

тур (до минус 18° С) возможно рекомендовать для приготовления рабочих растворов 40% пропиленгликоля. Растворять порошок Экоцида С следует сначала в воде с последующим добавлением необходимого количества (до 40%) пропиленгликоля. Однопроцентный раствор Экоцида С на 40% пропиленгликоле следует хранить при температуре до минус 18° С не более 4-х суток. 3% раствор Экоцида С на 40% пропиленгликоле необходимо применять в первые сутки после приготовления.

Заключение. Представленные клинико-патологоанатомические признаки африканской чумы позволяют своевременно и правильно ориентироваться в сложившейся ситуации, дифференцировать её от классической чумы, рожи, пастереллёзов, сальмонеллёзов, стрептококкоза и отравлений животных поллитропно действующими ядами.

Для проведения дезинфекции эффективным препаратом оказался 3% раствор Экоцида С. В условиях низких температур (до минус 18° С) 1% раствор Экоцида С на 40% пропиленгликоле.

Библиографический список:

1. Сюрин, В.Н. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьёв, Н.В. Фомина. – М.: ВНИТИБП. – С. 770-787.
2. Салимов, В.А. Патоморфологическая характеристика африканской чумы свиней / В.А. Салимов. – Самара, 2009. – 28 с., цв. ил.
3. Шуляк, Б.Ф. Африканская чума свиней / Б.Ф. Шуляк // Российский ветеринарный журнал: сельскохозяйственные животные. – 2008. – №3. – С. 36–38.
4. Plowright, W. Infectious diseases of livestock with special reference of Southern Africa / W. Plowright, G.R. Thomson, G.R. Naser // Oxford Univ Press, 1994.
5. Герасимов, В.Н. Ликвидация африканской чумы свиней в Республике Абхазия / В.Н. Герасимов, С.А. Кукушкин, А.В. Мищенко [и др.] // Ветеринария. – 2008. – №3. – С. 19-24.
6. Michaud, V. Long-term storage at tropical temperature of dried-blood filter papers for detection and genotyping of RNA and DNA viruses by direct PCR / V. Michaud, P. Gil, O. Kwiatek [et. al.] // J Virol Methods. – 2007. – № 146. – P.1-2, 257-265.
7. Giammarioli, M. Development of a novel hot-start multiplex PCR for simultaneous detection of classical swine fever virus, African swine fever virus, porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine parvovirus / M. Giammarioli, C. Pellegrini, C. de Mia G.M Casciari // Vet Res Commun. – 2008. – V.32. – № 3. – P. 255-262.

УДК 619:615.371/372.616.988.21

ОСОБЕННОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ БЕШЕНСТВА ЖИВОТНЫХ

Г.А.Сафонов, доктор биологических наук, профессор, член - корреспондент Россельхозакадемии

Е.М.Хрипунов доктор ветеринарных наук, профессор

М.С. Истомин, аспирант

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии;

тел.: 8(49243)6-21-25; e-mail: vniivvim@niiv.petush.elcom.ru

Ключевые слова: бешенство, вакцинация, иммуногенность, приманки, генно-инженерные вакцины, мероприятия по борьбе с бешенством.

Борьба с бешенством диких плотоядных и домашних безнадзорных животных базируется на оральном способе вакцинации. Безопасность и эффективность обеспечивает вакцины на основе рекомбинантных штаммов. Описаны требования, предъявляемые к штаммам вакцинного вируса и приманкам. Даны предложения по мероприятиям для борьбы с бешенством в РФ.

Введение.

Выдвинутая в конце прошлого столетия концепция оральной вакцинации стала ведущей в борьбе с бешенством плотоядных животных (1,2,3).

ВОЗ неоднократно рекомендовала государствам (4,5) ускорить внедрение и как можно шире использовать оральную вакцинацию не только для иммунизации диких плотоядных, но и собак, особенно бродячих.

Ликвидация бешенства практически во всех странах ЕС, а также снижение числа случаев болезни в США, Канаде на практике подтвердили значимость оральной вакцинации в борьбе с болезнью.

Сегодня она стала важным дополнением к традиционным мерам контроля бешенства: разрежению популяции диких и бродячих домашних плотоядных, парентеральной вакцинации собак, кошек и выпасаемых сельскохозяйственных животных.

В период 2000-2010гг. в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии проведены исследования по созданию авирулентных вакцин против бешенства из штаммов TC-80 и ERA-G333.

