH

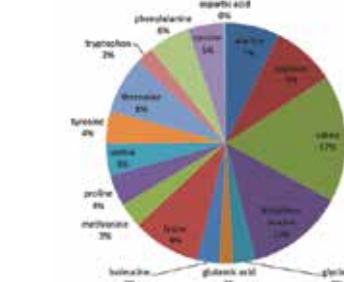


Fig. 3. Amino acid percentage in culture medium

MATERIALS AND METHODS

The following was used during the work:

- BHK-21/2-17 cells;
- steel bioreactors of 250, 1000 and 1800 dm³ (KM) capacity;
- conventional culture medium for cell cultivation prepared according to "Industrial Regulation for Production of Vaccines against Different Types of FMD".

Qualitative and quantitative amino acid composition of the culture medium was determined at different stages of BHK-21/2-17 cultivation and at different passages.

Liquid PPH was characterized by determination of solid residue, amino nitrogen and polypeptides (TU 100913791 as of 1991).

Amino acids were determined in compliance with the procedure M-04-38-2009 "Feed, combined feed and their raw materials. Procedure for amino acid mass fraction determination by capillary electrophoresis using capillary electrophoresis system "Kapel".

Concentration of BHK-21/2-17 cells in the suspension was determined using Gorjaev's chamber for formed element quantification, dA0.000.851, compliant to TU 64-1-816-84.

Proliferation index (PI) was calculated as a ratio of final cell concentration to initial cell concentration during the same passage with minimal index for the culture being at least 4.

Three passages were investigated in order to reproduce routine cultivation conditions (volumes of cultivated cell suspension, agitation, etc).

RESULTS AND DISCUSSION

Earlier reports demonstrated analysis of different runs of plasma protein hydrolysis according to TU 100913791 as of 1991 [11]. PPH batches were checked for solid residue amount (%), amine nitrogen (mg %), polypeptides (%).

It was reported that amount of amine nitrogen affected BHK-21/2-17 proliferation. Thus, at amine nitrogen level of up to 1000 mg% proliferation index amounted to 4,88±0,13 (n=166), and at amine nitrogen level above 1000 mg% – 4.45±0,13 (n=134). The difference is significant, p<0.001. Investigation of the effect of polypeptide amount on BHK21/2-17 growth demonstrated no significant difference.

As amino acids are organic compounds whose molecules contain carboxy and amine groups, the next step of investigation was determination of amino acid composition of PPH and Hottinger broth used for culture media preparation. Investigation results are shown in Figure 1. The data demonstrate that amino acid amount is similar both in PPH and Hottinger broth. Both PPH and Hottinger broth contain isoleucine along with leucine (12340,5±742,3 and 12493,3±468,2 mg/dm³, respectively). In smallest amount were such amino acids as arginine (882,5±17,7 mg/dm³ in PPH and 362,7±19,0 mg/cm³ in the broth); methionine (1178,0±75,1 mg/dm³ in PPH and 2256,7±182,1 mg/dm³ in the broth); tryptophan (1560,5±119,4 mg/dm³ in SPH and 1533,3±82,1 mg/dm³ in the broth). p<0,01

Percentages of amino acids in PPH and culture medium are shown in Fig. 2 and 3.

The research results demonstrated that amount of glutamic acid in the culture medium is 4,5 times lower than in PPH (2 and 9%, respectively). Amount of histidine and leucine was also 1,54 times lower than in PPH (20 and 17%, respectively). However, the amount of arginine was 9 times higher than in PPH (1 and 9%, respectively), and valine – 1,9 times higher, (9 and 17%, respectively).

During the next stage changes of amino acid composition of culture media occurred during suspension cultivation of BHK-21/2-17 cells were examined. Examination results are shown in Fig. 4a, b, c, d.

The presented data demonstrate that consumption of different amino acids in culture medium occurred by different patterns. The cells consumed the highest amount of valine, isoleucine and serine (up to 70, 70 and 92%, respectively). The following amino acids were also consumed well enough: arginine (up to 42%), glutamic acid (up to 42%), methionine (up to 44%), tyrosine (up to 45%). As glutamic acid is an acid formed from glutamine and our procedure allows determination of only glutamic acid one can assume that glutamine was also intensely consumed by cells during their suspension cultivation. In addition, rise of alanine concentration was reported (from 5 to 49% during different passages).

Investigation results demonstrated that following cell suspension loading in the bioreactor the amount of amino acids reduced by 10-25% as compared to culture medium harvested before cell loading. It is probably related to the fact that cell suspension loaded for next scheduled passage has already consumed part of amino acids during 48 hour-cultivation. In addition, dilution of cell suspension with fresh culture medium before loading in high capacity bioreactors also results in reduction of amino acid concentration as compared to the original amount in culture medium.

Investigations of correlation between BHK-21/2-17 concentration and changes in amino acid amount (Table 1) demonstrated that in case of almost all tested amino acids there was inverse correlation between their concentration and BHK-21/2-17 concentration with correlation coefficient varying from -0,7519 to -0,9802 that is indicative of close correlative relationship between tested properties. There was no relation between glycine concentration and cell concentration (R=0,0173). Increase of alanine amount was reported as being dependent upon cell concentration. Herewith, correlation coefficient amounted to R=0,4969 (near correlation between the properties).

Table 2 demonstrates qualitative and quantitative amino acid composition of conventional and modified Eagle's minimum essential medium (MEM). The data is indicative of the fact that addition of PPH and Hottinger broth modifies the medium: amount of some amino acids increases 3-5-fold, such non-essential amino acids are added as alanine, glycine, glutamic acid, proline and serine absent in the conventional Eagle's MEM.

CONCLUSION

Thus amino acid composition of plasma protein hydrolysate and Hottinger broth included in culture media as well as changes of amino acid composition during BHK-21/2-17 cultivation were investigated.

Investigation results demonstrated that the amount of amino acids in PPH is equal to the amino acid amount in Hottinger broth. While investigating amino acid percentage in culture medium and PPH it was reported

Table 2. Qualitative and quantitative amino acid composition of conventional and modified Eagle's MEM

No.	Amino acids	Conventional Eagle's MEM (mg/dm ³)	Modified medium (mg/dm ³)
1	alanine	-	120
2	arginine	126.4	120
3	valine	46.9	300-500
4	histidine	41.9	250-300
5	glycine	-	58-66
6	glutamic acid	-	30-60
7	isoleucine (along with leucine)	52.5+52.5	130-160
8	lysine	73.06	160-200
9	methionine	14.9	50
10	proline	-	60-90
11	serine	-	80-105
12	tyrosine	36.22	80-95
13	threonine	47.64	140-175
14	tryptophane	10.2	42-58
15	phenylalanine	33.02	100-110
16	cystine	31.3	90-140
17	glutamine	292.3	Not determined

that there was more arginine and valine in the medium (9- and 17-fold, respectively), but percentage of glutamic acid as well as histidine and leucine was lower (4,5 and 1,54-fold, respectively).

Examination of amino acid composition in culture medium during BHK-21/2-17 cultivation demonstrated the highest decrease of such amino acids as valine (up to 70%), isoleucine (up to 70%), serine (up to 70%), arginine (up to 42%), glutamic acid (up to 42%), methionine (up to 44%), tyrosine (up to 45%).

Such amino acid as glutamine is highly important for cell vitality [10]. Unfortunately the methods applied here allowed only its indirect detection. As glutamic acid is an acid produced from glutamine one might assume that the percent of glutamine consumption was sufficiently high.

Alanine and glycine are non-essential amino acids. During BHK-21/2-17 life cycle processes resulting in formation of the amino acids were likely to occur and increase of alanine concentration and constant level of glycine were reported.

Correlation between cell concentration and amino acid concentration was detected and it amounted to -0,7519 – -0,9802. No correlation between cell concentration and glycine concentration was identified.

The obtained results are suggestive of further work on

Table 1. Correlation between BHK-21/2-17 concentration and changes of amino acid amount

Correlation coefficient R	Amino acids															
	Alanine	Arginine	Valine	Histidine+ leucine	Glycine	Glutamine+ glutamic acid	Isoleucine	Lysine	Methionine	Proline	Serine	Tyrosine	Threonine	Tryptophane	Phenylalanine	Cystine
	0.4969	-0.8585	-0.8819	-0.9083	0.0173	-0.7649	-0.8284	-0.9105	-0.9802	-0.7857	-0.9364	-0.8779	-0.8259	-0.7519	-0.7519	-0.8695

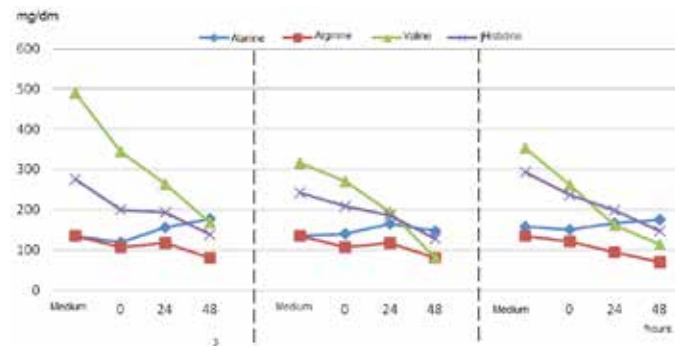


Fig. 4a. Dynamics of amino acid composition changes in culture medium during different passages (according to the following amino acids: alanine, valine, histidine)

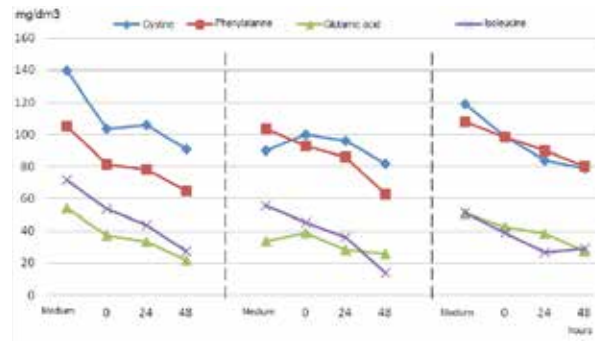


Fig. 4b. Dynamics of amino acid composition in culture medium during different passages (according to the following amino acids: cystin, phenylalanine, glutamic acid, isoleucine)

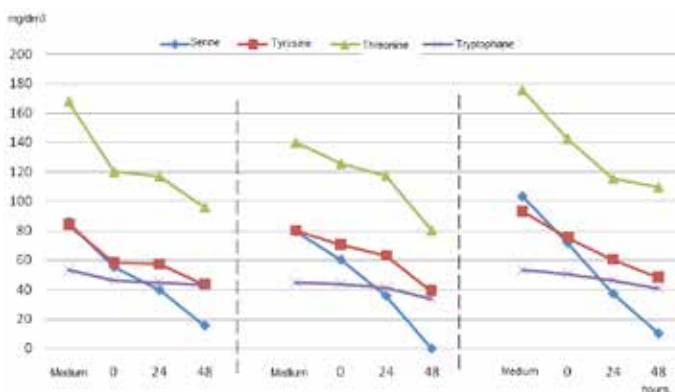


Fig. 4c. Dynamics of amino acid composition in culture medium during different passages (according to the following amino acids: serine, tyrosine, threonine, tryptophane)

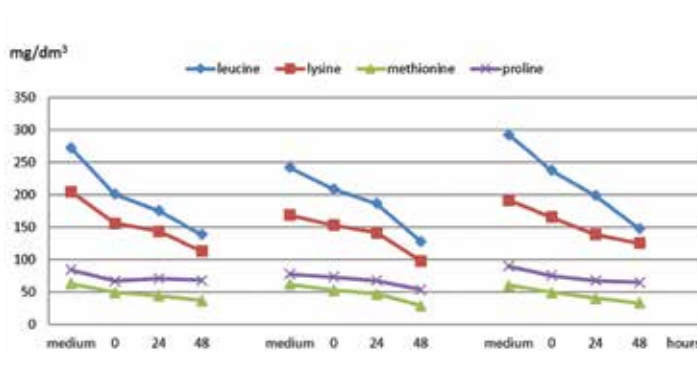


Fig. 4d. Dynamics of amino acid composition in culture medium during different passages (according to the following amino acids: leucine, lysine, methionine, proline)

optimization of modified culture medium for BHK-21/2-17 cultivation.

