

В.В.МАКАРОВ

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ



Российский университет дружбы народов

В. В. МАКАРОВ

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ



МОСКВА

2011

УДК 619: 619.9

Макаров В.В. Африканская чума свиней. М.: Российский университет дружбы народов. 2011, 268 с., илл., библи.

Монография представляет собой сборник из 22 публикаций по результатам исследований коллектива лаборатории биохимии ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии и сотрудников кафедры ветеринарной патологии Российского университета дружбы народов с соисполнителями, проведенных по африканской чуме свиней с 1976 года по настоящее время под научным руководством профессора, доктора биологических наук, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Владимира Владимировича Макарова. В книге четыре тематических раздела, где последовательно воспроизводится систематизированный комплекс оригинальных публикаций, в основном авторских, по вирусу АЧС, иммунологии, эпизоотологии и особенностям текущего момента в связи с эмерджентностью болезни в кавказском регионе. Материал содержит большой объем научных данных фундаментального и прикладного характера, многочисленные оригинальные таблицы, схемы, рисунки. В заключительной главе, в качестве эпилога, приводятся авторские комментарии, обсуждение, размышления.

Книга адресована специалистам, интересующимся вопросами инфекционной патологии и эпизоотологии; она будет полезна аспирантам и студентам ветеринарных ВУЗов.

Makarov V.V. African swine fever. Moscow. Russian People's Friendship University. 2011, 268 pp., ill., bibl.

The monograph presents 22 collected articles on the results of the investigations fulfilled by a team of the biochemistry laboratory in the All-Russian Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology, as well as the scientists of the veterinary pathology department in the Russian People's Friendship University with co-executors carried out in relation to ASF during 1976-2010. The above-mentioned investigations have been conducted under the scientific leadership of V.V.Makarov, Prof., Dr. Sc. (Biology), Honoured Scientist of RF. The book deals with four subject sections, where the systematic complex of the original publications are reproduced successively, mainly author's those, concerning ASF virus, immunology, epizootology and the current features in connection with the disease emergency in Caucasus Region. The enormous amount of the scientific fundamental and applied data are presented as well as the numerous original tables, figures and diagrams. The conclusive chapter deals with the author's comment, discussion, ideas, as epilogue.

Издание одобрено и рекомендовано Ученым советом аграрного факультета Российского университета дружбы народов

**Рецензенты: М.И.Гулюкин, академик Россельхозакадемии
В.В.Сочнев, член-корреспондент Россельхозакадемии
А.А.Коломыцев, доктор ветеринарных наук**

© Макаров В.В., 2011

*...наделали делов эти Маркс и Энгельс.
«Золотой теленок»*

ВВЕДЕНИЕ

Перефразируя «ильф-и-петровское» выражение в нашей ситуации, можно сказать, что «наделало делов» горбачевское ГПУ - гласность-перестройка-ускорение. Кто ж знал, что в результате безжалостных реформаций сельского хозяйства в стране на десять душ населения останется «на все-про все» по одной свинье, и на тех рушатся эмерджентные напасти в виде все новых и новых заболеваний. А теперь вот объявился и вовсе неожиданный, но старый знакомец - африканская чума. То, что происходит с осени 2007 года, свидетельствует о предельном уровне деградации ветеринарного дела в этой части, примерно до того, как где-нибудь в экзотических в прямом и переносном смысле Сенегале, Анголе или Бенине, где ветеринарного обслуживания в принятом у нас понимании, тем более науки, практически нет, а при возникновении АЧС всех свиней без разбора просто «съедают» под вувузелы, не раздумывая.

В подобной ситуации любая среда не терпит вакуума, поэтому и здесь неизбежны всякого рода попытки хоть что-то делать. Это всегда предполагает деяния различного рода как по сути, так и результатам и последствиям, исходя из зрелости, глубины и полноты научных представлений и способностей «деятелей», их профессиональной добросовестности или наоборот, желания делать как надо или «по понятиям».

Цель настоящего Сборника - хотя бы напомнить беспомощно барахтающимся остаткам ветеринарной вирусологии вместе с несчастной ветеринарной практикой неблагополучной периферии о том, в каком состоянии некогда пребывала отечественная наука по части АЧС, какие сведения фундаментального и прикладного порядка, полученные ею ранее, приобретенный научный и практический опыт имеются в обобществленном фонде знаний и навыков и для чего они могут быть применены сейчас. Нет смысла браться за решение старых проблем, не меняя к ним отношения, - все равно ничего не выйдет. Нет

надобности возобновлять исследования - практически все необходимое уже сделано, если не у нас, то за рубежом. А нужно продумать, проанализировать сделанное, чтобы не повторять очевидных наивных ошибок и примитива типа банальной вакцинации и живых «вакцин» против АЧС, на самом деле создающих нестерильный иммунитет и персистентную инфекцию, постоянно готовую к реверсии.

Сборник состоит из двух основных частей - фундаментальной и прикладной. Первая включает публикации результатов НИР по вирусологии и иммунологии АЧС, начатой в 1976 году в лаборатории биохимии ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии с соисполнителями и соавторами, когда представления об этой инфекции, официально обозначаемой как «малоизвестная», были, мягко выражаясь, фрагментарными и носили характер скорее заблуждений и исключений, чем закономерностей, а вирус из категории малоизученных вообще не был даже классифицирован. Исследовательский дизайн предполагал прежде всего правильный выбор и формулировку наиболее важных и перспективных, но совершенно новых и даже нетрадиционных вопросов инфектологии, касающихся клеточных и субклеточных основ вирусного патогенеза и механизмов патогенности вируса, его функционально важнейших структурных компонентов, гетерогенности и физико-химического полиморфизма популяции, причин отсутствия нейтрализующего иммунитета и протективных реакций. Решение каждого из них - кандидатская, а то и докторская диссертация. «Финальным аккордом» этой работы явилось выполнение двух проектов Российского фонда фундаментальных исследований, в рамках которых эта часть результатов и была опубликована до 1995 года.

[К величайшему сожалению, в виду объективных обстоятельств, но больше как следствие продолжающихся реформаций и обнищания науки, на сегодняшний день от некогда мощного конгломерата основных исполнителей в составе лабораторий биохимии и иммунологии ВНИИВВиМ, деятельность которых отмечена государственными и ведомственными наградами, неоднократными призами победителей во Всесоюзных соревнованиях комсомольско-молодежных научных коллективов, Премией ленинского комсомола, грантами различных научных фондов, из которого вышли не менее трех десятков кандидатов и докторов наук, не осталось ничего.]

Вторая часть Сборника - статьи по эволюции и эпизоотологии АЧС применительно к современным условиям. Помимо результатов, полученных во ВНИИВВиМ и опубликованных параллельно с указанными выше, в нее вошли данные эпизоотологических аналитических исследований АЧС, выполняемых на кафедре ветеринарной патологии Российского университета дружбы народов в связи с ее эмерджентностью в кавказском регионе вплоть до самого последнего времени. Их существенная составляющая - обоснование эпизоотологических проблем и формулировки гипотез относительно факторов эпизоотологического риска, своими истоками выстраиваемые из фундаментальных данных относительно патогенетики, популяционной структуры и других основополагающих положений, объясняющих «поведение» возбудителя болезни в эпизоотическом процессе.

В Сборнике помещена дополнительная глава-эпилог, своего рода катехизис - комментарии, обсуждение, размышления, которая преследует вполне понятные цели: большинство изложенных в нем данных, за исключением анализа АЧС в связи с распространением в кавказском регионе, были получены относительно давно (1980-начало 1990 гг.). Безусловно, их небезынтересно по крайней мере проинтерпретировать в свете существующих на сегодня представлений и современной фактологии в области биохимии гликопротеинов, фагоцитарной системы организма и ее значения, апоптоза, протективного иммунитета и т.п. Поэтому изложение комментариев и проч. построено в виде постулатов и конформационно соответствует тематике основных частей.

Представленный в Сборнике материал по АЧС - лишь небольшая, отобранная и специализированная часть полученного во ВНИИВВиМ массива данных, опубликованных в научной печати и апробированных на крупных научных мероприятиях (содержательным примером могут служить научно-практические конференции во ВНИИВВиМ в 1992 и 1994 гг.). Статьи перепечатываются здесь из престижных изданий, в большинстве своем имеют принципиальную научную приоритетность и новизну. Согласно условиям кокрановской доказательной медицины, в собранном «под одной крышей» виде они дают цельное представление как об их научной и прикладной значимости и качестве, так и о профессиональной исследовательской квалификации исполнителей.

Необходимо оговориться, что при составлении Сборника возникли «шероховатости» технического порядка, по поводу которых просьба быть снисходительными. Так, отдельные положения результатов, умозаключений, просто фразы иногда повторяются в разных статьях; авторы шли на это, преследуя более широкие возможности доставки заинтересованным лицам своих результатов в различных контекстах и изданиях. В ряде случаев, особенно в первых работах, качество рисунков, сканированных с оригинальных публикаций, несомненно, оставляет желать лучшего - тогда техника была совсем другая; но суть дела усмотреть не трудно, а для уточнения - обратиться к оригиналам.

Библиографический список статей, отобранных в настоящий сборник, представлен следующими 22 наименованиями (в последовательности изложения):

- § Макаров В.В. Портреты вирусов: вирус африканской чумы свиней. // Ветеринарная газета. - 1995. - № 6. - С. 7.
- § Макаров В.В., Малахова М.С., Власов Н.А., Чевелев С.Ф. Африканская чума свиней - модель взаимодействия патогена с системой мононуклеарных фагоцитов // Доклады Россельхозакадемии. - 1992. - № 11-12. - С. 37-44.
- § Макаров В.В. Апоптоз в системе «вирус африканской чумы свиней - мононуклеарные фагоциты свиньи» // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 1995. - № 3. - С. 38-43.
- § Макаров В.В., Вишняков И.Ф., Власов Н.А., Серова А.М. Популяционная структура вируса африканской чумы свиней по признаку количественной гемадсорбции // Вопросы вирусологии. - 1991. - № 4. - С. 321-324.
- § Серeda А.Д., Власов Н.А., Макаров В.В. Физико-химический полиморфизм вирусной популяции и дефектные интерферирующие частицы вируса африканской чумы свиней // Вестник Россельхозакадемии. - 1997. - № 5. - С. 67-70.
- § Макаров В.В., Серeda А.Д., Пиря А.А., Малахова М.С. Функциональная роль гликозилирования вирусных компонентов // Вопросы вирусологии. - 1992. - № 5-6. - С. 267-270.
- § Серeda А.Д., Анохина Е.Г., Макаров В.В. Гликопротеины вируса африканской чумы свиней // Вопросы вирусологии. - 1994. - № 6. - С. 278-281.
- § Серeda А.Д., Макаров В.В. Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней // Ветеринария. - 1992. - № 1. - С. 22-24.
- § Серeda А.Д., Анохина Е.Г., Фугина Л.Г., Макаров В.В. Серологические и физико-химические свойства ГП 110-140 вируса африканской чумы свиней // Ветеринария. - 1993. - № 1. - С. 26-28.

- § Макаров В.В., Малахова М.С., Власов Н.А. Реакции вируса африканской чумы свиней с антителами и причины отсутствия нейтрализации // Доклады ВАСХНИЛ. - 1991. - № 12. - С. 27-31.
- § Макаров В.В., Перзашкевич В.С., Середа А.Д., Власов Н.А., Кадетов В.В. Иммунологический алгоритм оценки протективного потенциала вирусных компонентов // Вестник Россельхозакадемии. - 1995. - № 6. - С. 60-62.
- § Макаров В.В., Вишняков И.Ф., Коломыцев А.А., Середа А.Д. Сравнительный анализ показателей функциональной активности гуморального и клеточного иммунитета при вирусных инфекциях *in vivo* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - № 12. - С. 599-602.
- § Макаров В.В. Асимметрия эффекторного звена в противоинфекционном иммунитете // Вестник Россельхозакадемии. - 1996. - № 2. - С. 33-35.
- § Макаров В.В., Бакулов И.А., Семенихин А.Л., Филиппов В.В. Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет // Вестник Россельхозакадемии. - 1994. - № 3. - С. 45-49.
- § Бакулов И.А., Макаров В.В. Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней // Вестник с.-х. науки. - 1990. - № 3. - С. 46-55.
- § Эмритлолл Юбхашини. Африканская чума свиней в Республике Маврикий // Ветеринарный консультант. - 2008. - № 22. - С. 10-12.
- § Макаров В.В. Комментарий к современной ситуации по АЧС // Ветеринарный консультант. - 2007. - № 12. - С. 4-6.
- § Курнявко Н.Ю., Макаров В.В. Африканская чума свиней в Грузии // Ветеринарный консультант. - 2007. - № 24. - С. 3-5
// Международный вестник ветеринарии. - 2008. - № 1. - С. 6-10
// Ветеринарная практика. - 2008. - № 3. - С. 22-27.
- § Гаврюшкин Д.А., Макаров В.В. Африканская чума свиней в России и эпизоотологический риск для региона // Ветеринарная практика. - 2010. - № 1. - С. 15-27.
- § // Ветеринарная патология. - 2010. - № 2. - С. 88-97.
// Ветеринария. - 2011. В печати.
- § Макаров В.В., Сухарев О.И., Коломыцев А.А., Литвинов О.Б. Дикий европейский кабан. Ветеринарная биология и эпизоотология // Ветеринария. - 2010. - № 7. - С. 28-31.
- § Макаров В.В., Сухарев О.И., Боев Б.В., Коломыцев А.А., Литвинов О.Б. Дикий европейский кабан. Природная очаговость африканской чумы свиней // Ветеринария. - 2010. - № 9. - С. 24-28.
- § Боев Б.В., Макаров В.В., Сухарев О.И., Литвинов О.Б. Дикий европейский кабан. Моделирование и прогнозирование природно-очаговой африканской чумы свиней // Ветеринария. - 2010. В печати.

Следует привести также краткие персоналии участников и соисполнителей опубликованных работ и выразить им всем искреннюю признательность за высочайшее качество выполненных НИР, научное и идеологическое взаимопонимание и единомыслие:

- § **Боев Борис Васильевич**, доктор технических наук, профессор, заведующий лабораторией эпидемиологической кибернетики НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи;
- § **Власов Николай Анатольевич**, аспирант, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, затем заведующий лабораторией моноклональных антител ВНИИВВиМ, доктор биологических наук, профессор;
- § **Коломыцев Алексей Александрович**, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, затем заведующий лабораторией эпизоотологии ВНИИВВиМ, доктор ветеринарных наук;
- § **Малахова Марина Станиславовна**, аспирант, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии ВНИИВВиМ;
- § **Пиря (Ефимова) Альбина Анатольевна**, аспирант, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии ВНИИВВиМ;
- § **Середа Алексей Дмитриевич**, аспирант, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии ВНИИВВиМ, доктор биологических наук, профессор;
- § **Серова Анна Михайловна**, старший инженер сектора вычислительной техники ВНИИВВиМ;
- § **Сухарев Олег Иванович**, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной патологии РУДН;
- § **Чевелев Сергей Федорович**, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией патоморфологии ВНИИВВиМ;
- § **Эмритлолл Юбхашини (Маврикий)**, студентка-дипломница кафедры ветеринарной патологии РУДН.

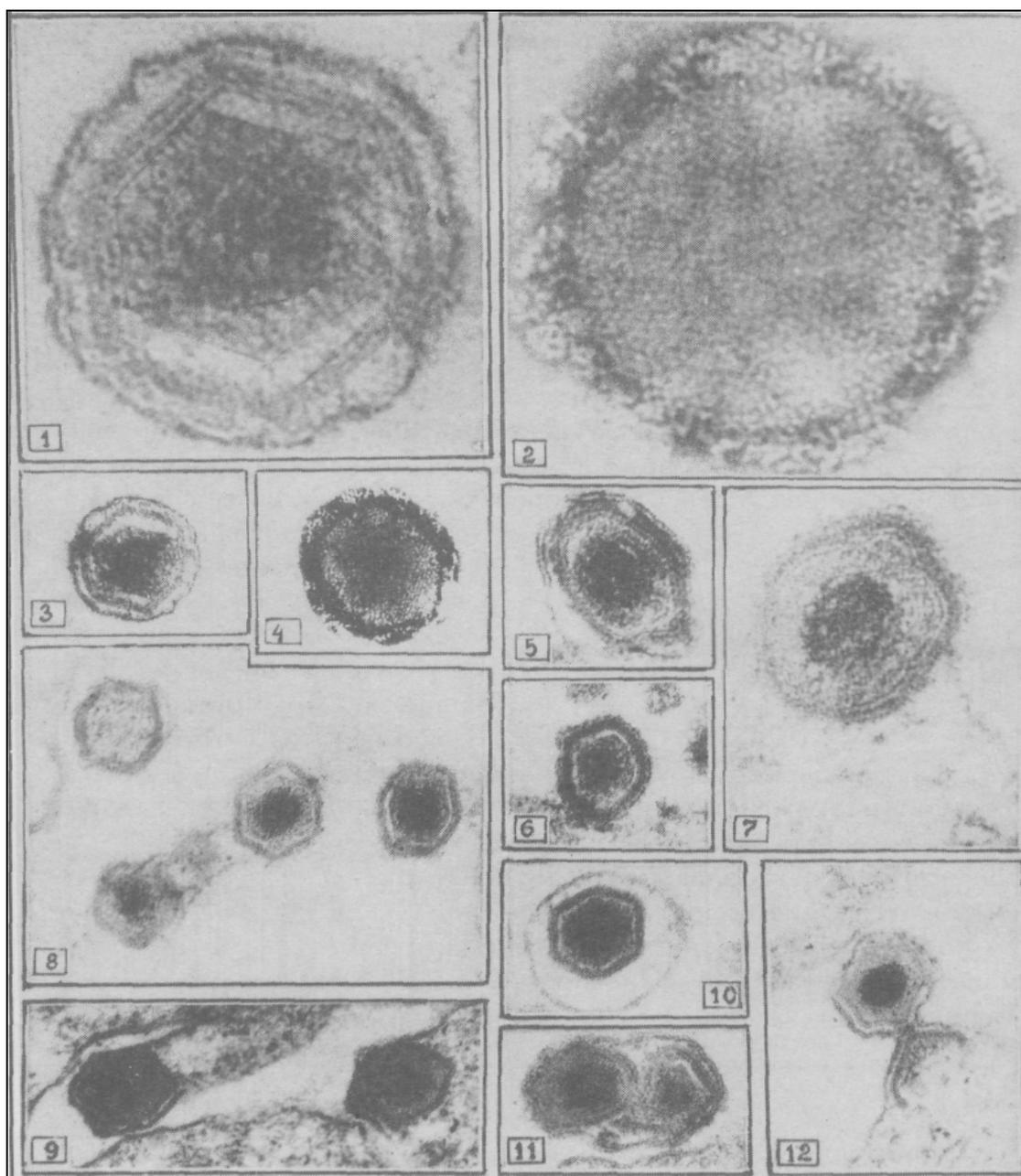
*Макаров Владимир Владимирович,
доктор биологических наук, профессор,
заведующий лабораторией биохимии ВНИИВВиМ (1976-1996),
заведующий кафедрой ветеринарной патологии РУДН (1996-2010)*

*Покров-Москва
июнь-ноябрь 2010 г.
e-mail: vvm-39@mail.ru*

ВИРУСОЛОГИЯ

- ü **Портреты вирусов: вирус африканской чумы свиней**
- ü **Африканская чума свиней – модель взаимодействия патогена с системой мононуклеарных фагоцитов**
- ü **Апоптоз в системе «вирус африканской чумы свиней – мононуклеарные фагоциты свиньи»**
- ü **Популяционная структура вируса африканской чумы свиней по признаку количественной гемадсорбции**
- ü **Физико-химический полиморфизм вирусной популяции и дефектные интерферирующие частицы вируса африканской чумы свиней**
- ü **Функциональная роль гликозилирования вирусных компонентов**
- ü **Гликопротеины вируса африканской чумы свиней**
- ü **Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней**
- ü **Серологические и физико-химические свойства ГП 110-140 вируса африканской чумы свиней**

ПОРТРЕТЫ ВИРУСОВ: ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*



* по материалам электронно-микроскопических исследований М.С.Малаховой.
Опубликовано в «Ветеринарной газете», 1995, 6, 7.

Крупные частицы вируса размером 175x220 нанометров имеют округлую или икосаэдрическую форму. В архитектуре вирионов выявляются несколько слоев - внешняя оболочка, происходящая из клеточной и приобретаемая в процессе выхода из клетки почкованием, икосаэдральный капсид из 1892-2172 субъединиц-капсомеров и сердцевина из слоя фибриллярных компонентов и нуклеоида.

Очевидно, что вирус АЧС, среди прочих, наиболее "фотогеничен". На коллаже электронных микрофотографий с разным инструментальным увеличением показано многослойное строение вириона на тонких срезах (1 и 3) и то, как частицы выглядят при негативном контрастировании (2 и 4); в последнем случае хорошо видны многочисленные капсомеры. Поверхностная оболочка вирионов нерегулярна и неплотно связана с подлежащим капсидом (5). На последующих фрагментах коллажа представлены некоторые "жизненные ситуации", в которых бывает вирус АЧС: прикрепление к клетке (6), почкование и приобретение клеточной оболочки (7), разные формы вирусных частиц - пустая, пентагональная и две гексагональных в разных ракурсах (8), различные морфологические аспекты взаимодействия с клеточной мембраной (9-12). Особенно изящно выглядит строение почкующихся вирусных частиц (9 и 12).

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ - МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАТОГЕНА С СИСТЕМОЙ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ*

Физиология клеток системы мононуклеарных фагоцитов Ван Ферта (СМФ) *per se* и их значение в иммунном ответе достаточно исследованы и описаны [1, 9, 18]. Решены наиболее общие проблемы, касающиеся значения СМФ в инфекционном процессе для патогенов с внутриклеточной локализацией [2, 12]. Однако остаются малоизученными многочисленными аспекты биологии и патологии инфекционных процессов в тех случаях, когда клетки СМФ являются критической мишенью или имеют преобладающее значение в размножении *in vivo* возбудителей различной природы (таких как листерии, вирусы-возбудители геморрагических лихорадок [13, 16]). Для этих исследований африканская чума свиней (АЧС) может быть интересной моделью, исходя из следующих основных предпосылок. Спонтанно чувствительны к вирусу АЧС только клетки гемопоэтического происхождения, *in vitro* он размножается и обычно культивируется в моноцитах/макрофагах из различных тканевых источников, не размножается в лимфоцитах вне зависимости от митогенной стимуляции, нейтрофилах, эндотелиальных клетках. В присущей АЧС экстенсивной патологии с характерным повреждением «ретикулоэндотелиальной системы» и диссеминированной внутрисосудистой коагулопатией вирусные флюоресцирующие антигены обнаруживаются, главным образом, в клетках макрофагального ряда [10, 13, 15, 19].

В связи с этим цель настоящей работы - подробно охарактеризовать взаимодействие вируса АЧС с моноцитами/макрофагами (ММ) и с помощью сравнительной интерпретации собственных и литературных данных постулировать их уникальность в качестве критической мишени возбудителя с соответствующими обобщениями с позиций патогенеза и иммуногенеза.

* опубликовано совместно с М.С.Малаховой, Н.А.Власовым и С.Ф.Чевелевым в журнале «Доклады ВАСХНИЛ», 1992, 11-12, 37-44.

Экспериментальная часть работы выполнена с использованием первичной культуры клеток костного мозга свиней (КМС) и ее прилипающей фракции (А-клетки), которые получали путем трехсуточной адгезии на опорном субстрате. Для заражения клеток выбраны оппозитные штаммы вируса АЧС: высоковирулентный «Киравира» (КИР), умеренно вирулентный Ф-32 и его авирулентный дериват ФК. Основные характеристики популяции А-клеток КМС в краткосрочной культуре и штаммов вируса, общие методы культуры клеток, биохимии, электронной микроскопии, статистической обработки данных описаны в предыдущих работах [3-8].

Морфология А-клеток КМС и их некоторые биохимические характеристики приведены на рисунках 1 и 2 (слева), соответственно.

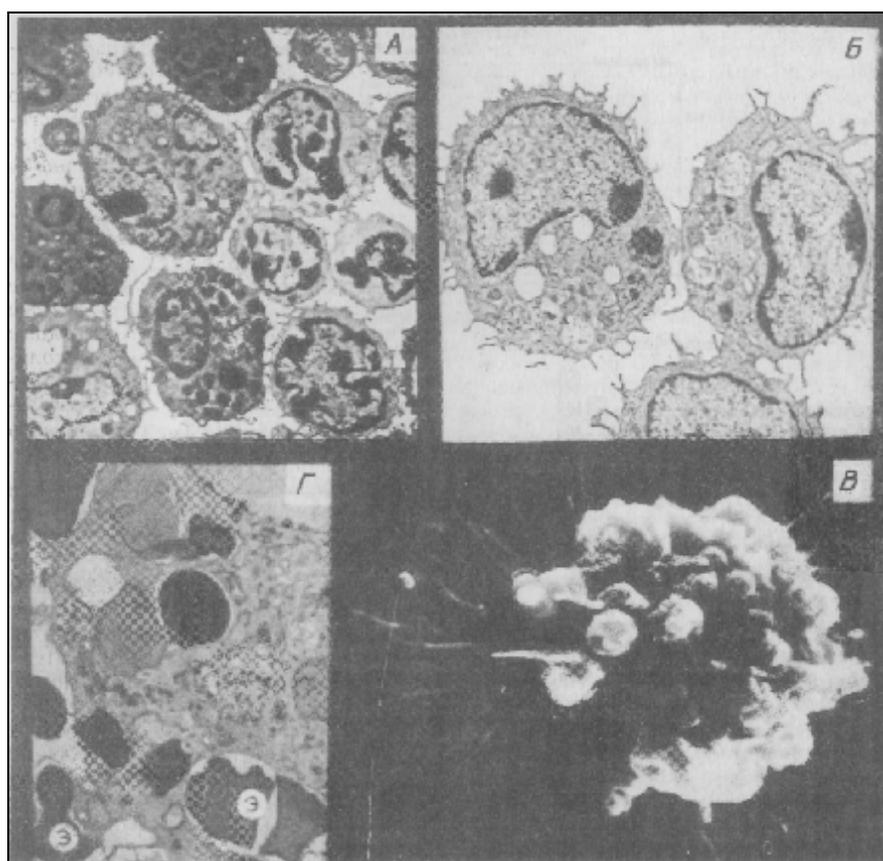
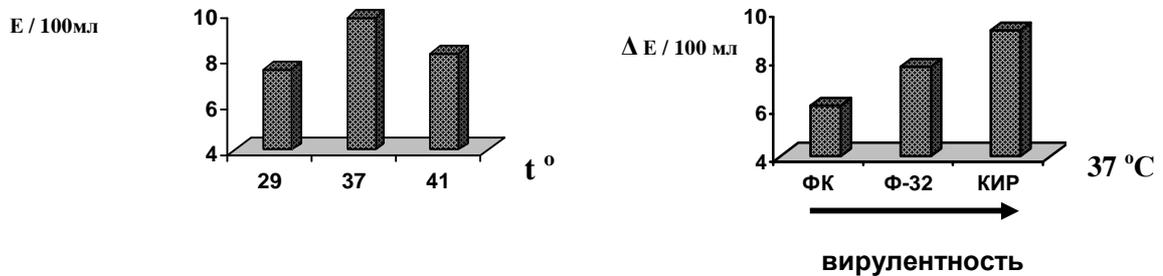


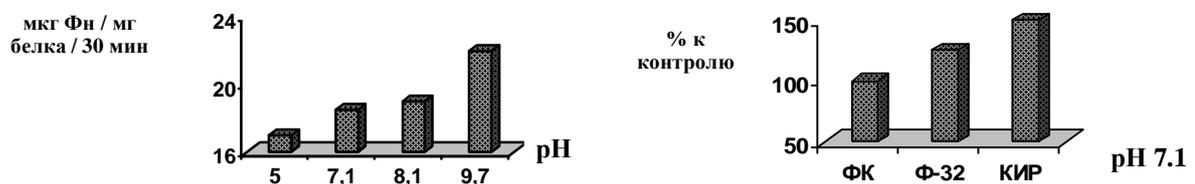
Рисунок 1. Электронно-микроскопическая картина А-клеток КМС в культуре: А - общий вид свежеизолированных клеток КМС, тонкий срез, х 6000; Б, В - моноциты/макрофаги трехсуточной культуры, соответственно тонкий срез, х 6000 и сканирующая микроскопия, х 10000; Г - эритроцитофагия ММ, тонкий срез, х 6000.

КУЛЬТУРА А-КЛЕТОК КМС:
интактная **зараженная (штаммы)**

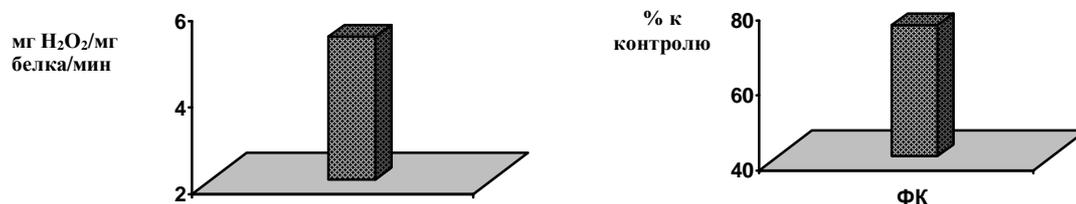
1. ЛДГ внеклеточная:



2. АТФ-аза (в присутствии Na⁺, K⁺, Mg⁺²):



3. Каталаза



4. Пути превращения глюкозы



Рисунок 2. Биохимическая характеристика культуры А-клеток КМС и метаболические сдвиги после заражения вирусом АЧС различной вирулентности (M=0.01 ГАЕ₅₀/ клетка, через 3 суток после заражения).

В обобщенном виде *морфо-биохимические параметры А-клеток КМС* представляются следующим образом:

- § крупные размеры (диаметр >25 мкм);
- § ядерно-цитоплазматическое соотношение >1 , ядро бобовидной формы, нет синтеза ДНК;
- § отличаются развитой эндотелиальной сетью и аппаратом Гольджи, обилием крупных митохондрий, осмиофильных гранул, множеством первичных и вторичных лизосом;
- § имеют складчатую, неровную поверхность с многочисленными псевдоподиями (0.2-2 мкм), развитый мембранный аппарат с рецепторными функциями, о чем свидетельствует наличие гликокаликса толщиной 0.01-0.2 мкм;
- § содержат поглощенный детрит и фагоцитированные аллогенные эритроциты, имеют пиноцитозные углубления;
- § гексозомонофосфатный путь (ГМФП) превращения глюкозы значительно преобладает над гликолизом (5.5:1);
- § соотношение фосфолипидов и холестерина в их мембране составляет 1:0.8, плотность клеток в градиенте перколла 1.060 г/см³.

Следовательно, по описанным критериям А-клетки КМС в трехсуточной культуре неотличимы от зрелых, тканевых свободных или фиксированных макрофагов согласно представлениям Ван Ферта [1], что свидетельствует о завершенности моноцитопоза *in vitro*. Кроме того, судя по относительному значению ГМФП превращения глюкозы, можно отметить признаки их метаболической активации в культуре. Все это служит основанием для использования А-клеток КМС в модельных исследованиях взаимодействия вируса АЧС с клетками СМФ.

В общем пуле клеток КМС вирус АЧС размножается только во фракции А-клеток [5]. Сравнение способности к репродукции вируса в свежеизолированных клетках КМС или через 3 суток после инкубации последних на опорном субстрате показало, что при прочих равных условиях в первом случае развитие гемадсорбции происходит с задержкой примерно на те же 3 суток.

Это свидетельствует об успешном размножении вируса в зависимости от уровня дифференцировки клеток в процессе моноцитопоза *in vitro* в течение данного срока - от промоноцитов костного мозга до того состояния, которое описано выше (рисунки 1 и 2), то есть только зрелые ММ обладают уникальной чувствительностью к вирусу АЧС. Подобное явление известно, например, для системы «ММ - лентивирус висны-маеди» [17]. На это указывают также относительно короткий цикл и эксплозивный характер вирусного размножения в гомогенной культуре дифференцированных А-клеток при оптимальных условиях синхронного заражения [5] по сравнению с длительным, многосуточным накоплением вируса в тех случаях, когда для этого используют свежеизолированные клетки костного мозга и периферической крови свиней или низкую множественность заражения.

Уникальность СМФ как критической мишени возбудителя при АЧС подтверждена опытами *in vivo*. Подсвинки были инокулированы высокой дозой вируса, рассчитанной таким образом, чтобы обеспечить условное поражение большинства М/М в организме. При этом наблюдали *системоспецифический синдром*:

- § на уровне клинических признаков быстрая лихорадочная реакция, резкое исхудание, смерть на 5 сутки;
- § при патологоанатомическом вскрытии геморрагии, ограниченные лимфоузлами;
- § на гистосрезках прогрессирующий распад ММ во всех вторичных лимфоидных органах до полной деструкции их паренхимы.

В числе установленных эффектов репродукции вируса АЧС на ММ представляют интерес определенные сдвиги клеточного метаболизма (см. рисунок 2), угнетение опсонин-опосредованного фагоцитоза, снижение уровня реакционноспособного кислорода и хемотаксиса при отсутствии влияния на экспрессию F_C -рецепторов и способность ММ опосредовать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) даже при высокой множественности заражения [14]. Принято считать, что даже в течение острого инфекционного процесса при АЧС *in vivo* не изменяются антигенпредъявляющие функции клеток СМФ [15]. В конечном итоге вирус АЧС вызывает специфическую модуляцию мембран зараженных клеток (гемадсорбцию) и лизис последних. В динамике

репродукции экспрессия мембранного гемадсорбирующего антигена предшествует образованию инфекционного вирусного потомства и цитолизу (рисунок 3), он является неструктурным вирусным белком и не связан с вирусными частицами в процессе экзоцитоза. В числе перечисленных эффектов именно гемадсорбция, по-видимому, служит наиболее важным феноменом в силу того, что потенциально определяет антигенпредъявляющие или мишеневые функции зараженных ММ в межклеточных взаимоотношениях с лимфоцитами или противоклеточными эффекторами иммунитета, опосредующими АЗКЦ, комплемент-зависимый цитоллиз (КЗЦ), а так же с цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ), которые описаны ранее [7, 15, 19].

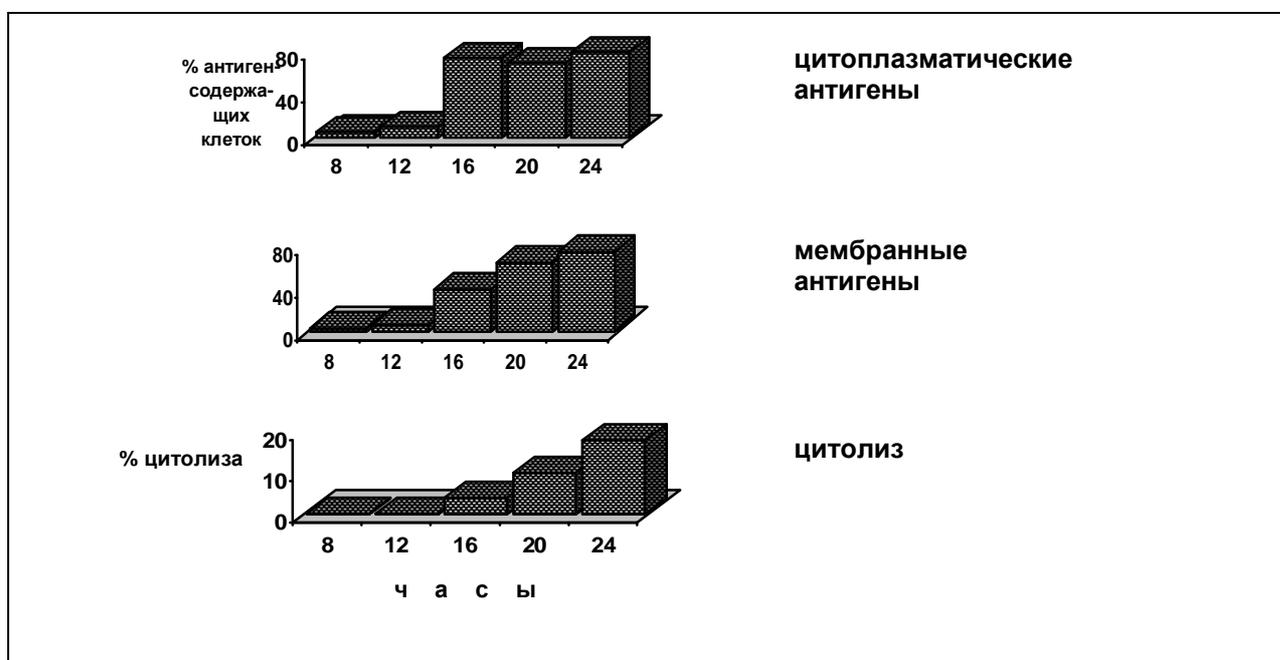


Рисунок 3. Динамика выявления клеток, содержащих вирусные цитоплазматические и мембранные флюоресцирующие антигены (%) в фиксированных ацетоном или нативных препаратах, соответственно, и динамика вирусиндуцированного цитолиза (% к контролю по Serottini, Brunner, 1974) в культуре А-клеток КМС, зараженной вирусом АЧС (штамм Ф-32, множественность заражения - 10 ГАЕ₅₀/клетка).

Сравнительное исследование этого феномена с использованием различных изолятов и вариантов вируса АЧС показало их выраженное разнообразие по признаку количественной гемадсорбции и структуре вирусных популяций в коррелятивной связи с вирулентностью. Сформирован своеобразный «градиент»

вирулентности / гемадсорбирующей активности и постулирован генетический контроль экспрессии гемадсорбирующего антигена [6]. Дополнительное изучение позволило установить, что для прототипного авирулентного варианта ФК с характерной «рыхлой» однослойной гемадсорбцией типичны более широкие межмембранные контакты «зараженный ММ+эритроцит»: доля контактирующей окружности эритроцитов ($M \pm m$) составила 34.2 ± 7.3 %, тогда как для вирулентного Ф-32 - 7.8 ± 3.1 %, для высоковирулентного КИР - 11.2 ± 6.4 % (рисунок 4). Более того, при прочих равных условиях цитоллиз под действием эффекторов АЗКЦ активнее при использовании в качестве мишеней ММ, зараженных авирулентным вариантом ФК, по сравнению с Ф-32 (рисунок 5). Это свидетельствует, что антигенная модуляция мембраны зараженных ММ в наибольшей степени свойственна авирулентному варианту.