Результаты и обсуждения.

Уже разработаны определенные требования к безвредности и иммуногенности штаммов вируса бешенства, используемых в приманках, сформулированы требования к качеству приманок (6,7).

Попытки иммунизировать диких плотоядных животных инактивированными вакцинами оральным способом оказались безуспешными. Использование живых вакцин дало положительный результат. Для этих целей применяют аттенуированные или рекомбинантные штаммы вируса бешенства.

Использование вакцины в неконтролируемых условиях определяют требования к биологическим свойствам вакцинного вируса (8):

а) безопасность для животных и человека, что определяется интрацеребральным, внутримышечным, подкожным и оральным методами введения лабораторным и целевым животным. 10-ти кратная полевая доза вируса не должна вызывать болезни у молодых особей (3-6 мес.) при введении через рот не менее 10-ти животным.

Ареактогенность вируса определяется проведением пяти последовательных интрацеребральных пассажей на новорожденных мышах.

Кроме того, при наличии возможности, полевую дозу вакцины следует давать не менее чем 10-ти особям наиболее широко распространенного вида местных грызунов, орально или внутримышечно. Если вакцинированные животные заболевают или погибают от бешенства, использование данной вакцины следует пересмотреть.

Любой вирус бешенства, выделенный от животных в зоне вакцинации, следует характеризовать, используя моноклональные антитела или молекулярные методики с тем, чтобы удостовериться, что случай бешенства не вызван действием вакцины.

б) эффективность для целевых животных определяется по наличию вируснейтрализующих антител в сыворотках крови вакцинированных животных (не менее 0,5 ME) и/или устойчивости к контрольному заражению. Лабораторных животных заражают интрацеребрально референс-штаммом CVS, а целевых животных – домашних собак, лис – внутримышечно уличным штаммом 777-M. Длительность создаваемого вакциной иммунитета при оральном введении – не менее года (не менее 70% защиты).

Вакцина должна быть термостабильной – сохранение инфекционной активности при температуре 15°C не менее 10 дней, при 4-6°C – не менее 40 дней.

Испытания вирусвакцины орального применения четко показали, что ряд аттенуированных штаммов (CVS, Внуково-32, LEP, ERA, HEP, SAD-B19, Флюри HEP-675 и др.) высокоэффективны при оральном методе применения.

Можно согласиться что, генно-инженерные вакцины, сконструированные на базе малораспространенных и безопасных векторов (например, вируса оспы канареек), являются более безопасными и приемлемыми для создания и применения оральных вакцин, чем произведенных из гомологичных штаммов вируса бешенства.