BIBLIOGRAPHY

- Gizitdinov N.N. Culture Media for Cell and Virus Cultivation // Dostizheniya Nauki I Tekhniki. – 1992. – No. 6. – P. 22– 23.
- Gudimo O.S., Kolesnikova N.A., Shoshiyev L.N. HeLa Cell Cultivation in Culture Media with Human and Animal Plasma Hydrolysates // Voprosy Virusologii. – 1961. – No. 3. – P. 375– 379.
- Dotzenko V.V. Preparation and Efficacy Examination of New Bases for Culture Media for Cell and Virus Cultivation // Scientific Bases for Commercial Production of Veterinary Biologicals: abstracts of the 5th All-Russia Conference. – Schelkovo, 1996. – P. 36– 37.
- Dyakonov L.P. Animal Cell Cultures: Current Aspects of Biotechnology and Cell Interaction with Injection Pathogens // Cytology. – 1994. – Vol. 36, No. 6. – P. 503– 504.
- Dyakonov L.P., Strokina G.M., Konyukhov A.F. Hydrolysates of Milk, Muscle and Plant Proteins as a Basis for Culture Media for Cell and Virus Cultivation // Cytology. – 1994. – Vol. 36, No. 6. – P. 522.
- Konyukhov A.F. Metabolic Requirements of Cell

Cultures from Farm Animals and Construction of Culture Media Based on Domestic Components. – 1988. – Vol. 66. – P. 125– 129.

- Kulikova I.L., Dyakova L.P., Zhidkov S.A. Cell Culture from Calf Blood Vessels and Its Sensitivity against BVD virus // Cytology. – 1992. – Vol. 34, No. 9. – P. 75.
- Culture Media for Animal Cell Cultivation: pat.1025722 USSR: MPK3 C12N1/00 / G.E. Pankova [et al.]; – Appl. 30.10.81; publ. 30.06.83.
- Strokina G.M. Construction of Culture Media for Animal Cell Cultivation Based on Whey Protein Hydrolysates // Culture Media and Sera for Cell Cultivation: abstracts. All-Russia Conference, Koltsovo, October 14-17, 1991. – Novosibirsk, 1991. – P. 12.
- Freshny R.Ya. Animal Cell Culture. Guidelines. – M.: BINOM. Laboratoriya Znaniy, 2011. – 691 p.
- Yurchishin V.D., Mikhailishin V.V., Guseva M.N. Effect of Plasma Hydrolysate Shelf-Life on Proliferative Activity of BHK-21/2-17 Cells and FMDV Reproduction // Veterinariya I Kormleniye. – 2011. – No. 6. – P. 51– 53.
- Benjakul S., Morrissey M. Protein hydrolysates from pacific writing solid wastes // Agr. Food Chem. – 1997. – Vol. 45, №9. – P. 3425– 3430.

УДК 619:616.98:578.842.1

АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ ПО АФРИКАНСКОЙ ЧУМЕ СВИНЕЙ

О.В. Кухаркина¹, И.А. Борисова², О.А. Борисова³

¹ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир; e-mail: kuharkina@arriah.ru

² старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

³ ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

За последние годы многократно участились случаи возникновения и распространения экзотической для Российской Федерации болезни – африканской чумы свиней. Причём следует отметить, что ситуация по данной инфекции ухудшается крайне быстро. Так, если в 2007 г. в Российской Федерации было отмечено только два случая инфекции, то в 2008 г. – 62, в 2009 г. – 73, в 2010 г. – 84, в 2011 г. – 62, в 2012 г. – 121, а в 2013 г. было выявлено уже 187 очагов инфекции среди домашних свиней и диких кабанов.

Поэтому обзор сведений отечественной и зарубежной литературы по данной проблеме представляет на сегодняшний день особый интерес.

Ключевые слова: африканская чума свиней, семейство *Asfarviridae*, аргасовые клещи

На сегодняшний день свиноводческая отрасль сельского хозяйства нашей страны стремительно развивается. Так, в 2010 г. численность свиней в хозяйствах всех категорий составила 18,7 млн гол., что на 3% выше, чем в 2009 г. (17,7 млн), и на 7%, чем в 2008 г. (17,0 млн) [1].

Однако наращивание темпов свиноводческого производства ведёт не только к увеличению случаев уже существующих болезней, но и к возникновению экзотических и трансграничных инфекций, что значительно усложняет эпизоотическую и эпидемическую обстановку по ряду заболеваний в Российской Федерации. Возросла эпизоотическая значимость бактериальных и паразитарных болезней свиней (пастереллёза, эшерихиоза). Участились случаи отечной болезни, чумы, рожи свиней [5]. За последние годы резко ухудшилась обстановка по африканской чуме свиней (АЧС), которая до недавнего времени считалась экзотической болезнью для нашей страны. Всё это привело к снижению численности свиней в 2011 г. до 18,3 млн гол., и хотя сокращение поголовья не столь уж значительно, это крайне опасная тенден-

ция, требующая повышенного внимания и принятия безотлагательных мер.

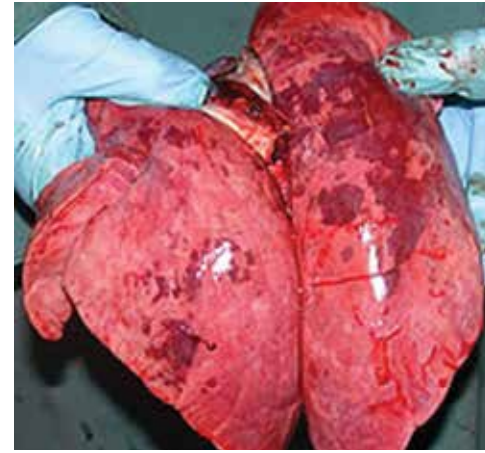
Африканская чума свиней (лат. – *Pestis africana suum*; англ. – *African swine fever*; болезнь Монтоммери, восточно-африканская лихорадка) – особо опасная высококонтагиозная, склонная к природной очаговости вирусная болезнь. Независимо от способа распространения поражает только диких и домашних свиней всех возрастов и пород, любого пола, не зависит от времени года, влечет за собой высокую летальность (97-100%). Выжившие животные приобретают практически пожизненное вирусоносительство [19].

Источником инфекции являются больные, переболевшие, павшие свиньи и животные-вирусоносители, из организма которых вирус в больших количествах выделяется с фекалиями, мочой, слюной, секретом конъюнктивы, выделениями из половых путей. Максимальная концентрация вируса обнаруживается в крови. Заражение происходит главным образом при совместном содержании здоровых свиней с инфицированными или находящимися в инкубационном периоде животными и вирусоносителями [17].

Естественным резервуаром и переносчиком инфекционного начала при АЧС являются аргасовые клещи рода *Ornithodoros*. Членистоногие получают вирус при кровососании больных животных, затем возбудитель размножается в их организме, и затем при укусе клещи передают его здоровым свиньям. Замечено, что концентрация вируса в организме насекомых выше, чем у свиней-вирусоносителей. Размножение и персистенция возбудителя АЧС наблюдается у 70-75% клещей, кроме того, вирус сохраняет жизнеспособность даже в мертвых клещах. А в связи с большой продолжительностью жизни данных насекомых (до 25 лет) и тесными биологическими взаимоотношениями инфекционного агента и клещей очаг болезни может существовать неопределенно долгое время без повторных заносов вируса. В районах, где это произошло, искоренить АЧС практически невозможно [24].



Язвы и струпа при хронической форме африканской чумы свиней (Источник: <http://thediagnosticveterinarypathologist.blogspot.com/>)



Легкие, пораженные обширными геморрагиями (Источник: http://insciences.org/article.php?article_id=7681)



Геморрагический диатез при африканской чуме свиней (Источник: http://www.zooclub.ru/veter/pestis_africana_suum.shtml)

через 12 ч. Чувствителен патоген и к высушиванию, например, в тропических странах даже без проведения чистки и дезинфекции свинарники через 3-4 сут. становятся свободными от вируса. Возбудитель АЧС устойчив в широком диапазоне pH – как в кислой, так и в щелочной среде (4,0-13,0), но в благоприятной среде (сыворотка крови) сохраняет активность при более низких и более высоких значениях pH от нескольких часов до трёх суток [22].

Длительное время АЧС регистрировалась только на Африканском континенте, являясь типичной природно-очаговой экзотической болезнью с естественной циркуляцией вируса в популяциях диких африканских свиней. Однако в начале XX в. среди свиней культурных пород, завезенных в колониальные страны субэкваториальной и южной Африки, стали регистрировать заболевание с клиническими признаками и патологоанатомическими изменениями, напоминающими классическую чуму свиней (КЧС). Болезнь проходила стремительно, смертность достигала 100% [35].

Первыми о болезни сообщили Хатчен и Стокмен в 1903 г., а подробно описал и доказал её вирусную природу английский исследователь Р. Монтгомери в 1921 г., наблюдавший вспышки смертельной инфекции среди домашних свиней, в результате которых пало до 98,9% поголовья. Стоит отметить, что, начиная с момента обнаружения и по настоящее время, вспышки АЧС регистрировали во многих странах Африки. Именно угроза возникновения АЧС является основным фактором, сдерживающим развитие свиноводства в Африке, именно поэтому на континенте насчитывается немногим более 1% мировой популяции свиней.

В 1957 г. заболевание впервые вышло за пределы Африканского континента и было диагностировано в Португалии. В результате убоя больных и подозреваемых в заболевании свиней было уничтожено более 17 тыс. гол. В дальнейшем болезнь укоренилась практически во всех европейских странах: Франции (1964, 1967, 1974 гг.), Мальте (1978 г.), Италии (1967 г., 1978-1984 гг.), Бельгии (1985 г.), Нидерландах (1986 г.), Голландии (1986 г.) [42].

В это же время АЧС также проникла на другую сторону Атлантики и распространилась в странах Центральной и Южной Америки: Бразилии (1978-1979 гг.),

Кубе (1971 г., 1980 г.), Доминиканской Республике (1978-1980 гг.) и Гаити (1978-1980 гг.). Искоренение заболевания в Доминиканской Республике, на Мальте и Гаити было достигнуто посредством массового забоя свиней [34]. В последующие годы XX в. очаги инфекции регистрировали во многих странах мира [23, 25, 26, 30, 31, 36, 41].

В начале XXI в. нозоарел болезни резко расширился. На сегодняшний день, по официальным данным, АЧС регистрируется в 24 странах мира, в том числе и в России. Драматическая ситуация распространения заболевания сложилась в странах Кавказа (Грузии, Армении, Южной и Северной Осетии, Абхазии, Азербайджане), где ещё до 2007-2008 гг. АЧС не регистрировалась и являлась экзотической болезнью [8, 12, 13].

Однако именно с 2008 г. резко сократилось количество комментариев, представленных официальными службами данных стран, по развитию реальной ситуации по АЧС. Вероятнее всего, это произошло из-за того, что на неблагополучную по АЧС страну накладываются санкции, запрещающие экспорт животных и сельскохозяйственной продукции, поэтому объявление карантина экономически невыгодно для любой страны.

Первый случай АЧС на территории Российской Федерации был зарегистрирован в ноябре 2007 г. в Шатойском районе Чеченской Республики.

Затем (2008 г.) болезнь регистрировалась в Ингушетии, в Республике Северная Осетия, в Кабардино-Балкарии, в Дагестане, в Карачаево-Черкесии, в Адыгее, в Краснодарском и Ставропольском краях. В неблагополучных по АЧС пунктах субъектов Российской Федерации было убито и уничтожено 50 тыс. свиней. По сведениям, предоставленным Государственной ветеринарной службой Российской Федерации, за 2008 г. было выявлено 45 неблагополучных пунктов по АЧС, в том числе 35 – на территории Северной Осетии. По официальным данным заболело 4031 животное, из которых 3992 свиньи пали. В течение 2008 г. было уничтожено 45700 свиней [21]. Стоит отметить, что в 2008 г. АЧС была выявлена в Оренбургской области за 1650 км от зоны неблагополучия. Это был первый случай выноса данной инфекции за пределы эндемической зоны.

В 2009 г. ситуация по АЧС продолжала ухудшаться, болезнь была зарегистрирована в 10 субъектах Российской Федерации, всего выявили 54 неблагополучных пункта (35 – среди домашних свиней и 19 – среди диких кабанов). При ликвидации очагов АЧС было убито 35,7 тыс. гол. свиней [3].

В 2010 г. эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации оставалась крайне сложной. Если в предыдущие годы заболевание расценивалось как экзотическое (обычно отсутствующее и изредка появляющееся в виде изолированных немногочисленных очагов) для нашей страны, то начиная с 2010 г. АЧС рассматривается уже как эндемическая болезнь, то есть постоянно присутствующая на территории Российской Федерации [15].

