

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛЕВЫХ ВЫСОКОВИРУЛЕНТНЫХ И НИЗКОВИРУЛЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА АЧС

**С.А. Белянин, аспирант ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии, тел. 8 (49243) 62125, sbeljanin@list.ru**

**Ключевые слова:** африканская чума свиней, изоляты вируса АЧС, вирулентность, патогенность, домашние свиньи, дикие свиньи.

В статье представлены результаты оценки патогенности низковирulentного штамма вируса АЧС PSA-1-NH и 6-ти полевых изолятов вируса АЧС, вызвавших вспышки болезни в Северо-Кавказском и Южном Федеральных округах в 2007-2010 гг.

### Введение

Африканская чума свиней (болезнь Монтгомери) – высококонтагиозная вирусная геморрагическая болезнь домашних и диких европейских свиней (семейство *Suidae*), вызываемая ДНК-содержащим вирусом семейства *Asfarviridae*, рода *Asfavirus* и характеризующаяся лихорадкой, цианозом кожи и обширными геморрагиями во внутренних органах. Относится к списку А согласно Международной классификации заразных болезней животных. Болезнь имеет огромное значение в эпизоотологическом, социально-экономическом отношении, так как её ликвидация основана на применении стратегии stamping-out и уничтожении больных и подозреваемых в заражении животных [1,2].

После объявления МЭБ в 2007 г. АЧС в Грузии, затем Армении и Азербайджане, примерно в октябре - ноябре того же года вирус был занесён в популяцию диких свиней на территории РФ – Республики Чечня [3]. В течение последующих лет болезнь регистрировали во всех административных регионах Южного и Северо-Кавказского Федеральных округов, как среди диких, так и домашних свиней [4,5].

Arias M. et al., [6] сообщали, что через 3 года после заноса вируса в 1960 г. на Пиренейский полуостров смертность среди инфицированных домашних свиней снизилась до 5%. Поэтому, оценка патогенности циркулирующих изолятов вируса и изучение вызываемого ими типа инфекционного процесса имеют большое значение как для уточнения стратегии использования лабораторных методов диагностики, так и мониторинговых исследований.

### Цель исследований

Определение патогенности и формы течения африканской чумы свиней при экспериментальном заражении домашних и диких свиней «полевыми» изолятами вируса, выделенными при вспышках АЧС в РФ период 2007-2010гг., а также изолятом вируса, выделенным во время вспышки АЧС в Португалии в 1978 г.

### Материалы и методы исследований

Гемадсорбирующие изоляты вируса АЧС, выделенные от инфицированных диких и домашних свиней в разные сроки эпизоотии АЧС на Кавказе в период 2007-2010 гг. и негемадсорбирующий низковирulentный изолят, поступивший из Португалии в 1978 г. (табл.1).

**Таблица 1. - Происхождение изолятов вируса АЧС**

№	Номер* изолята	Дата вспышки	Вид жив-х	Географическая локализация вспышки	Статус вспышки
1	001/20	10. 2007	Дик.	Чечня	Первичные
2	041/15	06. 2008	Дом.	Северная Осетия	
3	116/05	09. 2009	Дик.	Дагестан	Вторичные
4	154/20	11. 2009	Дик.	Чечня	
5	162/23	01. 2009	Дик.	Краснодарский край	
6	163/23	02. 2010	Дом.	Краснодарский край	
7	PSA-1-NH	1978	Н.и	Португалия	Н.и.

Обозначение. \* - порядковый номер/номер региона, Н.и.-не известно

Для заражения животных использовали вирусосодержащую кровь или 20% суспензию селёзёнки инфицированных АЧС свиней с содержанием  $100\text{ЕД}/\text{см}^3$  пенициллина и  $100\text{ мг}/\text{см}^3$  стрептомицина. Инфекционную активность вируса АЧС определяли титрованием в первичной 2-х суточной культуре клеток костного мозга свиней (ККМС).

Для экспериментального заражения использовали 12 свиней крупной белой породы (живой массой 25-30 кг) и 4 диких (живой массой 40-50 кг). Материал вводили внутримышечно по  $1,0\text{-}2,0\text{ см}^3$ , перорально - по  $5,0\text{ см}^3$ . Ежедневно у свиней измеряли температуру тела, у диких свиней с этой целью использовали дистанционный лазерный измеритель температуры поверхностей testo 830-T4.

Время от заражения до появления лихорадки ( $>40^\circ\text{C}$ ) считали инкубационным периодом, а от начала лихорадки до гибели - инфекционным периодом. Наличие антигена вируса АЧС в пробах органов подтверждали реакцией прямой иммунофлуоресценции (РПИФ), а специфических антител – иммуноферментным анализом (непрямой вариант).

Титр вируса вычисляли по методу Рида и Менча в модификации по Ашмарину и выражали в  $\text{lg ГАЕ}_{50/\text{см}^3}$ .