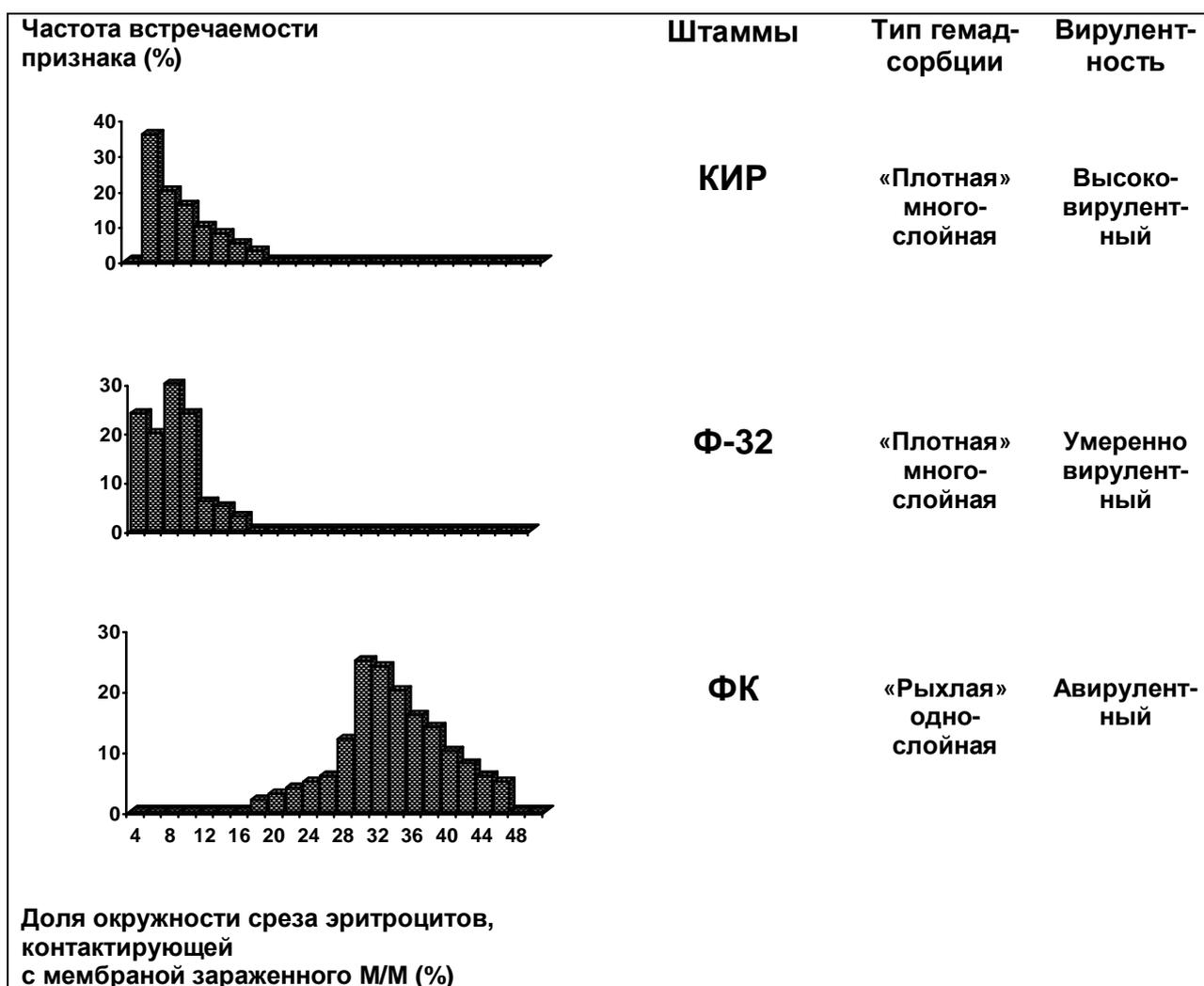


Рисунок 4. Распределение частоты встречаемости признака для величины контакта эритроцитов с мембраной зараженных ММ при развитии гемадсорбции, индуцированной различными штаммами вируса АЧС (M=0.01 ГАЕ₅₀/клетка, через 3 суток после заражения).

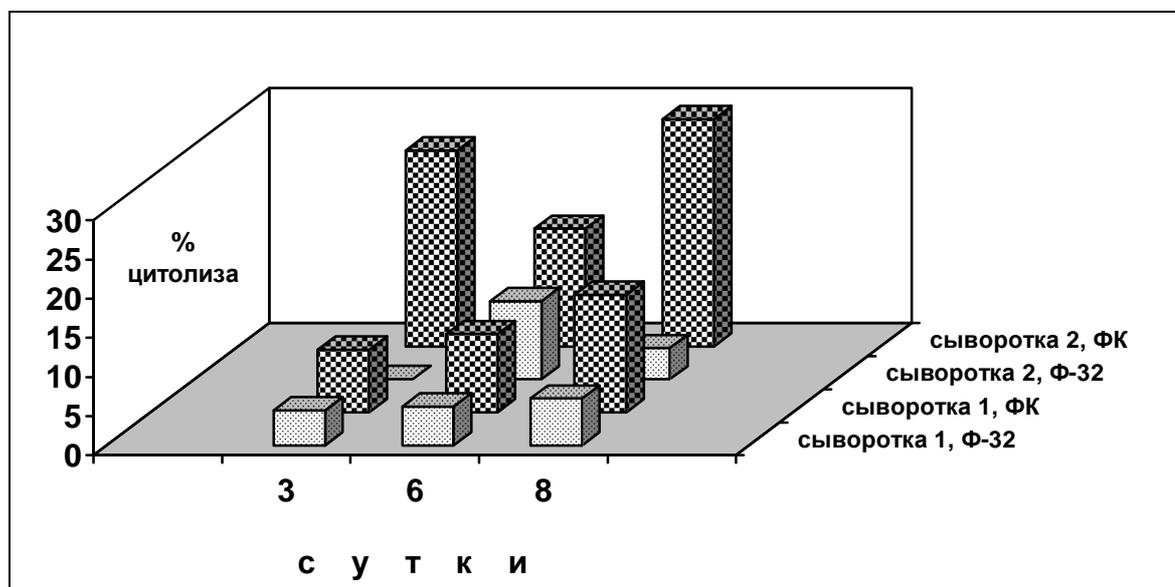


Рисунок 5. Активность А-клеток-мишеней, зараженных штаммами Ф-32 и ФК вируса АЧС, в реакции АЗКЦ с сыворотками 2 подсвинков в динамике развития иммунного ответа после инокуляции штамма ФК (по [7]).

Изложенные данные позволяют сделать следующие выводы. Поскольку ММ уникальны в своей чувствительности к вирусу АЧС, его нейтрализация *in vitro* и *in vivo* исходно невозможна, несмотря на то, что наружная оболочка вирионов активна в рецепторном и антигенном отношении. Вирус проникает в них путем фагоцитоза независимо от специфических рецепторов, а образование комплекса «вирус+антитела» усиливает фагоцитоз по типу опсонизации (более подробное и экспериментальное обоснование изложено в предыдущей публикации [5]). Так как заражение вирусом не влияет на активность ММ в АЗКЦ [14], то именно этим механизмом можно объяснить имеющиеся данные о частичном подавлении вирусного ЦПД и накопления в их культуре

в присутствии большого количества антисыворотки и отдельные случаи пассивной передачи иммунитета [15, 19]. Попытки доказательства существования специфического для вируса АЧС рецептора на поверхности ММ и вирусного «белка прикрепления» (virus attachment protein) путем насыщенного связывания [11], по нашему мнению, изначально неверны: использованная авторами множественность заражения (до 500 000 вирусных частиц на клетку) обуславливает покрытие клеток десятками, если не сотнями, слоев вируса, исходя из сравнения диаметров клетки и вириона, где конкуренция за искомый «рецептор» практически неосуществима.

Рецепторнезависимый эндоцитоз исключает основной для большинства вирусов селекционирующий фактор, в связи с чем в отсутствие отбора популяции вируса АЧС гетерогенны в необычно высокой степени. Эта клональная гетерогенность относится и к степени экспрессии вирусных антигенов в мембранах зараженных ММ, как показано для признака количественной гемадсорбции [6] или на рисунке 4. Имеющиеся сравнительные данные о репродукции различных по вирулентности вариантов вируса АЧС в ММ приводят к заключению, что, по крайней мере *in vitro*, авирулентные варианты при прочих равных свойствах различаются только низкой гемадсорбирующей активностью в целом со сдвигом субпопуляционной структуры в эту сторону [6], характером экспрессии гемадсорбирующего антигена (см. рисунок 4) и замедленным цитолизом, судя по уровню внеклеточной ЛДГ (см. рисунок 2). Следовательно, в вирулентности и иммуногенности вируса АЧС главная роль принадлежит именно степени антигенной модуляции мембран зараженных ММ. Продолжительная экспрессия вирусных мембранных антигенов (однослойная гемадсорбция) по сравнению с их секрецией (многослойная гемадсорбция) определяет исход инфекции - соответственно развитие иммунного ответа или летальность, что схематически показано на рисунке 6.

Остается неясным, какую функцию ММ определяет в данном случае та или иная степень экспрессии антигена вируса АЧС в их мембране — «антигенное предъявление» лимфоцитам или мишень в реакциях с иммунологическими эффекторами (АЗКЦ, КЗЦ, ЦТЛ), их совмещение или чередование? Несомненно, что по

патогенетическому стереотипу АЧС относится к болезням с иммунной регуляцией, а природа и свойства клеток СМФ как критической мишени вирусного действия, их роль в иммунном ответе и патологии значительно расширяют возможности иммунного контроля развития инфекции.

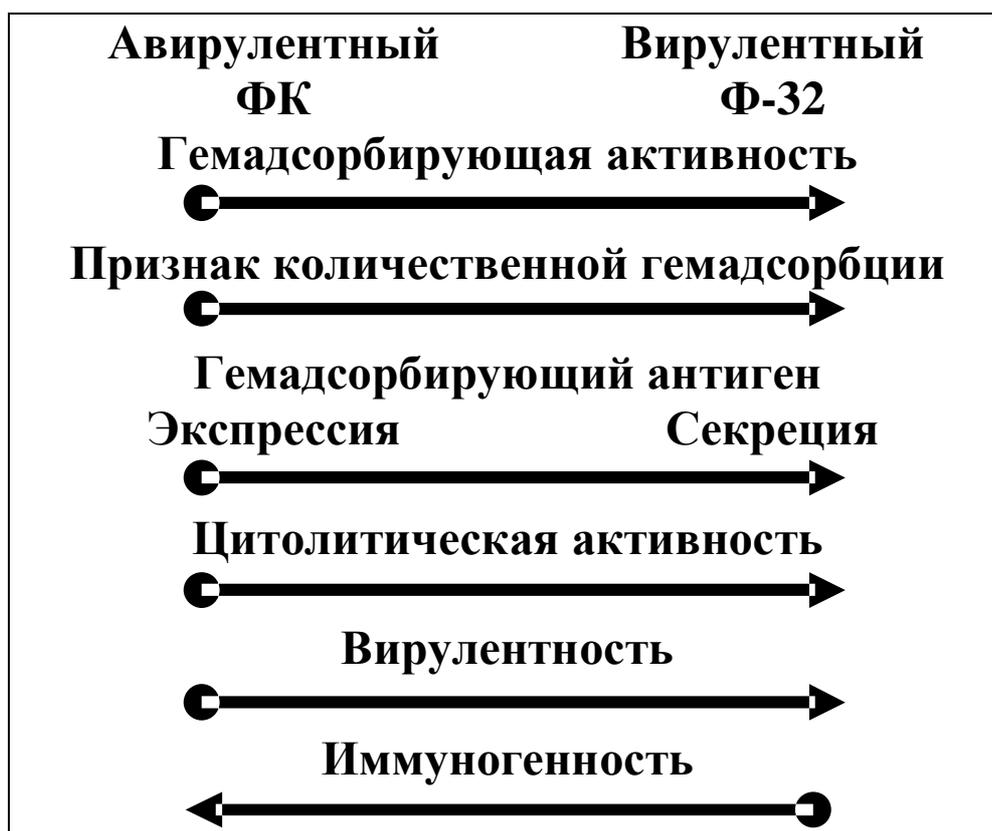


Рисунок 6. Соотношение основных биологических свойств вируса АЧС.

Эти особенности обуславливают также типичные для таких случаев нестерильный иммунитет, избыточное образование медиаторов патологического процесса (в цикле арахидоновой кислоты), их преобладание над медиаторами иммунитета, геморрагический синдром и другие осложнения, разнообразные формы течения инфекции, персистенцию вируса АЧС и в конечном счете трудности создания вакцин.

Вакцинальный процесс при использовании вакцин из модифицированного вируса будет неизбежно сопровождаться всеми перечисленными последствиями, связанными с участием

ММ как критической мишени. Выход из положения - создание гибридного вируса с иным тропизмом и замена таким образом клетки-мишени реплицирующегося антигена.

Литература.

1. Ван Ферт Р. и др. // Бюлл. ВОЗ, 1973, т. 46, № 6.
2. Войно-Ясенецкий М.В. Биология и патология инфекционных процессов. Л.: Медицина, 1981.
3. Кононов В.Г. и др. // Доклады ВАСХНИЛ, 1984, № 2.
4. Макаров В.В. // В кн.: Вопр. вет. вирусол. микробиол., эпизоотол., 1987.
5. Макаров В.В. и др. // Доклады ВАСХНИЛ, 1991, № 12.
6. Макаров В.В. и др. // Вопросы вирусологии, 1991, № 4.
7. Середа А.Д. и др. // Вопросы вирусологии, 1992, № 3.
8. Устин А.В. и др. // Доклады ВАСХНИЛ, 1988, № 7.
9. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984.
10. African swine fever. Ed. Becker Y., 1989.
11. Alcamí A. et al. // Virus res., 1990, v. 17, № 2.
12. Allison A. // Int. rev. exp. pathol., 1978, № 18.
13. Anderson E., Williams S. // Res. vet. sci., 1987, v. 42, № 3.
14. Martins C. et al. // Viral immunol., 1988, v. 1, № 3.
15. Mebus C. // Adv. virus res., 1988, № 35.
16. Morahan P., Morse St. // In: Virus-lymphocyte interact.: implic. disease, 1979.
17. Gendelman H. et al. // J. virol., 1986, v. 58, № 1.
18. Pierce C. // Am. J. pathol., 1980, v. 98, № 1.
19. Wardley R. et al. // Prog. med. virol., 1987, № 34.

АПОПТОЗ В СИСТЕМЕ «ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ - МОНОНУКЛЕАРНЫЕ ФАГОЦИТЫ СВИНЬИ»*

В самом общем определении апоптозом считается физиологический процесс гибели клеток как элемент регуляции гомеостаза нормальных тканей (негативная селекция). Это механизм запрограммированного клеточного саморазрушения, альтернативный некрозу. Принципиальные отличия заключаются в морфологической картине, АТФ-зависимости, экспрессии генов *de novo*, фрагментации ДНК, интактности клеточной мембраны с селективной проницаемостью, ингибции Zn^{+} . Апоптозный путь гибели описан применительно к клеткам гемопоэтической, нервной системы, цитопатогенному действию ряда вирусов и ингибиторов метаболизма, киллингу зараженных или раковых клеток эффекторами иммунитета [1, 7, 12].

Настоящее сообщение посвящено ретроспективному анализу результатов рутинных электронно-микроскопических исследований взаимодействия вируса африканской чумы свиней (АЧС) с клетками системы мононуклеарных фагоцитов в культуре, которые являются для него уникальной мишенью *in vitro* и *in vivo* [4]. Вирус АЧС, классифицированный МКТВ и единственный член непоименованного семейства, - крупный цитоплазматический дезоксирибовирус с диаметром вирионов 175 x 220 нм, содержит линейную двухцепочечную ковалентно замкнутую ДНК размером 170-190 т.п.о. Идентифицирован вирусный ген 5-НЛ, кодирующий белок 21 кД с высоким уровнем гомологии с семейством *bcl-2*-родственных белков - продуктов протоонкогенов, которые негативно и позитивно модулируют апоптоз. Клонирование и экспрессия этого гена в бакуловирусе сопровождалась развитием типичных для апоптоза признаков при инфицировании клеток насекомых рекомбинантом по сравнению с размножением бакуловируса дикого типа [10, 11].

* опубликовано в журнале «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология», 1995, 3, 38-43.

Как морфологическое явление апоптоз относительно мало известен в отечественной литературе [3, 5]. Цель данной работы — описание морфологических признаков индуцированного апоптоза в избранной системе вирус-клетка.

Материалы и методы.

Поскольку важнейшие признаки апоптоза (характерные изменения ядерного вещества, образование апоптозных тел, интактность клеточной мембраны) трудно дифференцировать при светооптической микроскопии [3, 5, 12], использована электронная микроскопия препаратов с умеренным увеличением (кроме специальных случаев), позволяющая наблюдать состояние полноразмерной клетки ($\times 3-10000$). Оценены тонкие срезы препаратов трех групп: (i) культуры клеток, зараженной вирулентным изолятом Ф-32 вируса АЧС европейской группы, (ii) обработанной дефектными интерферирующими (ДИ) частицами вируса и (iii) клеток-мишеней под действием вирусспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ). Основные характеристики культуры макрофагов свиньи, общие методы культуры клеток и заражения вирусом, тестирования ЦТЛ при АЧС и электронной микроскопии описаны в предыдущих публикациях [2, 4, 6].

ДИ-частицы вируса АЧС получали центрифугированием концентрированной осветленной вирусосодержащей суспензии в ступенчатом градиенте плотности сахарозы (40-43%, масса/объем) при 55 000 g в течение 4 часов. Фракция ДИ-частиц в зоне 1.20-1.21 г/см³ (стандартный вирус АЧС в градиенте сахарозы имеет плотность 1.17-1.18 г/см³) при электронной микроскопии содержала внешне идентичные вирусные частицы, характеризовалась включением метаболической метки ДНК-[³H]-тимидина (в имп/мин/мл) и активностью вирусной РНК-полимеразы (на 1 мг белка), близкими по значениям для стандартного вируса, но отличалась в 100 раз более низкой инфекционностью при повышенных интерферирующей способности против гомологичного вируса и соответственно удельной активности РНК-полимеразы (на ГАЕ₅₀). Для исключения репродукции вируса остаточную инфекционность фракции ДИ-частиц инактивировали гамма-облучением в дозе 2.5 Мрад в

течение 5 часов*.

Необходимые детали и условия отдельных опытов указаны в подписях к рисункам.

Результаты и обсуждение.

Ядерное вещество на общем плане зараженного макрофага (рисунок 1/1) претерпевает ранние изменения - конденсацию хроматина в компактные гранулярные массы по внутреннему периметру границы ядра (показано стрелками). Здесь уже есть сформированное апоптозное ядро и структуры, напоминающие зарождающийся виропласт. Более выражена конденсация хроматина на рисунке 1/2 и особенно 3 и 5, где видны типичная картина поляризованных серповидных кэпов или дискретные "лепестки"-фрагменты гиперхроматина по периферии ядра (см. стрелки). На рисунке 1/4 показано состояние ядра зараженной клетки со следами распавшегося ядрышка и прилегающими вирусными частицами без агрегации хроматина, а на рисунке 1/6 увеличенное рыхлое, "рассыпающееся", ядрышко; в обоих случаях внутри ядра обнаруживаются электронно-плотные кольцевые структуры (см. стрелки), подобные таковым при цирковирусном апоптозе клеток В- и Т-лимфобластоидных линий *in vitro* и тимоцитов цыплят *in vivo* [8].

Апоптозные тела - морфологические образования из окруженных интактной мембраной клеточных фрагментов, на которые клетка в конечном итоге распадается, имеют самые разнообразные формы, в основном близкие к сферической или овоидные, и состав - от остатков с хорошо сохранившейся клеточной структурой до электронно-плотных гомогенных масс конденсированной цитоплазмы (рисунки 2/1, 4). Многочисленные округлые средней плотности (полупрозрачные) вакуоли (рисунок 2/2, см. стрелки), отражающие интенсивную зернистость клеток при светооптической микроскопии нативной культуры, также могут в данном случае считаться "кандидатами" в апоптозные тела.

* метод получения ДИ-частиц, их характеристика и значение физико-химического полиморфизма популяции в биологии вируса АЧС подробно описаны в отдельной работе, помещенной в настоящем Сборнике на стр. 45-54.

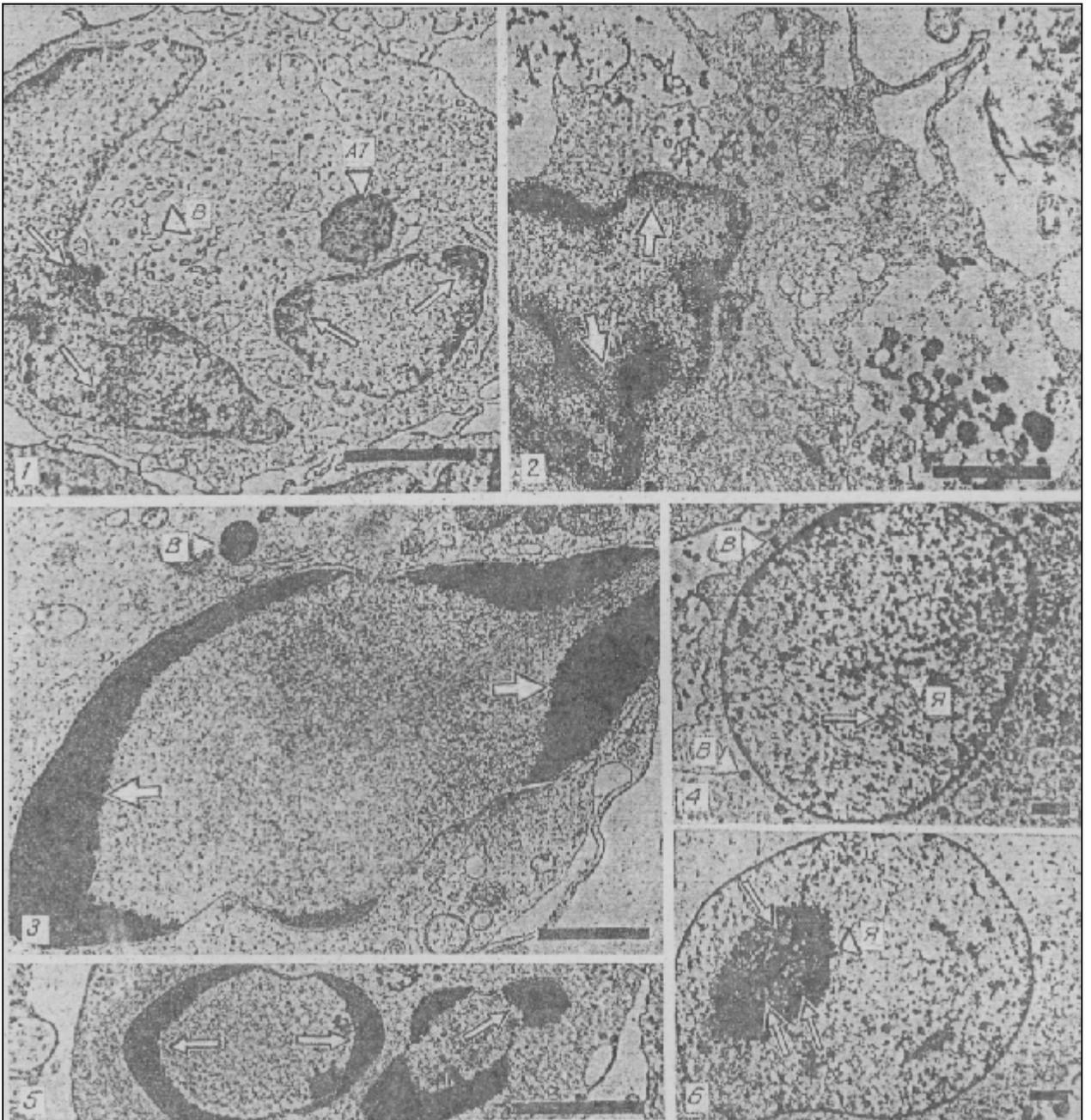


Рисунок 1. Состояние ядерного вещества макрофагов свиньи при заражении вирусом АЧС с множественностью 1 ГАЕ₅₀/клетка через 8 часов (1) и 24 часа (3, 4) или при обработке ДИ-частицами вируса с высокой множественностью (> 400 на клетку) через 48 часов (2, 5, 6).
 Здесь и на рисунках 2-4: АТ - апоптотные тела, В - вирусные частицы, Н - ядро, Э - эритроциты, Я - ядрышко. Длина масштабной полоски 5 мкм (1, 2, 5) или 0.5 мкм (3, 4, 6).

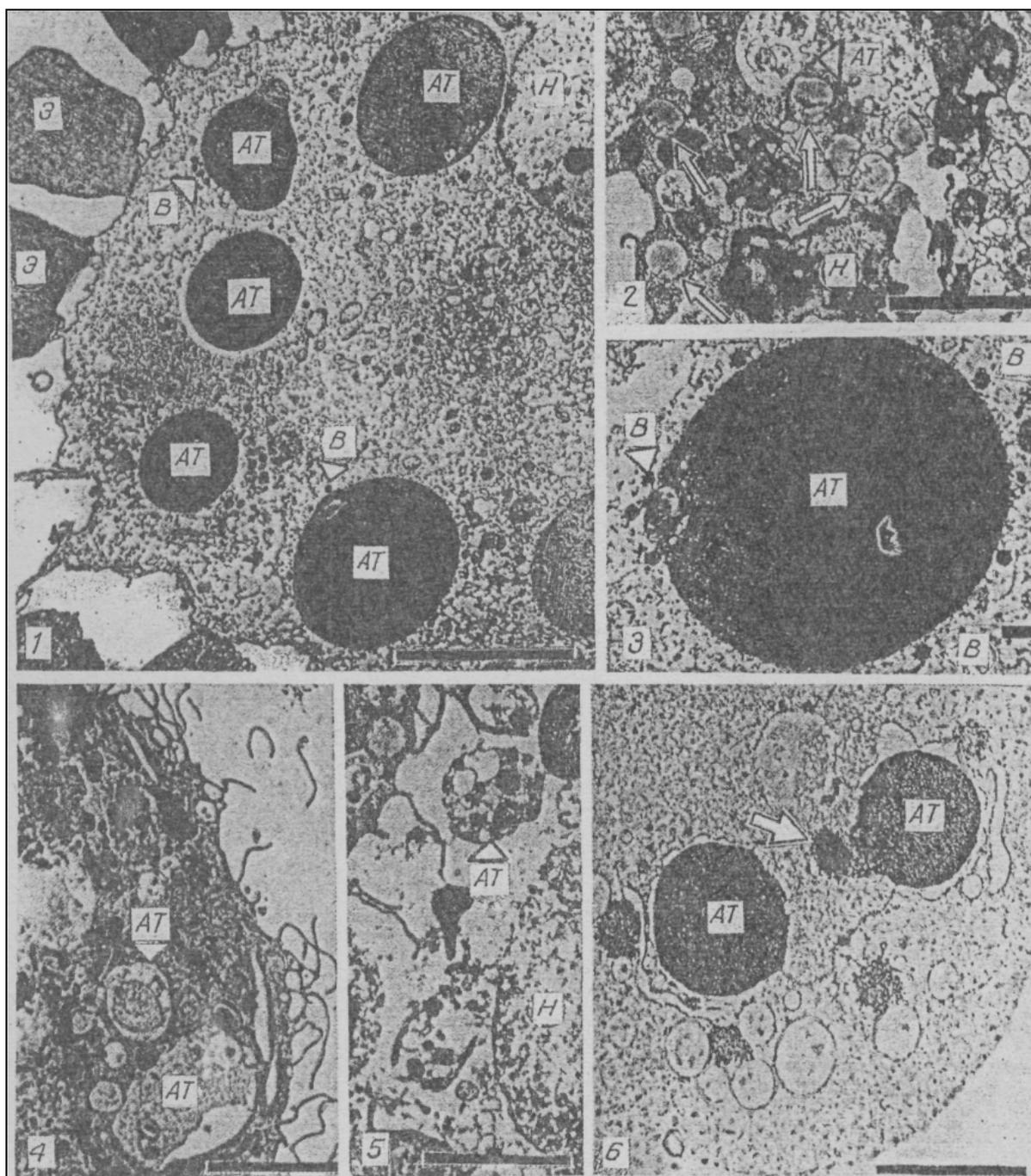


Рисунок 2. Морфология апоптозных тел, образующихся в макрофагах свиной при заражении вирусом АЧС с множественностью 1 ГАЕ₅₀/клетка через 24 часа (1, 3, 4) или при обработке ДИ-частицами вируса с высокой множественностью (> 400 на клетку) через 48 часов (2), внеклеточные (5) и фагоцитированные (6) апоптозные тела в зараженной культуре. Длина масштабной полоски 5 мкм (1, 2, 4, 5, 6) или 0.5 мкм (3).

Судя по сравнительному диаметру прикрепившихся к зараженной клетке эритроцитов в процессе гемадсорбции или вирусных частиц (см. рисунок 2/1 и 3, соответственно), размер внутриклеточных гомогенных апоптозных тел может достигать порядка 5 мкм и более. Об эндогенном происхождении электронно-плотных гомогенных апоптозных тел в этих случаях свидетельствует привлечение к ограничивающим их мембранам вирусных частиц (см. рисунок 2/3). Разнообразная прогрессивная конденсация цитоплазмы, формирование апоптозных тел и их отделение совпадают с появлением характерных протуберанцев на поверхности окончательно распадающихся клеток (см. рисунок 2/4 и 5), неестественных по сравнению с нормальными псевдоподобиями макрофагов и отсутствующих на ранних стадиях инфекции (ср. рисунки 1/1 и 3/1). Внеклеточные апоптозные тела подвергаются фагоцитозу: на рисунке 2/6 показана фагосома с парой апоптозных тел и признаками их деградации (стрелка).

Клеточная мембрана на общем плане зараженного макрофага (рисунок 3/1) с началом очевидных изменений ядерного вещества уже на ранних стадиях имеет признаки "бойлинга" ("вскипания", показано стрелкой). При этом образующиеся пузырьки, довольно мелкие в отличие от апоптозных тел, имеют поистине форму мыльных пузырей (цит. по [9]), объединенных в множественную гроздевидную структуру (рисунок 3/2), расположенных отдельно (рисунок 3/4) или окруженных общей оболочкой (рисунок 3/5) и даже содержащих вирусные частицы разной степени зрелости (рисунок 3/3). По-видимому, сам по себе процесс "бойлинга" свидетельствует об интактности при этом клеточной мембраны.

Киллинг ЦТЛ клетки-мишени уже на ранних этапах, до появления видимых повреждений последней, также характеризуется реакцией со стороны ядра, напоминающей апоптоз, - началом дискретной конденсации хроматина по внутреннему периметру (рисунок 4/1). Далее продемонстрирована с трудом поддающаяся систематизации чрезвычайно драматическая картина патоморфоза глубоких изменений клетки-мишени после иммунной атаки ЦТЛ: протуберанцы, апоптозные тела (рисунок 4/3), разнообразные формы последних, даже кластеризованные (рисунок 4/4, стрелки) или в виде гигантской "пустоты", занимающей большую часть клетки и содержащей беспорядочные

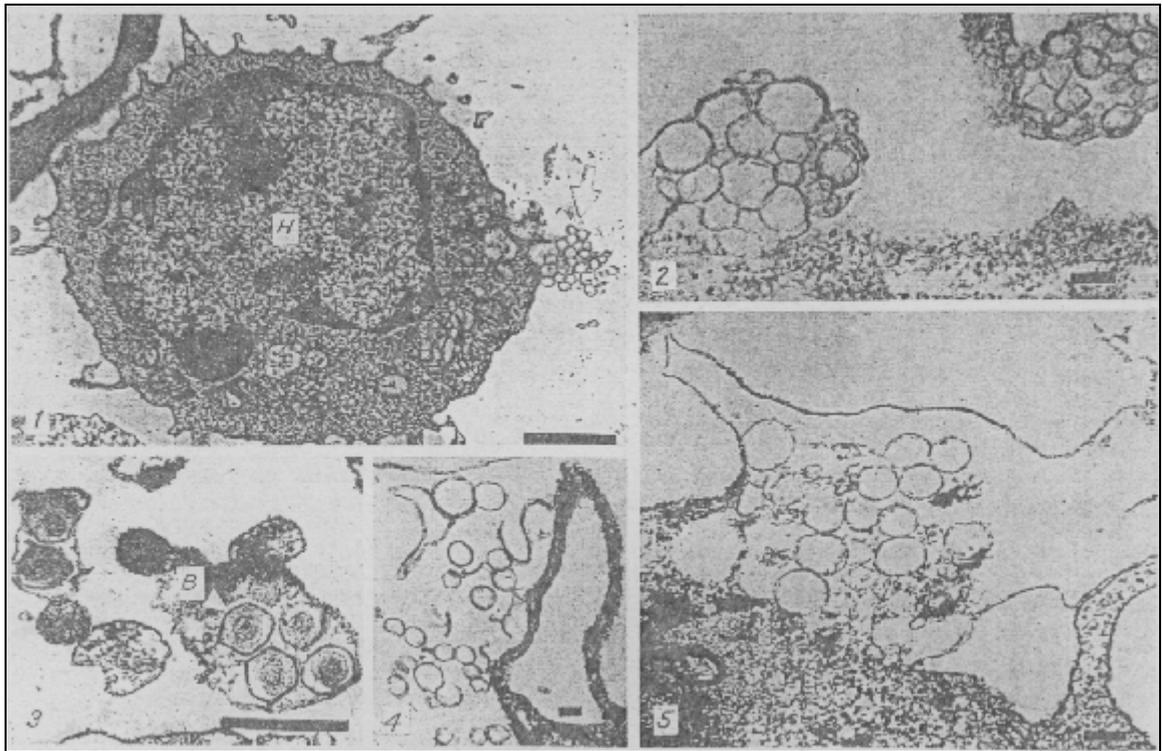


Рисунок 3. "Бойлинг" поверхности макрофагов свиньи при заражении вирусом АЧС с множественностью 1 ГАЕ₅₀/клетка через 8 часов (1, 2) и 24 часа (3, 4, 5). Длина масштабной полоски 5 мкм (1) или 0.5 мкм (2, 3, 4, 5).

обрывки и клубки агрегированных микрофиламентов, с признаками клеточного "бойлинга" как за пределы клетки, так и внутри такой "пустоты" (рисунок 4/5, стрелки), десятки разного размера гомогенных электронно-плотных и других апоптозных тел в цитоплазме одной клетки-мишени (рисунок 4/6).

В дополнение к этому на общем плане иммунной атаки (см. рисунок 4/7) очевидно, что привлекающая ЦТЛ вирусспецифическая антигенная модуляция клетки-мишени и типичная для размножения вируса АЧС гемадсорбция происходят до видимых признаков ее вирусиндуцированного разрушения, в период формирования виропласта, задолго до почкования и тем более созревания вирусного потомства; атака ЦТЛ и гемадсорбция указывают на достаточную плотность вирусных мембранных антигенов к этому сроку. Два факта - наличие виропласта и

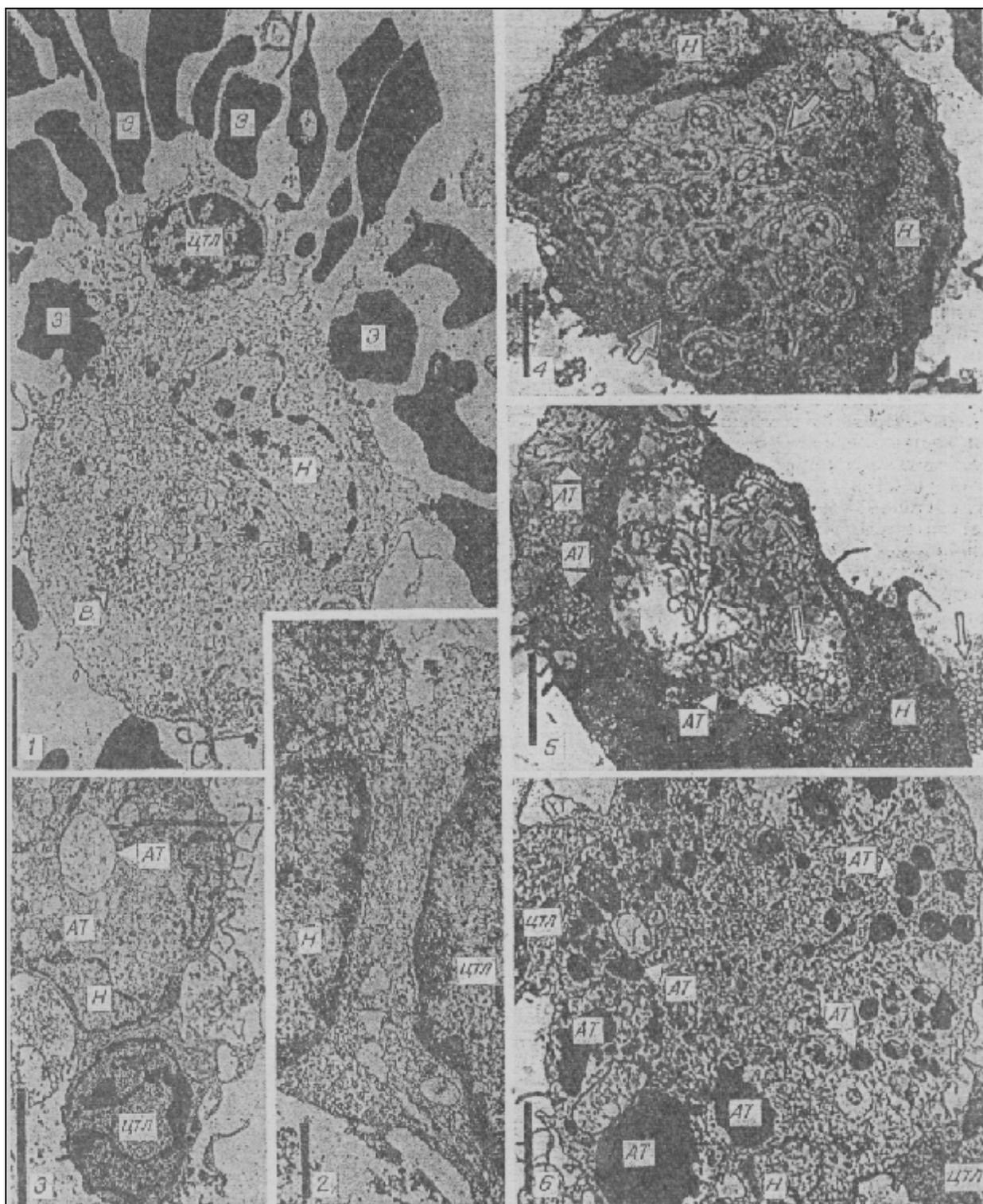


Рисунок 4. Киллинг вирусспецифическими ЦТЛ клеток-мишеней - аутологичных макрофагов свиньи через 18 часов после заражения последних вирусом АЧС с множественностью 1 ГАЕ₅₀/клетка: общая картина атаки ЦТЛ клетки-мишени (1), морфологические детали контакта ЦТЛ-мишень (2) и более крупный план этой ситуации (3), различные ракурсы разрушения клеток-мишеней (4, 5, 6). Длина масштабной полоски 5 мкм (1, 3-6) или 0.5 мкм (2).

гемадсорбция - в свою очередь свидетельствуют об аутентичности клетки-мишени. То, что при этом ЦТЛ атакует мишень в сопровождении эскорта эритроцитов на стороне, противоположной виропласту, с известной долей условности все же указывает на некую поляризованность антигенной модуляции мембраны клетки-мишени и даже на определенное соответствие объектов атаки ЦТЛ и гемадсорбирующего антигена.