По сведениям, предоставленным Государственной ветеринарной службой Российской Федерации, в 2010 г. в стране зарегистрировано 77 новых очагов АЧС (58 – среди домашнего поголовья, 19 – среди диких кабанов), в том числе на ранее благополучных территориях. Наиболее сложная обстановка сложилась в Ростовской области, где число неблагополучных пунктов с большими домашними животными достигло 24 [2].

В 2011 г. ситуация с распространением АЧС ещё более обострилась, был выявлен 51 неблагополучный пункт и 9 инфицированных объектов. Из них 29 – в личных подсобных и фермерских хозяйствах и 9 – на сельхозпредприятиях, в том числе 13 – среди популяции диких кабанов. К концу года эндемическая зона расширилась до Курской, Воронежской и Саратовской областей. В угрожаемую зону вошли Орловская, Липецкая, Тамбовская, Пензенская, Ульяновская, Самарская области, Республика Башкортостан. Особое внимание следует уделить так называемым «выносным» случаям, число которых в 2011 г. увеличилось до 22 [9, 11].

В первой половине 2012 г. в охотничьих хозяйствах Торжокского района Тверской области были выявлены случаи падежа диких кабанов, у которых впоследствии был выделен геном вируса АЧС.

К апрелю 2012 г. на территории четырех субъектов РФ насчитывалось 7 неблагополучных зон по данной инфекции (заболело 575 свиней, около 39000 было уничтожено). АЧС регистрировали среди домашних животных в Краснодарском крае (3 объекта), Волгоградской области (2 объекта), в Карелии (1 объект) и Калмыкии (1 объект). В Краснодарском крае, Тверской и Волгоградской областях также отмечен падеж среди диких кабанов. Всего за 2012 г. на территории нашей страны был выявлен 121 случай АЧС.

За 2013 г. выявлено 187 случаев АЧС, болезнь охватила 5 субъектов РФ: Белгородскую, Волгоградскую, Псковскую, Смоленскую, Тамбовскую области. Кроме того, в 2013 г. АЧС была зарегистрирована в Белоруссии. В неблагополучных регионах было проведено более 4600 исследований проб материала от свиней и диких кабанов, 352 пробы продукции, содержащей свинину.

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что на территории нашей страны сложилось стационарное неблагополучие по АЧС, и наличие данной инфекции, по-видимому, будет неизбежным в ближайшие годы. Поэтому существенное значение приобретает тщательное расследование случаев эпизоотических вспышек АЧС с целью установления причин заноса возбудителя, оперативного принятия мер по ликвидации инфекции, недопущению её выноса за пределы хозяйства и повторного возникновения инфекции. Для этого необходимо своевременно выявлять заболевание, знать симптомы проявления инфекции, а также патологоанатомические признаки болезни [4].

Длительность инкубационного периода, форма, тяжесть течения инфекционного процесса зависят от состояния животного, вирулентности штамма, количества поступившего в организм вируса и метода заражения. В среднем продолжительность инкубационного периода составляет 2-7 сут. Болезнь протекает сверхостро, остро, подостро, хронически, а в энзоотических зонах – бессимптомно [39].

Сверхострое, или молниеносное, течение длится от 1 до 3 сут. и отмечается крайне редко. При этом у заболевших свиней температура тела повышается до 42,0 °С. Наблюдается упадок сил и угнетенное состояние. Животные с трудом поднимаются, выражена сильная одышка, через 24-72 ч наступает гибель. Возможны случаи внезапной смерти без выраженных клинических признаков болезни. Погибают все заболевшие животные [33].

Острое течение болезни развивается в том случае, если возбудителем инфекции является высоко-

вирулентный вирус. Это наиболее характерная для АЧС форма болезни, продолжающаяся от 4 до 10 сут. (в среднем – 7 сут.). Исход болезни, как правило, летальный. Болезнь начинается с повышения температуры тела до 40,5-42,0 °С. Наблюдают угнетение, апатию, анорексию, приступы рвоты, слизисто-гнойные выделения из носа и глаз, потерю координации движения, парезы и параличи задних конечностей, особенно за 24-48 ч до смерти. Голова животного опущена, хвост раскручен, усилена жажда. Больные свиньи больше лежат, зарывшись в подстилку, вяло поднимаются, передвигаются с трудом и быстро устают. Появляются признаки воспаления легких: дыхание становится коротким, прерывистым, поверхностным, иногда сопровождается кашлем. В этот период появляется сильное покраснение конъюнктивы глаза и других видимых слизистых оболочек, резко выражено посинение кожи на различных участках с множественными кровоизлияниями [28].

Иногда отмечают расстройство пищеварения: понос с примесью крови или длительный запор, нередко кол бывает твердым, покрытым слизью. Супоросные больные свиноматки abortируют. У отдельных животных проявляются симптомы нервных расстройств (конвульсии, параличи и коматозное состояние) и носовые кровотечения. Гибель наступает в течение 6-13 сут., а иногда – 20 сут., причём за 24-48 ч до смерти температура тела резко снижается, животное впадает в кому. Оставшиеся в живых свиньи остаются вирусносителями в течение всей жизни. Выздоровление при этой форме наблюдается крайне редко, лишь в 1-2% случаев. Уровень смертности домашних свиней обычно достигает 100% [43].

Умеренно вирулентный вирус вызывает подострое течение болезни, продолжительность которой обычно составляет 5-30 сут. Характеризуется теми же симптомами, что и острая форма инфекции, но проявление их менее выражено. У больных животных температура тела в первую неделю удерживается в пределах 40,5-42,0 °С, затем снижается до 40,0-40,5 °С. Уровень смертности составляет 30-70%, в редких случаях болезнь переходит в хроническую форму [32].

Хроническая форма болезни наблюдается при заражении изолятами с низкой вирулентностью, у выживших животных и у устойчивых к заражению популяций свиней.

Такое течение болезни характеризуется периодическим подъёмом температуры, перемежающейся лихорадкой, потерей веса, постепенным исхуданием животного и отставанием в росте. Уровень смертности невысокий, а выздоровление наблюдается в 40-50% случаев [27].

В последние 20 лет в некоторых странах произошло изменение формы АЧС, при которой значительно снизилась летальность, возросло число случаев интранзальной инфекции. Такое проявление болезни характерно для латентного или бессимптомного (месяцы и годы) течения АЧС, не сопровождающегося проявлением клинических признаков, а проявляющегося лишь перемежающейся вирусемией. Для такой формы болезни характерна мраморная окраска порталных или бронхиальных лимфоузлов и очаговые поражения легких. Эта форма болезни обычно распространена среди естественных носителей АЧС (дикие бородавочники, гигантские лесные и кустарниковые свиньи в Африке, домашние свиньи в Испании и Португалии). При стрессах из организма таких свиней выделяется

вирус, и происходит заражение здоровых животных, у которых болезнь протекает сверхостро, характеризуется высокой контагиозностью, лихорадкой и заканчивается летальным исходом [38].

Говоря о патологоанатомических признаках болезни, следует отметить, что, независимо от путей проникновения вируса в организм, развиваются тяжелые септические явления, проявляющиеся геморрагическим диатезом, воспалительными, дистрофическими и некротическими изменениями в различных органах.

Для сверхострого и острого течения АЧС характерны следующие патоморфологические признаки: геморрагический диатез, лимфаденит, спленит, остеомиелит, серозно-геморрагический конъюнктивит, гастроэнтерит, холецистит, серозно-фибринозный плеврит, перитонит, зернистая и жировая дистрофия печени, почек и миокарда, острая венозная гиперемия кожи, легких, печени и почек [23].

Патологоанатомические признаки, выявляемые при вскрытии животных, павших при подостром и хроническом течении болезни, сходны с изменениями, характерными для классической чумы свиней: отёки, кровоизлияния, инфаркты. Селезёнка увеличена, слегка дряблая, выражено состояние, характерное для острого спленита (септическая селезёнка).

При хроническом и бессимптомном течении АЧС в основном наблюдаются изменения в лёгких (чаще всего двустороннее гнойно-фибринозное воспаление), поэтому поражаются преимущественно бронхиальные и лимфатические узлы лёгких. Кроме того, обнаруживают: серозно-фибринозный перикардит и артрит, некротические изменения участков кожи нижней стенки живота, ушных раковин и промежности [40].

Диагностика играет решающую роль в системе мероприятий по борьбе с АЧС. Своевременно и правильно поставленный диагноз служит залогом успешного проведения мероприятий по ликвидации заболевания. Известны случаи, когда диагноз на АЧС ставился с опозданием, и это приводило к широкому распространению болезни. Так, в результате запоздалой диагностики (3 мес.) в 1978 г. АЧС охватила 17 из 22 штатов Бразилии.

Предварительный диагноз устанавливают комплексно на основании трёх главных составляющих:

- *результатов эпизоотологического обследования*, учитывающего торговые и экономические связи со странами и территориями, неблагополучными по АЧС. Также оценивают быстроту распространения болезни, уровень смертности и особенно развитие эпизоотии среди животных, привитых против классической чумы;

- *клинических признаков*, основными из которых являются: постоянная лихорадка в течение 3-6 сут., угнетение, нарушение гемодинамики, геморрагический диатез кожи, ушей, живота, отёк легких, диарея, иногда с кровью, кровянистые истечения из ротовой и носовых полостей. Болезнь заканчивается летально в течение 2-6 сут.;

- *патоморфологических изменений*, из которых особо следует выделить увеличение селезёнки (в 1,5-2 раза), серозно-геморрагическую пневмонию с отёком междольковой соединительной ткани, полнокровие почек с множественными кровоизлияниями, геморрагическую инфильтрацию лимфоузлов, скопление большого количества серозно-геморрагического инфильтрата в грудной, брюшной и перикардиальной областях, отёк желчного пузыря. Наличия трёх и более

признаков у нескольких заболевших животных даёт основание подозревать в частном хозяйстве или свиноферме АЧС.

Окончательно подтвердить циркуляцию возбудителя в хозяйстве можно только в специализированных ветеринарных лабораториях и научно-исследовательских учреждениях по особо опасным болезням животных при строгом соблюдении мер санитарной безопасности.

Лабораторные методы диагностики АЧС можно разделить на две группы: выделение вируса и выявление его антигена (ДНК-зонд, иммунофлуоресцентный метод, реакция задержки гемадсорбции, реакция диффузионной преципитации, реакция иммунофлуоресценции, полимеразная цепная реакция), а также обнаружение специфических антител в сыворотке крови (непрямая иммунофлуоресценция, иммуноферментный анализ, встречный иммуноэлектрофорез) и биопроба [18].