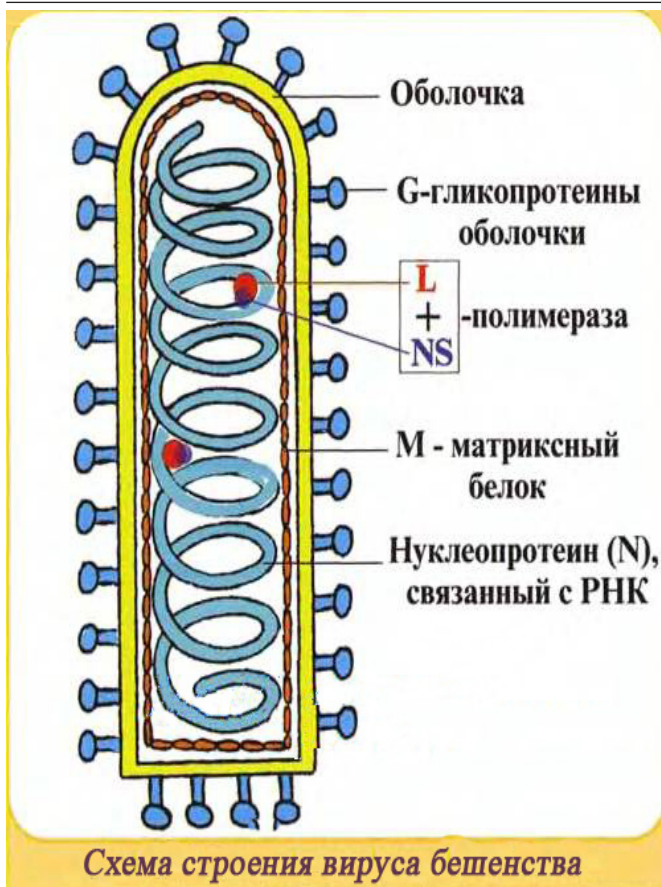


Схема строения вируса бешенства

При изучении морфологии вируса бешенства с помощью электронного микроскопа установлено (9), что большинство вирусных частиц имеет пулевидную форму длиной 100-300нм., диаметром 70-90нм. На наружной поверхности вириона имеются выступы в виде шипов длиной 10нм., которые прикреплены к двухслойной липидной оболочке. Вирион содержит отрицательно заряженную несегментированную односпиральную РНК: вирусспецифическая транскриптаза (L), нуклеопротеин (N), фосфопротеин (NS), матриксный протеин (M), расположенный на внутренней стороне оболочки вируса и гликопротеин (G), который образует поверхностные выступы.

Гликопротеин составляет 44-47% от общего количества белка.

Гликопротеин (G) вирусной оболочки и внутренний нуклеопротеин (N) вириона - два основных антигена, участвующих в иммунном ответе. Индуцирование нейтрализующих антител гликопротеином зависит, в основном, от сохранения им трехмерной структуры. Вирусней-

трализирующие антитела, вырабатываемые при введении G белка вируса бешенства, являются важным компонентом иммунных реакций при бешенстве. Показано, что изолированные препараты гликопротеина вызывают в 3 раза более интенсивное образование ВНА, чем вирус, из которого они были получены.

Результаты современных исследований позволяют заключить, что гликопротеин является основным антигеном для иммунизации, однако, не менее важным является и N-белок в связи с его способностью значительно стимулировать перекрестные реакции между вирусами бешенства и родственными ему вирусами.

Кроме этого, при множестве вариантов вируса бешенства в антигеном отношении они родственны. Мыши, вакцинированные рекомбинантной вакциной на основе вируса осповакцины, экспрессирующего гликопротеин G, оказались устойчивыми к последующему заражению 17-ю эпизоотическими штаммами, представляющими практически весь спектр известных вариантов возбудителя. Это свидетельствует о том, что любой штамм вируса бешенства или его гликопротеин могут быть использованы для | вакцинации животных во всем мире.

В настоящее время широкое распространение получила вакцина VRG (Merial, Франция) (6), основой которой является рекомбинантный вирус осповакцины, несущий ген гликопротеина G вируса бешенства. Вакцина создает титры вируснейтрализующих антител и обеспечивает защитный иммунный ответ у ряда хищных и всеядных видов млекопитающих (рыжих лисиц, песцов, койотов, енотов, енотовидных собак, домашних собак, шакалов). В полевых условиях штамм сохраняет устойчивость при температуре 60°C. Вакцина безопасна, что показано на 50 видах млекопитающих и 10-ти видах птиц. В одном случае клинически неблагоприятная реакция зарегистрирована у человека в виде спонтанно исчезающих кожных поражений, предположительно за счет повышенной чувствительности к вирусу осповакцины и при её воздействии, возникшем в результате укуса при попытке удалить частично прожеванную приманку из пасти собаки.

Вакцину с успехом применяют страны ЕС, Прибалтики и Украина.

Российские ученые провели определенную работу по созданию отечественных эффективных

убитых и живых вакцин, пригодных для парентеральной и оральной иммунизации плотоядных против бешенства. Налажено серийное производство инактивированных вакцин на Щелковском биокомбинате, ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, Покровском заводе биопрепаратов, живых, оральных вакцин-приманок во ВНИИЗЖ и ОАО Покровском заводе биопрепаратов, ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии.

Г.А. Сафонов с сотр. (11) показали безопасность и эффективность живой вакцины из штамма ТС-80 вируса бешенства в межведомственном комиссионном испытании. На примере двух неблагополучных по бешенству областей (Ростовской и Новосибирской), были проведены комиссионные опыты по вакцинации более 1,5 миллионов сельскохозяйственных и: домашних животных. Контрольное заражение, проведенное через 1,5 года, после вакцинации показало:

- привитые животные оставались клинически здоровыми, у них не развивались какие-либо поствакцинальные осложнения, и не наблюдалась задержка роста или синдром истощения;

– 70% вакцинированных телят после заражения уличным вирусом бешенства в дозе $10^{4,8} \text{ЛД}_{50}$ сохранили иммунитет при 100% гибели контрольных.

Из штамма ТС-80 также разработана и испытана с положительным эффектом оральная вакцина для диких плотоядных животных, разработана и утверждена в установленном порядке технологическая документация на ее производство (12).