Результаты исследований

*Характеристики изолятов вируса АЧС.*

В начале была определена инфекционная активность испытуемых изолятов вируса АЧС, которыми заражали животных и проведены серологические исследования с целью обнаружения специфических антител.

**Таблица 2. - Инфекционная активность изолятов вируса АЧС**

№ п/п	№ изолята	Вид жив-х	Титр вируса ( $\text{lg ГАЕ}$ )		Наличие	
			в исходном материале	в крови инфицир-х свиней	Специф. АГ	Специф. АТ
1	001/20	Дом.	1,0-2,0	$6,5\pm 0,10$	+	-
2	041/15	Дом.	1,0-2,0	$7,0\pm 0,20$	+	-
3	116/05	Дом.	1,0-2,0	$6,5\pm 0,10$	+	-
4	154/20	Дик.	1,0-2,0	$6,0\pm 0,20$	+	-
5	162/23	Дом.	1,0-2,0	$5,5\pm 0,10$	+	-
6	163/23	Дом.	5,0	$6,66\pm 0,13$	+	-
7	PSA-1-NH*	Дом.	4,0	$6,5\pm 0,10$	-	+

Обозначение. \* - титр вируса в  $\text{lg ТЦД}_{50/\text{см}^3}$ ; АТ – антитела к вирусу АЧС, АГ- антиген вируса АЧС

Содержание инфекционного вируса в исходных пробах органов было примерно одинаково низким уровне ( $1,0\text{-}2,0\text{ lg ГАЕ}_{50/\text{см}^3}$ ), за исключением изолята №163/23, титр которого составлял  $5,0\text{ lg ГАЕ}_{50/\text{см}^3}$ . Активность негемадсорбирующего изолята PSA-1-NH составляла  $4,0\text{ lg ТЦД}_{50/\text{см}^3}$ . Все домашние свиньи, зараженные «российскими» изолятами вируса АЧС погибали с признаками острой формы болезни.

Трое из шести животных, зараженных PSA-1-NH, погибли на 42, 68 сутки. Остальные свиньи этой группы были выведены из опыта на 110 – е сутки после заражения. Специфические антитела к вирусу АЧС были обнаружены с 7-х сут после заражения. Результаты этого опыта приведены в табл. 2

*Клинические признаки у домашних и диких свиней, экспериментально заражённых изолятами вируса АЧС, вызвавшими вспышки в РФ*

На рис. 1 представлены данные термометрии после внутримышечного заражения домашних свиней изолятами вируса АЧС, выделенными от диких (№№001/20, 116/05 и 162/23) и домашних (№№041/15 и 163/23) свиней. У первых - гипертермия установлена на 3-и сут после заражения. На 4-е сутки отмечали угнетение, снижение аппетита. На 5-е сут - залеживание, хромота задних конечностей (№116/05), а в последующем - нарушение координации движения. У подсвинка, инфицированного изолятом №162/23 на 6-е сутки наблюдали цианоз кожи ушей и в области внутренней поверхности бедра.



**Рис. 1. - График температуры тела у домашних свинок после внутримышечного заражения**

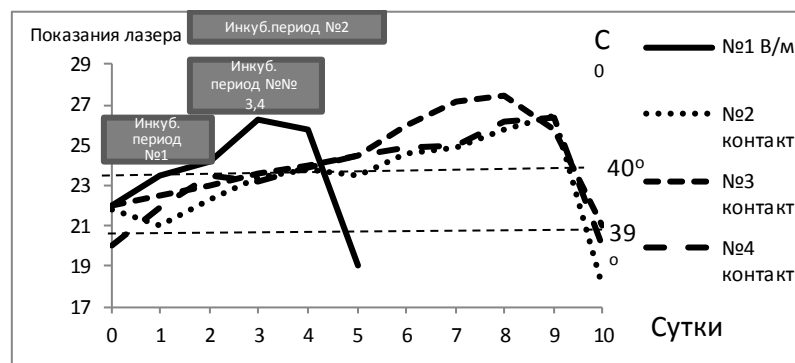
У свинок №116/05 на 7 сут – снижение температуры тела до 36°C. Гибель животных наступала на 8-12 - е сут после заражения. У подсвинков, зараженных изолятами вируса АЧС, выделенными от домашних свинок (№№ 041/15, 163/23), клинические признаки заболевания развивались на 3-и сутки после заражения (температура тела 41,0°C и выше) со снижением активности, угнетение, животные слабо реагировали на внешние раздражители. На 8-е сутки подсвинка, зараженный изолятом №041/15, пал. У подсвинка №163/23 на 9-10-е сутки в фекалиях обнаружены примесь слизи с кровью, точечные кровоизлияния на коже в области паха и гибель наступила на 11-е сут.