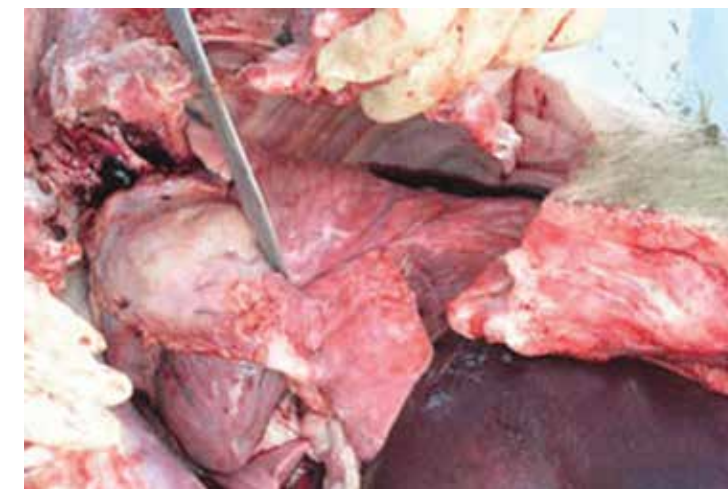
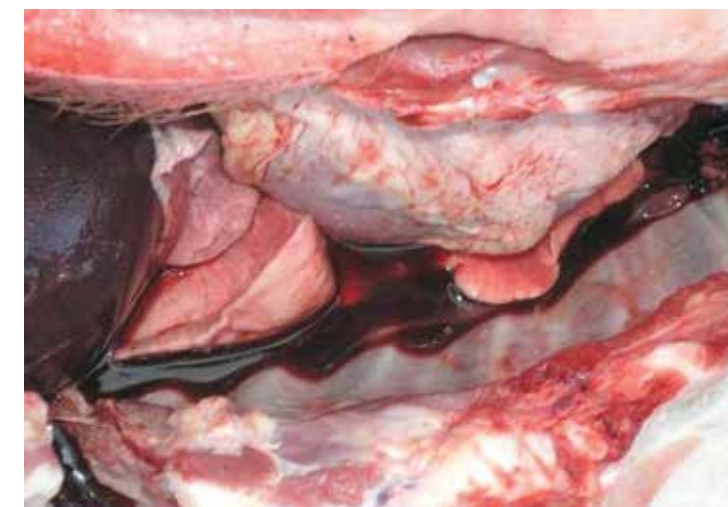
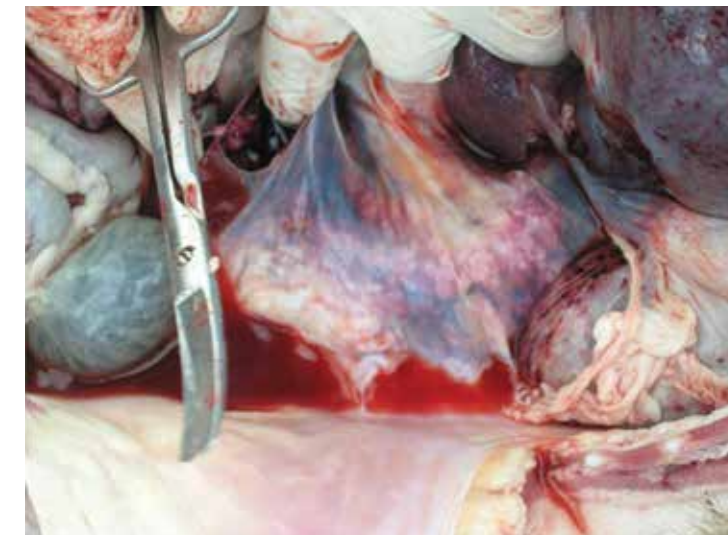
Окончательный диагноз на АЧС с учётом лабораторных исследований устанавливают при совпадении результатов метода флуоресцирующих антител, полимеразной цепной реакции, выделения вируса АЧС в культуре клеток и обнаружения специфических антител. А доказать присутствие в хозяйстве патогенного возбудителя и одновременно провести дифференциальную диагностику АЧС и КЧС позволяет постановка биопробы [6].

При постановке окончательного диагноза необходимо исключить КЧС, болезнь Ауески, пастереллёз, сальмонеллёз, рожу и отравления любого рода.

Говоря об иммунитете при АЧС, следует отметить, что он изучен недостаточно. Одна из наиболее отличительных его особенностей состоит в том, что вирус не способен стимулировать синтез полноценных вируснейтрализующих антител, а в организме животного образуются нерастворимые иммунные комплексы или «неполноценные» антитела, которые неспособны нейтрализовать вирус. При этом иммунная система воздействует не на возбудителя инфекции, а на пораженные клетки своего организма (аутоиммунная реакция), приводя к их разрушению. Такая особенность иммунного ответа при АЧС привела к тому, что эффективных вакцинных препаратов для профилактики АЧС на сегодняшний день не существует. Поэтому основным средством борьбы с АЧС является предупреждение её возникновения и поддержание эпизоотического благополучия.

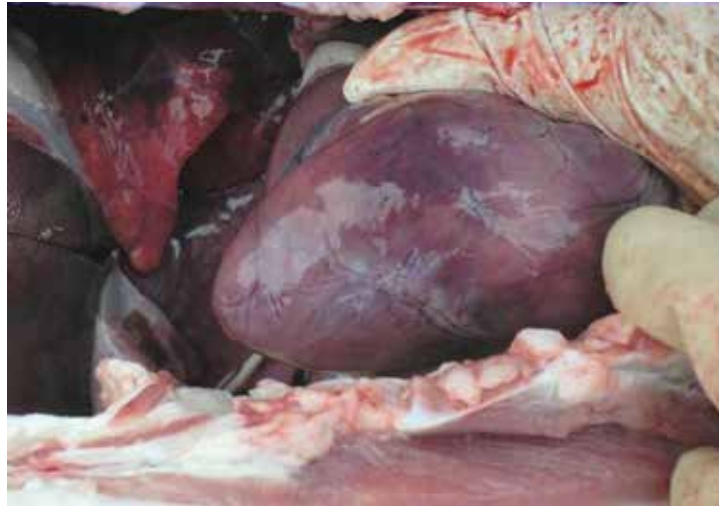
Для недопущения проникновения АЧС из стран, неблагополучных по этой болезни, устанавливают строгий контроль в международных морских и воздушных портах, на пограничных железнодорожных и шоссейных пропускных пунктах. Строго следят за ввозом домашних и диких свиней, продуктов их убоя и кормов. Контролируют сбор и обеззараживание пищевых отходов и мусора, выгруженных с прибывших из других государств (независимо от их благополучия по АЧС) морских и речных судов, самолётов, поездов, автобусов дальнего следования и грузового автомобильного транспорта. Запрещается содержать свиней в частных хозяйствах и тем более строить большие свинокмплексы на территориях, прилегающих к международным аэропортам, морским, речным портам и на пограничных железнодорожных станциях [16].

Все свиноводческие хозяйства должны работать в режиме «закрытого типа», исключая возможность посещения территории посторонними гражданами,



Фиброзный экссудат в брюшной и грудной полостях
(Источник: <http://www.rsn-sk-26.ru/news/article-124.html>)

а также проникновения бродячих и диких животных. Частные лица должны обеспечить безвыгульное содержание свиней, содержать их в закрытых помещениях (сараях, свинарниках), не допуская контакта с другими животными и свободного их выгула на территории населенных пунктов, особенно в лесной зоне [20].



Геморрагии и кровоизлияния в сердечной мышце
(Источнику: <http://www.rsn-sk-26.ru/news/article-124.html>,
<http://bmv1.bryanskstel.ru/www/presachs.pdf>)

Соблюдать зооигиенические и санитарные нормы содержания животных, регулярно проводить дезинфекцию и дезинсекцию (обработку против внешних паразитов) мест содержания свиней, хранения и приготовления кормов [33]. Ветеринарная служба должна обеспечить полноценное обслуживание свиней, осуществлять учёт поголовья на промышленных, личных подсобных и индивидуальных фермерских хозяйствах; регулярно проводить клинический осмотр свиней и немедленно сообщать о случаях внезапного их падежа; предоставлять животных для вакцинации против КЧС, рожи; ежедекадно обрабатывать свиней и помещения для их содержания от кровососущих насекомых (клещей, вшей, блох); пресекать торговлю живыми свиньями в несанкционированных местах без ветеринарных сопроводительных документов; производить учёт диких кабанов в охотхозяйствах и заповедниках.

В случае подозрения АЧС, а также при массовых заболеваниях и/или падеже свиней необходимо информировать Управление Россельхознадзора и ближайшее лечебное учреждение Государственной ветеринарной службы. До их прибытия изолировать всех больных и подозрительных свиней в том же помещении, в котором они находились. С территории

фермы, где обнаружено заболевание, запрещается выход обслуживающего персонала без прохождения процедур соответствующей санитарной обработки. До подтверждения диагноза из неблагополучного населенного пункта запрещается выезд автотранспорта [14].

При подозрении на АЧС срочно отбирают патологический материал и направляют его в специализированную ветеринарную лабораторию (институт) для исследования и подтверждения диагноза.

Сразу же после подтверждения диагноза в эпизоотическом очаге устанавливают карантин. Для проведения мероприятий по ликвидации болезни и её последствий создаётся специальная группа. В эпизоотическом очаге всех свиней уничтожают бескровным методом. Трупы убитых и павших животных, навоз, остатки кормов, тару и малоценный инвентарь, а также ветхие помещения, деревянные полы, кормушки, перегородки, изгороди сжигают на специально отведённых площадках в пределах эпизоотического очага. Несгоревшие остатки и золу смешивают с известью и закапывают на глубину не менее 2 м [10].

В местах содержания свиней проводят трёхкратную дезинфекцию в следующем порядке: первую – сразу после уничтожения животных (одновременно осуществляют дезинсекцию, дезакаризацию и дератизацию), трупы грызунов собирают и сжигают; вторую – после снятия и сжигания деревянных полов, перегородок, кормушек и проведения тщательной механической очистки; и заключительную – перед снятием карантина [42].

На территории первой угрожаемой зоны, непосредственно прилегающей к эпизоотическому очагу на глубину 5-20 км от его границ, вводят ограничения. Проводят учёт всех свиней и предупреждают владельцев животных о запрете продажи, перемещения, выгульного содержания и бесконтрольного убоя. Производят отстрел диких кабанов и всех бесхозных свиней. В кратчайшие сроки проводят отчуждение и всех свиней направляют на убой в ближайшие мясокомбинаты или убойные пункты, специально созданные в первой угрожаемой зоне. Мясо и другие продукты убоя свиней перерабатывают на вареные, варено-копченые сорта колбас или консервы [37].

На дорогах, ведущих из эпизоотического очага в первую угрожаемую зону и между первой и второй угрожаемыми зонами, устанавливают круглосуточные карантинные посты, оснащенные шлагбаумами, дезбарьерами и домиками для дежурных. Разведение свиней в первой угрожаемой зоне разрешают через 6 мес. после уничтожения свиней неблагополучной зоны.

Второй угрожаемой зоной при АЧС считается территория, окружающая первую угрожаемую зону, глубиной до 100-150 км от эпизоотического очага. В этой зоне вводятся те же запрещающие и ограничительные санкции (кроме убоя всех свиней), что и в первой угрожаемой зоне, усиливают ветеринарный надзор за животными.

При подтверждении диагноза на АЧС в неблагополучном хозяйстве, населенном пункте или субъекте Российской Федерации вводится карантин. После уничтожения всех свиней в эпизоотическом очаге и в первой угрожаемой зоне, а также проведения заключительной дезинфекции карантин снимается (30 сут.). После отмены карантина в течение 6 мес. запрещается вывозить свиней и продукцию свиноводства за пределы эпизоотического очага, первой и второй угрожаемых зон. Обычно в бывшем эпизоотическом очаге и первой угрожаемой зоне разводить свиней разрешается только через год после снятия карантина (с разрешения Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации этот срок может быть сокращён до 6 мес.) [7].