Кроме этого, Г.А. Сафоновым с сотр. предложен штамм ERA G333 вируса бешенства, перспективный для производства антирабической вакцины орального применения. При иммунизации лисиц этим штаммом с определением титра антител после вакцинации и контрольным заражением полевым вирусом, установлено, что защитный порог достигается 0,1-0,2МЕ (13).

Последние 10 лет наши ученые и ветеринарные специалисты делали попытки снизить заболеваемость бешенством среди домашних, диких плотоядных и сельскохозяйственных животных. Однако, по причине отсутствия должной организации, достаточного финансирования мероприятий бешенство остается серьезной проблемой для многих регионов страны.

Сегодня, примерно 98% всех случаев бешенства человека регистрируется в регионах с большим числом собак, многие из которых - бездомные, второе место в РФ по опасности заражения человека бешенством занимают кошки.

Для достижения положительных результатов в ближайшее время необходимо рассмотреть имеющиеся в распоряжении Минсельхоза России проекты национальной программы борьбы с бешенством в РФ и утвердить, в качестве основного документа по его ликвидации, предусмотреть для реализации программы стабильное целевое финансирование.

В соответствии с национальной программой, неблагополучным по бешенству регионам, необходимо разработать и утвердить свои, локальные 7 летние программы борьбы с бешенством. Каждая программа должна предусматривать применение парентеральной вакцинации домашних животных, и возможность иммунизации диких плотоядных животных, необходимое количество приманок с вакциной на кв. км площади, график реализации и финансирования запланированных мероприятий.

В утвержденных программах борьбы с бешенством должна быть предусмотрена эффективность работы: снижение к 2016 году случаев гибели людей от бешенства на 95-100%, сельскохозяйственных и домашних животных на 85-90%.

Необходимо наладить контроль за поедаемостью приманок (наличие в зубах тетрациклина), эффективности вакцинации путем анализа вируснейтрализующих антител, исследуя полевые образцы крови и зубов (желательно не менее 10 образцов на каждые 25 кв. км обрабатываемой территории).

При получении неудовлетворительных результатов (эффективность менее 50%) необходимо провести анализ и в случае необходимости корректировку планов (увеличение количества приманок-вакцин, кратность вакцинации, смена поставщика вакцин).

Во избежание путаницы при анализе эффективности вакцин, необходимо избегать использования различных по происхождению препаратов на одной территории.

С учетом площади, подлежащей для распределения приманок-вакцин, следует предусмотреть использование авиации, оснащенной катапультами для равномерности разбрасывания препаратов, а

также другой техники. Применение самолетов позволяет учесть нахождения вакцины и масштабы реализации плана мероприятий по борьбе с бешенством. Как показал опыт, распределение приманок-вакцин вручную очень часто проводилось некачественно. Практически весь объем вакцины оказывался в одном месте без равномерного распределения по всей обрабатываемой площади. Кроме того, следует отметить, что мало кто учитывал число конкурирующих, целевых животных (например: кабанов), поедающих приманки.

В целях экономии денежных средств, в наиболее неблагополучных по бешенству регионах, вакцинацию выпасаемых сельскохозяйственных животных, а также собак и кошек, более целесообразно (дешевле) проводить, используя живые вакцины, изготовленные не из фиксированных, а аттенуированных штаммов вируса бешенства, не обладающих вирулентностью.

Эффективность оральной вакцинации является интегральным показателем двух составляющих: качества вирусвакцины и приманки.

Существует ряд прописей приготовления антирабических вакцин – приманок. Наиболее распространенный комплекс – пластиковый контейнер с жидкой вакциной и съедобная оболочка, привлекательная для целевых животных. В этом случае оральное применение предполагает инфицирование носоглоточного кольца и прилегающей тонзиллярной области ротовой полости.

Существует также сухая форма оральной вакцинации, действующей на описанном принципе и дополнительного проникновения антигена в тонком отделе кишечника (14).

Субстрат приманок должен охотно поедаться целевыми животными, должен быть безопасным при проглатывании всеми членами стаи, включая щенков; он должен стимулировать пережевывание перед проглатыванием, чтобы вакцина попала на орофарингиальную слизистую оболочку ротовой полости (8).

Приманка должна оставаться целой при ее разбрасывании с самолета. Размер и форма приманки для лисиц не играет особой роли. Важным параметром является структура материала из которого изготовлена приманка. Если материал слишком мягкий, животное может воспринять твердую капсулу с вакциной как посторонний предмет и выплюнуть ее. С другой стороны, очень твердый материал приманки не позволит ее разжевать.