Таким образом, в системе «вирус АЧС-клетки системы мононуклеарных фагоцитов» во всех случаях обнаружены морфологические свидетельства апоптоза как формы клеточной гибели. Если в таком контексте реинтерпретировать опубликованные нами ранее результаты изучения ультраструктурных изменений макрофагов свиньи под действием ингибиторов гликозилирования [2], то там также обнаруживались морфологические признаки разрушения клеток по апоптозному пути; через 24 часа после инкубации клеток в присутствии моненсина (0.5-1.0 мкг/мл) или 2-дезокси-*D*-глюкозы (10 мг/мл) происходили конденсация ядерного вещества и цитоплазмы, расширение эндоплазматической сети, образование апоптозных тел. В числе прочих цитопатологических явлений особенно драматична картина разрушения клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами; в последнем случае описанные признаки несколько отличаются от традиционных представлений [9], в частности, в отношении разрушения клеточных мембран, набухания, дезинтеграции и потери цитоплазмы. Развитие типичной картины при обработке клеток ДИ-частицами вируса АЧС указывает, что причиной вирусиндуцированного апоптоза являются, по всей вероятности, вирионные или ранние вирусные белки.

Благодарность.

Фрагмент работы, связанный с изучением ЦТЛ, выполнен в рамках проекта РФФИ, грант № 94-04-12076. Благодарю сотрудников ВНИИВВиМ Е.К.Сенечкину, С.Ф.Чевелева и А.Д.Середу за помощь в написании статьи.

Литература.

1. Волянский Ю.Л., Колотова Т.Ю., Васильев Н.В. // Успехи соврем. биол., 1994, т. 114, № 5, С. 679-692.
2. Ефимова А.А., Малахова М.С., Середа А.Д., Макаров В.В. // Доклады ВАСХНИЛ, 1989, № 7, С. 38-40.
3. Лушников Е.Ф. // Арх. пат., 1986, № 3, С. 60-67.
4. Макаров В.В., Малахова М.С., Власов Н.А., Чевелев С.Ф. // Доклады РАСХН, 1992, № 11-12, С. 37-44.
5. Общая патология человека // Под ред. А.И.Струкова, В.В.Серова, Д.С.Саркисова. 2-е изд., М., 1990.
6. Середа А.Д., Соловкин С.Л., Сенечкина Е.К., Макаров В.В. // Сельхоз. биол., 1994, № 6, С. 112—115.
7. Cohen J.J. // Immunol. Today, 1993, v. 14, P. 126-130.
8. Eurissen S., Wagenaar F., Pol J. et al. // J. Virol., 1992, v. 66, № 12, P. 7383-7388.
9. Klein J. Natural history of the major histocompatibility complex. N.Y., 1986.
10. Neilan J.G., Lu Z., Afonso C.L. et al. // J. Virol., 1993, v. 67, № 7, P. 4391-4394.
11. Neilan J.G., Zsak L., Caler E. et al. Conf. Res. Work. Anim. Dis., 75-th, Abstracts, Fort Collins, Col., 1994.
12. Wyllie A., Kerr J., Currie A. // Int. Rev. Cytol., 1980, v. 68, P. 251-305.

ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ ПО ПРИЗНАКУ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ГЕМАДСОРБЦИИ*

В биологическом и патологическом аспектах африканская чума свиней (АЧС) как инфекция характеризуется рядом уникальных особенностей и невыясненных моментов. В их числе - свойства сих пор неклассифицированного возбудителя, окончательно не исследованная стратегия в организме хозяина, вирусологические механизмы функционирования паразитарной системы «вирус АЧС-популяция свиней» в природных очагах и условиях домашнего свиноводства. В связи с последним обстоятельством на основе анализа современной эволюции данной инфекции нами было высказано предположение о ведущей роли изначально выраженного клонального разнообразия природных вирусных популяций, обуславливающего быстрое изменение вирулентности вируса в полевых условиях, и его преобладающем значении по сравнению с постепенной, «случайной» гетерогенизацией возбудителя путем мутагенеза и накопления мутантов. Иными словами, речь шла о необычайно богатом, поддерживаемом на высоком уровне мобилизационном резерве изменчивости как причине постоянной готовности вируса АЧС к «шифтовым» модификациям при возникновении соответствующих условий [2].

Вирус АЧС обладает способностью индуцировать специфическую адсорбцию эритроцитов на зараженных клетках в культуре с сероспецифической отменой феномена [5]. Поэтому в принципе гетерогенность популяции вируса АЧС постулирована еще в 1971 г. Несс'ом на основании ряда предшествующих сообщений об изоляции его негемадсорбирующих вариантов.

* опубликовано в журнале «Вопросы вирусологии», 1991, 4, 321-324 совместно с И.Ф. Вишняковым, Н.А.Власовым и А.М.Серовой.

Позднее была обнаружена так называемая атипичная (однослойная) гемадсорбция на отдельных клетках в зараженной культуре, называемая в нашей работе «рыхлой» в отличие от типичной «плотной» (многослойной) гемадсорбции. Сейчас фенотипическая гетерогенность достоверно подтверждена уже при изучении целого ряда биологических свойств компонентов популяции вируса АЧС [6, 8].

Однако количественных характеристик феномена в строгом значении понятия не получено. Это обстоятельство относится прежде всего к популяционной структуре вируса АЧС, что связано с отсутствием надлежащих стандартных подходов к его клонированию и описанию «поперечного разреза» популяций определенных изолятов и вариантов; вирус успешно культивируется в гемопозитических клетках свиньи, где невозможно его тестирование по негативным колониям и S-признаку, в других же культурах размножение возможно только после сложной адаптации, сопровождающейся изменением его исходных свойств.

Цель настоящего исследования - сравнительная оценка популяционной структуры вариантов вируса АЧС с контрастными свойствами. В качестве фенотипического признака использована гемадсорбция, количественно определяемая по числу адсорбированных зараженной клеткой эритроцитов в естественно восприимчивой системе А-клеток (макрофагов) свиней.

Материалы и методы.

Использованы вирулентные штаммы вируса АЧС Ф-32*, К-73 и их авирулентные аттенуированные варианты - соответственно ФК и КК, полученные пассированием в культуре клеток костного мозга свиньи (КМС). В отдельных случаях для сравнения были взяты высоковирулентные штаммы «Мозамбик» (МОЗ), «Киравира» (КИР), культуральные аттенуированные варианты ТСП (дериват КИР) и ЛК. Для заражения на пластинках из покровного стекла размером 9x18 мм получали культуру прилипающей фракции

* здесь и далее - индексы лаборатории музейных штаммов ВНИИВВиМ.

клеток КМС после трехсуточной их адгезии; эти так называемые А-клетки исходно наиболее чувствительны к вирусу АЧС. После заражения их с низкой множественностью ($M=0.001-0.01$ ГАЕ₅₀/клетка) и 48-72-часовой инкубации ставили реакцию гемадсорбции по методу [5], затем культуру на пластинах фиксировали метанолом и окрашивали 1% раствором азура-эозина. При увеличении $\times 400$ подсчитывали количество эритроцитов, прикрепившихся на отдельных клетках. Таким путем обсчитывали 200-400 клеток в поле зрения, расположенных по диагоналям препарата. Статистическая обработка данных включала расчет средних арифметических значений, стандартных ошибок средних арифметических, оценку достоверности средних значений, достоверности различий, полный регрессионный анализ и т. п., проводимый на ЭВМ «Мир-2» с использованием стандартных программ [1, 3, 4].

Результаты и обсуждение.

Оказалось, что число эритроцитов на одной клетке для штаммов ФК, Ф-32 и КИР варьирует в значительных пределах. Вместе с тем частота встречаемости признака носит характер распределения, близкого к нормальному (рисунок 1). При этом среднее арифметическое число эритроцитов на гемадсорбирующую клетку в вариационном ряду для разных штаммов оказалось различным: низким у ФК (18.52 ± 0.36) и более высоким у Ф-32 и КИР (29.32 ± 0.71 и 34.49 ± 0.89 , соответственно). Таким образом, судя по штаммовой специфике, количественная характеристика гемадсорбирующей активности вируса могла быть использована в качестве фенотипического признака.

Характер распределения количества эритроцитов на отдельных клетках, или признак количественного выражения гемадсорбции (в дальнейшем просто «признак»), уже предопределял его вариабельность и внутривидовую гетерогенность вируса АЧС. Чтобы убедиться в этом, с помощью световой микроскопии проведен количественный учет гемадсорбирующих клеток с условным разделением на два типа - обладающих «рыхлой» и «плотной» гемадсорбцией. Из данных, приведенных в таблице 1, видно, что популяции использованных штаммов вируса неоднородны. В связи с этим правомерен вопрос,

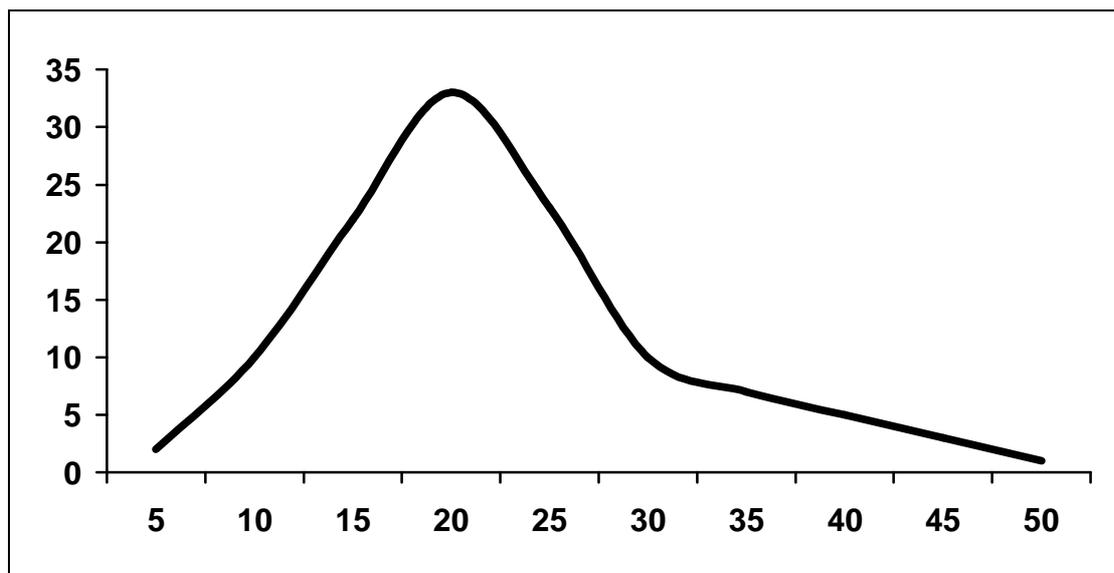


Рисунок 1. Частота встречаемости клеток КМС с определенным количеством эритроцитов на поверхности в культуре, зараженной вирусом АЧС, штамм ФК. По оси ординат - количество клеток, по оси абсцисс - количество адсорбированных эритроцитов.

является ли тип гемадсорбции стабильным клональным (генетическим) признаком или характер феномена отражает динамику сенсibilизации мембран зараженных клеток с постепенным переходом от «рыхлой» гемадсорбции к «плотной» по ходу внутриклеточного развития вируса.

Таблица 1.
Количество клеток с «рыхлой» и «плотной» гемадсорбцией в культуре КМС через 24 часа после заражения различными штаммами вируса АЧС (на 200 клеток).

| Штаммы | Количество клеток с гемадсорбцией | |
|--------|-----------------------------------|-----------|
| | «рыхлой» | «плотной» |
| ФК | 189 | 11 |
| Ф-32 | 141 | 59 |
| КИР | 105 | 95 |

Для ответа на него образование гемадсорбирующих клеток обоих типов было прослежено в динамике вирусного размножения при $M=0.01$ ГАЕ₅₀/клетка. Как видно из рисунка 2, установленные

пропорции (см. таблицу 1) остаются неизменными в исследованные сроки у трех различных штаммов. Это обстоятельство свидетельствует, что количественное выражение гемадсорбирующей активности вируса АЧС постоянно в пределах одной популяции и различно для штаммов. Иными словами, признак является генетическим (штаммоспецифическим) по аналогии, например, с S-признаком у других вирусов и в известной мере может компенсировать невозможность анализа клонов природного вируса АЧС по размеру негативных колоний под твердым покрытием.

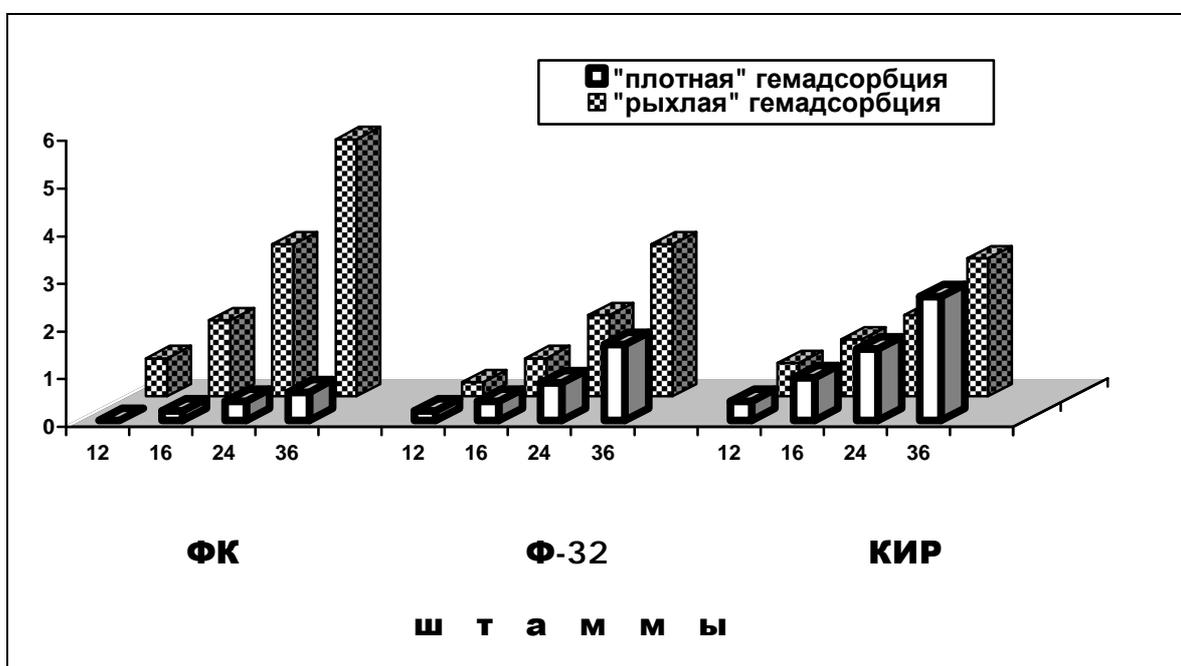


Рисунок 2. Образование клеток КМС с «рыхлой» и «плотной» гемадсорбцией в различные сроки при размножении штаммов вируса АЧС с контрастными по этому признаку свойствами ($M=0.01$ ГАЕ₅₀/клетка). По оси ординат - количество гемадсорбирующих клеток на поле зрения, по оси абсцисс - время культивирования, часы.

В целях более детального измерения внутривидовой гетерогенности вируса АЧС результаты подсчета абсолютного числа эритроцитов на большом количестве зараженных клеток подвергли машинной обработке. Для определения характеристик совокупностей выборки анализировали по методу обработки несгруппированного набора измерений, разделение смешанной

выборки на нормально распределенные совокупности и определение аномальности распределения - по специальной программе на ЭВМ «Мир-2» [1].

Статистическая характеристика популяций указанных штаммов вируса АЧС приведена в таблице 2. Ее анализ свидетельствует о различиях совокупностей по модальному числу (M_0) за счет свойств самих совокупностей, а не ошибок опыта (среднее квадратичное отклонение S и коэффициент вариации V), каждая совокупность не имеет характера нормального распределения (величины показателя асимметрии A и показателя эксцесса E), объемы выборок, характеризуемые величинами ошибки значения S (OS) и ошибки значения V (OV), достаточны и т.д. Большой коэффициент вариации ($V > 25\%$) указывает на асимметричность распределения признака, одной из причин которого может быть неоднородность совокупностей, т.е. объединение в их составе двух и более нормальных совокупностей, характеризующихся самостоятельным набором основных параметров (M_0, m, S ; см. таблицу 2).

Поэтому каждая совокупность (для каждого штамма) была разделена на нормально распределенные составляющие. Результаты, представленные в таблице 3, показали, что во всех случаях разделение совокупностей характеризуется закономерным группированием частот встречаемости с формированием строго определенных нормально распределенных составляющих (или компонентов) популяций использованных штаммов вируса АЧС. Это обстоятельство прямо указывает на их субпопуляционную гетерогенность по аналогии с классическим распределением любого фенотипического признака в биометрии [3, 4]. Данные средней части таблицы 3 позволяют количественно выразить относительный субпопуляционный состав вируса по сумме частот встречаемости признака, где в качестве усредненных элементов выявляются три субпопуляционных компонента - клетки, адсорбирующие до 20 (первый, «рыхлый»), 20-40 (второй, промежуточный) и 40-80 (третий, «плотный») эритроцитов. Статистический анализ субпопуляционного состава по критериям, использованным выше (см. таблицу 2), подтвердил достоверность разделения совокупностей.

Таблица 2.

Статистическая характеристика популяций штаммов ФК, Ф-32 и КИР вируса АЧС по признаку гемадсорбции (количеству адсорбированных эритроцитов на отдельных клетках).

| Штаммы | Параметры* | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|------------|------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | <i>min</i> | <i>max</i> | <i>Mo</i> | <i>m</i> | <i>S</i> | <i>OS</i> | <i>V</i> | <i>OV</i> | <i>A</i> | <i>OA</i> | <i>E</i> | <i>OE</i> | <i>TA</i> | <i>TE</i> |
| ФК | 4 | 46 | 18.52 | 0.36 | 7.38 | 0.25 | 39.85 | 1.57 | 0.79 | 0.19 | 0.39 | 0.29 | 4.15 | 1.34 |
| Ф-32 | 4 | 83 | 34.00 | 0.83 | 13.60 | 0.51 | 40.00 | 2.06 | 0.34 | 0.13 | -0.54 | 0.26 | 2.61 | 2.08 |
| КИР | 6 | 74 | 37.99 | 1.37 | 17.24 | 0.59 | 45.38 | 2.09 | 0.72 | 0.18 | -0.44 | 0.23 | 4.00 | 1.91 |

* *min*, *max* - экстремальные значения, *Mo* – модальное число, *m* – ошибка значения *Mo*, *S* – среднее квадратичное отклонение, *OS* – ошибка значения *S*, *V* – коэффициент вариации (%), *OV* – ошибка значения *V*, *A* – показатель асимметрии, *OA* - ошибка значения *A*, *E* – показатель эксцесса, *OE* – ошибка значения *E*, *TA* и *TE* – критерии достоверности *A* и *E*.

Таблица 3.

Статистическая характеристика совокупностей (популяций) по нормально распределенным составляющим для штаммов ФК, Ф-32 и КИР вируса АЧС.

| Штаммы | Составляющие совокупностей | <i>Mo</i> | <i>S</i> | <i>T*</i> | <i>Г*</i> | % от общего количества |
|---------------|-----------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| ФК | 1 | 15.35 | 4.49 | 0.20 | 4-22 | 81.3 |
| | 2 | 30.10 | 4.49 | 0.26 | 22-40 | 18.7 |
| Ф-32 | 1 | 17.54 | 8.95 | 0.31 | 4-23 | 33.1 |
| | 2 | 31.73 | 8.95 | 0.20 | 21-42 | 40.2 |
| | 3 | 47.18 | 13.05 | 0.38 | 44-83 | 26.7 |
| КИР | 2 | 25.54 | 8.55 | 0.20 | 6-44 | 73.9 |
| | 3 | 60.11 | 8.55 | 0.21 | 45-73 | 26.1 |

* *T* – трансгрессия, *Г* – граничные значения признака между составляющими.

Эта «структурная» закономерность явления гетерогенности, как оказалось, распространяется и на популяции дополнительно исследованных пяти штаммов вируса АЧС, различающихся по вирулентности. Все они обладали аналогичными статистическими характеристиками субпопуляционного состава и делились на те же нормально распределенные усредненные составляющие, что и изначально взятые штаммы ФК, Ф-32 и КИР. Сравнительные данные о субпопуляционном составе восьми штаммов и вариантов вируса АЧС в суммированном виде приведены в таблице 4. Очевидно, что первые четыре аттенуированные (авирулентные) варианты характеризуются наличием только первой и второй субпопуляций с «рыхлой» и промежуточной гемадсорбцией. Популяции вирулентных штаммов МОЗ, КИР и К-73, напротив, теряют первый компонент и содержат субпопуляции с промежуточной и «плотной» гемадсорбцией. Штамм Ф-32 занимает переходное положение.

Сходная картина зависимости от вирулентности наблюдается при графическом выражении модальных чисел адсорбированных эритроцитов, количественно характеризующих гемадсорбирующую активность исследованных штаммов и вариантов вируса АЧС (рисунок 3). В этом случае авирулентные варианты, начиная с ФК, в целом менее активны и отличаются по данному показателю от вирулентных; крайние различия для штаммов ФК и К-73 составляют 18.52 ± 0.36 и 41.10 ± 1.18 , соответственно.

Таблица 4.

Сравнительный состав популяций различных штаммов и вариантов вируса АЧС по признаку количественной гемадсорбции.

| Штаммы, варианты | Вирулентность | Происхождение, годы изоляции** | Относительное содержание компонентов популяций вируса, % | | |
|------------------|---------------|--------------------------------|--|-------------------|-------------------|
| | | | до 20 эритроцитов | 20-40 эритроцитов | 40-80 эритроцитов |
| ФК | - | ЛАБ | 81.30 | 18.70 | 0 |
| ЛК | - | ЛАБ | 69.13 | 30.87 | 0 |
| КК | - | ЛАБ | 64.04 | 35.96 | 0 |
| ТСП | - | ЛАБ | 58.38 | 41.62 | 0 |
| Ф-32 | ±* | ПР-ЕВР-64 | 33.10 | 40.20 | 26.80 |
| КИР | + | ПР-АФР-70 | 0 | 73.30 | 26.70 |
| К-73 | + | ПР-АФР-73 | 0 | 74.28 | 25.72 |
| МОЗ | + | ПР-АФР-64 | 0 | 47.40 | 52.60 |

* по сравнению с остальными вирулентными штаммами вариант Ф-32 может рассматриваться как умеренно вирулентный.

**ЛАБ - лабораторный вариант, ПР-ЕВР-64 - природный изолят, выделенный в Европе в 1964 г., ПР-АФР - природные изоляты, выделенные в Африке в 1970, 1973 и 1964 гг. (см. [8]).

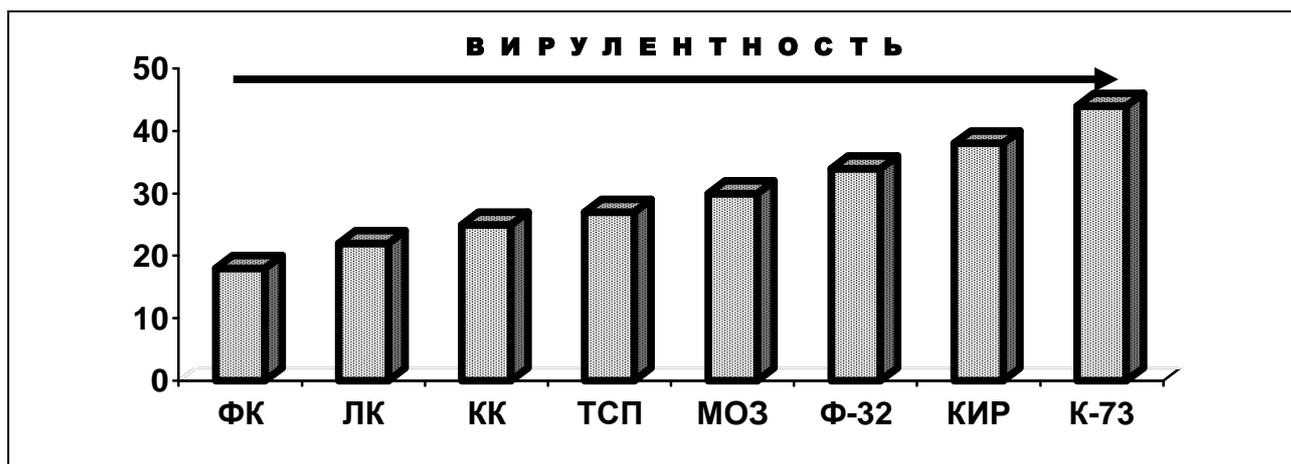


Рисунок 3. Модальные числа адсорбированных эритроцитов на клетках КМС (по оси ординат) при заражении различными штаммами и вариантами вируса АЧС.

Таким образом, разносторонняя оценка признака количественного выражения гемадсорбции, несмотря на значительную методическую трудоемкость, оказалась достаточно информативной для характеристики штаммовой специфики, гетерогенности популяций, субпопуляционного состава вируса АЧС. Выражение признака коррелирует с вирулентностью: аттенуированным вариантам свойственны пониженная гемадсорбирующая активность в целом, преобладание субпопуляционных компонентов со сдвигом в эту сторону и наоборот (рисунок 4).

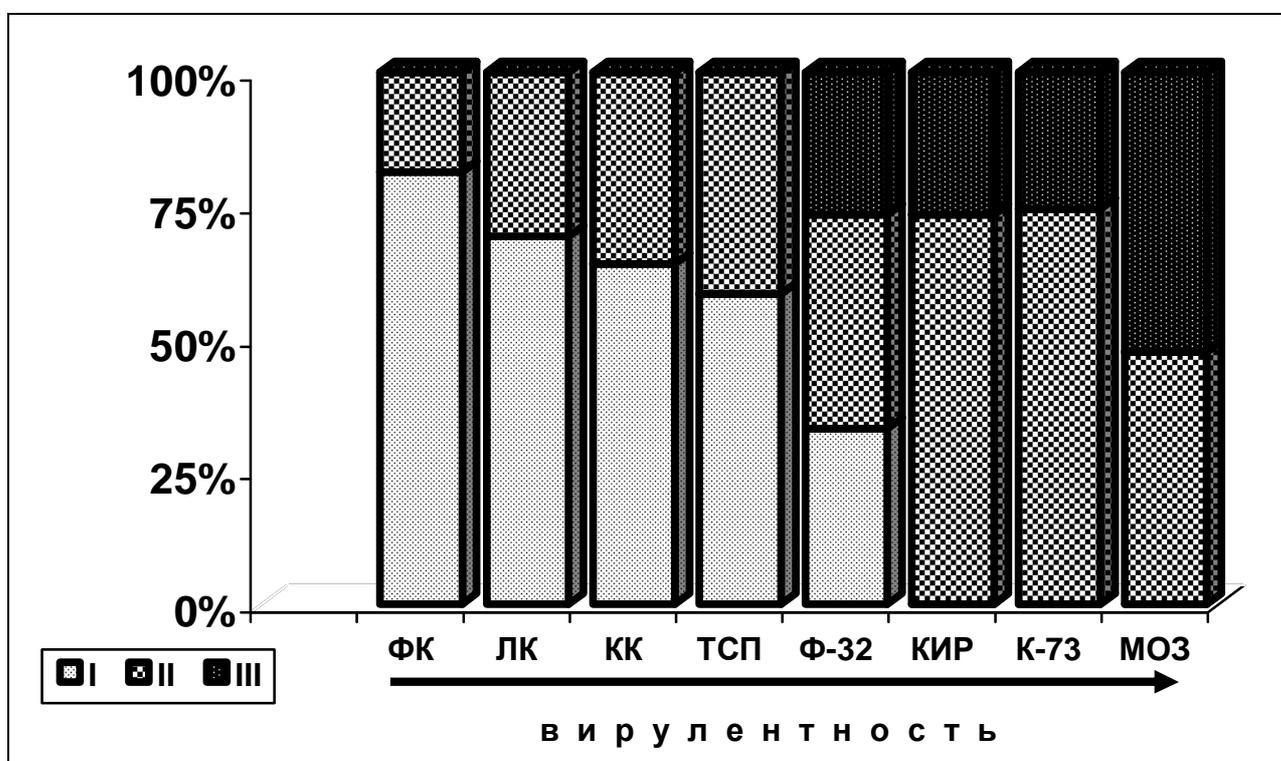


Рисунок 4. Графическое соотношение субпопуляционного состава вируса АЧС по признаку количественной гемадсорбции с вирулентностью различных штаммов и вариантов. I компонент популяции (до 20 эритроцитов), II компонент (20-40 эритроцитов), III компонент (40-80 эритроцитов).

Можно сделать вывод, что экспрессия вирусиндуцированного гемадсорбирующего антигена подвержена генетическому контролю. На этом основании возможна селекция вирусных вариантов - кандидатов в вакцинные штаммы.

Полученные данные интересны и в контексте значения феномена гемадсорбции как показатели вирусспецифической антигенной модуляции мембран зараженных клеток. Следует полагать, что гетерогенность популяции вируса АЧС может трактоваться и в отношении экспрессии его антигенов на мембранах зараженных клеток. Удивительно, что подобная точка зрения на гемадсорбирующий антиген вируса АЧС не принимается во внимание. Так, Plowright [7] в своем недавнем ретроспективном обзоре писал, что «это явление все еще не объяснено, плохо описано и вызывает малый интерес». Им же отрицается иммунологическое значение гемадсорбирующего (мембранного) антигена вируса АЧС. На основе полученных нами данных возможно предположение, что вирулентность вируса АЧС непосредственно определяется характером экспрессии его антигенов в мембранах зараженных клеток. Поэтому установленный градиент различий штаммов по признаку количественной гемадсорбции может косвенно отражать состояние мобилизационного резерва изменчивости вируса АЧС в локальных природных популяциях. Одной из основных предпосылок поддержания высокой степени гетерогенности вирусных популяций может служить тот факт, что вирус АЧС в силу особенностей физиологии репродуцируется в клетках макрофагального ряда, где исключается рецепторзависимый эндоцитоз как основной для большинства вирусов селекционирующий фактор; в отсутствие отбора этого типа, согласно закону Харди-Вайнберга, частота генотипов не должна изменяться.

Литература.

1. Андреев В.А. Биометрические расчеты на ЭВМ «Мир-2». М., 1979.
2. Бакулов И.А., Макаров В.В. // Вестн. с/х науки, 1990, № 3, С. 46—55.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980.
4. Филипченко Ю.А. Изменчивость и методы ее изучения. М., 1978.
5. Malmquist W., Hay D. // Bull. Off. Int. Epizoot., 1961, v. 55, № 1-2, P. 176-184.
6. Pan J., Hess W. // Amer. J. Vet. Res., 1985, v. 46, № 2, P. 314-320.
7. Plowright W. // Res. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot., 1986, v. 5, № 2, P. 455-468.
8. Vinuela E. // Curr. Top. Microbiol. Immunol., 1985, v. 116, P. 151-170.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ВИРУСНОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ДЕФЕКТНЫЕ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ЧАСТИЦЫ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

Дефектные интерферирующие (ДИ) частицы присутствуют в популяциях большинства вирусов. Подробно изучены условия и механизмы образования, биологическая роль ДИ-частиц РНК-содержащих вирусов гриппа, везикулярного стоматита, бешенства, Синдбис, Сендай [2-4, 6]. Относительно ДНК-содержащих вирусов данных значительно меньше [7]. О наличии ДИ-частиц в популяциях вируса африканской чумы свиней (АЧС) сообщений нет.

Из зараженной вирусом АЧС суспензии клеток можно получить концентрат, который после инактивации инфекционности гамма-облучением сохраняет биологическую активность, что проявляется в способности ингибировать накопление стандартного вируса при одновременном внесении обоих компонентов в культуру клеток костного мозга свиней (КМС). Эти исходные данные о вирусингибирующем факторе (ВИФ) представляют несомненный интерес с точки зрения его роли в проявлении биологических свойств вируса и ряда других аспектов.

* опубликовано в журнале «Вестник Россельхозакадемии», 1997, 5, 67-70 совместно с А.Д.Середой и Н.А.Власовым.

ДИ-частицы вируса АЧС.

Кратко методика получения ВИФ состоит в следующем.

Двухсуточную культуру клеток КМС заражают вирусом АЧС с множественностью 10^{-4} ГАЕ₅₀ или ТЦД₅₀/клетка. Через 5 суток культивирования вирусосодержащую суспензию дважды осветляют центрифугированием при 3000 g 30 минут, в надсадок добавляют ПЭГ 6000 до 5% концентрации и через 18 часов инкубирования при 4°C осаждают при 3000 g 30 минут. Затем преципитат ресуспендируют в фосфатном буферном растворе (ФБР) в объеме 1:100 к исходному и пересаждают через 30% сахарозную "подушку" при 50 000 g в течение 2 часов. Осадок ресуспензируют в ФБР в объеме 1:1000 от исходного и подвергают гамма-облучению дозой 2.5 Мрад, что приводит к потере инфекционной активности вируса АЧС.

Первоначально проведено количественное тестирование активности ВИФ в культуре КМС. С этой целью препараты ВИФ, полученные из вируса АЧС (штамм ФК-135), в двукратных разведениях вносили в культуру КМС и через 30 минут ее заражали исходным нативным (стандартным) вирусом АЧС с множественностью 10^{-4} ГАЕ₅₀/клетка. Накопление коинфицирующего вируса определяли через 5 суток титрованием в КМС и рассчитывали ингибирующую активность препаратов ВИФ по разнице накопления инфекционного вируса в контрольных и опытных пробах.

Обнаружена прямая линейная зависимость между дозой ВИФ и его ингибирующей активностью (рисунок 1, стрелка-тренд), что свидетельствует о проявлении активности ВИФ как инактивированного, нереплицирующегося агента. Изучение динамики размножения стандартного вируса АЧС (штамм ФК-135) в клетках КМС, зараженных с множественностью 10^{-4} ГАЕ₅₀/клетка, в присутствии гомологичного ВИФ в разведении 1:160 показало, что, несмотря на снижение урожая в среднем на 2,5 lg ГАЕ₅₀/мл в течение всего периода культивирования и накопления, общий характер репродукции не отличается от контроля с использованием интактной культуры.

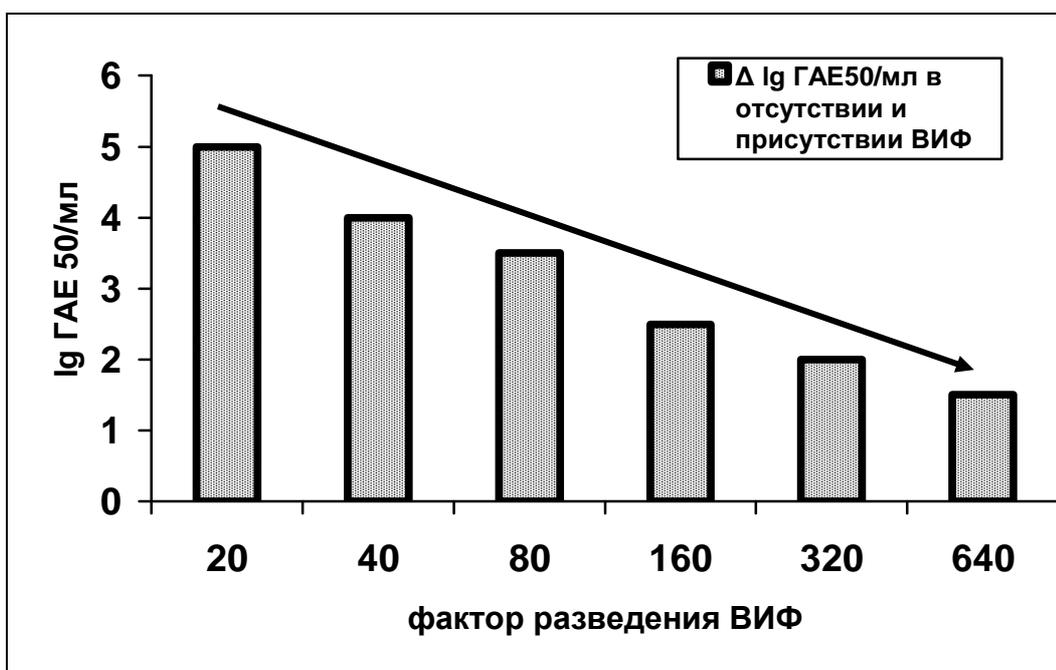


Рисунок 1. Снижение уровня накопления стандартного вируса АЧС, шт. ФК-135) в присутствии гомологичного ВИФ в различной концентрации.

Далее проведены эксперименты с целью установления возможных коррелятивных изменений активности ВИФ в процессе серийных пассажей вируса АЧС в клетках КМС. Для этого использованы штамм «Катанга» и его серийные пассажные варианты К-105, К-110, К-149, К-170, К-190. При их сравнении определялась активность приготовленных из них по принятой методике препаратов ВИФ и уровень внеклеточной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) - свойства, количественно характеризующего цитолитическую активность нативного вируса. Оказалось, что в процессе пассажей по мере снижения вирулентности возрастает интерферирующая активность соответствующих вариантов препаратов ВИФ и параллельно уменьшается цитолитический потенциал нативного вируса (рисунок 2, см. стрелки-тренды). Установленные корреляции указывают на вероятную природу ВИФ как ДИ-частиц.

Результаты влияния физико-химических факторов на интерферирующую активность ВИФ свидетельствовали об устойчивости ВИФ к прогреванию при 56°C, гамма-облучению в дозах 1.25-2.5 Мрад, воздействию проназы и ДНК-азы (рисунок 3). Очевидно, что кроме отношения к облучению по остальным параметрам ВИФ не отличался от стандартного инфекционного вируса АЧС.

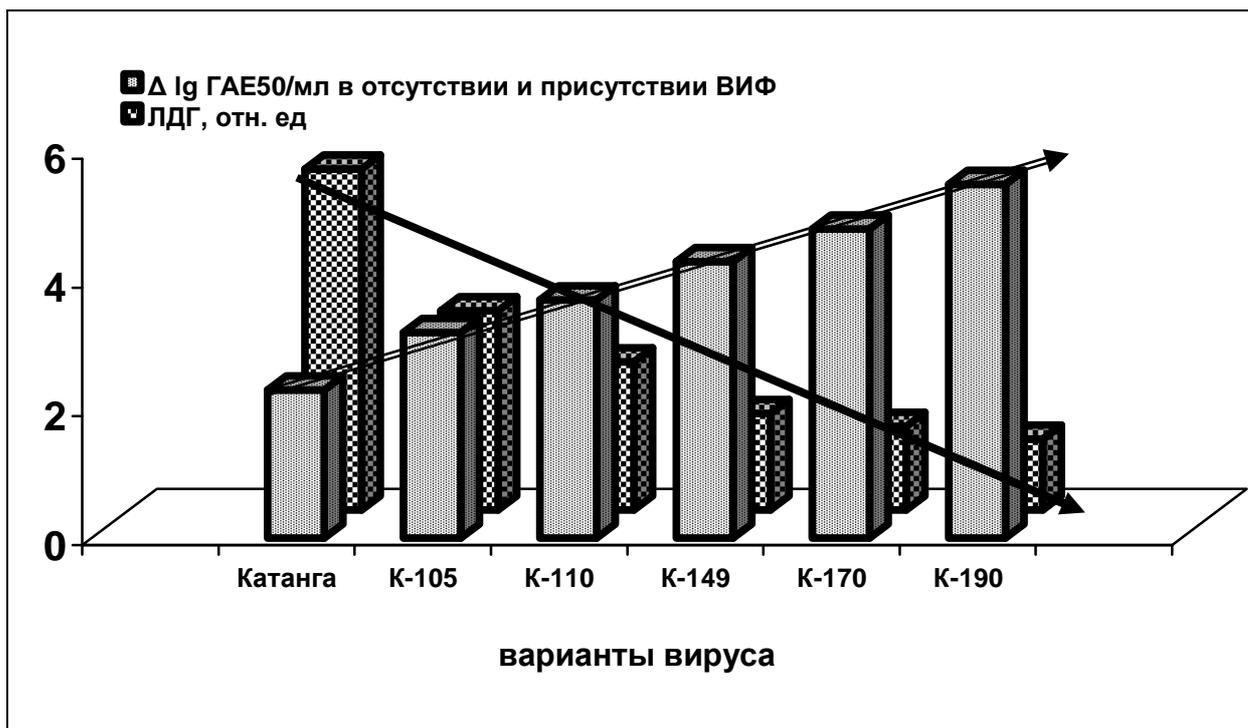


Рисунок 2. Интерферирующая активность ВИФ (в разведении 1:80) и цитолитическая активность (уровень внеклеточной лактатдегидрогеназы) пассажных вариантов вируса АЧС, шт. «Катанга».