Все вышеизложенные данные позволяют предположить, что в дальнейшем АЧС будет охватывать новые территории России, оказывая все более и более негативное влияние на свиноводческую отрасль нашей страны. Поэтому на сегодняшний день основная задача, стоящая перед ветеринарными специалистами, сводится к всесторонней характеристике возбудителя АЧС, детальному изучению морфологии, основных свойств вируса, патогенеза инфекции, разработке средств профилактики и усовершенствованию методов диагностики и мер по недопущению возникновения и распространения болезни. Кроме того, необходим постоянный контроль со стороны специалистов ветеринарных служб, скоординированная работа всех ведомств, задействованных в свиноводческой отрасли, особенно – руководителей и работников свиноферм, а также частных лиц, занимающихся разведением свиней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Африканская чума свиней – главная проблема свиноводства России / В.В. Куринов, Д.В. Колбасов, С.Ж. Цыбанов [и др.] // Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. – 2010. – № 3. – С. 82-87.
2. Африканская чума свиней. – URL: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2011/files/iac2010_year.pdf (дата обращения: 24.02.12).
3. Африканская чума свиней в южном регионе России / В.В. Макаров, А.А. Гусев, Е.В. Гусева, О.И. Сухарев // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария. – 2010. – № 3. – С. 7-19.
4. Белов Л.Г. Эпизоотологическая реальность укоренения африканской чумы свиней в России // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: матер. Междунар. науч.-практ. конф. / под ред. А.А. Волкова. – ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2010. – С. 50-53.
5. Болоцкий И., Васильев А., Семенов В. Африканская чума свиней // Свиноферма. – 2008. – № 9. – С. 43-46.
6. ГОСТ 28573-90. Свиньи. Методы лабораторной диагностики африканской чумы. – Введ. 01.01.91. – М.: Стандартинформ, 2005. – 11 с.
7. Гуленкин В.М., Петрова О.Н., Коренной Ф.И. Методологические аспекты признания территории, свободной от опасных болезней животных // Ветеринария. – 2011. – № 3. – С. 23-28.
8. Диагностика и мониторинг при вспышках африканской чумы свиней в республиках Кавказа в 2007-2008 гг. / В.В. Куриннов, Д.В. Колбасов, С.Ж. Цыбанов [и др.] // Ветеринария. – 2008. – № 10. – С. 20-25.
9. Дудников С.А., Петрова О.Н., Коренной Ф.И. АЧС: картографический анализ распространения заболевания на территории Российской Федерации. – Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ», 2011. – 108 с.
10. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней // Ветеринарное законодательство. – 1988. – Т. 4. – С. 394-402.
11. Караулов А.К., Шевцов А.А., Бардина Н.С. Особенности эпизоотического процесса при африканской чуме свиней в современных условиях // Ветеринария Кубани. – 2011. – № 3. – С. 8-10.
12. Клиническое проявление и патологоанатомические признаки африканской чумы свиней в республике Абхазия / Э.А. Аншба, В.Н. Герасимов, С.А. Кукушкин, Н.А. Власов // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. – Владимир, 2008. – Т. 6. – С. 121-128.
13. Курнявко Н.Ю., Макаров В.В., Сухарев О.И. Африканская чума свиней в Грузии // Ветеринарная практика. – 2008. – № 3. – С. 22-26.
14. Ликвидация африканской чумы свиней в республике Абхазия / В.Н. Герасимов, С.А. Кукушкин, А.В. Мищенко [и др.] // Ветеринария. – 2008. – № 3. – С. 19-24.
15. Особенности развития эпизоотии африканской чумы свиней в России / А.А. Шевцов, Н.С. Бардина, О.Н. Петрова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2011. – № 3. – С. 13-15.
16. Пособие по подготовке чрезвычайных планов действия на случай эпидемии африканской чумы свиней / М.Л. Пенрит, В. Губерти, К. Денер [и др.] // Продовольственная и с.-х. организация объединенных наций. – Ереван, 2011. – 77 с.
17. Природная очаговость африканской чумы свиней / В.В. Макаров, А.А. Гусев, Е.В. Гусева [и др.] // Экология и животный мир. – 2010. – № 2. – С. 3-13.
18. Салимов В.А., Салимова О.С. Распространение и диагностика африканской чумы свиней // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – № 1. – С. 18-22.
19. Семенихин А.Л. Африканская чума свиней // Ветеринария с.-х. животных. – 2008. – № 1. – С. 15-18.
20. Совершенствование противоэпизоотических мероприятий при АЧС / А.Л. Семенихин, И.Ф. Вишняков, И.А. Бакулов [и др.] // Тезисы докладов научной конференции ВНИИВВиМ по вопросам ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. – Покров, 1992. – С. 71.
21. Чепелева Е.Н. Эпизоотологическая и социальная опасность африканской чумы свиней в Южном Федеральном округе РФ: эпизоотологический мониторинг: дис. ... канд. вет. наук. – Нижний Новгород, 2010. – 168 с.
22. Шуляк Б.Ф. Африканская чума свиней // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2008. – № 3. – С. 36-37.
23. African swine fever virus DNA in soft ticks, Senegal / L. Vial, B. Wieland, F. Jori // Emerg. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 13. – P. 1928-1931.
24. African swine fever virus infection of the bush pig (*Potamochoerus porcus*) and its significance in the epidemiology of the disease / E.C. Anderson, G.H. Hutchings, N. Mukarati [et al.] // Vet. Microbiol. – 1998. – Vol. 62, № 1. – P. 1-15.
25. African swine fever in Mozambique: review, risk factors and considerations for control / M.L. Penrith, C. Lopes Pereira, M.M. Lopes da Silva [et al.] // Vet. Res. – 2007. – Vol. 74. – P. 149-160.
26. An outbreak of African swine fever in Nigeria: virus isolation and molecular characterization of the VP2 gene of a first isolate from west Africa / S.O. Odemuyiwa, I.A. Adebayo, W. Ammerlaan [et al.] // Virus Genes. – 2000. – Vol. 20, № 2. – P. 139-142.
27. Ayoade G., Adeyemi I. African swine fever: an overview // Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop. – 2003. – Vol. 56. – P. 129-134.
28. Dixon L.K., Chapman D. African swine fever virus // Encyclopedia of Virology / ed. B.W. Mahy. – N.Y., 2008. – P. 43-51.



Множественные кровоизлияния в почках (Источник: <http://www.rsn-sk-26.ru/information/article-1.html>)

29. Family *Asfarviridae* / L.K. Dixon, J.V. Costa, J.M. Escribano [et al.] // *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses* / M.H. Van Regen-Mortel, C.M. Fauquet, D.H. Bishob. – San Diego, 2000. – P. 159-165.

30. Genetic characterization of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973-1999) / C.I. Boshoff, A.D. Bastos, L.J. Gerber [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2007. – Vol. 121. – P. 45-55.

31. Lubisi B.A. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa: M. Sc. Dissertation / University of Pretoria, 2005. – P. 27-83.

32. Medus C.A. African swine fever // *Advances in Virus Research.* – 1988. – Vol. 35. – P. 251-269.

33. Medus C.A. African swine fever // *Foreign Animal Diseases / United States Animal Health Association.* – Richmond, 1998. – P. 52-61.

34. Medus C.A., Dardiri A.H. Additional characteristics of diseases caused by the African swine fever viruses isolated from Brazil and Dominican Republic // *Proc. Ann. Meet. U.S. Anim. Health Asso.* – 1979. – Vol. 82. – P. 227-239.

35. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa / B.A. Lubisi, A.D. Bastos, R.M. Dwarka [et al.] // *Arch. Virol.* – 2005. – Vol. 150, № 12. – P. 2439-2452.

36. *Ornithodoros porcinus* ticks, bushpigs, and African swine fever in Madagascar / F. Roger, J. Ratovonjato, P. Vola [et al.] // *Exp. Appl. Acarol.* – 2001. – Vol. 25. – P. 263-269.

37. Penrith M.L. African swine fever // *Vet. Res.* – 2009. – Vol. 76, № 1. – P. 91-95.

38. Penrith M.L., Thompson G.R., Baston A.D. African swine fever // *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa, 2nd / J.A. Coetzer, R.C. Tustin.* – Cape Town, London, New York, 2004. – P. 1087-1119.

39. Salas M. African swine fever virus (*Asfarviridae*) // *Encyclopedia of Virology / ed. A. Granoff.* – London, 1999. – P. 30-38.

40. Sancyez-Vizcaino J.M. African swine fever // *Diseases of Swine, 9th / B. Straw, S. D'Allaire, W. Mengeling [et al.]*. – Iowa, USA, 2006. – P. 291-298.

41. Spatio-temporal dynamics of African swine fever outbreaks in Nigeria, 2002-2007 / O.A. Owolodun, B. Yakubu, J.F. Antiabong [et al.] // *Transboundary and Emerging Diseases.* – 2010. – Vol. 57. – P. 330-339.

42. Vinuela E. African swine fever virus // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 1985. – Vol. 116. – P. 151-170.

43. Wilkinson P.J., Wardley R.C., Williams S.M. African swine fever (Malta/78) in pigs // *Comparative Pathology.* – 1981. – Vol. 91. – P. 277-285.

UDC 619:616.98:578.842.1

ANALYSIS OF PUBLICATIONS ON AFRICAN SWINE FEVER

O.V. Kukharkina¹, I.A. Borisova², O.A. Borisova³

¹Senior Researcher, PhD (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kuharkina@arriah.ru

²Senior Researcher, PhD (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir

³Leading Researcher, PhD (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir

SUMMARY

Recently the number of cases of African swine fever occurrence and spread, a foreign animal disease for Russia, has increased greatly. Herewith it is necessary to note that the infection situation is aggravating exponentially. Thus, only two cases of infection were registered in the Russian Federation in 2007 but in 2008 – 62 cases were registered, in 2009 – 73 cases, in 2010 – 84 cases, in 2011 – 62 cases and in 2012 – 121 cases. In 2013 there were registered 187 outbreaks of infection in domestic pigs and wild boars. That's why review of Russian and foreign literature on this problem is of a special interest today.

Key words: African swine fever, *Asfarviridae* family, soft ticks.

Today pig production of our country is on the upswing. Thus, in 2010 a number of pigs in holdings of all categories was 18.7 million animals which is 3% more than in 2009 (17,7 million) and 7% more than in 2008 (17,0 million) [1].

However, increase in pig production leads not only to more cases of already existing diseases but to emergence of foreign and transboundary infections which aggravates epizootic and epidemic situation on a range of diseases in the Russian Federation. Epizootic significance of bacterial and parasitic pig diseases (pasteurellosis, colibacillosis) has also increased. Edema disease, swine fever and red fever cases have become more frequent. Situation of ASF, which was considered a foreign animal disease in our country, has considerably deteriorated lately. All these factors caused a decrease in number of pigs in 2011 up to 18.3 million of animals. Though such decrease is not a very significant one it is a very dangerous tendency demanding greater attention and immediate measures.

African swine fever (Latin – *Pestis africana suum*; Montgomery swine flu; East African pig plague) is a highly dangerous, contagious, viral disease likely to

cause outbreaks in the wild. Regardless of transmission route the disease infects only wild boars and domestic pigs of all ages, breeds, sex during any season and causes high lethality (97-100%). Survived animals become virus carriers for the rest of their lives [19].

The sources of infection are sick, reconvalescent, dead pigs and virus-carriers. The virus escapes from their bodies with faeces, urine, saliva, conjunctiva secretion, discharge from genital tracts. Maximum virus concentration is detected in blood. Pigs are mainly infected when healthy animals are kept together with infected pigs or virus carriers and animals in the virus incubation period [17].

Soft ticks of *Ornithodoros* genus are ASF natural reservoir and infection carriers. Arthropods get the virus when they suck blood of sick animals. Then the agent propagates in their body and when they bite healthy pigs the virus is transmitted to them. It was noticed that the virus concentration in insect bodies is higher than in pig carriers. ASF agent propagation and persistence is observed in 70-75% of ticks. Besides, the virus is viable even in dead ticks. Due to long lifespan of these insects (up to 25 years) and close biological interrelations between the infectious agent and ticks the focus of the disease can exist for a long time without virus reintroduction. In regions where it happened the virus is unlikely to be eradicated [24].

ASF is not dangerous for humans and other animal species. However, the disease is rapidly taking on a size of an epizootic and a panzootic causing considerable economic losses to pig production including direct losses (expenditures for pig destruction in the affected area) as well as cost intensive animal health and quarantine measures, and restrictions on pig trade and products from slaughtered animals. Overall damage is accounted by dozens million dollars. Such absence of risk for people and 100% lethality in pigs makes ASF an ideal means for economic attacks at countries with big share of pig production and pork consumption [5].



Lesions and crusts caused by chronic African swine fever
(source: <http://thediagnosticveterinarypathologist.blogspot.com/>)

ASF agent is a 20-faced cytoplasmic DNA-containing virus of *Asfivirus* genus, *Asfavididae* family. Today it is the only representative of this family, but there is an opinion that later other virus will be referred to this family [29].

ASF virus is resistant to a wide range of temperatures (at -30-60°C – from 6 to 10 years, at 20°C – up to 18 months, at 37 °C – upto 30 days, at 50 °C – 1 hour). Sunrays are destructive for ASFV and some strains are neutralized already in 12 hours. The pathogen is sensitive to drying, for example in tropical countries pig houses become virus free in 3-4 days even without cleaning and disinfection. ASF agent is persistent in wide range of pH both in acidic and alkaline media (4.0-13.0) but in favorable medium (blood serum) it retains its activity at lower or hire pH values from several hours up to three days [22].

For a long time ASF had been registered only on the African continent being a typical zoonotic foreign disease with natural virus circulation in wild African swine population. However, in the beginning of the XX a disease with clinical signs and lesions similar to classical swine fever (CSF) started to be registered in pig stud breeds exported to colonial countries of sub-equatorial and equatorial Africa. The disease was characterized by a rapid course and lethality reached 100% [35].

Hatchen and Stockman were the first to report the disease in 1903 and R. Montgomery, English researcher, who observed outbreaks of lethal infection in pigs as a result of which 98, 9% of the population died, was the first one to describe the viral nature of the disease. It is necessary to note that since the moment of detection up to the present time ASF outbreaks have been registered in many African countries. The threat of ASF emergence is the main factor which hinders pig production in Africa. That's why pig population in Africa makes up 1% of the world population.

In 1957 the disease escaped the African continent for the first time and was registered in Portugal. As a result more than 17 thousand diseased and suspect pigs were

slaughtered. Then the disease took root in most European countries: France (1964, 1967, 1974), Malta (1978), Italy (1967, 1978-1984), Belgium (1985), the Netherlands (1986), Holland (1986) [42].