Дополнительно был поставлен опыт для определения инкубационного и инфекционного периодов после контактной передачи «позднего» изолята №154/20 вируса АЧС, прошедшего неопределённое количество пассажей в популяциях диких свинок (табл.1). Для этого одному из 4-х кабанов (№1) вирус ввели внутримышечно, а оставшиеся три (№№2,3,4) содержались в том же станке. Первые клинические признаки у животного №1 наблюдали на 3-и сут после введения вируса - угнетение, повышение температуры тела (рис.2), на следующие сутки затрудненное дыхание, а на 5-е сутки - гибель.

У «контактных» животных клинические признаки обнаружены на 8-е сутки (отсчёт после заражения животного №1), длительность инкубационного периода примерно 4 сут у всех животных (отсчёт после гипертермии животного №1). Повышение температуры тела выше 40°C обнаружили на 6-7 сут, а на 9-е сут животные скучились и не реагировали на внешнее раздражение. Дыхание - затрудненное с хрипами, нарушение координации движения, парез задних конечностей и общее состояние ступора. На 10-е сутки все животные пали.

Независимо от вида свинок (дикие или домашние) после заражения изолятами вируса АЧС, выделенными при вспышках болезни в РФ, наблюдали выраженные клинические признаки африканской чумы свинок острой формы. У домашних свинок инкубационный период составил 3-4 сут, у диких – 3-5 сут, гибель наступала на 5-12 сутки после заражения.

Клинические признаки у домашних свинок, экспериментально заражённых низковирулентным изолятом PSA-1-NH вируса АЧС



**Рис. 2. - График температуры тела у диких свинок, инфицированных изолятом №154/20 вируса АЧС (№1 – внутримышечное введение вируса, №№2,3,4 – контактное заражение)**

Подсвинки (6 животных) были разделены на 2 группы: в первой группе свинки №№1,2,3 были заражены внутримышечно, во второй- (№№4,5,6) - интраназально. Животные содержались в изолированных боксах. Клинические признаки болезни в виде кратковременного подъема температуры наблюдали с 5-х суток после заражения, за исключением животного №6, у которого лихорадка ( $\geq 40,5^\circ\text{C}$ ) была постоянного типа до момента гибели (42 сут).

У подсвинка №6 отмечали прогрессирующее исхудание, снижение аппетита и активности, цианоз пяточка, кожи в области подгрудка и живота, язвенные поражения на коже по всему телу. У других экспериментально зараженных животных наблюдали угнетение, понижение аппетита и активности наблюдали только в период подъема температуры тела. Из 6 зараженных животных у 3 подсвинков (№№ 1,4,5) начиная с 13-х суток после заражения, клинических признаков болезни не наблюдали (Рис. 3).

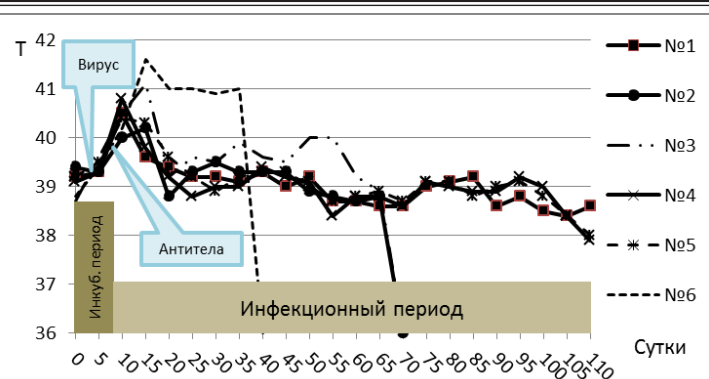


Рис. 3.- График температуры тела у домашних свиней после внутримышечного (№№1,2,3) и интраназального (№№4,5,6) заражения вирусом АЧС, низковирулентный изолят PSA-1-NH

Патологоанатомические изменения у домашних и диких свиней, зараженных «российскими» изолятами вируса АЧС и вирусом, выделенным в Португалии, выражали в балльной системе и суммированы в табл. 3

Как видно из табл.3 основные патологоанатомические изменения выражены у домашних свиней при заражении изолятами, циркулирующими в РФ и характеризуются общим геморрагическим синдромом в органах и тканях. У диких свиней геморрагический синдром менее выражен. В группе животных, зараженных низковирулентным штаммом вируса АЧС PSA-1-NH, патологоанатомические изменения имели место только у животных № 3и №6, которые характеризовались язвенными поражениями кожи, отеком легких и геморрагическим спленитом.