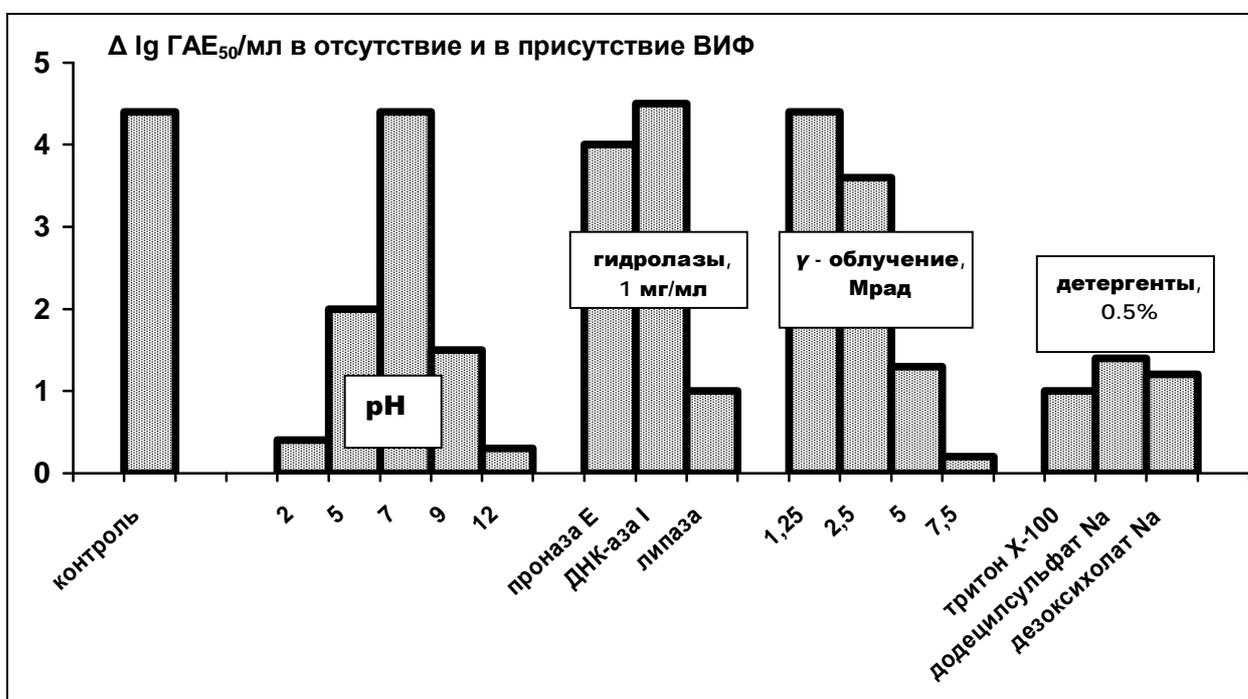


Рисунок 3. Влияние физико-химических факторов на интерферирующую активность ВИФ (шт. ФК-135, разведение 1:80).

Эксперименты по определению плавучей плотности ВИФ из штамма ФК-135 показали иные результаты. Первичный концентрат вируса центрифугировали в линейном градиенте плотности сахарозы 30-60% в течение 15 часов при 60000 g, собирали фракции от 1.08 до 1.25 г/см³, содержимое фракций переосаждали при 60000 g в течение часа и ресуспендировали в ФБР. Оказалось, что плотность стандартного вируса АЧС составляла 1.17-1.18 г/см³. Активность же ВИФ концентрируется в зоне с плавучей плотностью 1.20-1.21 г/см³ и совпадает со вторым максимумом радиоактивности маркированного ³Н-тимидином вируса АЧС после его изопикнического центрифугирования в линейном градиенте плотности сахарозы (рисунок 4, в круге).

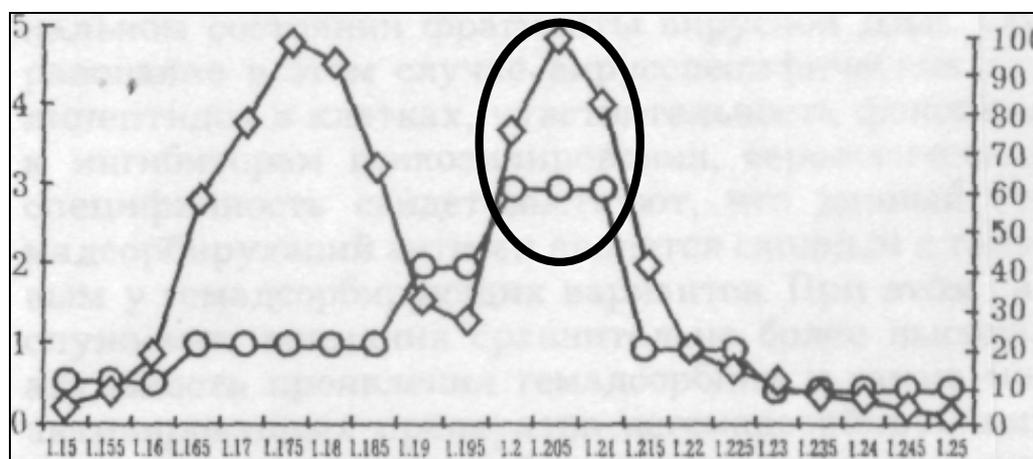


Рисунок 4. Распределение маркированного ³Н-тимидином стандартного вируса АЧС и ВИФ (шт. Ф-32) после равновесного ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы. По оси абсцисс - плавучая плотность, г/см³; по оси ординат справа – радиоактивность, имп/мин × 10³ (◇); слева - разность в урожае инфекционного вируса в отсутствие и в присутствии ВИФ, Δ lg ГАЕ₅₀/мл (○).

Сравнение состава содержимого фракций с плавучей плотностью 1.17-1.18 г/см³ (стандартный вирус) и 1.20-1.21 г/см³ (ВИФ) методом электронной микроскопии не выявило различий в морфологии вирусных частиц. При разнице по инфекционности в 70-100 раз число вирионов во фракции стандартного вируса (с плавучей плотностью 1.17-1.18 г/см³) превышало число вирусных частиц во фракции (1.20-1.21 г/см³) всего в 4-5 раз. Показательным аргументом в пользу вирионной структуры ВИФ стали данные по определению активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы [по 6]. Оказалось, что удельная активность фермента, рассчитанная на

концентрацию белка, во фракции ВИФ была практически равна таковой для стандартного вируса. Однако удельная активность фермента в пересчете на инфекционность у ВИФ значительно превосходила таковую стандартного вируса (таблица).

Таблица.
Активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы
в препаратах ВИФ и стандартного вируса АЧС.

| Удельная активность фермента | ВИФ | Стандартный вирус | ВИФ / стандартный вирус |
|---|-------------|------------------------------|--|
| <u>имп / мин</u> мг белка | 2149 | 2668 | 0.8 |
| <u>имп / мин</u> мг x ГАЕ₅₀ | 8759 | 178 | 49.2 |

Таким образом, на основании экспериментов установлено, что ВИФ вируса АЧС по своим биологическим и физико-химическим свойствам соответствует его ДИ-частицам, представляет собой их фракцию и отражает физико-химический полиморфизм вирусной популяции.

Гемадсорбция гамма-инактивированного вируса АЧС.

Отмечено, что в культуре КМС под действием ВИФ на первые-третьи сутки всегда наблюдается еще одно проявление его биологической активности - развитие атипичной («рыхлой») гемадсорбции, интенсивность которой оценивается по отношению количества клеток с сорбированными эритроцитами к общему их количеству. Этот феномен обозначен как *гемадсорбция гамма-инактивированного вируса (ГА-γ-ИВ)*. Поскольку ГА-γ-ИВ по своим качественным проявлениям имеет высокий индекс корреляции (0.8-1.0) с интерферирующей активностью ВИФ, представлялось важным выяснить природу и механизм этого феномена.

Для сравнения способности ДИ-частиц и стандартного вируса вызывать гемадсорбцию после гамма-облучения были приготовлены препараты из вируса АЧС (штамм ФК-135) с плавучей плотностью в градиенте сахарозы 1.20-1.21 и 1.17-1.18

г/см³, соответственно. Оказалось, что при сходной концентрации белка в препаратах ДИ-частиц и стандартного вируса и титрах инфекционности до облучения 7.0 и 8.7 lg ГАЕ₅₀/мл, соответственно, способность вызывать ГА-γ-ИВ по результатам оценки ее интенсивности при двукратных разведениях у ВИФ была в 8-16 раз выше.

Чтобы установить обусловленность ГА-γ-ИВ функционированием генома вируса АЧС, а не типичной для оболочечных вирусов антигенной модуляции клеточной мембраны "извне" при внесении в культуру клеток инактивированных вирионов, проведен ингибиторный анализ и изучена динамика процесса [5]. Препараты ДИ-частиц из штамма К-105 в разведении 1:640 вносились в культуру клеток КМС через сутки после внесения ингибиторов трансляции актиномицина D и гликозилирования туникамицина. Результаты, полученные на третьи-шестые сутки, свидетельствуют, что для развития ГА-γ-ИВ необходимы процессы трансляции вирусспецифических белков и их модификации, включая гликозилирование (рисунок 5).

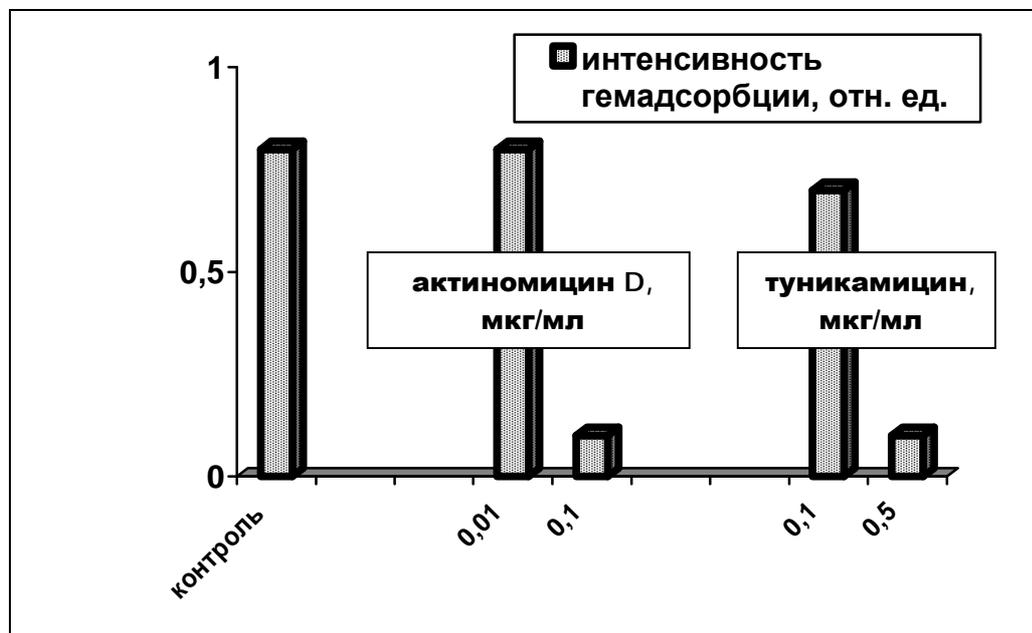


Рисунок 5. Влияние ингибиторов молекулярного синтеза на индукцию гемадсорбции гамма-инактивированного вируса АЧС, шт. К-149 в культуре КМС.

Очевидно, что развитие *ГА-γ-ИБ*, наблюдаемое после внесения препаратов ДИ-частиц вируса АЧС в культуру клеток КМС, обусловлено ограниченным функционированием фрагментов вирусного генома.

Изучение динамики развития *ГА-γ-ИБ* показало, что в течение первых суток она обнаруживается в разведениях 1:1280-1:2560, а на вторые-третьи сутки - до 1:10240 с возрастающей интенсивностью. На пятые-шестые сутки интенсивность гемадсорбции существенно снижалась. Дополнительно методом иммунофлюоресценции была изучена динамика синтеза вирусспецифических антигенов в обработанных препаратами ДИ-частиц клетках КМС, которые каждые сутки фиксировали в спирте-эфире (1:1) и инкубировали с мечеными ФИТЦ глобулинами из антисывороток к вирусу АЧС. Уже через сутки наблюдали диффузную слабую флюоресценцию цитоплазмы, через двое суток формировались округлые, ярко светящиеся скопления антигенов, которые на третьи сутки образовывали крупные гомогенные агрегаты.

В А-клетках КМС через трое суток после обработки ДИ-частицами обнаружили вирусспецифические антигены с титром в иммуноэлектроосмофорезе от цельного до 1:2. В этих же клетках методом иммуноблотинга с использованием антисыворотки к вирусу АЧС выявлено наличие 16 вирусспецифических полипептидов с м.м. от 14 до 78 кДа. Отсутствие высокомолекулярных полипептидов указывает на сохранение после гамма-облучения функционально активными лишь низкомолекулярных фрагментов вирусного генома.

Кроме гемадсорбирующих в нормальных условиях штаммов вируса АЧС «Киравира-67», ФК-135, «Катанга», К-105 для получения препаратов ДИ-частиц использованы и негемадсорбирующие штаммы и варианты К-149, К-170, К-190, ФНГ. Сравнительное титрование интенсивности *ГА-γ-ИБ* позволило установить парадоксальный факт - полученные из негемадсорбирующих штаммов и вариантов препараты ДИ-частиц превосходили по своей способности индуцировать *ГА-γ-ИБ*, аналогично полученные из гемадсорбирующих.

Обнаружение антигенов вируса АЧС в клетках КМС с помощью МФА побудило изучить возможность постановки реакции задержки *ГА-γ-ИБ* в различных вариантах. В опытах использовали препараты ДИ-частиц из вируса АЧС штаммов Л-57,

«Катанга», К-110, К-149, ФК-135 и антисыворотки, задерживающие гемадсорбцию вируса, 1, 2 и 4 серотипов, с титрами в РЗГА 1:160-1:640 [1]. Реакцию ставили в двух модификациях:

§ цельную антисыворотку вносили в культуру КМС и через два часа инкубации при 37°C добавляли ДИ-частицы в двукратных разведениях. Учет реакции проводили через двое суток;

§ культуру КМС обрабатывали ДИ-частицами в двукратных разведениях, в течение трех суток наблюдали за развитием гемадсорбции, отбирали положительные культуры с наибольшим разведением ДИ-частиц и вносили в нее цельную антисыворотку. Учет реакции проводили через 30-60 минут.

Опыты показали, что гомологичные по серотипу антисыворотки снижали интенсивность, а в ряде случаев полностью задерживали (первый вариант) или отменяли (второй вариант) *ГА-γ-ИВ*. Гетерологичные по серотипу антисыворотки таким свойством не обладали.

Таким образом, достоверное установление физико-химического полиморфизма популяций вируса АЧС, свойств и природы ВИФ как субпопуляции дефектных интерферирующих частиц, играющих важную роль в вирулентности и гемадсорбирующей способности штаммов, важно в контексте определения механизмов патогенности при данной инфекции. Принципиально важным является обнаружение способности вызывать гемадсорбцию у «негемадсорбирующих» изолятов и вариантов вируса АЧС при их инокуляции в культуру в виде гамма-инактивированного вируса. Механизм этого явления окончательно неясен, хотя, как установлено для ДИ-частиц, доза облучения в 2.5 Мрад сохраняет в функциональном состоянии фрагменты вирусной ДНК. Образование в этом случае вирусспецифических полипептидов в клетках, чувствительность феномена к ингибиторам гликозилирования, серологическая специфичность свидетельствуют, что данный гемадсорбирующий антиген является сходным с таковым у гемадсорбирующих вариантов. При этом заслуживает внимания сравнительно более высокая активность проявления гемадсорбции у гамма-инактивированных препаратов негемадсорбирующих вариантов с тенденцией к увеличению по мере пассирования в культуре клеток, снижения вирулентности и утраты гемадсорбирующей способности на примере пассажных культуральных вариантов штамма «Катанга» (от К-105 до К-190).

Литература.

1. Вишняков И.Ф., Митин Н.И., Курносов А.Н. и др. Диагностика вируса африканской чумы свиней. I. Реакция гемадсорбции и задержки гемадсорбции при АЧС// Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. Покров, 1992, Ч. 1.
2. Канторович-Прокудина Е.Н., Семенова Н.П. Дефектные интерферирующие вирусные частицы //Успехи современной биологии, 1982, т. 93, № 3.
3. Blumberg M., Kolakofsky D. An analytical review of defective infections of vesicular stomatitis virus // J. Gen. Virol., 1983, v. 64, № 9.
4. Huang A.S., Wu Ti-yun, Yilma T. et al. Characterization of virulent isolates of vesicular stomatitis virus in relation to interference by defective particles // Microbiol. Pathol., 1986, v. 1, № 2.
5. Kaluza G., Scholtissek C., Rott R. Inhibition of the multiplication of enveloped RNA-viruses by glucosamine and 2-deoxy-D-glucose // J. Gen. Virol., 1972, v. 14, № 1.
6. Migliaccio G., Castagnola P., Leone A. et al. mRNA activity of a Sindbis virus defective-interfering RNA // J. Virol., 1985, v. 55, № 3.
7. Schroder C.H., Furst B., Weise K. et al. A study of interfering herpes simplex virus DNA preparations containing defective genomes of either class I or II and the identification of minimal requirements for interference // J. Gen. Virol., 1984, 65, № 3.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ ВИРУСНЫХ КОМПОНЕНТОВ*

Среди прочих компонентов вирусные гликопротеины (ГП) в практическом аспекте наиболее интересны и важны. В связи с биохимическими особенностями строения и репродукции биомолекулы именно этого класса экспонированы на поверхности всех оболочечных вирусов и мембран зараженных клеток, определяют иммунологические реакции и серотиповую специфичность, ответственны за адсорбцию, слияние вирусных и клеточных мембран и т.п. (прототипом в этом смысле служат гемагглютинины орто- и парамиксовирусов) [1, 6]. При исследовании роли ГП в биологии вирусов возможны два принципиальных подхода - препаративное получение или ингибиторный анализ. Если первый позволяет в основном изучать структурные характеристики биомолекул в их связи с определенными свойствами, второй в наиболее полной степени дает представление о функциональной роли ГП и деталях процесса гликозилирования [9].

Целью настоящей работы является исследование роли гликозилирования в процессе вирусной репродукции на модели вируса африканской чумы свиней (АЧС) с помощью наиболее употребляемых метаболических ингибиторов различного механизма действия [туникамицин, 2-дезокси-*D*-глюкоза (2-ДДГ), моненсин] и веществ, так или иначе влияющих на специфические реакции с участием ГП (гликозидазы, конкурирующие моносахара).

* опубликовано в журнале «Вопросы вирусологии», 1992, 5-6, 267-270
совместно с А.Д.Середой, А.А.Пиря и М.С.Малаховой.

Вирус АЧС структурно организован подобно представителям семейства *Iridoviridae*, имеет липидную суперкапсидную оболочку. Он обладает рядом интересных биологических свойств, которые могут потенциально определяться его ГП: высоковариабелен по вирулентности, индуцирует генетически контролируемую (штаммо- и сероспецифическую) гемадсорбцию, экзоцитируется почкованием через плазматическую мембрану, вирусные антигены в мембранах зараженных клеток служат мишенями для эффекторов протективного иммунитета [3, 8, 12]. В предыдущих работах нами изучено влияние вышеуказанных ингибиторов на чувствительную к нему клеточную систему А-клеток костного мозга свиньи (КМС), определены нецитотоксические концентрации, установлен состав вирусиндуцированных ГП [2, 5].

Материалы и методы.

Исходные данные о вирусе АЧС приведены в таблице 1. Штаммы и варианты отобраны и сгруппированы по общности происхождения и контрастности основных биологических свойств, группы составляют природные изоляты с их лабораторными модифицированными производными. Для репродукции и титрования вируса использована прилипающая фракция клеток КМС после их трехсуточной адгезии (А-клетки КМС), накопление вируса определяли через 3-4 суток после заражения по гемадсорбирующей или цитолитической способности и выражали в ГАЕ₅₀/мл или ТЦД₅₀/мл [7]. Общие принципы ингибиторного анализа гликозилирования вирусных компонентов основаны на публикации [9] с применением ингибиторов туникамицина, 2-ДДГ, моненсина, экзогликозидаз нейраминидазы, β -галактозидазы, β -гликозидазы, α -маннозидазы, моносахаров для специфической конкуренции *L*-фукозы, *D*-галактозы, α -метилманнопиранозиды, *N*-ацетилглюкозамина (все препараты фирмы «Sigma», США).

Электронномикроскопическое изучение культуры КМС проводили по описанной ранее стандартной методике [2]. В опытах по оценке экзоцитоза применяли метод количественной электронной микроскопии с подсчетом вирионов на 50 произвольно выбранных серийных срезах каждой пробы. Активность цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) иммунизированных против АЧС подсвинков оценивали в системе

аутогенных А-клеток культуры лейкоцитов крови, зараженных в качестве мишеней гомологичным по группе вирусом, по специфическому цитолизу - выходу ^{14}C -ацетата натрия (ВО «Изотоп») [4]. Полученные результаты статистически обрабатывали по методу Стьюдента с оценкой достоверности различий.

Результаты и обсуждение.

Как видно из данных рисунка 1, репродукция вируса АЧС чувствительна к ингибиторам гликозилирования в нецитотидных концентрациях. Накопление природных изолятов Ф-32, Л-57, МОЗ снижалось под их влиянием в 29-630 раз. Сопоставление чувствительности вируса АЧС к ингибиторам гликозилирования с основными биологическими свойствами дано в таблице 1, где показана обнаруженная корреляция ряда этих параметров. В частности, моненсин подавлял репродукцию всех использованных штаммов и вариантов вируса. Однако к туникамицину и 2-ДДГ сравнительную устойчивость проявляли авирулентные, индуцирующие рыхлую гемадсорбцию или негемадсорбирующие лабораторные модифицированные варианты I и II групп - ФК, ФНГ, ЛК, ЛЦ (разность титров порядка 0.10-0.91 lg ГАЕ₅₀/мл или ТЦД₅₀/мл, выделено в таблице 1).

Электронно-микроскопическое изучение морфогенеза и морфологии частиц вируса АЧС в А-клетках КМС, интактных или обработанных ингибиторами в избранных концентрациях, не выявило их заметного влияния; сроки появления вирусных матриксов, их структура, начало и особенности почкования были аналогичны таковым в контроле. Однако в присутствии ингибиторов отмечена выраженная ассоциация почкующихся вирионов не только с плазмалеммой, но и в преобладающей степени с мембранами вакуолей аппарата Гольджи. Данные о количественных особенностях процесса представлены в таблице 2 и на рисунке 2. Моненсин, ингибирующий инфекционность штамма ФК вируса АЧС, в значительной степени подавлял экзоцитоз вирионов (более чем в 6 раз). Аналогичным, хотя и менее выраженным эффектом обладают туникамицин и 2-ДДГ, к которым репродукция варианта ФК сравнительно устойчива.

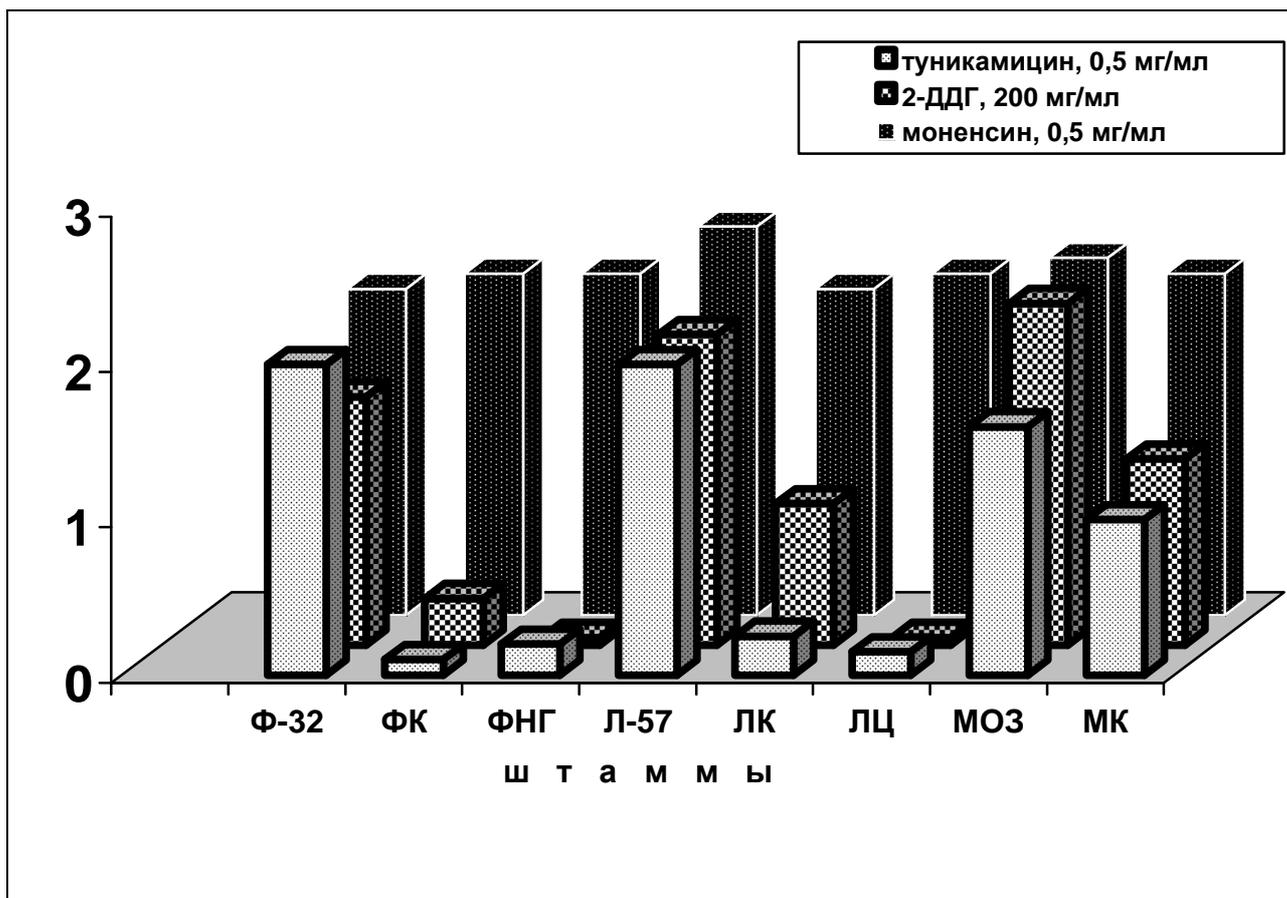


Рисунок 1. Влияние различных ингибиторов гликозилирования на накопление штаммов и вариантов вируса АЧС в культуре А-клеток КМС по разнице в титре ($\Delta \lg$ ГАЕ₅₀/мл или ТЦД₅₀/мл). $M = 10^{-5}$ ГАЕ₅₀/клетка или ТЦД₅₀/клетка, $p > 0.05$. Цифры по вертикали – \lg ГАЕ₅₀/мл или ТЦД₅₀/мл.

Для определения роли углеводных компонентов в гемадсорбции, индуцированной вирусом АЧС, инфицированную культуру А-клеток КМС предварительно обрабатывали растворами различных экзогликозидаз или добавляли растворы моносахаров в поддерживающей среде, после чего проводили реакцию гемадсорбции по [7]. Данные таблицы 3 свидетельствуют, что предобработка α -маннозидазой или присутствие α -метилманнопиранозида подавляют развитие гемадсорбции в течение 3 часов наблюдения (выделено в таблице).

Таблица 1.
Сравнительная характеристика штаммов и вариантов вируса АЧС.

| Исходные данные | | | | | Чувствительность к ингибиторам гликозилирования | | |
|-----------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------------|---|-------|---------|
| Группа | Наименование | Происхождение* | Вирулентность** | Гемадсорбирующая способность*** | Туникамцин | 2-ДДГ | Монесин |
| I | Ф-32 | ПР-ЕВР-64 | У | ПТ | + | + | + |
| | ФК | ЛАБ | А | РА | - | - | + |
| | ФНГ | ЛАБ | У | НГ | - | - | + |
| II | Л-57 | ПР-ЕВР-57 | В | ПТ | + | + | + |
| | ЛК-57 | ЛАБ | А | РА | - | - | + |
| | ЛЦ | ЛАБ | У | НГ | - | - | + |
| III | МОЗ | ПР-АФР-64 | В | ПТ | + | + | + |
| | МК | ЛАБ | А | ПТ | + | + | + |

* ПР-ЕВР-64 и ПР-ЕВР-57 - природные изоляты, выделенные в Европе соответственно в 1964 и 1957 гг., ПР-АФР-64 - природный изолят, выделенный в Африке в 1964 г., ЛАБ - лабораторный модифицированный вариант.

** У - умеренно вирулентный, А - авирулентный.

*** ПТ - индукция плотной типичной гемадсорбции, РА - преобладание субпопуляций, индуцирующих рыхлую атипичную гемадсорбцию [3], НГ - негемадсорбирующие варианты.

Результаты сравнительного изучения роли гликозилирования в реакции индуцированных вирусом АЧС мембранных антигенов зараженных клеток с эффекторами противоклеточного иммунитета, т.е. в иммунологическом узнавании, приведены на рисунке 3. Оказалось, что ингибция гликозилирования в обработанных туникамицином клетках-мишенях не сопровождается снижением уровня их специфического лизиса и даже в определенной мере увеличивает его (в целом в 2.5 раза).

Таблица 2.
Экзоцитоз вируса АЧС в присутствии ингибиторов гликозилирования с различным механизмом действия*.

| Ингибиторы | | | Количественная характеристика экзоцитоза | | | |
|----------------|---|------------------------|--|----------------------------------|----------------|-------------|
| | | | ΔIg ГАЕ ₅₀ /мл** | Число вирионов, связанных: | | Соотношение |
| Наименование | Механизм действия | Концентрация, мкг / мл | | с мембранами аппарата Гольджи*** | с плазмалеммой | |
| Туникамицин | Блок белок-углеводной связи | 0.5 | 0.2±0.2 | 184/50 | 181/50 | 1:1 |
| 2-ДДГ | Синтез нефункциональной углеводной цепи | 200 | 0.46±0.2 | 33/45 | 40/55 | 0.82:1 |
| Моненсин | Блок транспорта ГП | 0.5 | 2.21±0.5 | 273/78 | 75/22 | 3.6:1 |
| Без ингибитора | | | | 43/13 | 281/87 | 0.15:1 |

* А-клетки КМС, штамм ФК, М = 0.1 ГАЕ₅₀/клетка.

** подавление урожая вируса в присутствии ингибиторов (разность титров).

*** в числителе - число вирионов, в знаменателе - % от общего числа.

Таким образом, с помощью ингибиторного анализа показано, что ГП действительно определяют три из четырех основных функциональных параметров биологии вируса АЧС, указанных в начале статьи: вирулентность и вариабельность по этому признаку, внутриклеточный транспорт и экзоцитоз, а также гемадсорбцию, но не иммунологическое узнавание. Установленный факт чувствительности репродукции вируса АЧС к трем ингибиторам гликозилирования с различным механизмом действия прямо указывает на важную роль посттрансляционной модификации этого типа и образования ГП в его инфекционности. Подобный вывод подтверждается данными литературы [11].

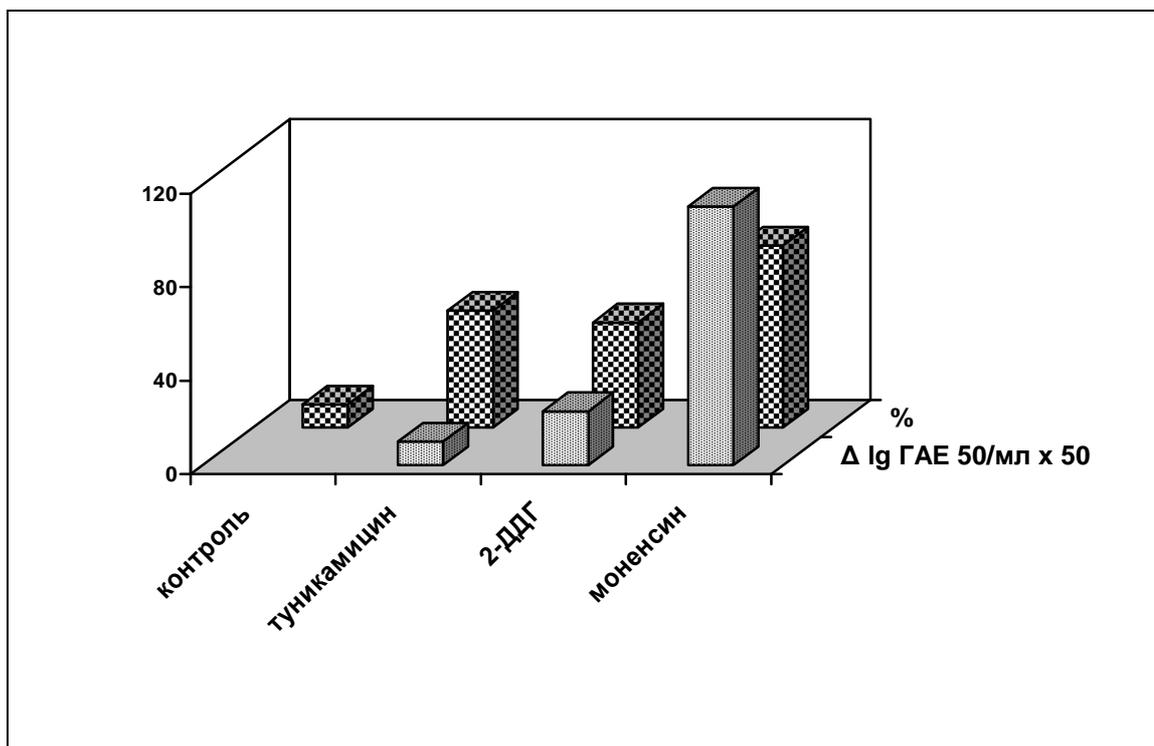


Рисунок 2. Относительное количество вирионов, связанных с мембранами аппарата Гольджи (%), и подавление урожая вируса АЧС ($\Delta \lg \text{ГАЕ}_{50}/\text{мл} \times 50$) в присутствии туникамицина, 2-ДДГ и моненсина. Данные комасштабированы.

С помощью ингибиторного анализа «промаркированы» детали стадийного развития вируса и такие относящиеся к гликозилированию биосинтетические и физиологические процессы, как присоединение углеводов к вирусным полипептидам с образованием *N*-гликозидной связи (туникамицин), транспорт вирусных ГП между цис- и трансотделами аппарата Гольджи (моненсин), транспорт вирусных ГП и формирующихся вирионов в процессе созревания и экзоцитоза (все использованные ингибиторы). Сравнительная устойчивость к ингибиторам гликозилирования, а точнее меньшая зависимость от стадий, определяемых гликозилированием, у вирусных вариантов, дефектных в отношении гемадсорбции, подтверждает факт генетического контроля экспрессии мембранного (гемадсорбирующего) антигена вируса АЧС [3] и дает представление о его механизмах. В близкой по смыслу работе с вирусом ядерного полиэдроза была показана аналогичная связь чувствительности к туникамицину со штаммоспецифическими особенностями внутриклеточного морфогенеза, транспорта и экзоцитоза вирионов [10].

Таблица 3.
Влияние различных экзогликозидаз и моносахаров на гемадсорбцию, индуцируемую вирусом АЧС*.

| Экзогликолидазы**, моносахара*** | Концентрация | Наличие гемадсорбции через: | | |
|-------------------------------------|--------------|-----------------------------|--------|--------|
| | | 1 час | 2 часа | 3 часа |
| Нейраминидаза | 10.0 ед/мл | + | + | + |
| β -галактозидаза | 150.0 ед/мл | - | + | + |
| β -гликозидаза | 50.0 ед/мл | + | + | + |
| α -маннозидаза | 8.5 ед/мл | + | - | - |
| <i>D</i> -глюкоза | 1.25 % | + | + | + |
| | 2.50 % | + | + | + |
| | 5.00 % | + | + | + |
| <i>L</i> -фукоза | 1.25 % | + | + | + |
| | 2.50 % | + | + | + |
| | 5.00 % | + | + | + |
| <i>D</i> -галактоза | 1.25 % | + | + | + |
| | 2.50 % | - | + | + |
| | 5.00 % | - | + | + |
| α -метилманно- пиранозид | 1.25 % | - | + | + |
| | 2.50 % | - | + | + |
| | 5.00 % | - | - | - |
| <i>N</i> -ацетил- глюкозамин | 1.25 % | + | + | + |
| | 2.50 % | + | + | + |
| | 5.00 % | + | + | + |

* А-клетки КМС, штамм Ф-32, М=1 ГАЕ₅₀/ клетка, 18 часов после инфицирования.

** предобработка зараженной культуры в течение 1 часа, удаление, промывка, реакция гемадсорбции.

*** реакция гемадсорбции в присутствии конкурирующих моносахаров.

Тот факт, что ингибция гликозилирования сопровождается выраженной ассоциацией части вируса АЧС с мембранами аппарата Гольджи и их склонностью к почкованию через внутриклеточные мембраны, свидетельствует о нарушении транспорта и экзоцитоза вирионов при обычном морфогенезе, а также о зависимости их от вирусных ГП, и служит иллюстрацией механизма действия избранных ингибиторов. Остается неясным значение этого блока в инфекционности, учитывая разную чувствительность репродукции варианта ФК к моненсину или туникамицину и 2-ДДГ.



Рисунок 3. Индивидуальные показатели активности ЦТЛ пяти иммунных к АЧС подсвинков (номера по горизонтали) в культуре интактной и инфицированной в зависимости от присутствия туникамицина в концентрации 0.5 мкг/мл. Подсвинки иммунизированы вариантом ФК в дозе 10^8 ГАЕ₅₀, ЦТЛ получены через 6 суток после иммунизации, клетки-мишени заражены вирусом АЧС, штамм Ф-32 с М = 1 ГАЕ₅₀/клетка, использованы через 18 часов после заражения, соотношение ЦТЛ : мишень 20:1-100:1. Цифры по вертикали слева - % специфического лизиса клеток-мишеней.