At the same time the disease penetrated into the other side of Atlantics and spread over Central and South America: Brazil (1978-1979), Cuba (1971, 1980), Dominican Republic (1978-1980) and Haiti (1978-1980). Disease eradication in Dominican Republic, on Malta and Haiti was achieved by pig stamping out [34]. In the following years the infection outbreaks were registered in many countries of the world [23, 25, 26, 30, 31, 36, 41].

At the beginning of XXI the nosoarea drastically expanded. Today according to official data ASF is registered in 24 countries of the world including Russia. Dramatic situation related to the disease spread is observed in Caucasus (Georgia, Armenia, South and North Ossetia, Azerbaijan) where in 2007-2008 ASF was not registered and was considered a foreign disease [8, 12, 13].

However, since 2008 the number of comments made by official services of these countries on actual ASF situation development decreased. The reason probably is that if a country is ASF affected undergoes sanctions which ban animal and farm product export. That's why declaration of quarantine is economically unprofitable for any country.

The first ASF case in the Russian Federation was registered in November 2007 in Shatovsky region Chechen Republic.

Then (in 2008) the disease was registered in Ingushetia, North Ossetia, Kabardino-Balkaria, Dagestan, Karachay-Cherkessia, Adygeya, Krasnodar and Stavropol Krai. 50 thousand pigs were stamped out in ASF affected areas of the Russian Federation. According to the National Veterinary Service of the Russian Federation 45 ASF affected sites were detected in 2008 including 35 in North Ossetia. According to official data 4 031 animals got sick and 3 992 of them died. 45 700 pigs were destroyed during 2008

[21]. It should be noted that in 2008 ASF outbreak was reported in Orenburg Oblast 1 650 km from the affected zone. It was the first case of the infection escape from the endemic zone.

In 2009 ASF situation was aggravating. The disease was registered in 10 subjects of the Russian Federation. All in all there were detected 54 affected sites (35 in pigs and 19 in wild boars). 35.7 thousand animals were stamped out during ASF foci eradication [3].

In 2010 ASF epizootic situation in the Russian Federation was still very complicated. If in previous years the disease was considered to be a foreign disease (usually not registered and sometimes emerging as few isolated foci) in our country then since the beginning of 2010 ASF has been specified as an endemic disease, i.e. constantly circulating in the Russian Federation [15].

According to the National Veterinary Service of the Russian Federation 77 new ASF outbreaks (58 outbreaks in pig, 19 animals in wild boars) were registered in 2010 including previously free areas. The most complicated situation was in Rostov Oblast where the number of affected sites with diseased pigs reached 24 [2].

In 2011 ASF situation aggravated and 51 affected sites and 9 infected facilities were detected: 29 of them in backyards and farms, 9 in agricultural establishments, including 13 in wild boar population. By the end of the year the endemic zone had expanded to Kursk, Voronezh and Saratov Oblasts. Risk zone included Orel, Lipetsk, Tambov, Penza, Ulyanovsk, Samara Oblasts and Republic of Bashkortostan. It is necessary to pay special attention to so called "remote" cases the number of which increased up to 22 in 2011 [9, 11].

In the first half of 2012 dead wild boars were detected in hunting entities of Torzhok region, Tver Oblast. Later ASFV genome was isolated from them.

By April 2012 there had been 7 affected zones in four subjects of the Russian Federation (575 pigs were diseased, about 39 000 pigs were stamped out). ASF was registered in pigs in Krasnodar Krai (3 facilities), Volgograd Oblast (2 facilities), Karelia (1 facility) and Kalmykia (1 facility). In Krasnodar Krai, Tver and Volgograd Oblasts there were also cases of wild boar death. All in all 121 ASF outbreaks were detected in our country in 2012.

In 2013 187 ASF cases were detected, the disease spread over 5 RF subjects: Belgorod, Volgograd, Pskov, Smolensk, Tambov Oblasts. Besides, ASF was reported in Belarus in 2013. 4 600 samples taken from pigs and wild boars, 352 pig product samples were tested in affected regions.

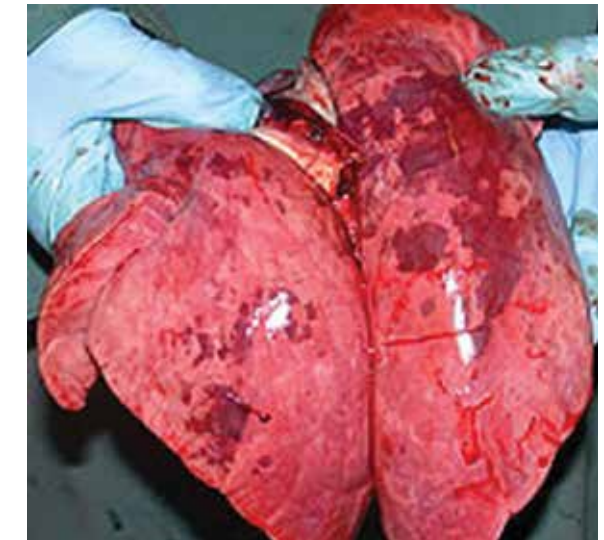
The specified data are indicative of the fact that our country has become sustainably affected with the disease and presence of this infection is likely to be inevitable in the nearest future. That's why thorough investigation of ASF outbreaks aimed at finding causes of agent introduction, immediate measures aimed at infection eradication, prevention of its escape from holdings and its reoccurrence have become significant. It is necessary to timely detect the disease and know the disease manifestations as well as postmortem lesions [4].

Duration of the incubation period, form and severity of the course of the infection depend on an animal status, strain virulence and amount of virus in the body and infection route. An average incubation period is 2-7 days. The course of the disease can be overacute, acute, chronic, and in endemic areas – inapparent [39].

Overacute and fulminant course of the disease is 1-3 days and is quite rare. Herewith temperature of pig's bodies



Hemorrhagic diathesis caused by ASF
(Source: http://www.zooclub.ru/veter/pestis_africana_suum.shtml)

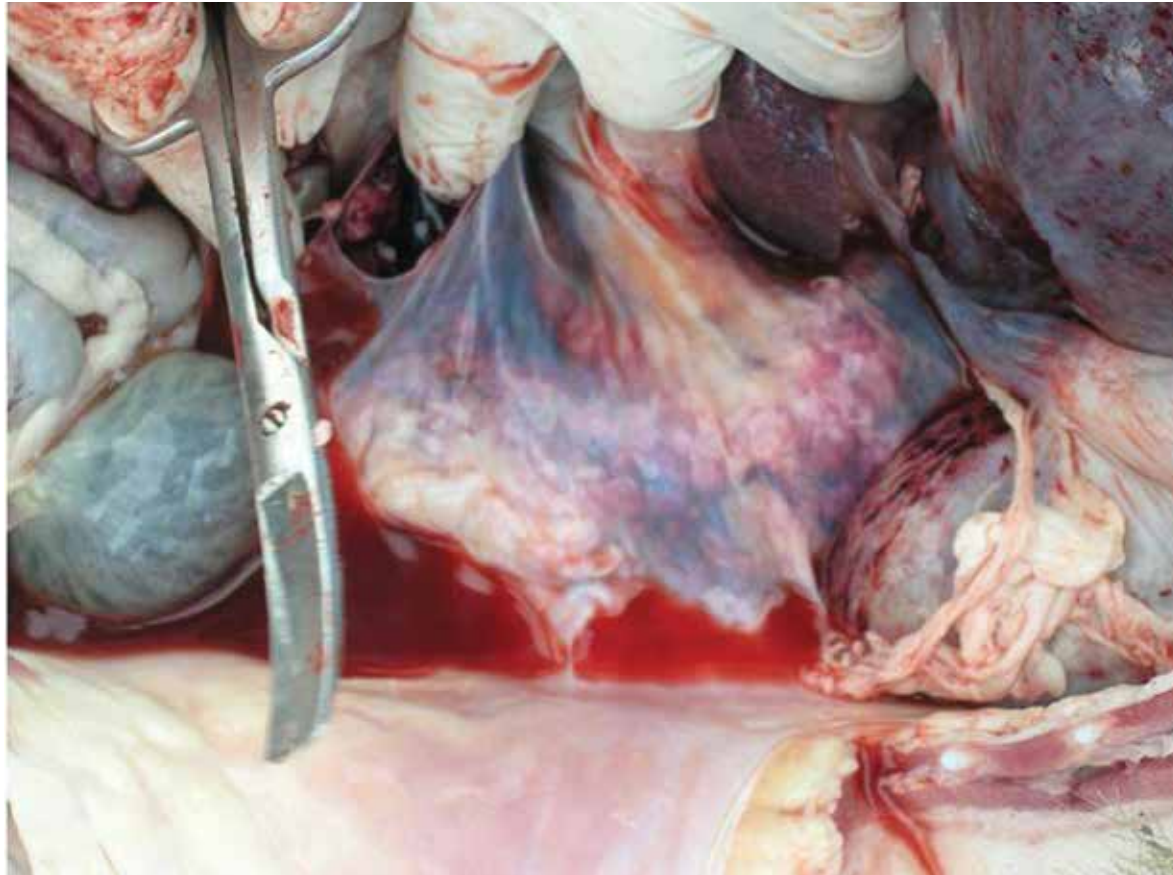


Vast pulmonary hemorrhages
(source: http://insciences.org/article.php?article_id=7681)

goes up to 42.0 °C. Weakness and depression are observed. Animals stand up with difficulty, they have severe dyspnea and in 24-72 hours animals die. Death without any clinical signs of the disease can be observed. All diseased animals die [33].

Acute form of the disease is observed if infection agent is a highly virulent isolate. This disease form is characteristic of ASF and it lasts 4-10 days (on the average-7 days). As a rule the disease ends in death. It starts with increase of temperature up to 40.5-42.0°C. Depression, apathy, anorexia, vomiting, mucopurulent secretions from nose and eyes, loss of motion coordination, paresis and palsy of hind limbs are observed especially 24-48 hours before death. Animal's head is bent forward, tail is straight, animals are thirsty. Diseased animals tend to lie nuzzling in a litter, stand up and move with difficulty and get tired quickly. Signs of lung inflammation appear. Brachypnoe is observed. Breathing becomes short, cogwheel, shallow and sometimes is accompanied with coughing. In this period eye conjunctiva and other mucous membranes get red, skin at various sites with multiple hemorrhages turns blue [28].

Sometimes digestive disorder is observed: diarrhea with blood or constipation. Feces are often solid, covered with mucosa. Sick gestating sows abort. Some animals manifest symptoms of nervous disorder (twitches, palsy,



comatose state) and nasal bleeding. Death comes within 6-13 days and sometimes in 20 days. 24-48 hours before death body temperature abruptly goes down and the animal slips into a coma. Survived pigs remain virus carriers for life. At this form of the disease convalescence is rarely observed, only in 1-2% cases. Lethality rate of domestic pigs is usually 100% [43].

Moderately virulent isolates cause subacute disease which lasts 5-30 days. It is characterized by the same symptoms as the acute form but their manifestation is less apparent. Temperature of sick animal bodies is within 40.5-42.0°C during the first week and then goes down to 40.0-40.5°C. The level of lethality is 30-70% and in rare cases the disease becomes chronic [32].

Chronic disease is observed in survived animals and pig populations persistent to infection at infection with low virulent isolates.

Such course of the disease is characterized by occasional temperature increase intermittent with fever, weight loss, graduate waste and growth retardation. Lethality level is not high and convalescence is observed in 40-50% of cases [27].

Over the last 20 years ASF disease form has changed in some countries. Herewith, lethality has considerably decreased and the number of inapparent cases increased. Such disease manifestation is characteristic of latent or symptomless course of ASF (months and years) which is not accompanied with clinical signs but is demonstrating itself as intermittent viremia.

Mottled hepatoportal and bronchial lymph nodes as well as lung focal lesions are characteristic of this disease form. This disease form usually circulates in natural ASF carriers (warthogs, giant forest pigs and bushpigs in Africa, domestic pigs in Spain and Portugal). When such pigs are stressed the virus escapes from their bodies and infects healthy animals in which the course of the disease

is overacute and is characterized by high contagiousness, fever and ends in death. [38].

Speaking about the disease postmortem lesions it should be noted that regardless of virus penetration routes more severe septic signs can be manifested. They are characterized by hemorrhagic diathesis, inflammation, dystrophic and necrotic lesions in different organs.