Обсуждение и заключение

При экспериментальном заражении свиней изолятами вируса АЧС, выделенными в РФ, инкубационный период составил 4,0 (3,0-5,0) сут, инфекционный период (продолжительность болезни) - 6,5 (5,0-8,0) сут. Наблюдали изменения во всех органах, характеризующиеся геморрагическим синдромом, постоянно высоким уровнем виремии, отсутствием специфических антител и 100%-ю летальностью. Это свидетельствует о патогенности «российских» изолятов вируса АЧС, которые способны вызывать

Таблица 3. - Патологоанатомические изменения у зараженных животных

Характер поражения органов	Изоляты вируса АЧС (РФ)		Вирус АЧС PSA-1-NH (Португалия)
	Дом.	Дик.	
Цианоз кожи	5	0	2
скопление серозного экссудата в грудной полости	8	8	2
скопление серозного экссудата в брюшной полости	7	5	1
кровоизлияние в эпикарде и эндокарде	1	0	0
отек паренхимы и междольковой соединительной ткани легких	9	7	4
увеличение печени	4	2	1
воспаление и язвенные поражения сл.об.желудка	7	6	2
Отек стенки, гиперемия слизистой оболочки желчного пузыря	5	5	1
кровоизлияние под капсулу и в паренхиму почки	5	3	0
геморрагическая спленомегалия	10	7	2
инфаркты селезенки	3	1	0
геморрагический лимфаденит	9	6	1
воспаление тонкого отдела кишечника	5	4	0
воспаление толстого отдела кишечника	4	2	0
Всего:	82	56	16

сверхострую, острую и подострую формы течения болезни. Низковирулентный изолят PSA-1-NH вируса АЧС был апатогенным (срок наблюдения 110 дней) для домашних свиней: клинические признаки болезни в виде кратковременного подъема температуры, отсутствие выраженных патологоанатомических изменений, длительный период антителоносительства. В настоящее время для подтверждения АЧС при вспышках болезни в РФ наиболее точными будут методы обнаружения вируса - прямое обнаружение антигенов РПИФ и генома ПЦР в органах и крови и, при необходимости, изоляция инфекционного вируса *in vitro in vivo* (биопроба).

#### Библиографический список:

1. Белянин С.А., Васильев А.П., Колбасов Д.В., и др. Патогенность вируса африканской чумы свиней, циркулирующего на территории РФ//Роль ветеринарной науки в реализации продовольственной доктрины РФ: материалы Международной научно-практической конференции/ГНУ ВНИИВВиМ.- Покров, 2011.- с.14-20;
2. Arias M., Sanchez-Vizcaino J.M. African swine fever. In: Trends in Emerging Viral Infections of Swine, Iowa State University Press, 2002, pp. 119–124;
3. [www.oie.int/wahis/reports/en\\_imm\\_0000006546\\_20071204\\_161907.pdf](http://www.oie.int/wahis/reports/en_imm_0000006546_20071204_161907.pdf) Report reference: Ref OIE: 6546, Report Date: 04/12/2007, Country: Russia;
4. Куриннов В.В., Колбасов Д.В., Цыбанов С.Ж., и др. Диагностические и мониторинговые исследования при вспышках африканской чумы свиней в республиках Кавказа в 2007-2008 гг.//Ветеринария. 2008. №10. С.20-25;
5. Куриннов В.В., Колбасов Д.В., Цыбанов С.Ж. и др. Африканская чума свиней - главная проблема для свиноводства России// Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. 2010. №3. С.82-87;
6. Arias M., Sanchez-Vizcaino J.M. African swine fever eradication: the Spanish model. In: Trends in Emerging Viral Infections of Swine, Iowa State University Press, 2002.- pp. 133–139

УДК 579.26.64:631.46

## ПЕРЕМЕЩЕНИЕ ЧЕРЕЗ РАЗНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ И ВЫЖИВАНИЕ *SALMONELLA* В ЭКСКРЕМЕНТАХ, ПОЧВЕ, ВОДЕ И РАСТЕНИЯХ

А.Н.С. Van Bruggen<sup>1</sup>, J.M. Cevallos-Cevallos<sup>1</sup>, G. Gu<sup>1</sup>, S. Sellers<sup>1</sup>, А.М.Семенов<sup>2</sup>, В.В.Зеленев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кафедра фитопатологии и Институт потенциальных патогенов Университета Флориды, Почтовый ящик 110680, Гейнсвилл, Флорида 32611-0680, США.

<sup>2</sup> Кафедра микробиологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

**Ключевые слова:** *Salmonella*, резервуар, заболевания, животные, растения

В статье приведены результаты изучения выживания *S. enterica* Var *Typhimurium* во взаимосвязанных местообитаниях и оценка риска загрязнения энтеропатогенами растений томатов.

**Введение.** Количество вспышек заболеваний, вызванных *Salmonella enterica* и связанных с потреблением свежих овощей все более и более увеличивается. Прямо или косвенно, но источником этого энтеропатогена являются экскременты диких или домашних животных. Загрязненная вода или почва могут быть важными непрямыми источниками контаминации. Исследования выживания энтеро-