При разработке приманок следует учитывать широкий спектр чувствительных к бешенству плотоядных животных – лисицы, домашние собаки, волки, шакалы и др. Однако, универсальной приманки не существует. Различия в способах пережевывания пищи плотоядными животными могут быть причиной неэффективности оральной вакцинации для некоторых видов плотоядных из-за необходимой экспозиции и абсорбции антигена в клетках слизистой оболочки. Например, приманка и контейнер, содержащий антирабическую вакцину, были эффективными при иммунизации красных лисиц и непригодными для шакалов. Таким образом, выбор приманок и стратегии их применения крайне необходимы при планировании иммунизации каждого вида животных.

Уверенность искоренения случаев бешенства на территории РФ базируется на положительном опыте борьбы с этой болезнью в странах ЕС, США, Канаде.

Мероприятия по борьбе с бешенством должны предусматривать три основных этапа:

- первый этап (2010-2012гг.) - утвердить правительством РФ национальную программу борьбы с бешенством, стабильное выделение денежных средств для обеспечения региональных программ необходимым количеством вакцин-приманок, техники для распределения вакцин на местности;

- второй этап (2011-2016гг.) - сокращение численности лисиц, енотовидных собак, бродячих собак, кошек, полномасштабная вакцинация на неблагополучных по бешенству территориях (диких и домашних животных) с охватом не менее 70% восприимчивых к бешенству животных оральной и парентеральной вакцинациями;

- третий этап (2015-2017гг.) - проведение анализа эффективности проводимых мероприятий по титрам вируснейтрализующих антител и наличию тетрациклина в зубах отстреленных плотоядных.

Все три этапа работы проводятся ветеринарными, медицинскими специалистами и охотоведами.

Завершающим этапом работ по ликвидации случаев бешенства в РФ должна стать организация и внедрение системы сертификации элиминации вируса на определенной территории региона.

С этой целью необходимо создать экспертный совет из специалистов Минздрава, Минсельхоза и регионального ветеринарного органа, который будет оценивать степень реализации национальной программы борьбы с бешенством, достоверность проводимого мониторинга, длительность периода отсутствия случаев бешенства на сертифицируемой территории. Утвержденный акт направляется в Минздрав и Минсельхоз.

Заключение.

Согласованная работа, проведенная руководством стран ЕС и ветеринарных служб, позволила искоренить случаи бешенства практически на всей территории союза. Ликвидация бешенства была основана на оральной вакцинации диких плотоядных животных вакцинами - приманками, содержащими живой модифицированный вирус бешенства, а также обязательной парентеральной вакцинации собак и других домашних животных.

Сегодня программа оральной вакцинации диких плотоядных животных, при поддержке ЕС, внедряется в странах Балтии, на границе Финляндии с Россией, а также в Белоруссии и Украине.

Достигнутые успехи по искоренению бешенства Европейскими странами являются наглядным примером роли научно-обоснованных программ и ответственности их исполнителей в искоренении даже таких сложных для борьбы инфекций, как бешенство.

Исследователи нашего института (11,13) предлагают для практики два безопасных вакцинных штамма вируса бешенства – TC-80 и ERA G 333, а также сухую форму оральной вакцины для диких плотоядных животных, которая не вызывает проблем при транспортировке и применении, особенно в южных регионах России.

Высокая стоимость оральной вакцинации и сложность финансового положения РФ не позволяют ориентировать ветеринарную службу страны только на оральную вакцинацию - необходим комплекс мероприятий.

В тоже время мы обязаны в течение 5-7 лет значительно снизить число случаев бешенства особенно в европейской части РФ. С этой целью, необходимо немедленно утвердить программу ликвидации бешенства, изложив в ней основной подход борьбы, контроля и финансирования.

Составляющей основой программы должно войти:

- сокращение численности диких плотоядных, бродячих собак и кошек вблизи населенных пунктов;
- обязательная вакцинация домашних собак, кошек и диких плотоядных животных против бешенства;
- введение штрафных санкций в отношении хозяев, уклоняющихся от вакцинации животных, нарушающих правила их содержания.

В неблагополучных областях по бешенству проводить парентеральные вакцинации выпасаемых сельскохозяйственных животных: осуществлять широкую пропаганду среди населения о принимаемых мерах по ликвидации бешенства (листовки, радио, телевидение).