Overacute and acute disease is characterized by the following pathomorphological signs: hemorrhagic diathesis, lymphadenitis, splenitis, osteomyelitis, serosanguineous, conjunctivitis, gastroenteritis, cholecystitis, serofibrinous pleurisy, peritonitis, granular and fatty dystrophy of liver, kidneys and cardiac muscle, acute venous hyperemia of skin, lungs, liver and kidneys [23].

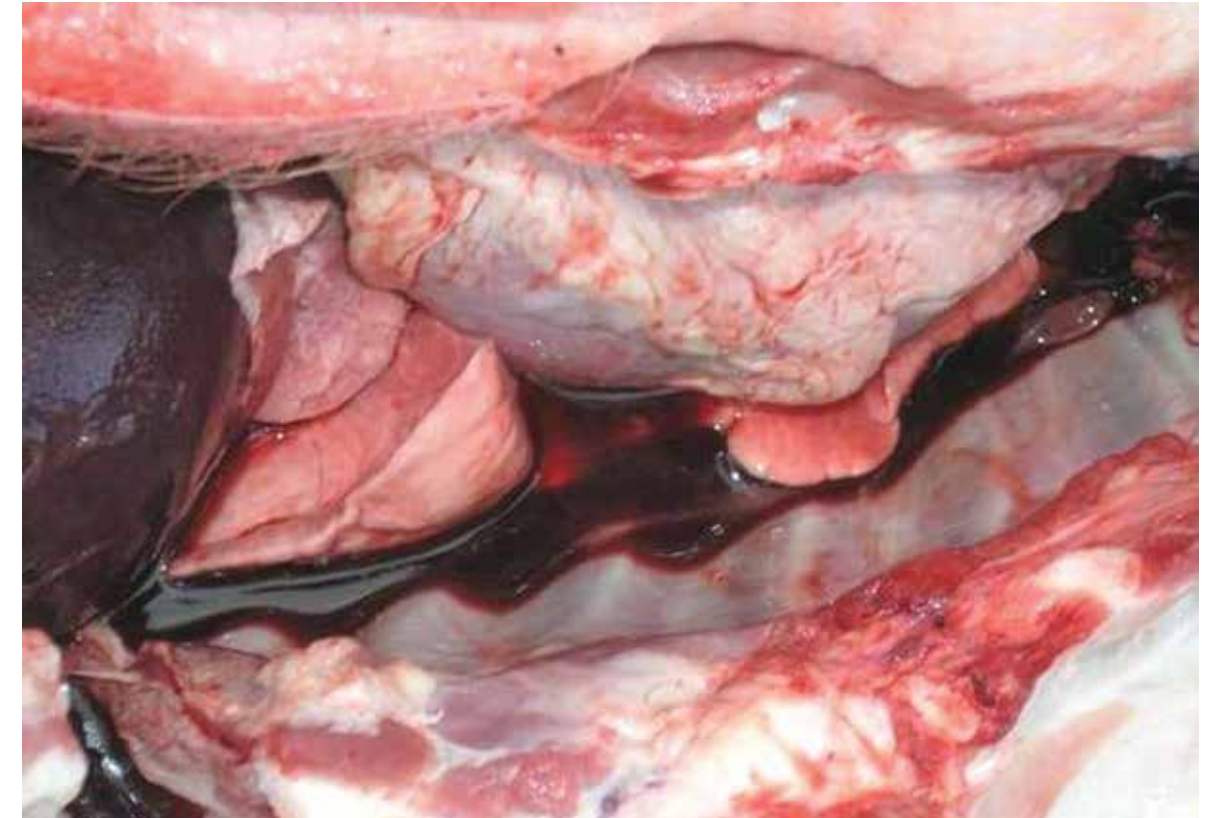
Post-mortem lesions detected during the autopsy of the animals died of subacute and chronic disease are similar to those ones typical of Classical swine fever: edema, haemorrhages, and infarcts. Spleen is enlarged, soft and with typical splenitis signs (septic spleen).

Changes in lungs are observed (mostly double purulent and fibrotic inflammation) in case of chronic and asymptomatic ASF, therefore, bronchial and pulmonary lymph nodes are mostly affected. In addition to it, the following signs are observed: serofibrinous pericarditis and arthritis, necrotic lesions on the lower abdomen skin, on external ears and in perineum (40).

Diagnosis is a key factor to control ASF. Timely and correct diagnosis is a prerequisite for successful eradication of the disease. Previously reported late ASF diagnosis provoked wide spread of the disease. For example, due to late diagnosis (3 months) in 1978 ASF affected 17 out of the 22 Brazilian states.

Preliminary diagnosis is made in a comprehensive way based on three main components:

- Results of epizootic examination taking into account trade and economic ties with the ASF-affected countries



and territories. Rate of the disease spread, mortality level shall be assessed, epizootic status of the animals vaccinated from Classical swine fever;

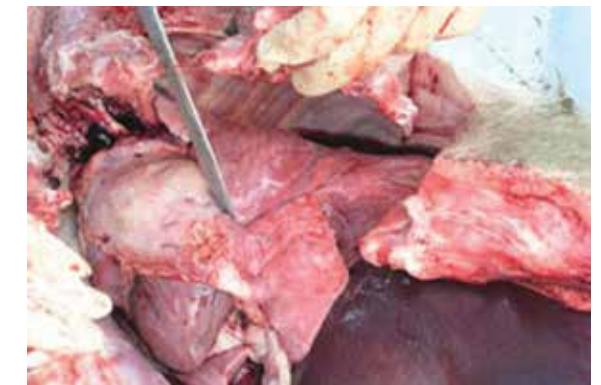
- Clinical signs, basic clinical signs are: a persistent fever for 3-6 days, depression, hemodynamic disorder, hemorrhagic diathesis of skin, ears, abdomen, pulmonary edema, diarrhea (sometimes with blood), bloody discharge from the oral and nasal cavities. Fatal outcome of the disease is reported on day 2-6 post infection;

- Pathomorphological changes, enlarged spleen shall be especially noted here (approximately 1.5- 2 times bigger), serous hemorrhagic pneumonia, oedema of the connective tissues of the interlobular septa, renal hyperemia with multiple hemorrhages, hemorrhagic infiltration in lymph nodes, accumulation of great amounts of serous hemorrhagic infiltrate in chest, abdominal and pericardial cavities, edema of the gall bladder. Three of more signs in several affected animals are enough to suspect ASF in the backyard or on the farm.

Ultimately, the virus circulation can be confirmed on the farm only in specialized veterinary laboratories and research institutions dealing with highly dangerous animal diseases, when all the requirements for sanitary safety are complied with.

Laboratory methods used to diagnose ASF can be divided into two groups: virus isolation and antigen detection (DNA-probe, immunofluorescence method, hemadsorption inhibition test, diffusion precipitation test, immunofluorescence test, polymerase chain reaction), detection of specific antibodies in sera (Indirect Immunofluorescence, ELISA, counter immunoelectrophoresis) and bioassay (18).

ASF is finally diagnosed on the basis of lab tests, in case results of immunofluorescent antibody test, polymerase chain reaction, ASF virus isolating in cell culture and specific antibody detection coincide. Bioassay helps to prove that pathogen circulates on the farm and to simultaneously carry out differential diagnosis of ASF and CSF [6].

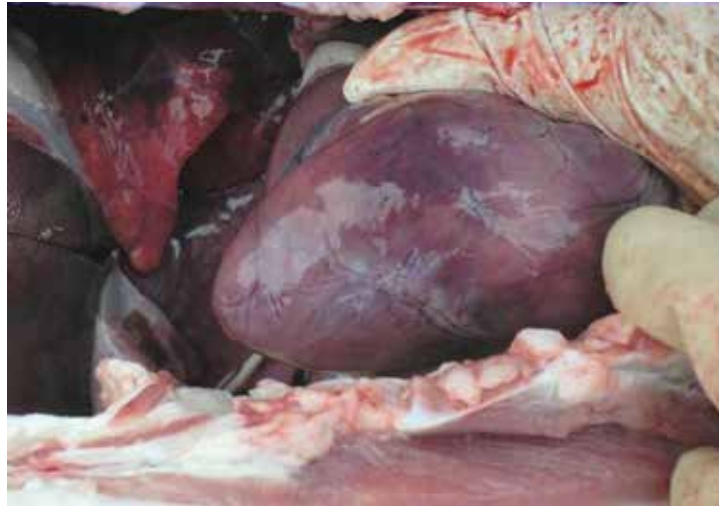


Fibrous exudate in abdominal and chest cavities
(Source: <http://www.rsn-sk-26.ru/news/article-124.html>)

When the disease is finally diagnosed the following other diseases shall be excluded: CSF, Aujeszky's disease, salmonellosis, erysipelas and any type of intoxication.

It shall be noted that immunity during ASF is not sufficiently studied. One of its peculiarities is that the virus cannot stimulate synthesis of mature virus-neutralizing antibodies and insoluble immune complexes or "non-mature" antibodies that are unable to neutralize the virus are developed in animals. The immune system does not affect the disease agent but it affects the infected cells (autoimmune response) leading to their destruction. This peculiarity of the immune response during ASF explains why there are currently no effective vaccine preparations for ASF prevention. Therefore, prevention of the disease alongside with epizootic freedom from the disease is the basic way to control ASF.

In order to prevent ASF introduction from the other affected countries, stringent control shall be ensured in the international seaports, railway border inspection posts and highway inspection points. Import of domestic and



Myocardium haemorrhages
(Sources: <http://www.rsn-sk-26.ru/news/article-124.html>
<http://bmv1.bryanskstel.ru/www/presachs.pdf>)

wild pigs, products thereof and feeds shall be strictly controlled. It is required to control collection and disinfection of food wastes and garbage unloaded from sea and river vessels, planes, trains, long-distance buses and trucks that have arrived from other countries (regardless of their ASF status). It is banned to keep pigs in the backyards and, especially to build large pig farms on the territories adjacent to the international airports, sea and river ports and at the border railway stations [16].

All the pig-farms shall be "closed-type" excluding any possibility of unauthorized visits and entry of stray and wild animals. Private farmers shall ensure in-house management of pigs and keep them in closed facilities (barns, pig pens) excluding any contacts with other animals and free range of the animals within the settlements especially in the forest area [20].

It is required to comply with zoohygienic and sanitary standards for animal management, to regularly conduct disinfection and dissection (treatment against ectoparasites) in the pig pens and the locations where feeds are stored and prepared [33]. The veterinary services shall ensure proper handling of pigs, keep records of the pig population on the commercial farms and in the backyards, to carry out regular clinical examination of pigs and to immediately report on sudden death cases, to vaccinate

the animals against CSF, erysipelas and daily treat the pigs and pig facilities against blood-sucking insects (ticks, lice, fleas), to prevent trade in live pigs in unauthorized locations without any accompanying veterinary documents, to keep records of wild boars in the hunting areas and in the sanctuaries.

The Rosselkhoz nadzor Administration and the closest unit of the national veterinary services shall be informed in case ASF is suspected, and in case of mass diseases and/or mortality in pigs. All the diseased and suspect pigs shall be isolated within the same facility they are kept in till the service representatives arrive. It is banned for the farm staff to leave the farm where the disease was detected without corresponding sanitary procedures. The automobiles shall not leave the affected settlement, till the diagnosis is confirmed [14].

In case ASF is suspected pathological material shall be immediately sampled and sent to specialized veterinary laboratory (institute) for further tests and diagnosis confirmation.

As soon as the diagnosis is confirmed, quarantine is imposed in the outbreak location. An ad hoc group is established to take measures aimed at the disease eradication. All the pigs in the outbreak location are destroyed using a bloodless procedure. The dead and killed animals, manure, feed leftovers, containers and low-cost tools, shabby facilities, wooden floors, feeders, partitions, fences shall be incinerated at the specially designated areas within the outbreak location. Unburned remains and ashes are mixed with the lime and buried at the minimal depth of 2 meters [10].

Three time disinfection is carried out in pig pens: the first step – immediately after animal destruction (desinsection, desacarization and deratization), dead rodents are collected and incinerated; the second step – after wooden floors, partitions, feeders are removed and burned and careful mechanical treatment is carried out, the final stage – before quarantine is lifted [42].

Restrictions are imposed within the first zone at risk directly adjacent to the outbreak, i.e. 5-20 km from the outbreak area. All the pigs are registered and the animal owners are warned about the ban on trade in animals, on animal movements, free-range management and uncontrolled slaughter. Wild boars and all the abandoned pigs are shot. The pigs are seized as soon as possible and are sent to slaughter to the nearest meat-processing plants and slaughter units specially designated in the first zone at risk. Meat and other porcine slaughter products are processed into cooked, smoked sausages and canned products [37].