При изучении вирусиндуцированной гемадсорбции оказались полезными приемы из биоаффинной хроматографии углеводов - разрушение лиганда (экзогликозидазы) и конкуренция с образованием связи *рецептор + лиганд* (моносахара). Полученные данные указывают на очевидную роль в реакции *эритроцитарный рецептор + мембранный антиген вируса АЧС* углеводных компонентов последнего, его гликопротеиновую природу по аналогии со всеми подобными феноменами в вирусологии (включая гемагглютинацию как прототип). Судя по специфичности подавления реакции гемадсорбции (выделено в таблице 3), мембранный ГП вируса АЧС может быть отнесен к высокоманнозному типу [1].

Отсутствие значения гликозилирования вирусных компонентов в иммунологическом узнавании, т.е. сохранение активности специфических ЦТЛ в отношении зараженных вирусом АЧС клеток в присутствии туникамицина, указывает на экспрессию в мембранах зараженных клеток иммунологически реактивных негликозилированных антигенов.

Литература.

1. Деревицкая В.А. // Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 5, С.581-615.
2. Ефимова А.А., Малахова М.С., Серeda А.Д. и др. // Докл. Всесоюзн. акад. с.-х. наук, 1989, № 7, С.38-40.
3. Макаров В.В., Вишняков И.Ф., Власов Н.А. и др. // Вопр. вирусол., 1991, № 4, С. 48-51.
4. Методические рекомендации по изучению клеточного иммунитета у свиней при вирусных инфекциях. Покров, 1988.
5. Серeda А.Д., Макаров В.В. // Ветеринария, 1992, № 1, С. 22-25.
6. Хьюз Р. Гликопротеины. М., 1985.
7. Malmquist W., Hay D. // Bull. Off. Int. Epiz., 1961, v. 55, № 1-2, P. 176-184.
8. Mebus Ch. // Advanc. Virus Res., 1988, v. 35, P. 251-269.
9. Schwarz R., Datema R. // Advanc. Carbohydr. Chem. Biochem., 1982, v. 40, P. 287-389.
10. Stiles B., Wood H., Hughes P. // J. Invertebr. Path., 1983, v. 41, № 3, P. 405-408.
11. Val M., del, Vinuela E. // Virus Res., 1987, v. 7, P. 299-308.
12. Wardley R., Norley S., Martin C. et al. // Progr. Med. Virol., 1987, v. 34, P. 180-192.

ГЛИКОПРОТЕИНЫ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

Возбудитель африканской чумы свиней (АЧС) - ДНК-содержащий арбовирус, поражает только представителей семейства *Suidae*. Изоляты вируса, выделенные в различных регионах мира или в течение хронологически разнящихся эпизоотий, значительно различаются по вирулентности, способности индуцировать гемадсорбцию при размножении в культурах клеток костного мозга свиней (КМС) или лейкоцитов свиней (ЛС). Антигенная вариабельность изолятов вируса АЧС продемонстрирована в иммунологических пробах на чувствительных животных, в реакциях задержки гемадсорбции (РЗГА), комплементзависимого цитолиза, по взаимодействию с набором моноклональных антител. Выжившие после переболевания животные становятся устойчивыми к заражению гомологичным изолятом, но не защищены от гибели после инфицирования гетерологичными изолятами [8, 9, 11, 12, 17, 18].

Иммунологические исследования показали, что при АЧС решающую роль в защите от гибели играют эффекторные механизмы, направленные на элиминацию зараженных клеток, такие, как лизис цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ) и антителозависимая цитотоксичность [6, 13]. Неспособность антител от переболевших животных к нейтрализации вируса АЧС в тривиальной постановке реакции затрудняет обнаружение его протективных белков. Общеизвестно, что среди вирусных антигенов в практическом аспекте наибольший интерес представляют мембранные белки зараженных клеток и в первую очередь гликопротеины.

*Опубликовано в журнале «Вопросы вирусологии», 1994, 6, 278-281 совместно с А.Д. Середой, и Е.Г.Анохиной.

Изучение гликопротеинов вируса АЧС началось с анализа состава оболочечных белков вирионов, когда по результатам радиомаркирования ³H-глюкозамином были обнаружены три гликозилированных полипептида с м.м. 51, 56, 89 кД [14]. Затем Val и соавт. [15] установили в составе оболочек вирионов гликозилированные компоненты с м.м. 9, 95, 230 кД, причем два последних обуславливали агглютинацию очищенных вирионов лектинами. В инфицированных вирусом АЧС клетках *Vero* идентифицировано 19 гликозилированных компонентов, из которых по меньшей мере 5 - вирусиндуцированные гликополипептиды с м.м. 13, 33, 34, 38, 220 кД [16].

В настоящей работе обобщены результаты изучения гликопротеинов вируса АЧС, их антигенности, значения гликозилирования в вирусной репродукции, проведенных в лаборатории биохимии ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии в 1989-1992 гг.

Материалы и методы.

Вирус. Характеристика изолятов и вариантов вируса АЧС, использованных в работе, приведена в таблице 1. Для репродукции и титрования вируса использовали прилипающую фракцию клеток (А-клеток) костного мозга свиней (КМС). Титр вируса определяли по гемадсорбирующей или цитолитической активности и выражали в ГАЕ₅₀/мл или ЦПД₅₀/мл [10].

Сыворотки. В иммунологических реакциях использовали 17 серий гипериммунных сывороток свиней с титром в реакции задержки гемадсорбции (РЗГА) 1: 80-1:320 [1].

Получение немаркированных и маркированных ³H-глюкозамином или ¹⁴C-ацетатом натрия лизатов зараженных вирусом АЧС А-клеток, иммуноблоттинг, радиоиммунопреципитацию, электрофоретическое разделение полипептидов, определение активности ЦТЛ осуществляли, как описано ранее [5-7]. Биоаффинные сорбенты готовили с использованием *CNBr*-активированной сефарозы *4B* и лектинов из *Canavalia ensiformis*, *Triticum vulgare*, *Clicine max*, *Ricinus communis*, *Tetragonolobus purpureas* («Sigma», США).

Таблица 1.

Характеристика изолятов и вариантов вируса АЧС, использованных в работе.

| Наименование | Обозначение | Происхождение, дата изоляции | Серотип * | Вирулентность | Тип гемадсорбции |
|-------------------------------|-------------|--|-----------|----------------------|--------------------|
| «Лиссабон-57» | Л-57 | Европейский изолят 1957 г. | 1 | Высоковирулентный | Плотная типичная |
| «Лиссабон культуральный- 111» | ЛК-111 | 111 пассаж вируса Л-57 в культуре клеток КМС | 1 | Авирулентный | Плотная типичная |
| «Лиссабон цитолитический» | ЛЦ | Селекционированный из Л-57 | 1 | Авирулентный | Негемадсорбирующий |
| «Конго-73» | К-73 | Западноафриканский изолят 1973 г. | 2 | Высоковирулентный | Плотная типичная |
| «Пэтит-Энге» | П-Э | Западноафриканский изолят 1978 г. | 2 | Умеренно вирулентный | Негемадсорбирующий |
| «Мозамбик» | МОЗ | Восточноафриканский изолят | 3 | Высоковирулентный | Плотная типичная |
| «Мозамбик культуральный» | МК | 200 пассаж вируса МОЗ в культуре клеток КМС | 3 | Авирулентный | Плотная типичная |
| «Франция-32» | Ф-32 | Европейский изолят 1964 г. | 4 | Умеренно вирулентный | Плотная типичная |
| «Франция культуральный» | ФК | 135 пассаж вируса Ф-32 в культуре клеток КМС | 4 | Авирулентный | Рыхлая атипичная |
| «Франция-негемадсорбирующий» | ФНГ | Селекционированный из Ф-32 | 4 | Умеренно вирулентный | Негемадсорбирующий |

* по данным И.Ф.Вишнякова и соавт. [1].

Результаты и обсуждение.

Полипептидный состав гликопротеинов вируса АЧС в лизатах зараженных А-клеток КМС определяли методом биоаффинной хроматографии на сорбентах, где в качестве лигандов использовали лектины различной специфичности, с последующей идентификацией вирусспецифических полипептидов иммуноблоттингом, а также радиоиммунопреципитацией ^3H -глюкозаминмеченных белков. В итоге были идентифицированы гликополипептиды с м.м. 14, 16, 19, 23, 25, 32, 34, 40-42, 54, 60, 69, 76, 110-140, 220 кД.

Установлено, что в состав олигосахаридов гликопротеинов вируса входят манноза, *N*-ацетил-*D*-глюкозамин, *N*-ацетил-*D*-галактозамин, β -*D*-галактоза, α -*L*-фукоза. Было отмечено, что мажорный неструктурный гликополипептид с м.м. 110-140 кД (ГП 110-140) выявляется только методом радиоиммунопреципитации и лишь на треках гликополипептидов, полученных из А-клеток, инфицированных изолятами и вариантами, индуцирующими при репродукции плотную типичную гемадсорбцию (Л-57, ЛК-111, К-73, МОЗ, МК, Ф-32). В лизатах А-клеток, инфицированных негемадсорбирующими изолятами и вариантами (ЛЦ, П-Э, ФНГ) или вариантами, индуцирующими рыхлую атипичную гемадсорбцию, ГП 110-140 не выявляли. Типичная картина представлена на рисунке 1 (положение ГП 110-140 выделено кругом); в случаях использования в радиоиммунопреципитации неактивных в РЗГА антисывороток ГП 110-140 также не обнаруживали.

Принимая во внимание, что этот неструктурный гликополипептид выявляется только у гемадсорбирующих изолятов и активные в РЗГА антисыворотки используются при серотипировании изолятов вируса АЧС [1, 17], была изучена изолято(серотипо)специфичность ГП 110-140. В экспериментах использовали серологически различающиеся изоляты Л-57, МОЗ, Ф-32 и соответствующие им антисыворотки (см. таблицу 1). Установлено, что ГП 110-140 обнаруживался только в тех случаях, когда в радиоиммунопреципитации применяли гомологичные антисыворотку и лизат инфицированных А-клеток [5].

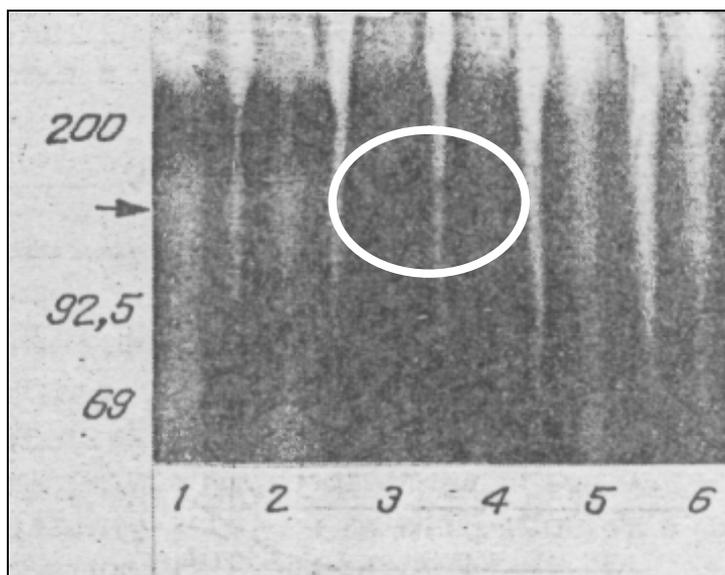


Рисунок 1. Радиоиммунопреципитация ГП 110-140 из лизатов А-клеток КМС, зараженных вирусом АЧС, изолят Ф-32 (треки 1-4) или вариант ФНГ (треки 5, 6) и меченных ^3H -глюкозамином. Используются неактивная (1, 2, 5, 6) и активная (3, 4) в РЗГА антисыворотки к Ф-32. Слева указаны местоположения маркеров молекулярной массы (в кД) и ГП 110-140 (стрелка и круг).

Мы рассматриваем эти данные как свидетельство, что именно указанный гликопротеин обуславливает явление гемадсорбции, впервые описанное Malmguist и Nau [10].

В практическом аспекте обнаружение ГП 110-140 позволило предложить количественный метод определения серологического родства гемадсорбирующих изолятов вируса АЧС. Он основан на сравнении радиоактивности сорбированных на твердой фазе ("зерна" протеин-А-сефарозы *CL-4B*) иммунных комплексов, полученных после взаимодействия частично очищенных ионообменной хроматографией ^3H -глюкозаминмеченных белков лизатов инфицированных А-клеток КМС с антителами активных в РЗГА антисывороток к различным изолятам вируса АЧС [7]. По полученным абсолютным значениям радиоактивности проб определяли процент специфичности связывания по формуле:

$$P = \frac{A - N}{B - N} \times 100,$$

где P - процент специфичности связывания, A - средняя радиоактивность за минуту для пробы в реакциях с

гетерологичными компонентами, *B* - средняя радиоактивность за минуту для пробы в реакциях с гомологичными компонентами, *N* - средняя радиоактивность за минуту для пробы с нормальной сывороткой от интактного подсвинка.

В таблице 2 представлены результаты комиссионного шифрованного опыта по определению антигенного родства прототипных изолятов четырех серотипов.

Таблица 2.
Антигенное родство изолятов вируса АЧС (%)*.

| Антигены (серотип / изолят) | Антисыворотки (серотип / изолят) | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | I / Л-57 | II / К-73 | III / МОЗ | IV / Ф-32 |
| I / Л-57 | 100 | 34.1 ±9.3 | 20.2±8.7 | 35.4±6.0 |
| II / К-73 | 45.2±16.1 | 100 | 32.3±2.3 | 30.3±4.2 |
| III / МОЗ | 22.3±7.4 | 31.1±3.2 | 100 | 27.3±2.4 |
| IV / Ф-32 | 26.1±2.3 | 27.3±7.2 | 27.3±5.0 | 100 |

* приведены средние данные процента специфичности связывания по результатам 3-5 измерений.

Радиоактивность пробы с нормальной сывороткой обычно не превышала 3-5% от радиоактивности гомологичных проб. В большинстве проб с гетерологичными данному вирусу антисыворотками процент связывания был в пределах 20.2-35.4. Каких-либо особенностей в этом плане между европейскими (Л-57, Ф-32) и африканскими (К-73, МОЗ) изолятами не выявлено. В отличие от качественной серотипизации в РЗГА (по принципу "да/нет") [1] предложенный метод является количественным и открывает возможности определения антигенного родства изолятов вируса АЧС из различных регионов мира, а также выявления особенностей хронологической смены антигенов в процессе естественной эволюции вируса.

Далее было изучено влияние различных концентраций туникамицина на репродукцию различающихся по биологическим свойствам изолятов и вариантов вируса АЧС. Как и у подавляющего большинства оболочечных вирусов, репродукция вируса АЧС подавлялась туникамицином в нецитотидных

концентрациях [2]. Благодаря использованию широкого спектра изолятов и вариантов удалось установить различия между группами, сформированными по гемадсорбирующим свойствам безотносительно к серотиповой принадлежности. Ингибирование накопления в культуре клеток КМС вирулентных, умеренно вирулентных, авирулентных изолятов и вариантов вируса АЧС (Л-57, ЛК-111, К-73, МОЗ, МК, Ф-32), индуцирующих при репродукции плотную типичную гемадсорбцию, в присутствии 1 мкг/мл туникамицина было более выраженным, чем у умеренно вирулентных и авирулентных негемадсорбирующих изолятов и вариантов (ЛЦ, П-Э, ФНГ) и авирулентного, индуцирующего атипичную гемадсорбцию варианта ФК. Обобщенная картина феномена представлена на рисунке 2.

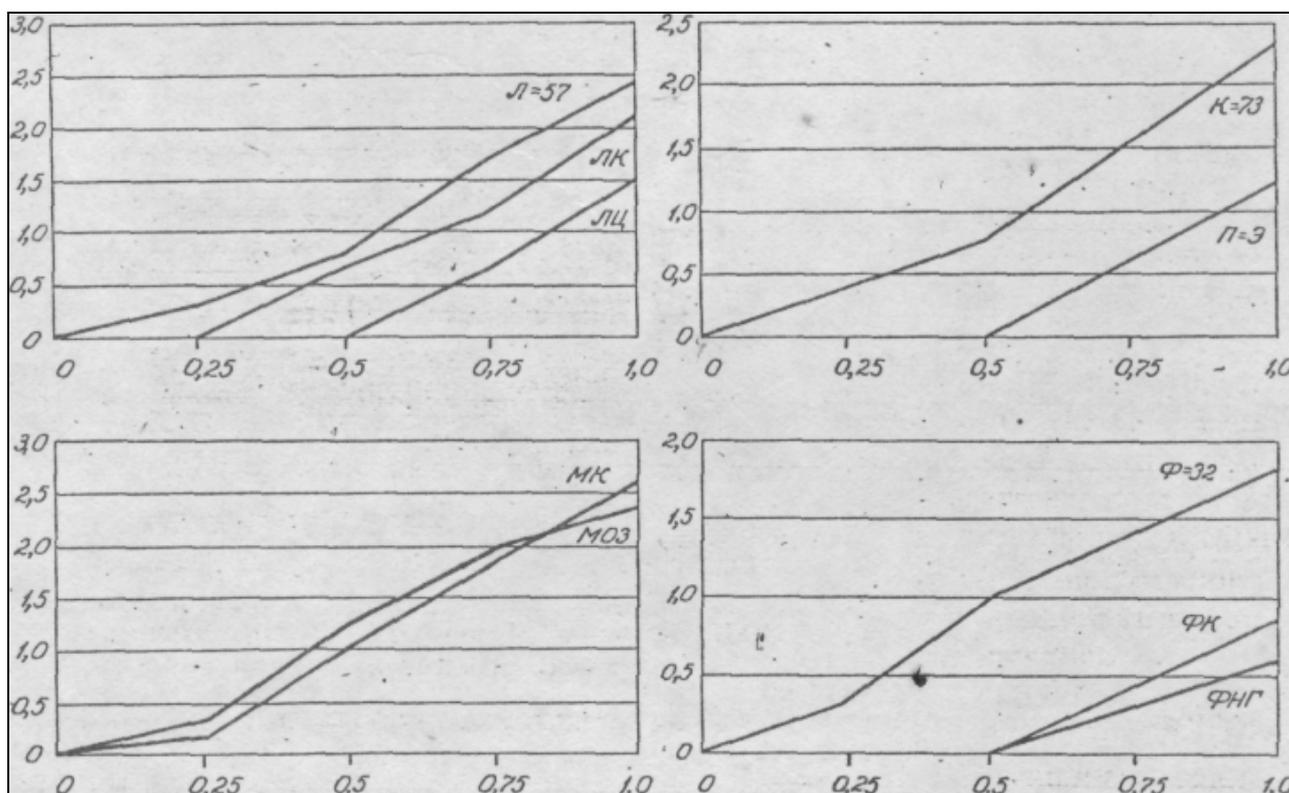


Рисунок 2. Влияние ингибитора гликозилирования туникамицина на репродукцию различающихся по основным свойствам изолятов и вариантов вируса АЧС (см. таблицу 1). По оси ординат - разность титров в отсутствии и присутствии туникамицина ($\Delta \lg \text{TCID}_{50}/\text{мл}$), по оси абсцисс - концентрация туникамицина (мкг/мл).

Ранее при электронно-микроскопическом изучении морфогенеза вируса АЧС в обработанных туникамицином А-клетках была отмечена выраженная ассоциация почкующихся вирионов не только с плазмалеммой, но и в преобладающей степени с мембранами аппарата Гольджи, что приводит к подавлению экзоцитоза вирионов [4]. Поэтому наиболее вероятным объяснением причины высокой чувствительности к туникамицину гемадсорбирующих изолятов и вариантов вируса АЧС является, по-видимому, нарушение транспорта к плазматической мембране одного или нескольких гликопротеинов из-за наличия значительного количества важных для процессинга потенциальных сайтов гликозилирования, чего нет у вариантов с атипичной рыхлой гемадсорбцией или без таковой.

С помощью ингибиторов гликозилирования удалось оценить долю углеводных цепей в молекуле ГП 110-140. В присутствии свайнсонина молекулярная масса изолятоспецифического гликополипептида, маркированного ³H-глюкозамином, снижалась до 95 кД, в присутствии моненсина - до 70 кД. Наличие столь значительного "углеводного облака" у изолятоспецифического гликопротеина, оцениваемого по меньшей мере в 50% массы молекулы, не может не оказывать влияния на его биологические свойства. Установлено, что средние значения молекулярной массы ГП 110-140 у изолятов Ф-32, Л-57, К-73, МОЗ составляют соответственно 115-120, 126, 130-135, 135 кД, и в той же последовательности повышаются вирулентность и количество адсорбируемых эритроцитов на зараженных этими изолятами клетках КМС [3]. Ранее было показано, что гемадсорбция при АЧС обусловлена взаимодействием олигосахаридных цепей гликопротеинов вируса с рецепторами эритроцитов [5]. Поэтому различия в молекулярных массах ГП 110-140 у изолятов вируса, вероятно, связаны с количеством углеводных цепей на молекуле. При увеличении количества олигосахаридов в составе ГП 110-140, оцениваемого по возрастанию среднего значения его молекулярной массы у перечисленных выше изолятов, возрастает вероятность "маскирования" критически важных эпитопов.

Это предположение подтверждается экспериментальными данными, согласно которым, во-первых, в присутствии туникамицина увеличивается процент цитолиза зараженных вирусом АЧС А-клеток аутологичными цитотоксическими Т-

лимфоцитами иммунных свиней. Во-вторых, повышение степени гликозилирования снижало возможность распознавания зараженных макрофагов вирусспецифическими Т-хелперами [6].

Таким образом, установлено, что в зараженных вирусом АЧС клетках КМС индуцируется 13-14 гликополипептидов с м.м. от 14 до 220 кД. В состав олигосахаридов большинства из них входят манноза, глюкозамин, галактоза. В зараженных гемадсорбирующими изолятами и вариантами А-клетках КМС впервые обнаружен изолятоспецифический мажорный неструктурный гликополипептид с м.м. 110-140 кД, олигосахариды составляют около половины его массы. Разработан метод количественного определения серологического родства гемадсорбирующих изолятов и вариантов вируса АЧС.

Литература.

1. Вишняков И.Ф., Митин И.И., Курносков А.Н. и др. // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии, Покров, 1992, Ч. 1, С. 57-62.
2. Ефимова А.А., Малахова М.С., Середа А.Д. и др. // Докл. Всесоюзн. акад. с.-х. наук., 1989, № 7, С. 38-40.
3. Макаров В.В., Вишняков И.Ф., Власов Н.А. и др. // Вопр. вирусол., 1991, № 4, С. 321-324.
4. Макаров В.В., Середа А.Д., Пиря А.А. и др. // Вопр. вирусол., 1993, № 5-6, С. 267-270.
5. Середа А.Д., Макаров В.В. // Ветеринария, 1992, № 1, С. 22-24.
6. Середа А.Д., Соловкин С.Л., Фугина Л.Г. и др. // Вопр. вирусол., 1992, №3, С. 168-170.
7. Середа А.Д., Анохина Е.Г., Фугина Л.Г. и др. // Ветеринария, 1993, № 1, С. 26-28.
8. Coggins L. // Progr. Med. Virol., 1974, 18, 48-63.
9. Garcia-Barrena B., Sanz A., Nogal L. et al. // J. Virol., 1986., v. 58, № 2, P. 385-392.
10. Malmquist W.A., Hay D. // Amer. J. Vet. Res., 1960, v. 21, P. 104-108.

11. Mebus C.A. // *Advanc. Virus Res.*, 1988, v. 35, P. 251 -269.
12. Norley S.G., Wardley R.C. // *Immunology*, 1982, v. 46, P. 75-82.
13. Norley S.G., Wardley R.C. // *Res. Vet. Sci.*, 1984, v. 37, P. 255-257.
14. Tabares E., Martines J., Martin E. et al. // *Arch. Virol.*, 1983, v. 77, № 2-4, P. 167-180.
15. Val M., del, Carrascosa J., Vinuela E. // *Virology*, 1986, v. 152, № 1, P. 39-49.
16. Val M., del, Vinuela E. // *Virus res.*, 1987, № 7, P. 297-308.
17. Vigario J.D., Terrinha A.M., Bastos A.L. et al., // *Arch. Ges. Virusforsch.*, 1970, Bd. 31, S. 387-389.
18. Vigario J.D., Terrinha A.M., Moura Nunes J.F. // *Ibid.*, 1974, Bd. 45, S. 272-277.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ГЛИКОПОЛИПЕПТИДА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

В составе оболочек очищенных вирионов вируса африканской чумы свиней (АЧС) обнаружены три гликозилированных полипептида (ГП) с молекулярной массой 51, 56, 89 кД [10] и три радиомаркированных моносахарами оболочечных компонента с молекулярной массой 9, 95, 230 кД, биохимическая природа которых не выяснена [11]. Пять вирусиндуцированных гликозилированных полипептидов с молекулярной массой 13, 33, 34, 38, 220 кД идентифицированы в инфицированных вирусом АЧС клетках *Vero* [12].

Цель настоящей работы - определить наиболее полный состав гликопротеинов вируса АЧС. Учитывая, что вирусные изоляты имеют множество серотипов, выявляемых фенотипически в реакции задержки гемадсорбции [7, 9], мы считаем попытку идентифицировать гемадсорбирующий антиген в числе прочих вирусных белков важной задачей.

Материалы и методы.

Эксперименты проведены с гемадсорбирующими изолятами вируса АЧС Лиссабон-57 (Л-57), Мозамбик (МОЗ), Ф-32, не имеющими антигенного родства в реакции задержки гемадсорбции (РЗГА), и негемадсорбирующими вариантами ЛЦ и ФНГ (селекционированными соответственно из Л-57 и Ф-32). Свиньи антисыворотки к изолятам Л-57, МОЗ, Ф-32 имели титр в РЗГА 1:80-1:320. Вирус выращивали и титровали в первичной культуре клеток костного мозга свиней (КМС) или во фракции адгезивных (А) клеток КМС. При маркировании белков ^3H -глюкозамином (5-10

* опубликовано в журнале «Ветеринария», 1992, 1, 22-24 совместно с А.Д.Середой.

мкКи/мл, ВО «Изотоп», СССР) использовали дефицитную по глюкозе среду (1/10 от стандартной концентрации). Зараженные клетки снимали метелкой со стекла, осаждали центрифугированием в течение 30 минут при 2000 g и 2-3 раза отмывали в том же режиме. После хранения при -70°C осадок размораживали, ресуспендировали в буфере для лизиса (0.02 М трис-НСI, рН 7,2-7,4, 1% тритон X-100, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид), крупные надмолекулярные структуры отделяли последовательным центрифугированием при 2000 g и 50 000 g по 40 минут.

Гликозилированные полипептиды выделяли из надосадков на биоаффинных сорбентах по рекомендациям фирмы «Pharmacia» [3] с использованием *CNBr*-активированной сефарозы 4В и лектинов из *Canavalia ensiformis*, *Triticum vulgare*, *Glycine max*, *Ricinus communis*, *Tetragonolobus purpureus* («Sigma», США). Для их элюирования применяли 0.2 М растворы моносахаров метил- α -D-маннопиранозида, N-ацетил- β -D-глюкозамина, N-ацетил- α -D-галактозамина, β -D-галактозы, α -L-фукозы, соответственно. Радиоиммунопреципитацию осуществляли по Kessler [4], электрофоретическое разделение полипептидов - по Laemmli [6], электроперенос из полиакриламидного геля на нитроцеллюлозную мембрану — по Kyhse-Andersen [5]. После «забивки» 5% бычьим сывороточным альбумином на отмывочном буфере (0.02 М трис-НСI, рН 7,2-7,4, 0.05 % твин-20, 0.15 М NaCl) нитроцеллюлозные мембраны инкубировали 2 часа при 37°C с соответствующей антисывороткой в разведении 1:30-1:120, промывали и заливали конъюгатом протеина А («Pharmacia») с пероксидазой хрена («Sigma»), приготовленным по методу Nakane et al. [8]. Через 2 часа нитроцеллюлозные мембраны отмывали и инкубировали с раствором субстрата (10 мг *o*-дианизидина, 70 мкг H₂O₂ (30%) на 40 мл 0.05 М трис-НСI, рН 7,4).

Результаты исследований и обсуждение.

Для получения наиболее полной информации о полипептидах, входящих в состав вирусспецифических гликопротеинов, использовали два методических подхода. Первый основан на выделении из лизата инфицированных А-клеток пула гликозилированных белков (вирусного и клеточного происхождения) с помощью биоаффинной хроматографии на

сорбентах (в качестве лигандов применяли лектины) и выявлении из их числа вирусспецифических полипептидов иммуноблоттингом. При выделении пула гликозилированных полипептидов применяли сорбенты, обладающие аффинитетом к различным моносахарам. Наибольшее количество вирусспецифических гликозилированных полипептидов выделяли с использованием конканавалина А (таблица). Вирусная специфичность идентифицированных полипептидов подтверждена отсутствием соответствующих полос в аналогично приготовленном лизате неинфицированных А-клеток, а углеводная - внесением на этапе связывания гликозилированных полипептидов с сорбентом 0.2 М метил- α -D-маннопиранозида (рисунок 1).

Интерпретируя полученные результаты, необходимо учитывать, что выявляемые биоаффинным способом гликозилированные белковые комплексы могут содержать негликозилированные полипептиды, которые на втором этапе при электрофорезе по Laemmli [6] также идентифицируются иммуноблоттингом. Поэтому использовали более корректный подход - маркирование белков инфицированных А-клеток 3H -глюкозамином с последующей иммунопреципитацией их из клеточного лизата, позволяющей выявить только гликозилированные вирусные полипептиды. Применяя лизаты А-клеток, инфицированных разными изолятами и вариантами вируса АЧС, и различные серии антисывороток, идентифицировали 14 гликозилированных полипептидов с молекулярной массой 14, 16, 19, 23, 25, 32, 34, 40-42, 54, 60, 69, 76, 110-140, 220 кД.

Мажорный гликополипептид с молекулярной массой 110-140 кД (ГП 110-140) регистрировали только в лизатах А-клеток, инфицированных гемадсорбирующими изолятами вируса АЧС Л-57, МОЗ и Ф-32 (рисунок 2, отмечен кругом). При использовании лизатов А-клеток, инфицированных негемадсорбирующими вариантами ЛЦ и ФНГ, или антисывороток, неактивных в РЗГА, ГП 110-140 не обнаруживался. В связи с этим сделано предположение, не является ли последний тем самым гемадсорбирующим антигеном, о котором известно с начала 60-х годов по феномену гемадсорбции [7]?

Таблица.
Полипептиды гликопротеинов вируса АЧС,
выделенных из лизатов зараженных А-клеток КМС
на лектинах с разной углеводной специфичностью.

| Молекулярная масса полипептидов (кД) | Лектины из: | | | | |
|---|--|---|---|---|---|
| | <i>Canavalia ensiformis</i> (α -D-манноза*) | <i>Triticum vulgare</i> (N-ацетил- β -D- глюкозамин*) | <i>Glycine max</i> (N-ацетил- α -D- галактозамин*) | <i>Ricinus communis</i> (β -D-галактоза*) | <i>Tetragonolobus purpureus</i> (α -L-фукоза*) |
| 14 | + | + | + | + | + |
| 16 | + | + | + | + | + |
| 19 | + | - | + | - | - |
| 22-23 | + | + | + | - | - |
| 24-25 | + | + | + | + | - |
| 26 | + | + | + | + | + |
| 29 | + | + | + | - | - |
| 30 | - | + | - | - | - |
| 34-35 | + | + | - | + | - |
| 40-42 | + | + | + | + | + |
| 47 | + | + | - | - | - |
| 54-55 | + | + | - | - | - |
| 60 | + | + | + | + | + |
| 66-67 | + | + | + | + | - |
| 71-72 | + | - | + | + | - |
| 76 | + | + | + | + | - |
| 110 | + | - | - | - | - |
| 126-130 | + | - | - | - | - |
| 140 | + | + | - | - | - |
| 150 | + | + | - | - | - |

* углеводная специфичность лектина.

Подтвердить или опровергнуть это можно при определении специфичности ГП 110-140 в ряду серологически разных изолятов Л-57, МОЗ, Ф-32. ГП 110-140 выявляли в тех случаях, когда в радиоиммунопреципитации использовали гомологичные сыворотку и лизат инфицированных гемадсорбирующим изолятом А-клеток. При применении гетерологичных реагентов полоса

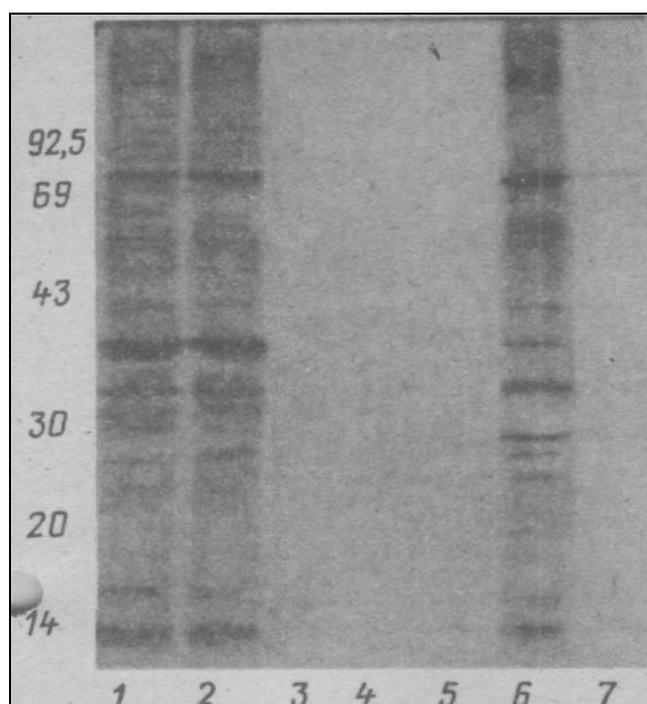


Рисунок 1. Блоттограмма вирусспецифических полипептидов, выявленных антисывороткой к вирусу АЧС, штамм Ф-32, в лизатах А-клеток КМС, зараженных штаммом Ф-32 (треки 1, 2) и незараженных (3, 4), в пуле сорбированных на конканавалин-А-сефарозе 4В из лизатов А-клеток КМС, незараженных (5) и заражённых штаммом Ф-32 (6), в пуле сорбированных в присутствии 10% метил- α -D-маннопиранозида на конканавалин-А-сефарозе 4В белков из лизатов А-клеток КМС, зараженных штаммом Ф-32 (7). Слева - маркеры молекулярной массы (кД).

на флуорограмме, соответствующая ГП 110-140, отсутствовала или была выражена значительно слабее по сравнению с регистрируемой при использовании гомологичных реагентов (рисунок 3).

Поскольку известно, что ингибиторы гликозилирования подавляют репродукцию вируса АЧС в культуре [12], было изучено влияние свайнсолина, туникамицина, моненсина («Sigma») - препаратов, имеющих разный механизм ингибирующего действия, на синтез ГП 110-140, контролируя урожай внеклеточного вируса и гемадсорбцию. Концентрации ингибиторов, не влияющих на морфологию А-клеток, определены ранее [1].

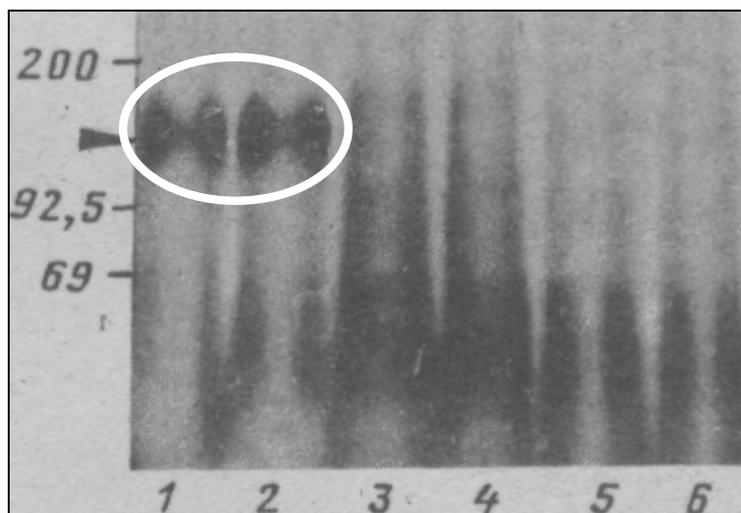


Рисунок 2. Иммунопреципитация гликозилированного полипептида с м.м. 110-140 кД из меченных 3H -глюкозамином лизатов А-клеток КМС, зараженных вирусом АЧС, штамм Ф-32 [треки 1-4) или штамм ФНГ (5, 6), активной (1, 2, 5, 6) и неактивной (3, 4) в РЗГА антисывороткой к штамму Ф-32. Слева - маркеры молекулярной массы (кД). Стрелкой и в круге указано расположение ГП 110-140.

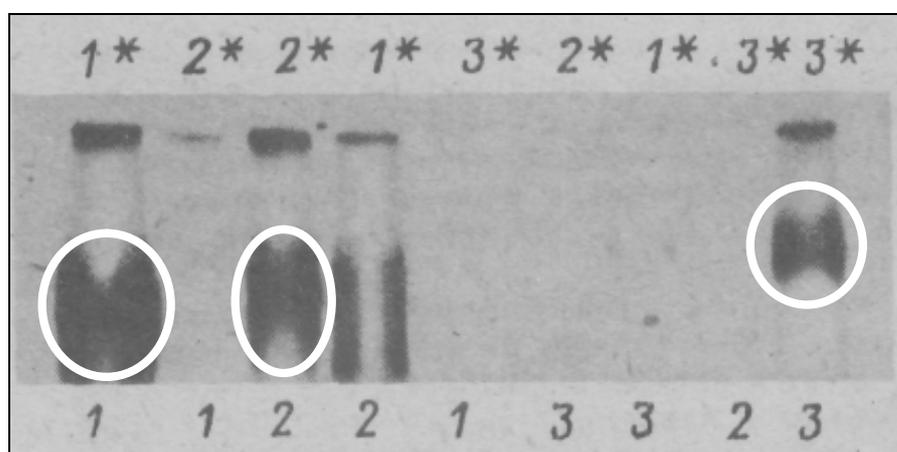


Рисунок 3. Иммунопреципитация гликозилированного полипептида с м.м. 110-140 кД из меченных 3H -глюкозамином лизатов зараженных вирусом АЧС А-клеток КМС: треки 1, 2, 3 - соответственно антигены Ф-32, Л-57, МОЗ с антисыворотками к Ф-32 (1*), Л-57 (2*), МОЗ (3*).