Россия, из этических соображений, обязана активно поддерживать резолюции МЭБ, ВОЗ, ЕС на пути к ликвидации бешенства в Евразии.

Библиографический список

1. Baer G.M., Abelseth M.K., Debbie J.G. Oral vaccination of foxes against rabies. Am J Epidemiol - 1971,- 93,- 487-490.
2. Debbie J.G., Abelseth M.K., Baer G.M. The use of commercially available vaccines for the oral vaccination of foxes against rabies. Am J Epidemiol 1972;-96Б-231-235.
3. Steck F., Hafliger U., Stocker CHR., Wandeller A. Oral immunization of foxes against rabies. Experientia -1978;-34; -1662.
4. Report of the WHO Consultation on Requirements and criteria of Field Trials on oral rabies Vac-

cination of Dogs and Wild Carnivores, // WHO/ Rab. Res/89.-32. - Geneva,-1989.

5. Joint OLE /WHO/ Conference on rabies: Towards the Elimination of rabies in Eurasia //27-30 May 2007, - Paris, - France.

6. Rupprecht C.E., Hanlon C.A., Blanton J. Oral vaccination of dogs with recombinant rabies virus vaccines // Virus. Res. 2005, №7.

7. Cliquet F., Guiot A.L., Sehumacher C., Maki J., Cael N., Barrat J. Efficacy of a square presentation of V-RY Vaccine baits in red fox, domestic dog and raccom dog // Dev. Biol. (Basel) 2008, № 131, 257-264.

8. Guidance for research on oral rabies vaccines and field application of oral vaccination of dogs against rabies. Geneva, 2007, 1-40.

9. Jacson A.C. Rabies Can. J. Neurological sci. 2000, Vol 27 № 4 p 278-283.

10. О результатах межведомственной комиссионной проверки культуральной лиофилизированной антирабической вакцины из штамма ТС-80 в неблагополучных по бешенству районах Ростовской и Новосибирской областей. //Акт, - 1990г. ВГНКИ ветпрепаратов.

11. Способ изготовления вирусвакцины против бешенства для оральной иммунизации диких плотоядных животных. Хрипунов Е.М., Евсеева С.Д., Жестерев В.И., Горшкова Т.Ф., Баньковский Д.О., Пархомцев С.А. // Патент 2250781, 2005 Бюл.№12.

12. Разработка вакцины для оральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства. Хрипунов Е.М., Егоров А.Н., Фертиков В.И., Пархомцев С.А. // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных. Покров,2008, - с. 135 – 139.

13. Сафонов Г.А., Баньковский Д.О. Оценка антигенных и иммуногенных свойств штамма ERA G 333вируса бешенства // Вестник РАСХН 2010, №5, с. 61-63.

МИКРО-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ В-ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ *B. BRONCHISEPTICA*

А.В. Мاستиленко, соискатель кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Д.Г. Сверкалова, соискатель кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Работа проводилась в научно-исследовательском инновационном центре микробиологии и биотехнологии (НИИЦМиБ) кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Материалы и методы.

Для проведения работы использовался микроскоп БИОМЕД 6 № 4F 8663200/01, тринокуляр с видюнасадкой ДСМ 130 (1,3 м pixels, USB 20) и программным обеспечением; термостат ТС-80М-2; покровные и предметные стекла с лункой по ГОСТ 9284-75, бактериологическая петля Ø = 2 мм, масло иммерсионное $n_d = 1,515 \pm 0,002$; $ng - nc = 0,0106 \pm 0,0003$, $t 20^\circ C \pm 2^\circ$.

Гемолитическую активность проверяли на штаммах: *Bordetella bronchiseptica №8344*, *Bordetella bronchiseptica №1*, *Bordetella bronchiseptica №7*, *Bordetella bronchiseptica № 214*, *Bordetella bronchiseptica №22-06*, принадлежащих коллекции музея кафедры МВЭиВСЭ ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Для подтверждения наличия гемолитической активности изучаемых штаммов бактерий, пользовались стандартной методикой определения гемолиза с помощью кровяного агара с 10% содержанием дефибринированной крови человека, описанной в 4-ом издании «Микробиология с техникой микробиологических исследований» А.С. Лабинской. М., «Медицина», 1978 г.

Приготовления препарата «висячая капля» проводили так же по описанию А.С. Лабинской в 4-ом издании «Микробиология с техникой микробиологических исследований» М., «Медицина», 1978 г.