Day-and-night quarantine posts with automatic barriers, disinfection baths and houses for duty officers shall be placed along the roads leading out of the outbreak location to the first zone at risk, roads connecting first and second zones at risk. Pig breeding in the first zone at risk is allowed 6 months after the pigs have been destroyed in the affected zone.

The second ASF zone at risk is the area surrounding the first zone at risk (100-150 km from the outbreak). The same bans and restrictions are imposed within the second zone at risk as they are within the first zone at risk (except for pig slaughter), veterinary surveillance is enhanced within the area.

In case ASF diagnosis is confirmed, quarantine is imposed on the affected farm, in the settlement or in the RF subject. When all the pigs are destroyed with the outbreak location and the first zone at risk and the final disin-



Multiple renal hemorrhages (Source: <http://www.rsn-sk-26.ru/information/article-1.html>)

fection is carried out, quarantine is lifted (30 days). During 6 months post quarantine it is banned to transport pigs and products thereof out of the outbreak location, first and second zones at risk. Pig breeding is usually restored in the outbreak location and in the first zone at risk only one year after the quarantine has been lifted (if approved by the Department of Veterinary Medicine of the Ministry of Agriculture of the RF this time period can be reduced to 6 months) [7].

All the above-mentioned data suggest that ASF will further affect new Russian territories in having more and more negative impact on the pig production in our country. Therefore, the primary goal that the veterinary specialists shall achieve is to comprehensively characterize ASF agent, study in detail its morphology, basic properties and infection pathogenesis, to develop drugs for prophylaxis and improve diagnostic methods and measures taken to prevent the disease occurrence and spread. In addition to it, permanent veterinary control is required as well as coordination between the authorities involved into the pig production, especially the coordination between the pig farm top management, staff and individuals involved in pig breeding.

REFERENCES

1. African swine fever – great challenge to pig production in Russia / V.V. Kurinov, D.V. Kolbasov, S.Zh. Tsybanov [et al.] // Life without dangers. Health. Prophylaxis. Longevity. - 2010. - №. 3. - P. 82-87.
2. African swine fever – URL http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2011/files/iac2010_year.pdf (date of application: 24.02.12).
3. African swine fever in the Southern Federal District of Russia/ V.V. Makarov, A.A. Gusev, Ye.V. Gusev, O.I. Sukharev//Epizootology, immunology, pharmacology, sanitary conditions. – 2010- №. 3. - P. 7-19.
4. Belov L.G. ASF roots in the epizootological reality of the Russian Federation// Veterinary Medicine. Current problems and prospect: materials of the International scientific conference/ edited by A.A. Volkova – FGOU VPO "Saratovskiy GAU", 2010. – P. 50-53.
5. Bolotsky I., Vasiliyev A., Sementsov V. African swine fever // Pig afrm. -2008- №. 9. – P. 43-46.
6. GOST 28573-90. Pigs. Methods of ASF lab diagnosis. – Entered into force 01.01.91. M.: Standartinform, 2005 – 11 p.
7. Gulenkin V.M., Petrova O.N., Korennoy F.I. Methodology of declaring territories free from dangerous animal diseases // Veterinary Medicine. – 2011.- №. 3 –P. 23-28.
8. Diagnosis and monitoring of ASF in the Caucasian

Republics in 2007-2008/ V.V.Kurinnov., D.V. Kolbasov, S.Zh. Tsybanov and [et al.] //Veterinary Medicine . -2008- №.10. – P. 20-25.

9. Doudnikov S.A., Petrova O.N., Korennoy F.I. ASF: Cartographical analysis of the disease spread in the Russian Federation. – Vladimir. FGBI "ARRIAH", 2011. -108 p.

10. Guidelines on ASF eradication and prevention // the Veterinary Laws.- 1988. – Vol. 4. – P.394-402.

11. Karaulov A.K. Shevtsov A.A., Bardina N.S. Peculiarities of epizootic processes noted during current ASF outbreaks// Kuban Veterinary Medicine.- 2011. – №. 3. - P. 8-10.

12. Clinical signs and post-mortem lesions of ASF detected in Abkhazia /E.A. Anshba, V.N. Gerasimov, S.A. Kukushkin, 2008. –Vol. 6.- P. 121 – 128.

13. Kurnyavko N.Yu., Makarov V.V., Sukharev O.I. African swine fever in Georgia //Veterinary Practice. – 2008. –№ 3 – P. 22-26.

14. Eradication of ASF in the Republic of Abkhazia/ V.N. Gerasimov, S.A. Kukushkin, A.V.Mischenko [et al.] // Veterinary Medicine. -2008. –№. 3 – P.19-24.

15. Peculiarities of ASF epizooty in Russia / A.A. Shevtsov, N.S. Bardina, O.N. Petrova [et al.] // Veterinary medicine and feeding. -2011. – №. 3. –P. 13-15.

16. Drafting contingency plans in case of ASF epizooty / M.L. Penrit, V. Guberti, K. Depner [et al.] // the UN Food and Agricultural Organization. – Yerevan, 2011. – 77 p.

17. Natural nidality of ASF /V.V. Makarov, A.A. Gusev, Ye.V. Guseva [et al.] // Ecology and Wildlife. – 2010. – №. 2. – P. 3-13.

18. Salimov V.A. Salimova O.S. Spread and diagnosis of ASF // Izvstia, Samara State Agricultural Academy. – 2010. – №. 1. – P. 18-22.

19. Semenikhin A.L. African swine fever // Veterinary medicine for farmed animals. – 2008. – №. 1. –P. 15-18.

20. Improving anti-epidemic measures taken to control ASF / Semenikhin A.L., Vishnyakov I.F., Bakulov I.A. [et al.] // Points of the reports of the Scientific Conference in VNIIViM on veterinary virology, microbiology and epizootology. – Pokrov, 1992.- P. 71.

21. Chepeleva Ye. N. Epizootological and social threats posed by African swine fever in the Southern Federal District of the RF: epizootological monitoring: theses... Candidate of Science (Veterinary Medicine) – Nizhny Novgorod, 2010. -168 p.

22. Shulyak B.F. African swine fever // Russian veterinary journal. Farm Animals. – 2008. – №. 3 – P. 36-37.

23. African swine fever virus DNA in soft ticks, Senegal / L. Vial, B. Wieland, F. Jori // Emerg. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 13. - P. 1928-1931.

24. African swine fever virus infection of the bush pig (*Potamochoerus porcus*) and its significance in the epidemiology of the disease / E.C. Anderson, G.H. Hutchings, N. Mukarati [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 1998. - Vol. 62, № 1. - P. 1-15.

25. African swine fever in Mozambique: review, risk factors and considerations for control / M.L. Penrith, C. Lopes Pereira, M.M. Lopes da Silva [et al.] // *Vet. Res.* - 2007. - Vol. 74. - P. 149-160.

26. An outbreak of African swine fever in Nigeria: virus isolation and molecular characterization of the VP2 gene of a first isolate from west Africa / S.O. Odemuyiwa, I.A. Adebayo, W. Ammerlaan [et al.] // *Virus Genes.* - 2000. - Vol. 20, № 2. - P. 139-142.

27. Ayoade G., Adeyemi I. African swine fever: an over-view // *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.* - 2003. - Vol. 56. - P. 129-134.

28. Dixon L.K., Chapman D. African swine fever virus // *Encyclopedia of Virology* / ed. B.W. Mahy. - N.Y, 2008. - P. 43-51.

29. Family *Asfarviridae* / L.K. Dixon, J.V. Costa, J.M. Escribano [et al.] // *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses* / M.H. Van Regen-Mortel, C.M. Fauquet, D.H. Bishob. - San Diego, 2000. - P. 159-165.

30. Genetic characterization of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973-1999) / C.I. Boshoff, A.D. Bastos, L.J. Gerber [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 2007. - Vol. 121. - P. 45-55.

31. Lubisi B.A. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa: M. Sci. Dissertation / University of Pretoria, 2005. - P. 27-83.

32. Medus C.A. African swine fever // *Advances in Virus Research.* - 1988. - Vol. 35. - P. 251-269.

33. Medus C.A. African swine fever // *Foreign Animal Diseases* / United States Animal Health Association.

- Richmond, 1998. - P. 52-61.

34. Medus C.A., Dardiri A.H. Additional characteristics of diseases caused by the African swine fever viruses isolated from Brazil and Dominican Republic // *Proc. Ann. Meet. U.S. Anim. Health Asso.* - 1979. - Vol. 82. - P. 227-239.

35. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa / B.A. Lubisi, A.D. Bastos, R.M. Dwarka [et al.] // *Arch. Virol.* - 2005. - Vol. 150, № 12. - P. 2439-2452.

36. *Ornithodoros porcinus* ticks, bushpigs, and African swine fever in Madagascar / F. Roger, J. Ratovonjato, P. Vola [et al.] // *Exp. Appl. Acarol.* - 2001. - Vol. 25. - P. 263-269.

37. Penrith M.L. African swine fever // *Vet. Res.* - 2009. - Vol. 76, № 1. - P. 91-95.

38. Penrith M.L., Thompson G.R., Baston A.D. African swine fever // *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa*, 2nd / J.A. Coetzer, R.C. Tustin. - Cape Town, London, New York, 2004. - P. 1087-1119.

39. Salas M. African swine fever virus (*Asfarviridae*) // *Encyclopedia of Virology* / ed. A. Granoff. - London, 1999. - P. 30-38.

40. Sancey-Vizcaino J.M. African swine fever // *Diseases of Swine*, 9th / B. Straw, S. D'Allaire, W. Mengeling [et al.]. - Iowa, USA, 2006. - P. 291-298.

41. Spatio-temporal dynamics of African swine fever outbreaks in Nigeria, 2002-2007 / O.A. Owolodun, B. Yakubu, J.F. Antiabong [et al.] // *Transboundary and Emerging Diseases.* - 2010. - Vol. 57. - P. 330-339.

42. Vinuela E. African swine fever virus // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* - 1985. - Vol. 116. - P. 151-170.

43. Wilkinson P.J., Wardley R.C., Williams S.M. African swine fever (Malta/78) in pigs // *Comparative Pathology.* - 1981. - Vol. 91. - P. 277-285.



Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации



ФОРУМ
ДОСТИЖЕНИЯ
РЕГИОНЫ

ЗОЛОТАЯ | GOLDEN ОСЕНЬ | AUTUMN

РОССИЙСКАЯ АГРОПРОМЫШЛЕННАЯ
ВЫСТАВКА

МОСКВА, ВДНХ
2014

8-11 ОКТЯБРЯ

Генеральный спонсор



РоссельхозБанк

Организаторы:



Правительство
Москвы



ВДНХ



РОТЕКС
ВЫСТАВОЧНАЯ КОМПАНИЯ

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») объявляет набор на повышение квалификации для руководящих работников и сотрудников ТУ и МВЛ Россельхознадзора на 2-е полугодие 2014 г.

Запланировано проведение курсов по следующим темам:	- с 22 сентября по 3 октября: «Эпизоотология, диагностика и меры борьбы с бешенством, прионными и лентивирусными болезнями животных в современных условиях»;
	- с 20 октября по 31 октября: «Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с ящуром, оспой, блютангом животных в современных условиях»;
	- с 17 по 28 ноября: «Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с классической чумой свиней и африканской чумой свиней».

В программе обучения предусмотрено:	Заражение животных вирусами, клиническое наблюдение за больными животными в процессе развития инфекции, патологоанатомические вскрытия, отбор проб патматериала и правила их пересылки для лабораторных исследований, осуществление диагностических исследований.
-------------------------------------	---

Занятия проводят ведущие научные сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ», доктора и кандидаты наук.

По результатам проведения итоговой аттестации слушателям выдается удостоверение о повышении квалификации.

В 2015 г. также запланировано проведение курсов по 4 образовательным программам. Подробности на сайте <http://www.arriah.ru/> в разделе «Образование».

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»



(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Ведущий центр разработчиков и производителей ветеринарных препаратов для профилактики и диагностики болезней птиц, свиней и рогатого скота (производится около 100 наименований вакцин и около 50 наименований диагностических наборов).

- Референтная лаборатория по бешенству в РФ
- Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ
- Испытательный центр



Международные статусы ФГБУ «ВНИИЗЖ»

- Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья
- Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру

Россия, 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец,
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
Тел./факс: (4922) 26-38-77, 26-15-25. Тел.: (4922) 26-06-14, 26-15-12
e-mail: mail@arriah.ru; <http://www.arriah.ru>