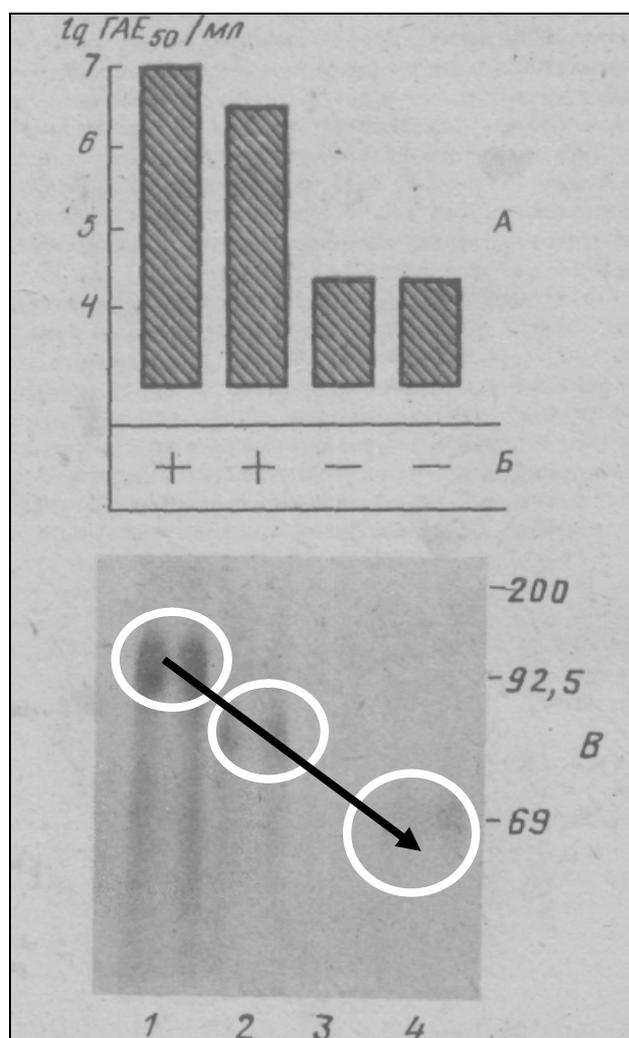


Рисунок 4. Влияние ингибиторов гликозилирования на накопление инфекционного вируса АЧС, штамм Л-57 (А), наличие (+) или отсутствие (-) гемадсорбции (Б) и молекулярную массу его изолятоспецифического гликозилированного полипептида ГП 110-140 (В) в культуре клеток КМС: 1 - без ингибитора, 2 - со свайнсоном (1 мкг/мл), 3 - с туникамицином (1 мкг/мл), 4 - с моненсином (0.5 мкг/мл) (выделено кругами). Справа - маркеры молекулярной массы (кД).

Результаты, представленные на рисунке 4, свидетельствуют, что молекулярная масса изолятоспецифического гликозилированного полипептида ГП 110-140 в присутствии свайнсоина снижается до 95 кД, моненсина - до 70 кД, а при действии туникамицина он не обнаруживался.

В зараженных вирусом АЧС А-клетках КМС нами идентифицировано более пятнадцати полипептидов, входящих в состав вирусных гликопротеинов (см. таблицу). Это значительно

больше, чем у вирионов известных оболочечных вирусов, в том числе ДНК-содержащих. Разное количество гликозилированных полипептидов при использовании двух методических подходов объясняется тем, что в первом случае их выделяли по углеводному компоненту с идентификацией по иммунологической специфичности, а во втором - наоборот. По данным биоаффинной хроматографии в состав большинства из них входят манноза, глюкозамин, галактозамин и лишь в некоторые - фукоза.

Благодаря применению гемадсорбирующих изолятов вируса АЧС, культивированию вируса (для получения лизата) в естественно чувствительных А-клетках-мишенях, использованию высокоактивных в РЗГА антисывороток свиней удалось идентифицировать изолятоспецифический гликополипептид. Вероятно, именно из-за несоблюдения перечисленных условий этого не сделано ранее [10-12]. Обнаруженный ГП 110-140, по-видимому, имеет прямое отношение к гемадсорбирующему антигену, о существовании которого судили лишь по феномену гемадсорбции. Свидетельством этого является:

- § отсутствие характерных гантелеобразных полос в диапазоне 110-140 кД на электрофоретических треках иммунопреципитированных маркированных ³H-глюкозамином полипептидов из лизатов А-клеток, зараженных негемадсорбирующими вариантами вируса АЧС;
- § отсутствие этих полос при использовании неактивных в РЗГА антисывороток;
- § отмена феномена гемадсорбции при культивировании вируса с ингибиторами гликозилирования туникамицином и моненсином.

В ходе эксперимента установлено, что олигосахаридные блоки составляют около 50% массы ГП 110-140. Наличие мощного углеводного облака вокруг него может являться существенным препятствием для иммунологического распознавания зараженных вирусом АЧС клеток-мишеней по аналогии с известными данными о ВИЧ [2].

Полученные результаты перспективны в разработке средств диагностики и защиты против АЧС.

Литература.

1. Ефимова А.А. и соавт. // Доклады ВАСХНИЛ, 1989, № 7.
2. ADIP, 1989, № 28.
3. Affinity Chromatography. Pharmacia FC, 1983.
4. Kessler S.W. // Methods Enzymol., 1981, № 73.
5. Kyhse-Andersen J. // J. Biochem. and Biophys. Meth., 1984, № 10.
6. Laemmli U.K. // Nature, 1970, v. 227.
7. Malmquist W.A., Hay D. // Am. J. Vet. Res., 1960, № 21.
8. Nakane P.K., Kawaoi A. // J. Hist. Cyt., 1974, v. 22.
9. Plowright W. // Rev. Sci. tech. Off. int epizoot., 1986, v. 5, № 2.
10. Tabares E. et al. // Arch. of virol., 1983, v. 77, № 2-4.
11. Val M., del et al. // Virology, 1986, v. 152, № 1.
12. Val M., del, Vinuela E. // Virus Res., 1987, v. 7, № 4.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГП 110-140 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

Возбудитель африканской чумы свиней (АЧС) - ДНК-содержащий арбовирус, поражает только представителей семейства *Suidae*. Помимо природного африканского нозоареала АЧС энзоотична в Южной Европе, имела неоднократное распространение в зоне Карибского бассейна, в Южной Америке, наблюдались вспышки в Бельгии и Нидерландах. Клинические признаки АЧС зависят от вирулентности вируса, значительно снижающейся в естественных условиях по мере продолжительности циркуляции возбудителя в конкретном регионе (от стада до страны). Выжившие после переболевания свиньи становятся устойчивыми к заражению гомологичным изолятом, но не защищены от гибели после инфицирования гетерологичным по месту или времени выделения вирулентным изолятом [1, 9]. Отсутствие в крови переболевших животных вируснейтрализующих антител (при высоком уровне антител, определяемых, например, иммунофлуоресценцией) затрудняет определение антигенов гомологичных групп вируса и идентификацию его протективных белков. Антигенная вариабельность изолятов вируса АЧС известна по результатам реакции задержки гемадсорбции (РЗГА) и комплементзависимого цитолиза; дифференцировать изоляты пытались по картам рестрикции ДНК и взаимодействию с моноклональными антителами [6, 7, 10, 11, 13-15].

* опубликовано в журнале «Ветеринария», 1993, 1, 26-28 совместно с А.Д.Середой, Е.Г.Анохиной и Л.Г.Фугиной.

В лизатах, зараженных гемадсорбирующими штаммами вируса А-клеток костного мозга свиней (КМС), нами идентифицирован изолятоспецифический гликополипептид (ГП) с молекулярной массой 110-140 кД [5]. В данной статье сообщается об относительно простом методе серотиповой дифференциации гемадсорбирующих изолятов по ГП 110-140, физико-химических свойствах последнего и способе его очистки.

Материалы и методы.

Работа проведена с гемадсорбирующими изолятами вируса АЧС Лиссабон-57 (Л-57), Конго-73 (К-73), Мозамбик (МОЗ), Ф-32, не имеющими антигенного родства в РЗГА [3]. Использованные в иммунологических реакциях 11 серий антисывороток к этим изолятам имели в РЗГА титр 1:80-1:320 [2, 4]. Вирус выращивали в первичной культуре А-клеток КМС, получение маркированных ^4C -ацетатом натрия или ^3H -глюкозамином лизатов из зараженных вирусом АЧС А-клеток и радиоиммунопреципитацию осуществляли по ранее описанной методике [5]. Полипептиды разделяли электрофоретически, изоэлектрофокусировали в гранулированном геле *Ультрадекс* («Pharmacia») [8, 12]. Ионообменную хроматографию проводили на *ДЭАЭ-сефацел* («Pharmacia»), уравновешенном буфером для лизиса клеток (0.02 М трис-НСI, рН 7.4, 1 % тритон X-100, 1 мМ фенилметилсульфонилфлюорид). Белки с сорбента ступенчато элюировали 0.00-1.00 М NaCl. Для определения серологического родства изолятов по ГП 110-140 в каждую пробу к 100 мкл зерен протеин-А-сефарозы *CL-4B* («Pharmacia»), уравновешенной буфером (0.02 М трис-НСI, рН 7.4, 1 % тритон X-100, 0.15 М NaCl), добавляли 50 мкл антисыворотки и инкубировали в течение 2 часов при 37°C, затем зерна шестикратно отмывали буфером и 18 часов инкубировали сорбент с препаратом ^3H -глюкозаминмаркированного «антигена», полученного из 2×10^6 зараженных А-клеток, в объеме 1 мл при 4°C. Зерна сорбента вновь шестикратно отмывали буфером и 5 минут кипятили в 150 мкл буфера, состоящего из 0.125 М трис-НСI, рН 6.8, 4% додецилсульфата натрия (ДСН), 20% глицерина, 10% 2-меркаптоэтанола. Радиоактивность аликвот по 100 мкл каждой пробы с «антигеном» определяли на сцинтилляционном

счетчике «Mark II» и выражали в процентах от радиоактивности данного «антигена», инкубированного с гомологичной сывороткой.

Результаты исследований.

На флуорограмме маркированных ^3H -глюкозамином мажорных полипептидов вируса АЧС до и после ступенчатого фракционирования методом ионообменной хроматографии видно, что ГП 110-140 (выделено кругом), элюированный 0.25 М NaCl, удалось отделить от гликолизированных компонентов вируса с молекулярной массой 50-80 кД, которые не сорбировались на ДЭАЭ-сефацеле в уравнивающем буфере (рисунок 1).

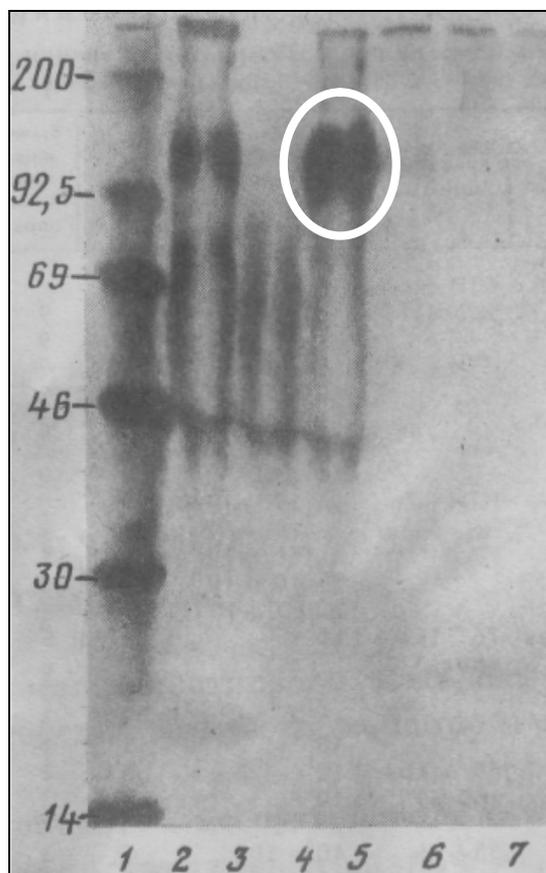


Рисунок 1. Флуорограмма фракционированных методом ионообменной хроматографии маркированных ^3H -глюкозамином мажорных гликопротеинов вируса АЧС, изолят Ф-32. Содержимое фракций после иммунопреципитации подвергали электрофорезу в ДСН-9.5% полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях. 1 - маркеры молекулярной массы (кД), 2 - мажорные гликопротеины лизата зараженных клеток, 3-7 - элюатов 0.00 М, 0.125 М, 0.25 М, 0.50 М, 1.00 М NaCl.

Полученный таким образом препарат использовали в качестве «антигена» для установления серологического родства изолятов вируса АЧС. Этот метод основан на определении радиоактивности сорбированных на твердой фазе (зерна протеин-А-сефарозы *CL-4B*) иммунных комплексов, образованных после взаимодействия «антигенов» с антителами из активных в РЗГА гипериммунных сывороток свиней. В большинстве проб с гетерологичными реагентами специфичность связывания составляла 21.7-35.5%, каких-либо особенностей по этому показателю между европейскими (Л-57, Ф-32) и африканскими (К-73, МОЗ) изолятами не выявили (таблица). В отличие от качественной серотипизации в реакции задержки гемадсорбции (да / нет) предложенный метод является количественным и открывает возможности определения антигенного родства изолятов вируса АЧС из различных регионов мира, выявления особенностей хронологической смены детерминант в процессе естественной эволюции вируса.

Таблица.
Специфичность связывания (%) ГП 110-140 в гомо- и гетерологичных реакциях, n=6

| Антиген (штамм / серотип) | Специфическая сыворотка (штамм / серотип) | | | |
|------------------------------|---|-----------|-----------|-----------|
| | Л-57 / I | К-73 / II | МОЗ / III | Ф-32 / IV |
| К-73 / II | 45.5±15.5 | 100.0 | 26.6±8.3 | 23.0±9.6 |
| МОЗ / III | 21.7±7.1 | 35.5±8.2 | 100.0 | 32.5±15.1 |
| Ф-32 / IV | 25.5±1.5 | 26.0±10.6 | 25.5±3.5 | 100.0 |

Совпадение в ряде случаев иммунотипа вируса с его серотипом в РЗГА позволяет предположить, что ГП 110-140 — наиболее вероятный кандидат в протективные белки вируса АЧС [13, 14]. Это обуславливает необходимость разработки способов его очистки в препаративных количествах и изучения физико-химических свойств. Анализ полипептидного состава фракций, полученных после разделения маркированных ¹⁴C-ацетатом натрия белков «антигена» изолята Ф-32 методом изоэлектрофокусирования в гранулированном геле, показал, что из белков вируса АЧС наиболее низкую изоточку (pI) 4.3-4.8 имеет ГП 110-140 (рисунок 2, выделено кругом).

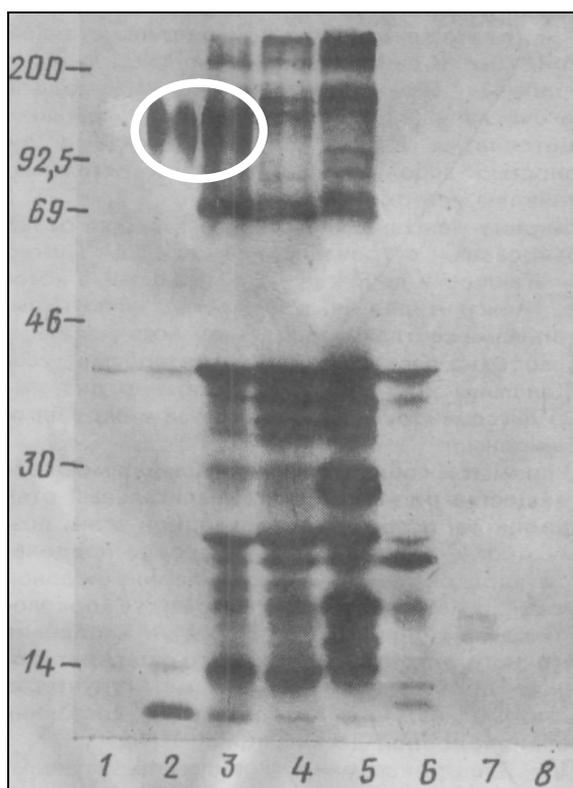


Рисунок 2. Флуорограмма фракционированных изоэлектрофокусированием в гранулированном геле и градиенте рН *Сефалитов 4-9* маркированных ^{14}C -ацетатом натрия белков «антигена» вируса АЧС, изолят Ф-32. Содержимое фракций после иммунопреципитации подвергали электрофорезу в ДСН-9.5% полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях. Треки 1-8 - фракции с рН 3.53, 4.27, 4.72, 5.19, 5.83, 6.45, 7.25, 8.26, соответственно. Слева - местоположение маркеров молекулярной массы (кД).

Это свойство ГП 110-140 позволяет очищать его из лизата зараженных А-клеток КМС последовательным сочетанием методов ионообменной хроматографии, изоэлектрофокусирования в гранулированном геле и аффинной хроматографии на иммуносорбенте, где в качестве лиганда используют IgG из активной в РЗГА гомологичной гипериммунной сыворотки свиней. Выход ГП 110-140 из 5 литров зараженной монослойной культуры КМС составлял 50-150 мкг, что достаточно для изучения его биологических, иммунологических и физико-химических свойств.

Средние значения молекулярной массы изолятоспецифического гликополипептида варьируют у различных изолятов от 115 до 135 кД; у наиболее вирулентных из числа изученных МОЗ и К-73 они составляют соответственно 135 и 130-

135 кД, у менее вирулентных Л-57 и Ф-32 - 126 и 115-120 кД. Поскольку молекулярная масса ГП 110-140 в значительной степени определяется олигосахаридными блоками [5], вероятно, что установленные различия связаны с большей степенью его гликозилирования у изолятов К-73 и МОЗ. В этом случае просматривается прямая связь между степенью гликозилирования ГП 110-140 и количеством адсорбированных на зараженных клетках эритроцитов в связи с вирулентностью изолятов по опубликованному нами ранее данным [3].

Заключение.

Таким образом, разработан количественный метод определения серологического родства гемадсорбирующих изолятов вируса АЧС. Изолятоспецифический ГП 110-140 охарактеризован по молекулярной массе и изоэлектрической точке. На основании результатов изучения физико-химических свойств ГП 110-140 предложен метод его препаративной очистки из лизата зараженных А-клеток КМС.

Литература.

1. Бакулов И.А., Макаров В.В. // Вест. с.-х. науки, 1990, 3.
2. Вишняков И.Ф. // Ветеринария, 1986, № 2.
3. Макаров В.В. и соавт. // Вопр. вирусол., 1991, № 4.
4. Методические рекомендации по изучению клеточного иммунитета у свиней при вирусных инфекциях. Покров, ВНИИВВиМ, 1988.
5. Середа А.Д., Макаров В.В. // Ветеринария, 1992, № 1.
6. Coggins L. // Prog. Med. Virol., 1974, v. 18.
7. Garcia-Barrena B. // J. Virol., 1986, v. 58, № 2.
8. Laemmli U.K. // Nature, 1970, v. 227.
9. Mebus C.A. // Adv. virus Res., 1988, v. 35.
10. Norley S.G., Wardley R.S. // Immunology, 1982, v. 46.
11. Pan I.C. et al. // Virus Res., 1988, v. 9, № 2-3.
12. Radola B. // J. VBA, 1973, v. 295.
13. Vigario J.D. et al. // Arch. Gesamte Virusforsch., 1970, v. 31.
14. Vigario J.D. et al. // Arch. Gesamte Virusforsch., 1974, v. 45.
15. Wesley R.D., Tuthill A.E. // Prevent. Vet. Med., 1984, v. 2.

ИММУНОЛОГИЯ

- ü **Реакции вируса африканской чумы свиней с антителами и причины отсутствия нейтрализации**
- ü **Иммунологический алгоритм оценки протективного потенциала вирусных компонентов**
- ü **Сравнительный анализ показателей функциональной активности гуморального и клеточного иммунитета при вирусных инфекциях**
- ü **Асимметрия эффекторного звена в противоинфекционном иммунитете**
- ü **Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет**

РЕАКЦИИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ С АНТИТЕЛАМИ И ПРИЧИНЫ ОТСУТСТВИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ*

Африканская чума свиней (АЧС) вызывается икосаэдральным цитоплазматическим дезоксирибовирусом, ранее классифицированным в отдельную группу семейства *Iridoviridae* [3]. Эта особо опасная инфекция не контролируется вакцинацией, так как до сих пор нет надежных средств ее специфической профилактики. Одной из причин недостаточной изученности иммунологии АЧС является отсутствие нейтрализации вируса антителами [4] - главного свойства других вирусов, составляющего традиционную основу изучения их иммуногенности со времени открытия серологических реакций. В этом отношении существует только один зоопатогенный аналог - парвовирус алеутской болезни норок, но известна также низкая способность к нейтрализации типичных представителей иридовирусов [8]. Было предпринято много попыток изучения этого уникального феномена, но удовлетворительного объяснения до сих пор не предложено; версий много - от отсутствия вирионных гликопротеинов до антигенной мимикрии и гетерогенности [13]. Хотя было показано, что наличие большого количества реконвалесцентной сыворотки (до 100%) во внеклеточной жидкости культуры свиных лейкоцитов сопровождается изолятоспецифическим подавлением репродукции вируса АЧС [7], феномен не может быть отнесен к нейтрализации вируса *in vitro* (по всем правилам постановки стандартной реакции нейтрализации), что признано и самими авторами.

* опубликовано в журнале «Доклады ВАСХНИЛ», 1991, 12, 27-31 совместно с М.С.Малаховой и Н.А.Власовым.

Наиболее общая точка зрения на феномен выражена Vinuela [14] и сводится к тому, что отсутствие нейтрализующих антител при АЧС связано не с отменой антигенпредъявляющих функций макрофагов при их заражении вирусом *in vivo*, а с природой вируса, главным образом, с его изменчивостью. Однако здесь автор учитывает роль вируса и антител и упускает из виду тест-систему, реализующую в конечном итоге сам феномен нейтрализации.

Поэтому цель настоящего исследования - дополнительная попытка выяснить причины отсутствия нейтрализуемости вируса АЧС, где, в отличие от известных работ, логика экспериментального анализа феномена предусматривала поэтапную систематическую регистрацию результатов взаимодействия вируса с антителами, вируса с чувствительными клетками в культуре и комплекса *вирус+антитело* с чувствительными клетками. Таким образом, предоставлялась возможность оценить роль каждого из трех элементов реакции нейтрализации, то есть вируса, антител и чувствительных клеток, с особым вниманием к последнему как тест-системе, участие которой в типичном случае должно быть отменено в результате образования иммунного комплекса и нейтрализации.

В работе использовали вирус АЧС, штамм Ф-32, умеренно вирулентный, гемадсорбирующий с титром не ниже $7,8 \lg$ ГАЕ₅₀/мл, гомологичные антисыворотки от гипериммунных свиней, трехсуточную культуру прилипающей фракции клеток костного мозга свиньи (А-клеток КМС), охарактеризованную нами ранее [2]. Конъюгат антител с ферритином («Serva») готовили общепринятым способом [1]. Смесь осветленного центрифугированием при 5000 g в течение трех минут вируса с антителами в соотношении 1:1, а также с добавлением компонента морской свинки (1%) инкубировали в разных режимах и титровали в культуре А-клеток КМС 10- и 2-кратными разведениями. Для иммуноэлектронной микроскопии суспензию А-клеток или вируса обрабатывали конъюгатом антител 1:1 в течение 60 минут при 37°C (для клеток в присутствии 0.08% азидата натрия), промывали центрифугированием, фиксировали, заключали в смолу эпон-аралдит и готовили ультратонкие срезы по общепринятому методу [1]. Для характеристики репродукции вируса исследовали динамику его накопления титрованием по ГАЕ₅₀ и поглощения

предшественника синтеза ДНК 3H -тимидина.

По данным электронной и иммуноэлектронной микроскопии наружная оболочка вируса АЧС активна в рецепторном и антигенном отношении. Вирионы, имеющие оболочку, адсорбируются на эритроцитах свиньи, а антигены на их поверхности реагируют с антителами (рисунок 1/А, Б). Это соответствует данным, опубликованным в работах [5, 12].

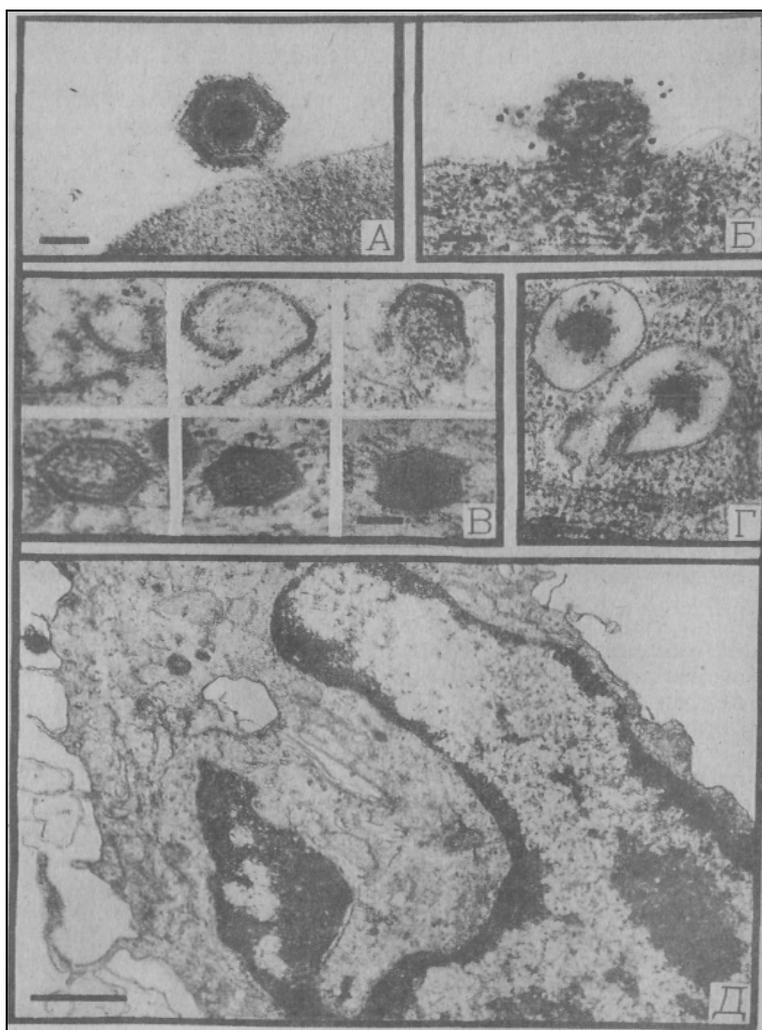


Рисунок 1. Электронная и иммуноэлектронная микроскопия взаимодействия вируса АЧС с чувствительными А-клетками КМС в культуре: А - адсорбция вируса на эритроцитах, встречающихся в культуре А-клеток; Б - комплекс вирус+конъюгат антител, адсорбированный на поверхности А-клетки; В - последовательные стадии морфогенеза вирионов; Г - комплекс вирус-конъюгат антител в фаголизосомах; Д - морфология интактной А-клетки в культуре. Длина масштабной полоски везде 100 нм.

Вместе с тем титрование инкубированного с антителами и комплементом вируса АЧС (таблица 1), как и ожидалось, показало отсутствие какого-либо нейтрализующего эффекта, в том числе и по типу комплементзависимого виролиза.

Таблица 1.
Влияние антител и комплемента на инфекционность
вируса АЧС ($n > 36$).

| Реакционная смесь: | | | Условия инкубации: | | Отношение титров обработанного и интактного вируса в культуре А-клеток КМС (% , $M \pm m$) |
|--------------------|----------|------------|--------------------|-----------|---|
| вирус | антитела | комплемент | ° С | часы | |
| + | + | - | 4 | 24 | 101.11±19.18 |
| + | + | - | 37 | 2 | 112.55±6.63 |
| + | + | + | 4 | 24 | 104.23±13.33 |
| + | + | + | 37 | 2 | 98.66±12.66 |

Данные о репродукции вируса АЧС в культуре А-клеток КМС приведены в таблице 2, на рисунках 1/В и 2. С учетом опубликованных данных о том, что этот вирус без специальной адаптации способен размножаться только в гемопозитических клетках естественно восприимчивых животных [13], можно сделать вывод об уникальности А-клеток как мишеней его действия. При этом следует отметить, что, согласно нашим данным [2], по функциональным и морфо-биохимическим критериям клетки этой фракции неотличимы от тканевых макрофагов, гистиоцитов и прочих зрелых клеточных форм системы мононуклеарных фагоцитов Ван Ферта (1973) в результате завершения моноцитопоза в трехсуточной культуре.

На рисунке 1/Б и Г показаны адсорбция и внутриклеточная дезинтеграция вируссодержащего иммунного комплекса. Вместе с данными таблицы 1 они свидетельствуют о том, что иммунный комплекс беспрепятственно проникает в чувствительные клетки, а вирус сохраняет исходную репродуктивную активность.

Таблица 2.

Чувствительность к вирусу АЧС двух клеточных фракций КМС (n=6).

| фракции | Клетки: | | Множественность заражения (ГАЕ ₅₀ /клетка) | Урожай вируса на 4 сутки: | | |
|-------------------------|----------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|---------------------------|-------------|
| | объем суспензии (мл) | концентрация в мл (x10 ⁶) | | Ig ГАЕ ₅₀ /мл | ГАЕ ₅₀ /клетка | соотношение |
| А-клетки | 100 | 1.34±0.12 | 0.01 | 7.78±0.48 | 44.9 | 37.5 |
| Пул неадгезивных клеток | 100 | 1.82±0.21 | | 6.34±0.32 | 1.2 | |

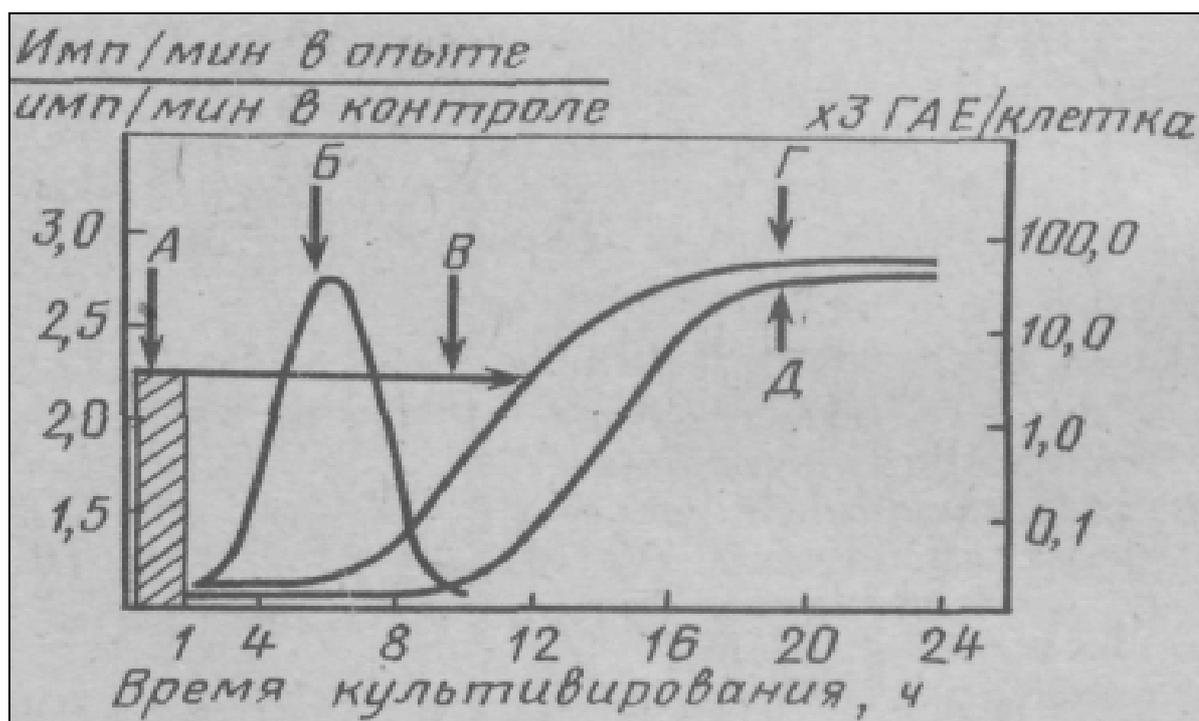


Рисунок 2. Обобщенная характеристика репродукции вируса АЧС в А-клетках КМС: А - множественность заражения, равная 10 ГАЕ₅₀/клетка; Б – динамика синтеза ДНК по поглощению ³H-тимидина, внесенного в среду в количестве 2 мкКи/мл; В – продолжительность одиночного цикла репродукции; Г, Д – динамика накопления внутри- и внеклеточного вируса, соответственно.

Таким образом, в реакции вируса АЧС с антителами происходит взаимодействие всех трех вышеупомянутых элементов. Причины отсутствия его нейтрализуемости не связаны с первыми двумя компонентами реакции нейтрализации. Вирус и антитела в данном случае «функционируют» нормально. Однако А-клетки, или моноциты-макрофаги, как уникальная чувствительная клеточная система беспрепятственно репродуцируют вирусное потомство, вероятно, в связи со следующими обстоятельствами. Во-первых, из-за функционального назначения моноцитов-макрофагов и относительно крупных размеров вируса АЧС (180-220 нм) его проникновение в эти клетки в интактном виде осуществляется опсонин-независимым фагоцитозом, то есть здесь происходит рецептор-независимый эндоцитоз. В этом отношении наша точка зрения прямо противоположна таковой Alcamí et al. [3], чьи данные *de facto* не противоречат нашим, однако интерпретированы иначе. Мы постараемся обсудить это в специальной подробной публикации о взаимодействии вируса АЧС с макрофагами. Во-вторых, в таких условиях антитела в составе иммунного вируссодержащего комплекса будут не только не препятствовать проникновению вируса, но и играть роль опсонов, реагируя с *Fc*-рецепторами моноцитов-макрофагов, и активировать фагоцитоз комплекса. Об этом свидетельствуют электронно-микроскопические данные субъективного порядка о сравнительно большем количестве опсонизированного вируса АЧС на одну фаголизому и фаголизомом - на клетку. Электронно-микроскопическую картину поэтапного «зипперинга» иммунного комплекса в этом случае получить достаточно сложно, но визуализация последующих стадий фагоцитоза и успешная репродукция вируса косвенно указывают, что все происходит именно так. В-третьих, при таком взаимодействии наряду с неэффективностью нейтрализации начальных функций вируса АЧС не встречаются препятствий и рН-зависимые эндосомальные этапы в фаголизосомах (рисунок 1/В) по Collins, Porterfield [6]. В-четвертых, в процессе опсонизации, вероятно, уже не имеют значения те особенности комплексов *вирус+антитело*, которые определяют прямую (*intrinsic*) или косвенную (*extrinsic*) и др. типы нейтрализации по Mandel [9], связанные с конформационными изменениями антигенов в иммунном комплексе.

Из вышесказанного можно сделать общий вывод, что при АЧС «нейтрализация» вируса *in vivo* будет сопровождаться противоположным эффектом, то есть всеми возможными последствиями опсонизированного фагоцитоза - усилением вирусного размножения и экстенсивной патологией за счет распространения в организме инфицированных моноцитов-макрофагов по механизму «троянского коня», что установлено для целого ряда инфекций [10, 11].

В данной работе с вирусом АЧС удалось показать качественную сторону феномена. К сожалению, из-за отсутствия методических возможностей предварительного тестирования и определения титров антител в реакции нейтрализации нельзя было оценить роль количественного фактора в последствиях его взаимодействия с антителами, как это сделано в цитируемых источниках литературы.

Литература.

1. Королев М.Б. // Итоги науки и техники. ВИНТИ, сер. «Вирусология», 1980, т. 9.
2. Макаров В.В. // Вопросы вет. вирусол., микробиол., эпизоотол., Псков, 1987.
3. Alcamí A. et al. // *Virus res.*, 1990, v. 17, № 2.
4. Boer C, de, et al. // *J. Am. vet. med. assn.*, 1972, v. 160, № 4.
5. Brese S. et al. // *Virology*, 1967, v. 31, № 3.
6. Collins S., Porterfield J. // *Nature*, 1986, v. 321, № 6067.
7. Gonsalvo F., Camera M. // *Am. J. vet. res.*, 1986, v. 47, № 6.
8. Kelly D. C. // *J. Invertebr. Pathol.*, 1981, v. 38, № 3.
9. Mandel B. // *Adv. Virus Res.*, 1978, № 23.
10. Peluso R. et al. // *Virology*, 1985, v. 147, № 1.
11. Porterfield J. S. // *Nature*, 1981, v. 290, № 5807.
12. Quintero J. et al. // *Am. J. vet. res.*, 1986, v. 47, № 5.
13. Vinuela E. // *Curr. top. microbiol. immunol.*, 1985, № 116.
14. Vinuela E. // *Concept in viral pathogenesis II*. Springer-Verlag, 1986.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ ПРОТЕКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ВИРУСНЫХ КОМПОНЕНТОВ*

Африканская чума свиней (АЧС) относится к группе наиболее упорных паразитозов, для которых получение защитных препаратов до сих пор остаётся нерешенной проблемой. Более того, анализ состояния вопроса свидетельствует, что для АЧС пока не существует какой-нибудь реальной и общепринятой версии относительно природы иммуногена и типа вакцинного препарата. Вместе с тем эта болезнь вирусной этиологии может служить своего рода моделью, исходя из её известных патогенетических и иммунологических особенностей, в числе которых важнейшими являются отсутствие нейтрализации биологической активности возбудителя антителами и роль клеток системы мононуклеарных фагоцитов в качестве критической клеточной и системной мишени [1].

Настоящая работа является итогом последовательного сравнительного исследования иммуногенной активности и протективного потенциала различных структурных и индуцированных антигенных компонентов вируса АЧС без живого возбудителя, взятых в виде сформированных естественным образом блоков, так, как они компартиментализуются в процессе вирусной репродукции и взаимодействуют с компонентами иммунной системы организма. Мы ориентировались на классическую работу Stone, Hess [6], а также известные данные Vommeli et al. [3] и Forman et al. [4].

* опубликована в журнале «Вестник Россельхозакадемии», 1995, 6, 60-62 совместно с В.С.Перзашкевичем, А.Д.Середой, Н.А.Власовым, В.В.Кадетовым.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 94-04-12076.

В статье использованы материалы сообщения на III Конгрессе

Европейского общества ветеринарных вирусологов, 4-7 сентября 1994 г., Швейцария.

Материалы и методы.

В работе использованы вирулентный изолят Ф-32 вируса АЧС европейской группы и его модифицированный пассажами в клетках костного мозга свиньи (КМС) культуральный авирулентный вариант ФК-135. Очистку культурального вируса проводили применением стандартных операций с преципитацией полиэтиленгликолем 6000 и центрифугированием в градиенте плотности сахарозы. Обработку антигенсодержащих препаратов для инактивизации, конъюгации, фиксирования бифункциональными агентами, детергентами и др. проводили по известным стандартным методикам. Использовали антигены с неполным адьювантом Фрейнда. Полноту инактивизации вирусных препаратов оценивали пятью последовательными пассажами в клетках КМС. Опыты с приготовлением и использованием липосом проводили по [5]. Принципиальные методические детали конкретных опытов приведены в соответствующих иллюстрациях. Характеристика антигенов в таблицах по исходному титру вируса, количеству белка или клеток отражает их общий числовой порядок. Для опытов использовали подсвинков массой 25-30 кг, которых иммунизировали двукратно с интервалом 14 дней, контрольное заражение проводили на 14 сутки после последней иммунизации инокуляцией 1000 ГАЕ₅₀ вируса Ф-32.

Результаты и обсуждение.

Первая серия экспериментальных данных посвящена исследованию антигенов интактного корпускулярного возбудителя (таблица 1). Здесь и далее результаты контрольного заражения выражены соотношением количества животных в опыте и защищенных, т.е. выживших. Поскольку *a priori* была известна неспособность очищенного вируса АЧС стимулировать защитный эффект [6], антигены конъюгировали с некоторыми субстанциями белковой природы и смешивали их с неполным адьювантом Фрейнда (НАФ). И в нашем случае полученные результаты оказались отрицательными: из шестнадцати иммунизированных в этой серии опытов животных выжили, т.е. оказались защищенными, лишь трое.

Таблица 1.

| Вирус | lg ГАЕ ₅₀ /мл | Инактивация + конъюгация: | | Результаты контрольного заражения животных* |
|--------|--------------------------|---------------------------------|----------------------|---|
| | | агент | белок | |
| ФК-135 | 9.9-10.9 | Глютаровый альдегид | Бычьи эритроциты | 8 / 3 |
| | 9.7 | | БЦЖ (микобактерии) | 2 / 0 |
| ФК-32 | 9.7 | 2.4-толуилен-диизоцианат | Бычий гамма-глобулин | 4 / 0 |
| | 9.7 | Бисдиазобензидин + формальдегид | | 2 / 0 |

* здесь и далее по тексту - всего животных в опыте / в том числе выживших после контрольного заражения.

Следующая серия исследований посвящена оценке препаратов на основе очищенного разрушенного детергентами вируса, конъюгированных с бычьими эритроцитами (вариант ФК-135, титр вируса перед инактивацией до $10^{9.5}$ lg ГАЕ₅₀/мл, количество белка 31-180 мг) (таблица 2) и инактивированных препаратов пулов вирусиндуцированных антигенов [по 3, 6] (изолят Ф-32) (таблица 3). Во всех случаях антигены смешивали с НАФ. Результаты изучения антигенных пулов, полученных из вирионов и заражённых субстратов (клеточные и тканевые антигены), несмотря на применение конъюгации с носителем или НАФ, показали, что эти препараты также не обладали протективными свойствами.

Таблица 2.

| Детергенты | Антигенность в иммуноэлектроосмофорезе (с сыворотками реконвалесцентов) | Результаты контрольного заражения животных |
|-----------------------|---|--|
| Фреон-113 | 1 : 8 | 2 / 0 |
| Додецилсульфат натрия | Не выявлен | 2 / 0 |
| Дезоксихлорат натрия | Не выявлен | 2 / 0 |
| Тритон X-100 | 1 : 128 | 2 / 0 |
| Нонидет Р-40 | 1 : 64 | 2 / 0 |
| Бридж-58 | Не выявлен | 2 / 0 |

Таблица 3.

| Источник антигенов | Инактивирующий агент | Количество белка (мг) | Результаты контрольного заражения животных |
|--|----------------------|-----------------------|--|
| Лизат зараженной культуры клеток КМС | Димер этиленимина | 60 - 90 | 2 / 0 |
| Лизат селезенки больной свиньи | Октил-глюкозид | 60 - 150 | 2 / 0 |
| Иммуноаффинно очищенные антигены заражённых клеток КМС | - | 8 - 12 | 2 / 0 |

Очевидным защитным эффектом обладали препараты цельных заражённых вирусом АЧС клеток КМС и перевиваемых клеток почки поросёнка (ППК). Результаты оценки препаратов инактивированных цельных клеток после заражения их вирусом (вариант Ф-135) при инаktivации клеток бифункциональными агентами в присутствии бычьего гамма-глобулина (40 мг/мл) с НАФ представлены в таблице 4. В этой серии опытов от заражения вирусом АЧС было защищено 10 из 14 подсвинков (> 70%).

Таблица 4.

| Клетки | Концентрат клеток до инаktivации: | | Конъюгирующий и инаktivированный агенты | Антигенность в иммуноэлектроосмофорезе (с сыворотками реконвалесцентов) | Результаты контрольного заражения животных |
|--------|--------------------------------------|-----------------------------------|---|---|--|
| | количество в иммунизирующей дозе, lg | титр вируса, lg ГАЕ ₅₀ | | | |
| КМС | 8.4 - 9.0 | 8.7 - 9.4 | Глютаральдегид | 1:4 - 1:16 | 10 / 7 |
| ППК | 7.9 | 10.0 | | Бисдиазобензидин + формальдегид | 1:64 |
| | | | Бисдиазобензидин + формальдегид | 1:64 | 2 / 1 |

Эти данные послужили основанием для изучения вирусных антигенов, модулирующих мембрану заражённых клеток. Наиболее интересным в этом плане является мажорный неструктурный гликополипептид вируса АЧС с м.м. 110-140 кД (ГП 110-140), описанный нами ранее [2]. Оказалось, что в неденатурированном виде в составе липосом ГП 110-140 изолята Ф-32 вируса АЧС способен индуцировать защиту подсвинков от заражения гомологичным вирулентным вирусом (таблица 5).

Таблица 5.

| Характеристика препарата | Доза ГП (мг) | Титр антител после иммунизации* | Результаты контрольного заражения животных |
|--------------------------------------|---------------------|--|---|
| Пул ГП | 8 - 10 | 1 : 60 | 2 / 0 |
| Пул ГП в липосомах | 8 - 10 | 1 : 300 | 2 / 0 |
| ГП 110-140 в суспензии ПААГ** | 0.3 - 0.5 | 1 : 4 | 2 / 0 |
| ГП 110-140 в липосомах*** | 0.2 - 0.3 | 1 : 16 | 3 / 2 |

* в дот-ИФА с белками лизатов инфицированных А-клеток КМС в качестве антигена

** после электрофореза в восстанавливающихся условиях

*** выделен последовательно изоэлектрофокусированием в неденатурирующих условиях и иммуноафинной хроматографией [2].

Важно, что ГП 110-140, согласно полученным данным, обладает в реакции радиоиммунопреципитации серологической специфичностью для гемадсорбирующих изолятов вируса АЧС разной иммунологической и географической принадлежности (рисунок). Его дальнейшее изучение открывает перспективы для количественного определения серологических связей разновидностей возбудителя и изыскания на его основе средств иммунопрофилактики АЧС.

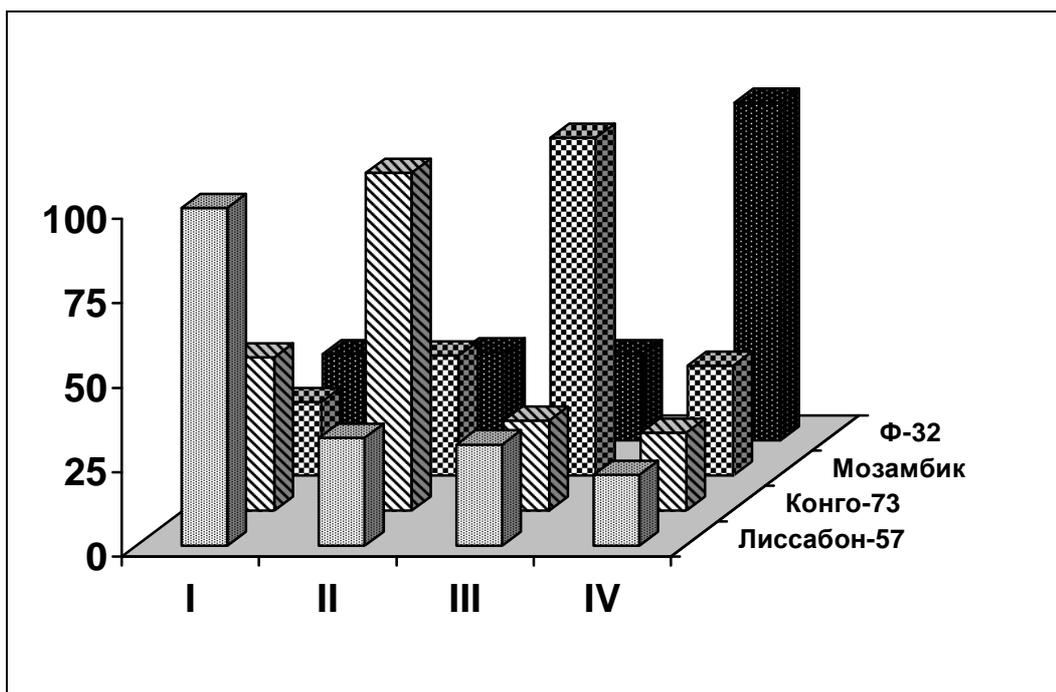


Рисунок. Изолято(серотипо)специфичность мажорного неструктурного ГП 110-140 вируса АЧС. Представлены данные перекрестного тестирования радиоактивности сорбированных на твердой фазе иммунных комплексов, состоящих из частично очищенных ионообменной хроматографией меченых 3H -глюкозамином белков лизатов А-клеток КМС, инфицированных изолятами вируса I, II, III, и IV серотипов (соответственно Лиссабон-57, Конго-73, Мозамбик и Ф-32) с активными в РЗГА серотипоспецифическими антисыворотками (по горизонтали). Высокие столбики - 100% результаты реакции в гомологичной системе компонентов.

Вместе с тем последовательность иммунологического исследования вируса АЧС в направлении *корпускулярный возбудитель Р его структурные компоненты Р вирусиндуцированные белки Р цельные заражённые клетки Р изолированные вирусспецифические антигены (гликопротеины) мембран заражённых клеток* может служить неким общим алгоритмом поиска протективных антигенов при вирусных инфекциях.

Литература.

1. Макаров В.В., Малахова М.С., Власов Н.А., Чевелев С.Ф. Африканская чума свиней – модель взаимодействия патогена с системой мононуклеарных фагоцитов. // Доклады Россельхозакадемии. 1992, № 11-12.
2. Серeda А.Д., Макаров В.В. Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней. // Ветеринария, 1992, № 1.
3. Bommeli W., Kihm U., Ehrensperger F. Preliminary study on immunization of pig against African swine fever. In: African Swine Fever, Lux., СЕС, 1983.
4. Forman A., Wardley R., Wilkinson P. The immunological response of pigs and guinea pigs to antigens of African swine fever virus. // Arch. Virol., 1982, 74, 2-3.
5. Liposomes and Immunobiology. Ed. by B. Tom and H. Six. Elsevier/North Holland, New York, 1980.
6. Stone S., Hess W. Antibody response to inactivated preparations of African swine fever virus. // Am. J. Vet. Res., 1967, 28.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ*

Для оценки иммунитета при вирусных инфекциях используются, как правило, тесты, выбранные эмпирически. Обычно применяется модельная реакция нейтрализации инфекционности возбудителя, по своей иммунологической сути очень далекая от явлений, развивающихся *in vivo* [4]. Вместе с тем, в зависимости от патогенетического стереотипа той или иной инфекции, эффекторные реакции развиваются неравномерно. Это явление определено нами как *асимметрия эффекторного звена*. Судя по данным литературы, идентификация наиболее иммунологически значимой эффекторной реакции представляет собой трудную экспериментальную задачу [2]. Поэтому в целом данная проблема до сих пор, по нашему мнению, не имеет достаточной концептуальной основы.

Цель настоящей работы - сравнить по наиболее общим характеристикам защитное действие двух основных ветвей эффекторного звена иммунного ответа при классической (КЧС) и африканской чуме свиней (АЧС). Выбор инфекций в данном случае обусловлен их исходной оппозицией по иммунологическому стереотипу: если при КЧС активность гуморальных вируснейтрализующих антител - основной показатель иммунитета [1], то при АЧС нейтрализация вируса отсутствует, но описаны прототипные реакции клеточного иммунитета, в частности, антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) и активность цитотоксических Т-лимфоцитов [3, 5, 6].

* опубликовано в журнале «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», 1995, 12, 599-602 совместно с И.Ф.Вишняковым, А.А.Коломыцевым и А.Д.Середой.

Методика исследования.

Для иммунизации подсвинков крупной белой породы 2-4-месячного возраста использованы вирус-вакцина ЛК-ВНИИВВиМ против КЧС и авирулентный вариант ФК вируса АЧС. Контрольное заражение проводили вирулентными штаммами Ши-Мынь вируса КЧС в дозе 10^3 ЛД₅₀ и Ф-32 вируса АЧС в дозе 10^4 ЛД₅₀. Характеристики использованных штаммов и вариантов вирусов, способы титрования вируса КЧС по ККИД₅₀ (50% инфекционная доза для культур клеток) в клетках РК-15 или вируса АЧС по ГАЕ₅₀ (50% гемадсорбирующая единица) в А-клетках костного мозга свиней, методы постановки реакций нейтрализации для вируса КЧС, АЗКЦ и тестирования цитотоксических Т-лимфоцитов для вируса АЧС описаны в предыдущих публикациях [1, 5, 6]. Ответ иммунизированных животных на контрольное заражение по группам статистически оценивали в процентах по защите от гибели, проявлению клинических признаков или приживлению вирулентного вируса (регистрируемой вирусемии). Частные условия отдельных опытов приведены по тексту.

Результаты исследования.

Гуморальный иммунитет при КЧС. Для анализа использовали результаты рутинного иммунологического контроля вирус-вакцины ЛК-ВНИИВВиМ. На рисунке 1 приведены суммарные данные, характеризующие реакции животных на контрольное заражение по трем показателям на фоне индукции гуморальных вируснейтрализующих антител при введении различных доз вакцины. Определение количества антител и контрольное заражение проведено на 14 день после иммунизации, количество подсвинков по группам - от 7 до 20. Для антител за 100% принят титр у животных, получивших максимальную дозу вакцины, за положительную вирусемию - титр вируса ≥ 0.63 lg ККИД₅₀/мл крови, за клиническую реакцию - любые отклонения от нормы по сравнению с контролем от температурной реакции $\geq 40^\circ\text{C}$ до типичного симптомокомплекса.

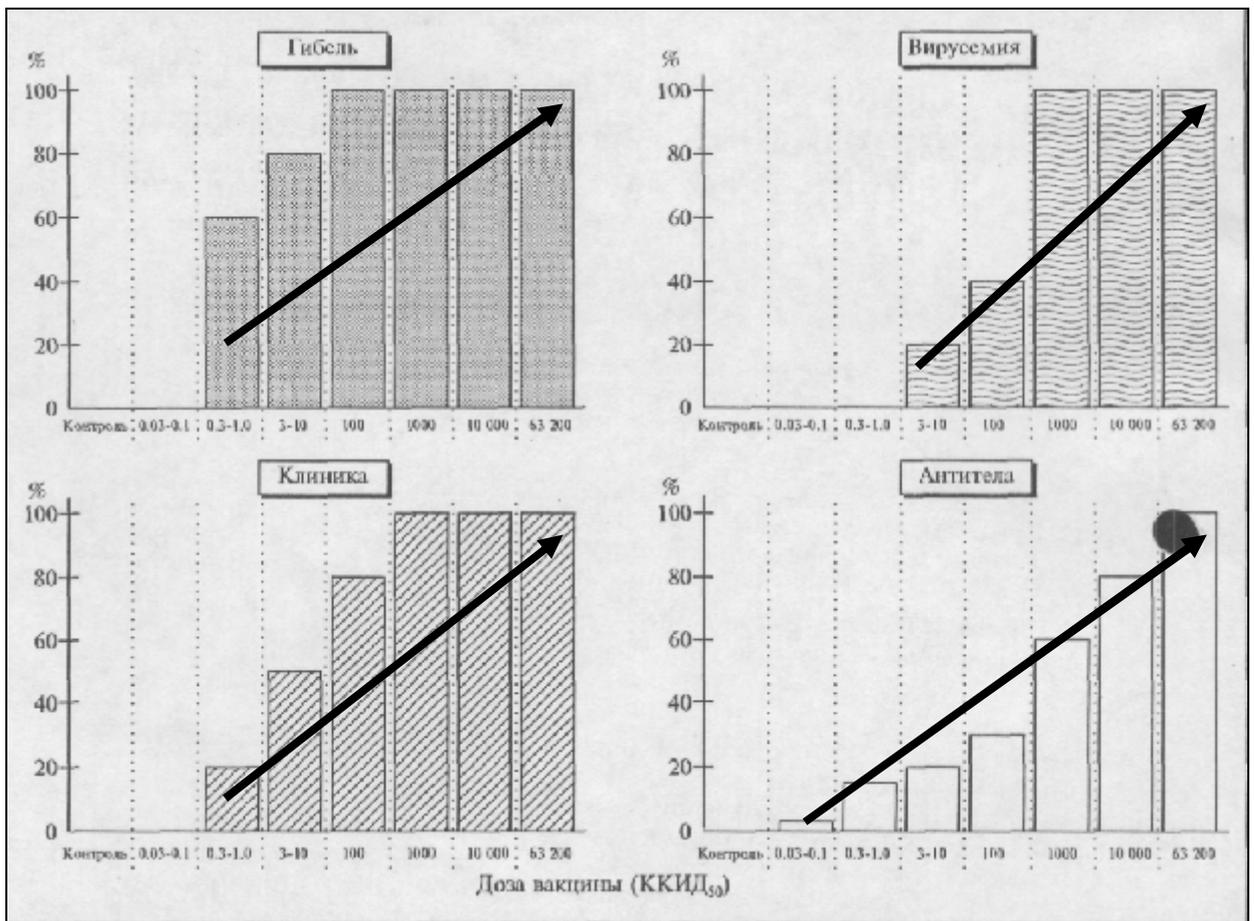


Рисунок 1. Защита от гибели, клинического проявления болезни, вирусемии после контрольного заражения и уровни вируснейтрализующих антител в зависимости от дозы вакцинного вируса при иммунизации подсвинков против АЧС.

Очевидно, что для данной инфекции существует выраженная положительная корреляция устойчивости животных с уровнем активности гуморального иммунитета (тренды показаны стрелками на рисунке 1): титры вируснейтрализующих антител прямо зависели от дозы инокулированного вакцинного вируса («реплицирующегося антигена»), а 100% защита животных достигалась при дозах вируса 1000 ККИД₅₀ и выше.

Клеточный иммунитет при АЧС. Как видно из данных рисунка 2, образование антител, активных в реакции АЗКЦ, при инокуляции авирулентного варианта ФК вируса АЧС характеризовалось «дозозависимым» ответом. Отмечена положительная корреляция между показателями специфического цитолиза и количеством инокулируемого вируса (тренд показан стрелкой).

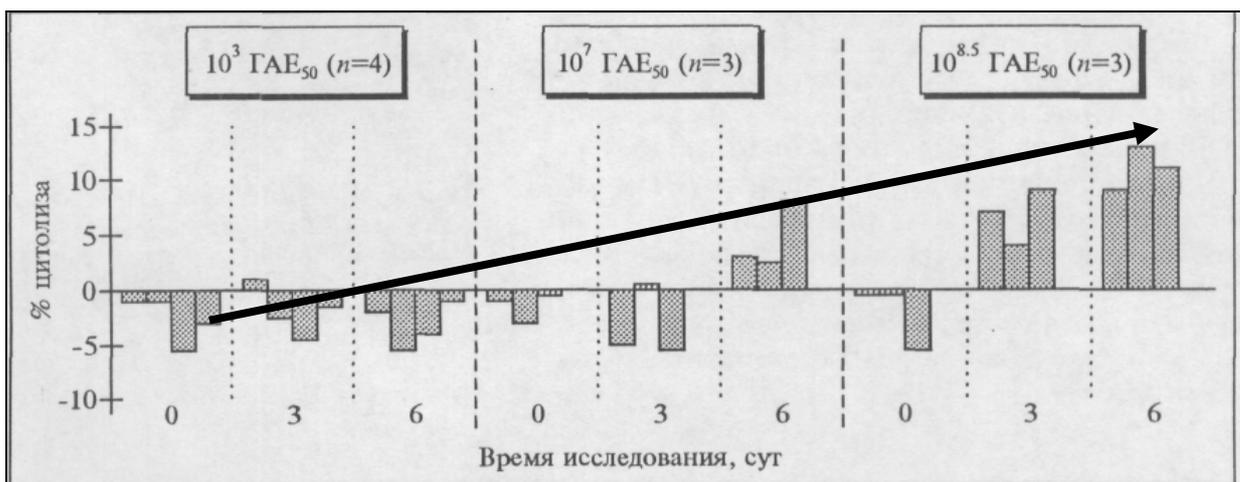


Рисунок 2. Активность антител в реакции АЗКЦ у подсвинков в зависимости от дозы авирулентного варианта ФК вируса АЧС.

На рисунке 3 приведены данные, характеризующие значение эффекторов АЗКЦ и цитотоксических Т-лимфоцитов как реакций клеточного иммунитета в защите при АЧС, по группе из 8 подсвинков. У животных, инокулированных авирулентным вариантом ФК вируса АЧС безотносительно к дозе, определяли показатели специфического цитоллиза для реакции АЗКЦ на 3 и для Т-лимфоцитов - на 6 сутки. Именно эти 8 подсвинков были отобраны по полученным показателям, позволяющим установить некий градиент иммунных состояний по активности тестируемых эффекторов от 10-20% специфического цитоллиза в АЗКЦ и 3-10% для Т-лимфоцитов у подсвинков №№ 1, 2 и 3 до полностью отрицательных результатов у подсвинков №№ 7 и 8. Контрольное заражение на 7 сутки характеризовалось выраженной температурной реакцией животных №№ 4-8, у которых не зарегистрирована специфическая активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Устойчивость положительно коррелировала с наиболее высокими уровнями эффекторов АЗКЦ в сочетании с Т-лимфоцитами (показано трендами на рисунке 3).

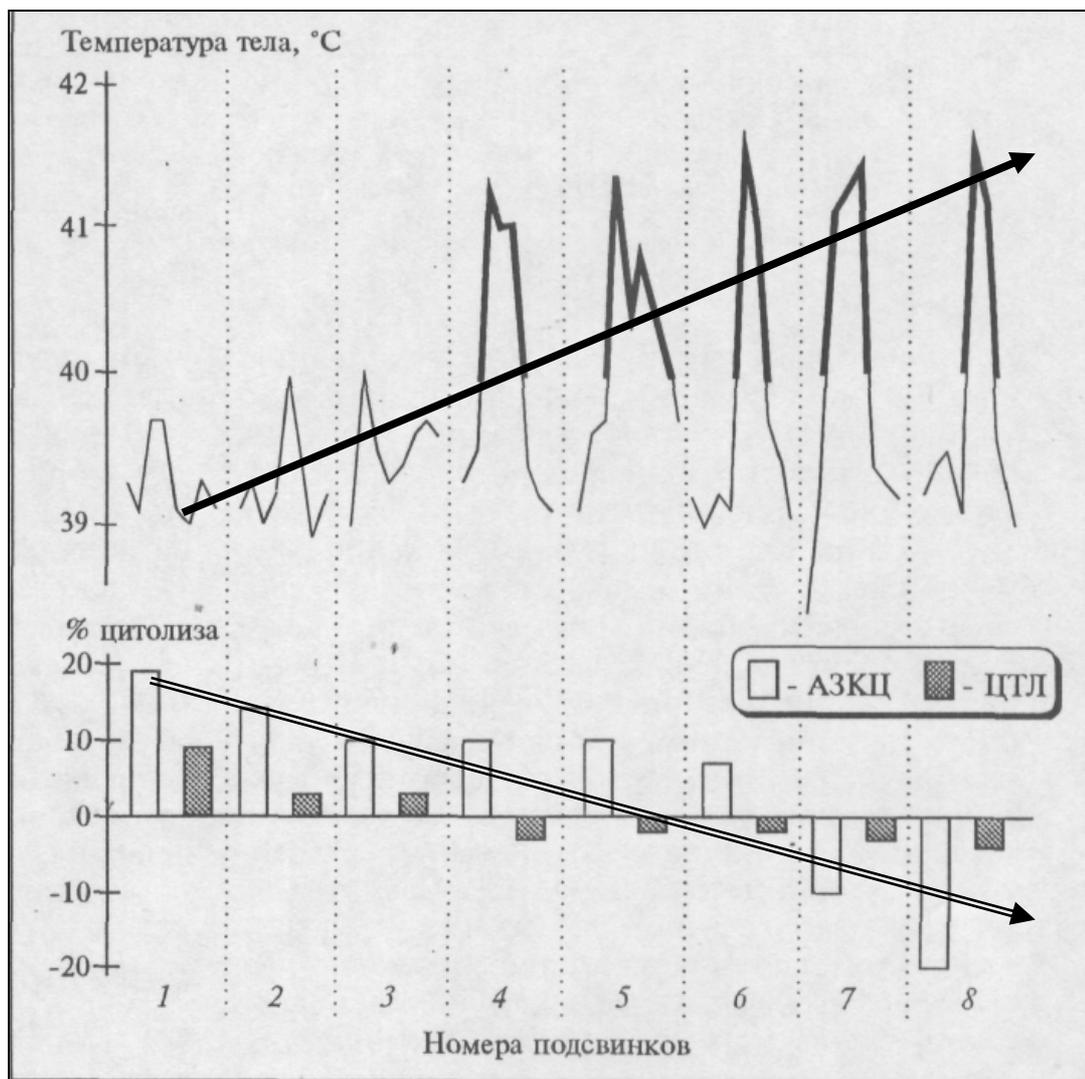


Рисунок 3. Результаты контрольного заражения в зависимости от специфической активности антител в реакции АЗКЦ и цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) при АЧС.

Таким образом, сравнение двух основных ветвей эффекторного звена в иммунном ответе при вирусных инфекциях *in vivo* в общих чертах подтверждает концепцию его асимметрии. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшей детализации явления в направлении идентификации и оценки роли отдельных реакций в протективном противовирусном иммунитете *in vitro*, а также идентификации вирусных компонентов, ответственных за их индукцию.

[Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 94-04-12076)].

Литература.

1. Вишняков И.Ф., Митин Н.И., Карпов Г.М. и др. // Ветеринария. 1991, № 4, 28-31.
2. Колонцов А.А., Макаров В.В. // Вопр. вирусол. 1990, № 2, 97-101.
3. Колонцов А.А., Макаров В.В. // Сельскохозяйственная биол. 1993, № 4, 12-18.
4. Макаров В. В. // В кн.: Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. Покров, 1985, 10-17.
5. Серeda А.Д., Соловкин С.Л., Сенечкина Е.К. и др. // Сельскохозяйственная биол. 1994, № 6, 112-115.
6. Серeda А.Д., Соловкин С.Л., Фугина Л.Г. и др. // Вопр. вирусол. 1992, № 3, 168-170.

АСИММЕТРИЯ ЭФФЕКТОРНОГО ЗВЕНА В ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОМ ИММУНИТЕТЕ*

(Итоговый отчет о работе по проекту РФФИ № 94-04-12076)

Цель проекта - дать научно обоснованное решение вопроса о необходимости оценки протективной роли отдельных частных механизмов противoinфекционной иммунной защиты применительно к болезням, вызываемым возбудителями различной природы, идентификации ведущих элементов эффекторной системы организма и структур возбудителя, ответственных за протективный иммунитет.

В работе запланировано решение следующих задач:

- § определение общей характеристики клеточного иммунного ответа при африканской чуме свиней (АЧС) - инфекции, принятой в качестве базовой модели, выявление и количественная оценка субпопуляций Т-лимфоцитов;
- § сравнительное изучение функциональной активности клеточного и гуморального звеньев иммунитета при вирусных инфекциях *in vivo* с использованием АЧС и классической чумы свиней (КЧС) как оппозитных моделей по отношению к гуморальным факторам иммунитета;
- § идентификация и оценка роли отдельных иммунных реакций в протективном противовирусном иммунитете;
- § идентификация вирусных компонентов, ответственных за индукцию эффекторов протективного иммунитета при АЧС.

* опубликована в журнале «Вестник Россельхозакадемии», 1996, 2, 33-35.

Определены условия выделения Т-лимфоцитов свиньи и дана количественная оценка их субпопуляций, имеющих маркеры Т-хелперов и Т-супрессоров (Т_μ и Т_γ, соответственно). Эффективность выделения Т-лимфоцитов в градиенте плотности перколл и фиколл-пака зависела от условий центрифугирования, состава среды для розеткообразования с эритроцитами, условий диссоциации розеток (реагенты, температура), структуры эритроцитарных реагентов для розеткообразования. Установлено, что концентрация Т_μ-лимфоцитов в крови свиней составляет 10.5 ± 0.2 , а Т_γ-лимфоцитов 12.8 ± 0.6 , отношение Т_μ/Т_γ 0.84 ± 0.06 (эти данные подробно опубликованы в [1]). Показана возможность использования для тестирования первичных вирусспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) свиньи при АЧС культуры аутологичных лейкоцитов крови в качестве клеток-мишеней, которые сохраняли антигенпредъявляющую способность в процессе их культивирования после получения из крови и заражения в течении двух недель. Определены оптимальные соотношения эффектор/мишень для данной модели (в пределах 100-1000:1), динамика индукции ЦТЛ у животных (в интервале 2-14 суток с максимумом на 6-8 сутки) и возможность использования клеток-мишеней и эффекторов от генетически сходных по поверхностным детерминантам лимфоцитов животных-доноров из одного помета (по данным реакции смешанной культуры лейкоцитов). Формирование ЦТЛ отмечено только при инокуляции животным авирулентного варианта вируса АЧС в увеличенных дозах ($8.0 \lg \text{ГAE}_{50}$) [2].

Результаты анализа построенных карт рестрикции использованных в работе вирулентного изолята Ф-32 вируса АЧС (для контрольного заражения) и его авирулентного варианта ФК (для иммунизации) показали, что последний, значительно отличающийся от исходного по фенотипическим признакам (вирулентности, гемадсорбирующей способности), является его делеционным дериватом. Обнаруженные делеции размером в 0.5 и 1.5 тпн локализованы в параметрах 0.1-0.125 и 0.965-0.975 ед. физической карты генома, соответственно [3].

Для сравнения важнейших показателей функциональной активности гуморального и клеточного иммунитета *in vivo* изучен

иммунный ответ для оппозитных моделей - КЧС и АЧС. Гуморальный иммунитет оценивали по реакции животных на контрольное заражение (% погибших, проявивших клинические признаки заболевания или приживления вирулентного вируса) на фоне индукции гуморальных антител при введении различных доз вирус-вакцины ЛК-ВНИИВВиМ. Оказалось, что для КЧС существует выраженная положительная корреляция устойчивости животных с уровнем гуморального иммунитета (вируснейтрализующих антител), который прямо зависит от дозы инокулируемого вакцинного вируса («реплицирующегося антигена»). Низкие дозы вакцины (15-30 ИмД₅₀) защищали 50% животных от гибели и 20% - от переболевания. 10- и 100-кратное увеличение дозы приводило к повышению показателей защиты до 72 и 44%, 100 и 85% соответственно, что коррелировало с увеличением титров сывороточных антител. В этих опытах получена практически полезная дозо-зависимая количественная характеристика градиента возможных иммунных состояний организма животных - от ее отсутствия до полной невосприимчивости к заражению вирулентным вирусом (рисунок 1).

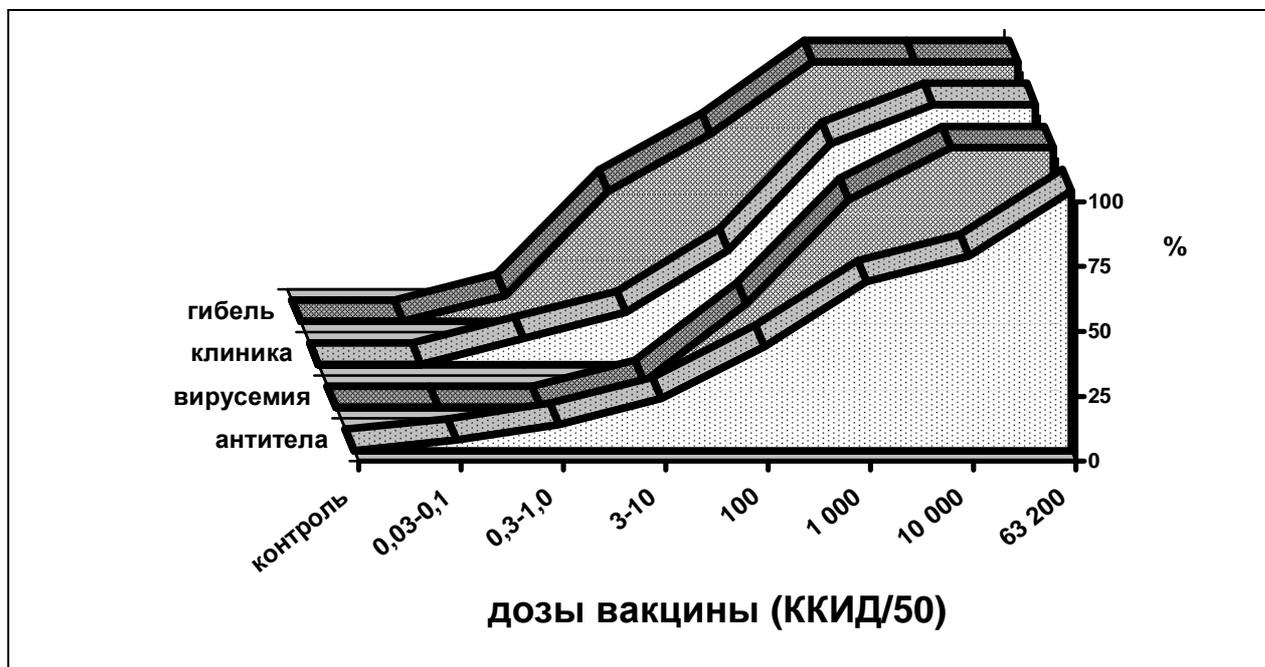


Рисунок 1. Защита от гибели, клинического проявления болезни, вирусемии после контрольного заражения и протективные уровни вируснейтрализующих антител (% животных) в зависимости от дозы вакцинного вируса при иммунизации подсвинков против КЧС.

В противоположность этому защита животных при АЧС была обусловлена активностью эффекторов клеточного иммунитета. Его изучение при АЧС у животных, инокулированных авирулентным вариантом ФК с последующим контрольным заражением вирулентным изолятом, оценивали по индукции ЦТЛ и образованию антител, активных в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ). Также как в индукции вируснейтрализующих антител при КЧС, образование указанных эффекторов клеточного иммунитета при АЧС характеризовалось дозо-зависимым ответом. Отмечена положительная корреляция между показателями специфического цитолиза клеток-мишеней ЦТЛ, эффекторами АЗКЦ и количеством инокулируемого варианта ФК. К контрольному заражению были устойчивы только те иммунизированные животные, у которых отмечалась хотя бы определяемая активность ЦТЛ. Устойчивость также положительно коррелировала с наиболее высокими уровнями эффекторов АЗКЦ (показатели специфического цитолиза 10-20%) в сочетании с ЦТЛ. Сравнение двух основных ветвей эффекторного звена в иммунном ответе *in vivo* в общих чертах подтверждает концепцию его асимметрии при различных по иммунологическому стереотипу вирусных инфекциях. Из возможных эффекторных реакций при АЧС основную протективную роль играют ЦТЛ (рисунок 2) [4, 5].

Детальное электронномикроскопическое исследование позволило визуализировать на этом уровне цитолитические эффекты с участием ЦТЛ и в реакции АЗКЦ. Для этого использованы зараженная культура клеток костного мозга свиньи (КМС) в качестве источника мишеневых клеток мононуклеарных фагоцитов и клеток-эффекторов АЗКЦ (исходно присутствующих в гетерогенной культуре КМС), а также эффекторные ЦТЛ и антитела от иммунных животных. Установлено, что привлекающая ЦТЛ модуляция клетки-мишени ассоциированными с мембранами зараженных клеток вирусными белками-антигенами - объектами иммунной атаки при реализации цитолитических эффекторных механизмов и типичная для размножения вируса АЧС гемадсорбция - происходят без видимых признаков вирусиндуцированной клеточной деструкции, в период формирования виропласта, задолго до экзоцитоза (почкования) вирусных частиц и тем более формирования вирусного потомства.

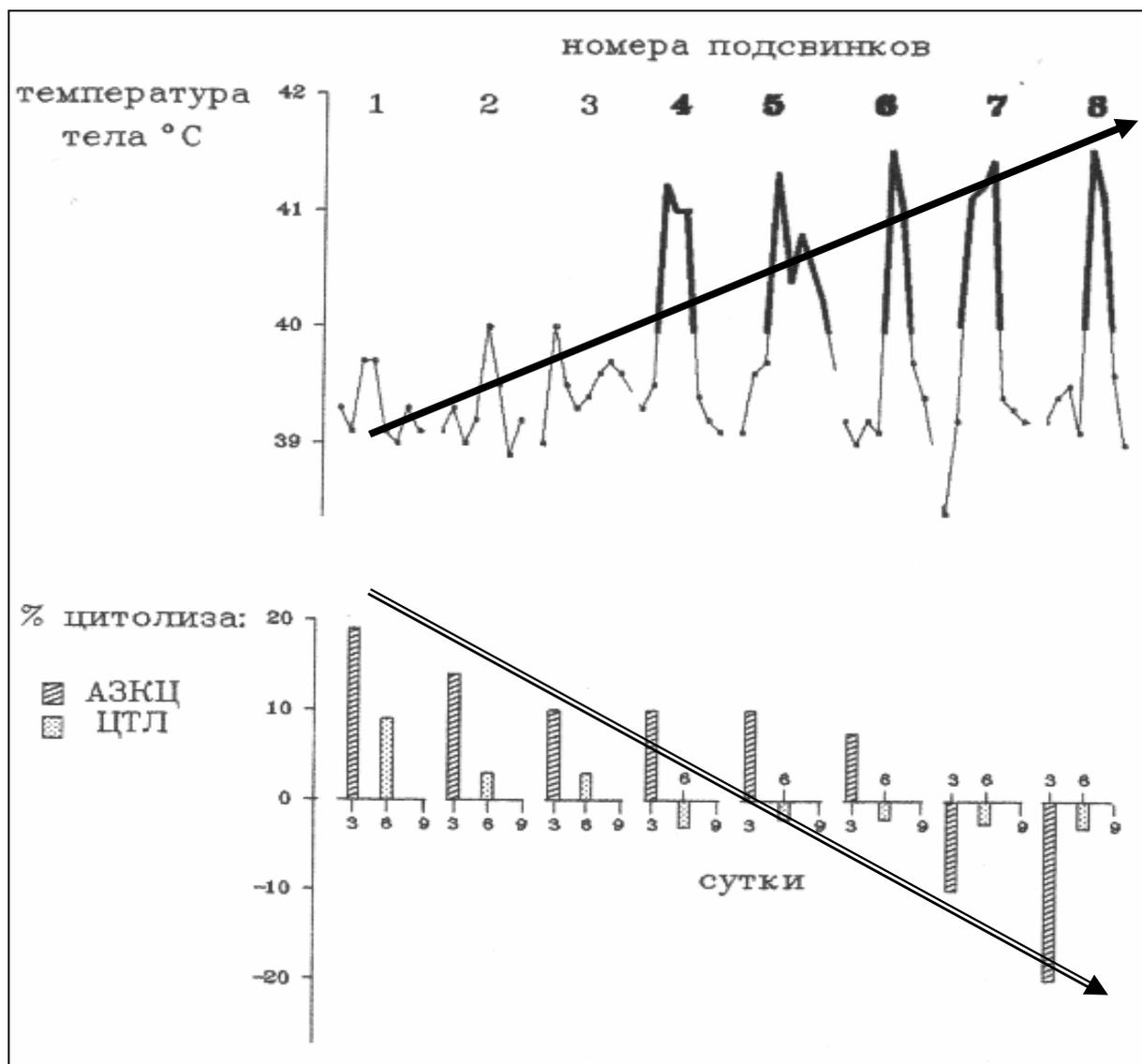


Рисунок 2. Результаты контрольного заражения в зависимости от специфической активности антител в реакции АЗКЦ и ЦТЛ при АЧС.

Атака ЦТЛ и гемадсорбция указывают на достаточную плотность вирусных мембранных антигенов в этой стадии цикла вирусного развития. (В этих наблюдениях важна аутентичность клеток-мишеней, которая подтверждалась наличием в них двух признаков, типичных для репродукции вируса АЧС, - виропластов и гемадсорбции.) Киллинг ЦТЛ клеток-мишеней характеризовался типичными морфологическими признаками апоптоза (реакция со стороны ядра в виде конденсации хроматина, образование протуберанцев, апоптозных тел и др.) [6, 7]. Сходная морфологическая картина на ультраструктурном уровне характерна

и для развития АЗКЦ, которая была опосредована макрофагами, гранулоцитами и лимфоцитами. При этом оказалось, что АЗКЦ и реакция задержки гемадсорбции (для последней объектами атаки служат также ассоциированные с мембранами зараженных клеток белки вируса АЧС) - два независимых процесса и могут одновременно протекать в присутствии иммунной сыворотки. Именно реакция АЗКЦ, воспроизведенная и визуализированная в культуре клеток КМС, объясняет определенные защитные эффекты гуморального иммунитета при АЧС в условиях отсутствия вирусной нейтрализации как таковой в иммунологическом стереотипе этой инфекции [8].

Оценка вирусных компонентов, ответственных за индукцию эффекторов протективного иммунитета, проведена путем сравнительного исследования иммуногенной активности различных структурных и индуцированных антигенных субстанций вируса АЧС, без живого возбудителя, взятых в виде сформированных естественных образом блоков, в которые они компартиментализуются в процессе вирусной репродукции и взаимодействуют с компонентами иммунной системы организма. Оказалось, что препараты очищенного вируса, инактивированного и конъюгированного с различными носителями (бычьи эритроциты или гамма-глобулин, БЦЖ), не создавали защиты от контрольного заражения. Препараты на основе очищенного разрушенного детергентами вируса и инактивированные препараты пулов вирусиндуцированных антигенов также не обладали протективными свойствами, несмотря на конъюгацию с носителем и применение адъюванта. Очевидным защитным эффектом обладали препараты цельных клеток КМС и перевиваемых клеток почки поросенка, зараженных вирусом АЧС и собранных на стадии максимального развития гемадсорбции (свидетельство максимума антигенной модуляции их мембран), инактивированных бифункциональными агентами и с носителем (> 70% защиты) [9, 10].

Эти данные, полностью согласующиеся с вышеизложенными результатами идентификации и оценки роли прототипных эффекторов клеточного иммунитета при АЧС (ЦТЛ и АЗКЦ), послужили основанием для изучения индивидуальных вирусных

антигенов, моделирующих мембрану зараженных клеток. Оказалось, что выделенный и охарактеризованный мажорный неструктурный серотипоспецифический гликополипептид вируса АЧС с м.м. 110-140 кДа способен в неденатурированном виде в составе липосом индуцировать защиту животных от контрольного заражения в качестве протективного антигена. Результаты этого фрагмента работы позволяют сформулировать иммунологический алгоритм поиска протективных антигенов при вирусных инфекциях универсального значения [11, 12, 13].

Электронно-микроскопическое исследование взаимодействия вируса АЧС с клетками системы мононуклеарных фагоцитов (критической мишени возбудителя в патогенезе инфекции) позволили установить апоптозный механизм клеточной гибели как новый противои инфекционный защитный феномен при данной болезни [6, 7].

Новизна результатов исследований заключается в том, что применительно к вирусу АЧС и вызываемой им инфекции получены принципиально новые научные данные. В частности, впервые количественно охарактеризована индукция ЦТЛ и эффекторов АЗКЦ, установлена корреляция их активности с иммунной защитой организма от вирулентного вируса, визуализированы опосредованные ими цитолитические эффекты, описано явление апоптоза клеток-мишеней вируса как нового защитного феномена. Показано значение мажорного неструктурного серотипоспецифического гликополипептида как протективного антигена при АЧС (способ его получения защищен авторским свидетельством № 322790.) Получены оригинальные данные по количественной характеристике субпопуляций Т-лимфоцитов, предложен новый методический прием для тестирования ЦТЛ в аутологичной системе мишень-эффектор. Комплексный подход в оценке иммуногенности компонентов вируса АЧС может служить универсальным иммунологическим алгоритмом поиска протективных антигенов при инфекциях различной природы. Полученные на модели АЧС данные о роли ЦТЛ в иммунной защите и ее индукции неструктурным вирусиндуцированным антигеном в сравнительном аспекте с оппозитной моделью подтверждают идею об асимметрии

эффекторного звена иммунного ответа, обосновывают необходимость идентификации ведущих элементов эффекторной системы организма и их индукторов-антигенов применительно к инфекциям и возбудителям различной природы.

Сопоставление результатов исследований с мировым уровнем свидетельствует о фундаментальности проблемы асимметрии эффекторного звена в противоинфекционном иммунитете. До сих пор при разработке вакцин и их иммунологической оценке используются эмпирические, наиболее удобные тесты, учитывающие лишь очевидные иммунные реакции, нередко далекие от явлений, обуславливающих истинную защиту организма. Полученные на модели АЧС данные показали, что критическую протективную роль могут играть малоизучаемые (в связи с относительной трудоемкостью тестирования) эффекторы, в частности ЦТЛ, и антигены, структурно не связанные с возбудителем, а ответственные за антигенную модуляцию мембраны клетки-хозяина. Поэтому сформулированная с учетом этих результатов концепция иммунологии внутриклеточного паразитизма [14] может иметь общее значение применительно к изысканию и конструированию вакцин.

Список публикаций по результатам исследований.

1. Новиков Б.В., Дмитриенко В.В. Власов Н.А., Макаров В.В. Выявление и количественная оценка субпопуляций Т-лимфоцитов свиней // С.-х. биология, 1995, № 2.
2. Середа А.Д., Соловкин С.Л., Сенечкина Е.К., Макаров В.В. Тестирование первичных вирусспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов свиней // С.-х. биология, 1994, № 6.
3. Селянинов Ю.О., Сенечкина Е.К. Физическое картирование генома вируса африканской чумы свиней // Доклады Россельхозакадемии, 1995, № 2.
4. Макаров В.В., Вишняков И.Ф., Коломыцев А.А., Середа А.Д. Сравнительный анализ важнейших показателей функциональной активности гуморального и клеточного иммунитета при вирусных инфекциях *in vivo* // Бюлл. эксп. биол. мед., 1995, № 12.

5. Makarov V.V., Vishnyakov I.F., Sereda A.D. What is the live vaccine dose? In: XXV World Veterinary Congress. 3-9 Sept. 1995, Yokohama, Japan.
6. Макаров В.В. Апоптоз в системе вирус африканской чумы свиней - моноклеарные фагоциты свиней // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 1995, № 3.
7. Makarov V.V., Chevelyev S.F., Sereda A.D. Apoptosis of the macrophages for African swine fever. In: XXV World Veterinary Congress. 3-9 Sept. 1995, Yokohama, Japan.
8. Шубина Н.Г., Колонцов А.А., Малахова М.С., Макаров В.В. Межклеточные взаимодействия в культурах клеток костного мозга свиньи и ППК-66Б, зараженных вирусом африканской чумы свиней // Бюлл. эксп. биол. мед., 1996, № 10.
9. Makarov V.V., Perzashkevich V.S., Sereda A.D., Vlasov N.A., Kadetov V.V. Immunological evaluation of virus components and approaches to protection against viral challenge for African swine fever. In: Third Congress of the Eur. Soc. Vet. Virol., Interlaken, Switzerland, 4-7 Sept., 1994.
10. Макаров В.В., Перзашкевич В.С., Середина А.Д., Власов Н.А., Кадетов В.В. Иммунологический алгоритм поиска протективных антигенов при вирусных инфекциях // Вестник Россельхозакадемии, 1995, № 6.
11. Середина А.Д., Макаров В.В. Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней // Ветеринария, 1992, № 1.
12. Середина А.Д., Анохина Е.Г., Фугина Л.Г., Макаров В.В. Серологические и физико-химические свойства ГП 110-140 вируса африканской чумы свиней // Ветеринария, 1993, № 1.
13. Анохина Е.Г., Середина А.Д., Митин Н.И., Макаров В.В. Антигенное различие изолятов вируса африканской чумы свиней в пределах одного серотипа по данным количественной радиоиммунопреципитации // Акт. вопр. вет. вирусол. Мат. научно-практ. конф. ВНИИВВиМ. Покров, 1995.
14. Макаров В.В., Бакулов И.А., Семенихин А.Л., Филиппов В.В. Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет // Вестник Россельхозакадемии, 1994, № 3.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПАРАЗИТИЗМ И ПРОТЕКТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ*

Вакцинопрофилактика служит надежным способом управления важнейшими эпизоотическими инфекциями (ящур, бешенство, болезни Ньюкасла и Ауески). Однако складывается определенная группа болезней, где типичен следующий закономерный комплекс:

- § *вакцины из убитого корпускулярного возбудителя неэффективны в защитном плане;*
- § *отсутствует нейтрализация возбудителя гуморальными антителами или, по крайней мере, нет коррелятивной связи между показателями гуморального иммунитета и иммунным состоянием организма;*
- § *иммунная защита вместе с тем возможна с помощью препаратов из антигенов, которые образуются при размножении возбудителя;*
- § *защита модифицированными вариантами живого возбудителя также возможна, но не за счет вакцинального процесса с известными требованиями к нему, а как результат персистенции и «хронического» присутствия модифицированного возбудителя в организме (нестерильный иммунитет).*

В качестве примеров можно привести бактериозы - туберкулез, листериоз, протозойные инфекции - малярию, тейлериоз, вирусозы - африканскую чуму свиней, геморрагические лихорадки.

Разработкой средств специфической профилактики занято большое число как научных работников, так и НИУ. Имеется богатейший экспериментальный материал частного значения. Однако крайне недостаточно синтетических работ, определяющих иммунологическую и паразитологическую стратегию исследований. Помимо трудоемких экспериментов, несомненно, необходимы общетеоретические, гипотетико-дедуктивные подходы, которые можно назвать, используя образное выражение В.М. Жданова, как «взгляд издали» [4].

* опубликована в журнале «Вестник Россельхозакадемии», 1994, 3, 45-49 совместно с И.А.Бакуловым, А.Л.Семенихиным и В.В.Филипповым. Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 94-04-12076.

Паразитизм и патогенность.

В таблице 1 представлены систематизированная ситуация относительно паразитизма живых патогенов, их уровни, типы, представители*. Очевидна правомерность тезиса о том, что далеко не все патогенные организмы - паразиты в истинном, экологическом смысле. Формируются большие, не имеющие преемственной связи группы организмов, патогенность которых реализуется за счет других возбудителей-паразитов (оппортунистические инфекции и микозы) или в условиях случайного и факультативного паразитизма их метаболиты оказываются токсичными для хозяина. Вызываемые ими болезни не способны к эпизоотическому распространению, заболеваемость, как правило, спорадична и энзоотична. В этом смысле им противопоставляются возбудители паразитозов - первичные, облигатные патогены и облигатные паразиты.

Паразитизм - явление экологическое, и его принято рассматривать с позиций межпопуляционных взаимодействий двух видов в рамках паразитарной системы. Очевидно, что возбудители сапронозов не соответствуют требованиям биосистемного функционирования. Однако как облигатные, так и прочие патогены инвазируют организм хозяина, и при этом также имеются вполне определенные закономерности, в частности, относительно их дальнейшего существования - в условиях циркулирующих систем, в межклеточных пространствах или внутри клеток.

В таблице 2 приведены характеристика явления внутриклеточного паразитизма патогенов и распространение феномена. Оказывается, что патогены разных систематических групп с различной физиологией (от простейших до вирусов) реализуют свой биологический потенциал именно на этом уровне. Более того, считается, что внутриклеточная среда в условиях организма является основным местом развития инфекционных процессов, вызываемых живыми патогенами [10]. Причем это

* исходя из контекста, мы ограничиваемся одноклеточными организмами и не рассматриваем многоклеточных - гельминтов, а также полостных, неинвазирующих паразитов типа *Amoeba* и *Trichomonas*, поскольку их взаимодействие с иммунной системой не дает протективных эффектов в тривиальном понимании.

Таблица 1.

| Уровни паразитизма | Потребности паразита (по нарастающей) | ПАТОГЕНЫ | | | | | |
|--------------------|--|--|--|-------------------------------------|---|---|---|
| | | Опportunистические | Факультативные | Облигатные | | | |
| | | Возбудители сапронозов | | | Возбудители паразитозов (зоонозов) | | |
| | | Сапрофиты или фитопаразиты | Сапрофиты или случайные паразиты | Факультативные паразиты | Облигатные паразиты | | |
| | | | | | Внеклеточные | Внутриклеточные | |
| | | | Факультативные | Облигатные | | | |
| Метаболический | N, C, источник энергии | <i>Candida</i> Кокциди- оиды <i>Aspergillus</i> | Псевдомонады Легионеллы | Вибрионы Иерсинии | - | - | - |
| | Аминокислоты, азотистые основания | | Протей Гистоплазмы Криптококки Бластомицеты | <i>Bac. anthracis</i> Лептоспиры | - | - | - |
| | Сложные, метаболически активные молекулы | - | - | Листерии | Трипаносомы Стрептококки Коринне- бактерии Микоплазмы | Бруцеллы Микобактерии Пастереллы Франсиселлы | Плазмодии Кокцидии Лейшмании Тейлерии Риккетсии |
| Энергетический | АТФ, НАД, кофермент А | - | - | - | - | - | Хламидии |
| Генетический | Условия живых клеток | - | - | - | - | - | Вирусы |

Таблица 2.

| Паразиты | | Клетки- хозяева паразита | Нозология |
|------------------------|---|--|--------------------------------------|
| Систематические группы | Типы, виды | | |
| ЭУКАРИОТЫ : | | | |
| Простейшие | Токсоплазмы Трипаномы Лейшмании Тейлери Плазмодии | Макрофаги и другие типы клеток Макрофаги Макрофаги Лимфоциты Макрофаги печени, эритроциты | Зоонозные протозойные инфекции |
| Грибы | Дрожжи Кокцидиоиды Гистоплазмы Криптококки | Макрофаги Макрофаги Макрофаги Макрофаги | Сапронозные микозы |
| Эубактерии | Бруцеллы Пастереллы Франсиселлы Микобактерии Шигеллы Сальмонеллы Легионеллы Листерии | Макрофаги Макрофаги Макрофаги Макрофаги Энтероциты, макрофаги Энтероциты, макрофаги Макрофаги Макрофаги | Зоонозные инфекции |
| Микоплазмы | Все виды | Разные типы клеток | Зоонозные инфекции |
| Риккетсии | Все виды | Разные типы клеток | |
| Хламидии | Все виды | Разные типы клеток | |
| Вирусы | Все виды | Разные типы клеток | |
| ПРОКАРИОТЫ : | | | |
| Бактерии | Бделловибрионы | Бактерии | Инфекции бактерий |

относится не только к облигатным внутриклеточным паразитам - вирусам, хламидиям, риккетсиям, некоторым *Protozoa*, но и большинству патогенных бактерий. Клеточные элементы системы мононуклеарных фагоцитов Ван Ферта, в силу особенностей своего функционирования и роли в физиологии организма являющиеся первым защитным рубежом, служат клеткой-хозяином в большинстве случаев внутриклеточного паразитизма. Эту роль могут выполнять и другие клеточные элементы эу- и даже прокариотической принадлежности. Популяции чувствительных клеток и микропопуляции живых патогенов реализуют важнейшие события в функционировании паразитарных систем не на экологическом (эпизоотический процесс), а на патогенетическом (инфекционный процесс) уровне, поэтому феномен внутриклеточного паразитизма в данном случае включает и непаразитические патогенные организмы.

Таким образом в условиях организма формируется своеобразная паразитарная микросистема (или подсистема), а характер патологии в этом случае определяется интересами этой биосистемы. Степень патогенности возбудителей и тяжесть течения болезней могут быть самыми разнообразными - от латенции патогена до сверхострых и фатальных исходов [1]. С другой стороны, для внеклеточных паразитов патология, как правило, не является клинически (или топически) типичной, а характеризуется сепсисом, гранулемами, абсцессами, что определяется особенностями взаимодействия возбудителей с организмом хозяина и реакциями на их инвазию и размножение, в основном, воспалительного, то есть общего, порядка. Такие явления обычны для межвидовых взаимодействий типа хозяин-необлигатный паразит, или вообще не паразитический, но патогенный организм.

Комплекс *клетка-паразит*.

Внутри клеток паразит существует в экстремальных условиях (по Moulder [13]). Здесь ограничено разнообразие сообитающих видов, то есть паразит живет в практически чистой культуре, развиваются новые, приспособительные свойства, которых нет у других организмов. Развитие этих приспособлений зависит от лимитирующих факторов экстремальных условий, а лимитирующие факторы являются абиотическими.

Вместе с тем внутриклеточная среда представляет исключительные выгоды для биологии паразита:

- § обеспечивает метаболические, энергетические и генетические потребности (см. таблицу 1);
- § предохраняет от действия защитных механизмов организма и различного рода неблагоприятных факторов (фагоцитоза, антител, бактериофагов, антибиотиков);
- § обуславливает особый (упрощенный) цикл развития, в частности, для необлигатных внутриклеточных патогенов (типичный пример - диморфные грибы).

Именно этим объясняются два первых момента приведенного в начале комплекса закономерностей. Паразит, персистирующий внутри клетки, недоступен для нейтрализации и прочего влияния иммунологических факторов, которые могут быть индуцированы им самим в корпускулярном виде.

Если рассматривать всю совокупность условий внутриклеточного паразитизма с эволюционно-экологических позиций, несомненно, наибольшее значение приобретает комплекс *клетка-паразит**. Этот комплекс в соответствии со всеми закономерностями общей паразитологии представляет собой заполненную экологическую микронишу, функционирующую во времени и пространстве. В принципе в жизненных интересах паразита - длительное существование такого комплекса, что и наблюдается в условиях персистентного течения болезней. Паразит меньше всего заинтересован в разрушении целостности клетки-хозяина и делает это только с целью ее смены. В пространстве, то есть в условиях определенных тканевых и органных систем организма, именно комплекс *клетка-паразит*, а не просто паразит *per se*, взаимодействует с окружением, с защитными механизмами и факторами прежде всего иммунологического порядка. Таким образом, этот комплекс оказывается в центре всех явлений патобиоза, обусловленных внутриклеточным паразитом, включая иммунный ответ организма.

* по аналогии с понятием, введенным R. Dulbecco (1965) для комплекса *вирус-клетка*.

Иммунология внутриклеточного паразитизма.

Комплекс *клетка-паразит*, несомненно, будет обладать своеобразными свойствами, в числе которых наиболее важны те, что определяют упомянутое взаимодействие с окружением. Несмотря на отсутствие достаточных научных фактов обобщающего характера*, об этом свидетельствуют данные о мембранных антигенах при репродукции вирусов [7], а также проявление ГЗТ при болезнях, вызываемых подавляющим большинством перечисленных в таблице 2 внутриклеточных патогенов [2, 5]. Антигенная модуляция клетки, несущей паразита, точнее модуляция мембраны зараженной клетки антигенами паразита, делает комплекс участником иммунологических реакций, и не только в условиях организма; существуют многочисленные тесты для подтверждения и оценки феномена *in vitro* [5].

Взаимодействие комплекса *клетка-паразит* с элементами иммунной системы, где в качестве материальных носителей выступают антигены паразита, экспрессированные в клеточных мембранах, и иммунологические эффекторы, имеет огромное эволюционное значение в биологии паразита и подчиняется правилам взаимодействия популяций *жертва-хищник* согласно уравнению Лотки-Вольтерра. Для вирусных инфекций явление описано нами ранее [8]. Эти пока чисто теоретические посылки в дальнейшем могут послужить основой для объяснения второй части приведенного в начале комплекса закономерностей.

В связи с этим представляется интересным рассмотреть возможности эффекторного звена иммунной системы. В таблице 3 показаны системы, компоненты и реакции. Оказывается, что эффекторный репертуар достаточно конкретен и ограничен: *пять* эффекторных систем с помощью *десяти* эффекторов обуславливают *четыре* стереотипные реакции, обезвреживающие патогенные элементы. В их числе только в одной реакции – цитолизе с участием цитотоксических Т-лимфоцитов-киллеров

* известное исключение составляет старая книга Дж. Моулдера «Биохимия внутриклеточного паразитизма» (М.: Мир, 1965), однако в ней не рассматриваются иммунологические аспекты и не ставится вопрос о новых, эмергентных свойствах клеток, содержащих паразитов.

Таблица 3.

| Эффектор- ные системы | Эффекторы (действующее начало, структурные компоненты) | Реакции с участием эффекторов | Обезвреживаемые агенты |
|---------------------------------------|---|---|---|
| 1. Клеточ- ный иммуни- тет | <p>Лимфоциты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Т-лимфоциты-киллеры (1) • естественные киллеры (2) • <i>0</i>-, <i>K</i>-, <i>L</i>-лимфоциты (3) <p>Лимфокины (4)</p> | <p>Антигенспецифические взаимодействия с клетками-мишенями:</p> <ul style="list-style-type: none"> • прямой цитоллиз (1) • прямой цитоллиз (1) • антителозависимый цитоллиз (1) <p>Неспецифические эффекты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • активация фагоцитоза (2) | <ul style="list-style-type: none"> • зараженные клетки • зараженные клетки • зараженные клетки • бактерии |
| 2. Гумо- ральный иммуни- тет | <p>IgG, IgM:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Fab</i> - фрагмент (5) • <i>Fab+Fc</i> - фрагменты (6) • <i>Fc</i> - фрагмент (6) | <p>Взаимодействие с антигенами:</p> <ul style="list-style-type: none"> • прямая нейтрализация (3) • опсонизация фагоцитоза (2) • активация комплемента с образованием МАК* (4) | <ul style="list-style-type: none"> • вирусы, токсины • бактерии, вирусы • клетки, бактерии, вирусы |

Продолжение таблицы 3.

| | | | |
|--|--|---|---|
| 3. Секреторный иммунитет | <i>IgA - Fab-фрагмент (5)</i> | Нейтрализация (3) | Вирусы, бактерии |
| 4. Система мононуклеарных фагоцитов | Бактерицидные факторы, гидролазы (7) | Фагоцитоз (2), в т.ч. активированный лимфокинами и опсонинами | Бактерии, вирусы |
| 5. Комплемент | <i>C1 - C3 (8)</i> <i>C1 - C4 (9)</i> <i>C5 - поли-C9 (C9₁₂) (МАК*) (10)</i> | Опсонизация фагоцитоза (2) Прямая нейтрализация (3) Комплементзависимый лизис биомембран (4) | Бактерии Вирусы Клетки, бактерии, вирусы |

* **МАК** - мембраноатакующий комплекс.

(ЦТЛ) - потенциально способны обезвреживаться структуры клеточного уровня организации. Поэтому, не вдаваясь в детальный фактологический анализ, можно отметить ряд общих моментов.

Во-первых, при всех патологических явлениях (микозах, инфекциях, включая протозойные) установлены и легко воспроизводятся прототипные реакции клеточного иммунитета, в частности ГЗТ [2, 5]. Уже одно это свидетельствует об антигенной модуляции мембран клеток, несущих паразитов, и участии последних во взаимодействиях с компонентами иммунной системы. *Во-вторых*, клеточный уровень эффекторных реакций против зараженных клеток, в отличие от молекулярного уровня реакций гуморального иммунитета с участием антител и компонентов системы комплемента, предусматривает своеобразный стереотипный иммуногенез. *В-третьих*, в этом стереотипе «задействованы» такие обязательные элементы и механизмы, как:

- § *антигены возбудителя, экспрессированные в мембране клетки;*
- § *ЦТЛ и асимметричное развитие эффекторного звена протективного иммунитета с их ведущей ролью;*
- § *интерлейкин-2 - медиатор, активирующий ЦТЛ;*
- § *антигены главного комплекса гистосовместимости, обуславливающие аллогенную рестрикцию действия ЦТЛ;*
- § *живая, цельная клетка-хозяин паразита как носитель антигенности, индуктор и объект иммунологической атаки (обезвреживаемый элемент).*

Прикладной аспект теории.

Для перечисленных в таблицах 1 и 2 представителей в большинстве случаев неизвестны протективные антигены, а полученные «вакцинные» препараты иммунологически не охарактеризованы в необходимой степени и в лучшем случае оценены лишь по максимально «укрупненному» показателю - защите от клинического проявления болезни. Многим присущ перечисленный в начале комплекс закономерностей. Наиболее типичный пример - последние данные по противостерийной вакцине из штамма АУФ [3]. (Исключение могут составлять анатоксины или вакцины, эффективность которых ориентированна

на антитоксический иммунитет гуморального типа или иной нейтрализующий иммунный ответ).

Вместе с тем несомненно, что внутриклеточный паразитизм должен обуславливать общность иммунного ответа по упомянутому стереотипу. И в самом деле, оказывается, что совершенно независимые таксономически и далекие представители индуцируют удивительно сходный иммуногенез, что может быть обусловлено только иммунологическими особенностями функционирования их в составе комплексов *клетка-паразит*. Существуют два весьма убедительных примера, иллюстрирующих ситуацию.

Во-первых, сотрудниками лаборатории биохимии ВНИИВВиМ при изучении иммунологии африканской чумы свиней показано наличие всех пяти упомянутых выше важнейших элементов и механизмов развития противоклеточного иммунитета при данной инфекции вирусной этиологии. Однозначно определена клетка-мишень вируса - макрофаг. Выделен и охарактеризован мембранный вирусный гликопротеин ГП 110-140, который обладает изолято(серотипо)специфическими свойствами и предполагается в качестве кандидата в протективные антигены [6, 9, 11].

Во-вторых, исследовательской группой W.Morrison в целях изыскания вакцин против тейлериоза установлены абсолютно те же элементы и механизмы противоклеточной защиты. В качестве клеток-мишеней *Theileria parva* постулированы лимфоциты *CD4* (хелперы), показан опосредованный моноклональными антителами лизис зараженных лимфобластоидных клеток *in vitro*, получена индукция иммунитета против *T. parva* плазматическими мембранами инвазированных лимфоцитов, выделен и охарактеризован поверхностный антиген спорозоида - гликопротеин *gp 67*, также предполагаемый кандидат в протективные антигены [12]. В обоих случаях, как для вируса африканской чумы свиней, так и для возбудителя протозойной инфекции, пригодны мембранные гликопротеины в качестве субъединичных вакцин или антигенов рекомбинантных вакцин в составе про- и эукариотических векторов.

С учетом изложенного общие подходы могут быть применены к иммунологии многих паразитозов. Становится возможной

концептуальная, а затем и экспериментальная разработка проблемы иммунологии внутриклеточного паразитизма прежде всего с практической целью создания научно обоснованных принципов их вакцинопрофилактики. Несомненно, это будет полезно также с точки зрения стратегии создания вакцин с использованием возможностей современной биотехнологии.

Литература.

1. Бакулов И.А., Макаров В.В. // Вестник с.-х. науки. 1990, № 7.
2. Беклемешев Н.Д. Иммунопатология и иммунорегуляция. М., Медицина, 1986.
3. Белоусов В.Е., Котляров В.М., Маничев А.А. и др. // Медико-ветеринарные аспекты листериоза. Тез. докл. научно-произв. конф., Покров, 1993.
4. Жданов В.М., Львов Д.К. Эволюция возбудителей инфекционных болезней. М., Медицина, 1984.
5. Иммунологические аспекты инфекционных заболеваний. Под ред. Дж. Дика. М., Медицина, 1982.
6. Колонцов А.А. Макаров В.В. // С.-х. биология. 1993, № 4.
7. Макаров В.В. // Вопросы вет. вирусол., микробиол., эпизоотол. Тез. докл. научн. конф., Покров, 1983.
8. Макаров В.В. // Проблемы вет. иммунол. М., 1985.
9. Макаров В.В., Малахова М.С., Власов Н.А. и др. // Доклады Россельхозакадемии, 1992, № 11-12.
10. Петровская В.Г. Проблемы вирулентности бактерий. М., Медицина, 1967.
11. Серeda А.Д., Макаров В.В. // Ветеринария. 1992, № 1.
12. McKeever D., Morrison W. // Rev. Sci. Tec. Off. Int. Epizoot., 1990, 9, № 2.
13. Moulder J. // J. Infect. Dis., 1974, 130, № 3.

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- ü **Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней**
- ü **Африканская чума свиней в Республике Маврикий**
- ü **Комментарий к современной ситуации по АЧС**

ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ЭВОЛЮЦИИ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

Впервые африканская чума свиней упоминается исследователями в 1903-1905 гг. В 1921 г. R.Montgomery [26] на основании экспериментов, проведенных в 1910-1915 гг. в Кении, подробно описал природу АЧС, установил вирусную этиологию, иммунологическое отличие от классической чумы свиней, механизм передачи, круг хозяев возбудителя. Позднее была определена восприимчивость диких африканских свиней к АЧС с вирусемией без клинических признаков болезни [16].

Первый этап естественной истории АЧС охватывает период до 1957 г., когда нозоареал ограничивался африканским континентом (таблица 1). Здесь регулярно наблюдали спорадические случаи (нередко массовые) острого течения болезни с летальностью до 100%. Вспышки в основном возникали в экологической связи с природными очагами болезни, то есть при контактах ввезенных свиней культурных пород с африканскими дикими свиньями различных видов или средой обитания последних. Эпизоотологической связи между отдельными вспышками АЧС среди домашних свиней не наблюдали, так как не существовало условий для циркуляции возбудителя среди этих животных из-за их относительной малочисленности и рассредоточенности на континенте [1, 10, 16].

До 1957 г. были развиты основные положения R.Montgomery, касающиеся природы АЧС, важнейшие из которых - уникальность возбудителя, отсутствие серологической, пассивной защиты, высокий процент вирусоносителей среди реконвалесцентов, иммунологический плюралитет вируса и роль диких представителей семейства Suidae как его природных резервуаров.

* Опубликовано совместно с И.А.Бакуловым в журнале «Вестник сельскохозяйственной науки», 1990, 3, 46-55.

Таблица 1. Основные естественно-исторические этапы мирового распространения АЧС и их характеристика¹

| Этапы | Годы | Нозоареал | Характер и интенсивность эпизоотического процесса | Эпизоотологические данные | | | |
|-----------|--------------|----------------------------------|---|--|--|---------------------------------|-------------------------|
| | | | | Регионы распространения | Сроки, первоначальная регистрация (годы) | Общее число очагов ² | Результаты борьбы с АЧС |
| <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> | <i>6</i> | <i>7</i> | <i>8</i> |
| I | До 1957 | Субэкваториальная и Южная Африка | Природная очаговость, спорадические вспышки | Кения, ЮАР, Центральная Африка | С 1909 | 300 | Не ликвидирована |
| II | 1957-1970 | Субэкваториальная и Южная Африка | Природная очаговость, спорадические вспышки | Ангола, Мозамбик, Кения, НР Конго, Малави, ЮАР и др. | С 1909 | > 500 | Не ликвидирована |
| | | Южная Европа | Эпизоотии, панзоотия 1957-1960 гг. | Португалия-1 | 1957-1958 | 470 | Ликвидирована |
| | Португалия-2 | | | С 1960 | 11 600 | Не ликвидирована ³ | |
| | Испания | | | С 1960 | 7 500 | Не ликвидирована ³ | |
| | Франция-1 | | | 1964 | 10 | Ликвидирована | |
| | Франция-2 | 1967 | 1 | Ликвидирована | | | |
| Италия-1 | 1967-1968 | 200 | Ликвидирована | | | | |

Продолжение таблицы 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-----|-----------|---|---|--|-----------|---------------------|------------------------------------|
| III | С 1970 | Субэкваториальная и Южная Африка | Природная очаговость, спорадические вспышки | Ангола, НР Конго, Мозамбик, Малави, Кения и др. | С 1909 | 450 ⁴ | Не ликвиди- рована |
| | | Южная Европа, зона Карибского бассейна, Южная Америка | Эпизоотии, панзоотия 1978-1980 гг., формирование антропургических очагов и новых эндемичных зон | Португалия-2 | С 1960 | 12 000 ⁴ | Не ликвиди- рована ³ |
| | | | | Испания | С 1960 | 8 500 ⁴ | Не ликвиди- рована ³ |
| | | | | Куба-1 | 1971 | 36 | Ликвиди- рована |
| | | | | Франция-3 | 1974 | 10 | Ликвиди- рована |
| | | | | Мальта | 1978-1979 | 720 | Ликвиди- рована |
| | | | | Италия-2 | С 1978 | 250 | Не ликвиди- рована |
| | | | | Бразилия | 1978-1983 | 240 | Ликвиди- рована |
| | | | | Доминиканская Республика | 1978-1980 | 280 | Ликвиди- рована |

Продолжение таблицы 1

| <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> | <i>6</i> | <i>7</i> | <i>8</i> |
|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------------|--------------------|
| | | | | Гаити | 1978-1981 | + ⁵ | Ликвиди- рована |
| | | | | Куба-2 | 1980 | 60 | Ликвиди- рована |
| | | | | Бельгия | 1985 | 9 | Ликвиди- рована |
| | | | | Голландия | 1986 | 1 | Ликвиди- рована |

¹ Используются данные официальной статистики ФАО/ВОЗ/МЭБ.

² Общее число зарегистрированных очагов болезни в течение каждого естественно-исторического этапа.

³ В результате многолетней кампании по контролю АЧС на Иберийском полуострове не регистрируется с конца 1990 гг.

⁴ Общее число зарегистрированных очагов болезни с 1971 по 1985 гг.

⁵ Несмотря на широкое распространение, в Гаити число очагов болезни не определено.

Однако новая болезнь мало заинтересовала специалистов, занимающихся свиноводством, хотя уже тогда имелись серьезные предостережения об угрозе заноса АЧС в страны, связанные с неблагоприятными регионами Африки воздушными и морскими коммуникациями [1, 10, 16].

Второй естественно-исторический этап - «выход» АЧС за пределы природного африканского нозоареала и распространение болезни на Иберийском полуострове, а также в ряде сопредельных регионов Европы. Он ограничивается по времени первым заносом возбудителя АЧС в 1957 г. в Португалию и началом его дальнейшего, трансатлантического распространения в Западное полушарие в 1971 г. В начале этого этапа болезнь дважды (1957 и 1960 гг.) была импортирована в Португалию из стационарно неблагополучной Анголы. Если первую вспышку в 1957 г. (прототипный изолят Lisbon-57) ликвидировали, то после 1960 г. вирус нового иммунологического типа (изоляты Lisbon-60, PO-70, FRA-64, ITA-67 и др.) укоренился и циркулирует постоянно до настоящего времени в Испании и Португалии с периодическим выносом в такие страны и регионы, как Франция, Италия, острова Средиземного моря. Группа изолятов вируса АЧС данного периода известна как «европейская» [1, 42].

Здесь АЧС рассматривается не как экзотическая природно-очаговая болезнь, а как эпизоотия в культурном свиноводстве. Ее возбудитель приобрел иной, новый и своеобразный тип циркуляции исключительно среди домашних свиней с вовлечением факторов передачи, типичных для инфекционных болезней этих животных. Важнейшей особенностью АЧС того этапа стала быстрая эволюция течения болезни от острых к подострым, хроническим, атипичным формам со становлением длительного, очевидно, пожизненного вирусоносительства. Крайне осложнилась в связи с этим диагностика [1, 17].

Эпизоотии АЧС в Европе, начавшиеся с 1960 г. и «сделавшие» иберийскую зону энзоотичной, вызвали тревогу во многих странах. Они стали предметом особых обсуждений МЭБ/ФАО. В 1964 г. в рамках Общего рынка был создан специальный комитет экспертов по классической и африканской чуме свиней, регулярно публикующий материалы консультативных совещаний [19, 33, 34, 35]. Широкие исследовательские работы предприняты в Испании,

Португалии, Франции, США. В СССР по инициативе и под руководством академика ВАСХНИЛ Я.Р.Коваленко в ВИЭВ (1964-1970 гг.) были изучены многие аспекты эпизоотологии, патогенеза, патологической анатомии АЧС и общие свойства возбудителя [1].

Третий, современный этап естественной истории АЧС охватывает:

- § стационарное неблагополучие традиционных природно-очаговых нозоареалов Африки (разнообразные изоляты вируса из Родезии, Кении, Уганды, Малави, Танзании);
- § эпизоотии и отдельные вспышки болезни в Испании и Португалии вплоть до настоящего времени, во Франции (1974 г.), Италии (1978-1984 г.), на острове Мальта (1978 г.), в Бельгии (1985 г.), Голландии (1986 г.) - изоляты Barcelona-78, SAR-82, MAL-78 и другие «европейской» группы;
- § двукратное пересечение Атлантического океана и эпизоотии на Кубе (1971, 1980 гг.), в Бразилии (1978-1979 гг.), Гаити (1978-1981 гг.) и Доминиканской Республике (1978-1980 гг.) - изоляты BRA-78, DR-79, HT-81 также «европейской» группы [17, 33, 42].

Сложившееся положение, с учетом распространения болезни в странах обоих полушарий и наличия нескольких тысяч эпизоотических очагов в 1978-1980 гг., заставляет думать о высшей степени напряженности эпизоотической ситуации и интенсивности эпизоотического процесса при АЧС на современном этапе - **панзоотии**. Возбудитель полностью адаптировался к системам домашнего свиноводства, особенно экстенсивного, с использованием мелкотоварного или свободного пастбищного содержания животных и широким применением городских, транспортных, боенских и других пищевых отходов для их кормления. Примечательно, что в странах Европы и Западного полушария циркулирует вирус АЧС, относящийся к «европейской» группе и характеризующийся умеренной вирулентностью, что дает веские основания предполагать эпизоотологическую связь между АЧС в странах Европы, Центральной и Южной Америки [1, 17, 42, 43].

В семидесятых годах научная работа по АЧС была значительно активизирована с привлечением новых исследовательских учреждений и созданием референсного центра в Мадриде. В настоящее время получены принципиально новые данные в области биологии, биохимии, генетики вируса, частной патологии, эпизоотологии, иммунологии и др. [17, 33, 43].

Круг хозяев. Исследования R.Montgomery [26] постулировали исключительно высокую, 100% восприимчивость к инфекции свиней домашних пород. На первом этапе естественной истории АЧС стало ясно, что источниками возбудителя служат дикие африканские свиньи, так как большинство случаев болезни среди импортируемых свиней было так или иначе экологически связано с их контактами с дикой фауной. Вирус выделен от животных трех видов - бородавочников (многократно), кустарниковых (значительно реже) и гигантских лесных свиней (в одном случае). Многие исследователи экспериментально заражали диких африканских свиней и установили их восприимчивость. Болезнь протекала без клинических признаков, только с длительной вирусемией, в отличие от остро лихорадочной контагиозной с коротким течением, обширными поражениями и чрезвычайно летальной АЧС у домашних свиней. Несмотря на это, сделана важная оговорка, что скрытая естественная инфекция среди представителей дикой фауны может протекать иначе, чем в эксперименте, неизвестны кругооборот вируса и пути его передачи от диких домашним животным [1, 16, 17, 26, 41].

Дикий европейский кабан, встречающийся повсеместно на территории всей Европы, оказался в эксперименте чувствителен к АЧС, возбудитель передавался при совместном содержании с больными животными и поедании инфицированного корма. Болезнь развивалась так же, как у домашних свиней. Аналогичным образом восприимчивы дикие свиньи, обитающие на юге США. Их популяция во Флориде, начавшая свое формирование со времен первых поселенцев XVI в., превышает количество домашних свиней и насчитывает сейчас свыше 500 000 голов, расселена по всему штату и считается важным объектом внимания туризма, охоты, торговли и т. п. Вместе с тем оказался устойчивым к АЧС распространенный в Западном полушарии американский ошейниковый пекари, также из семейства Suidae, чувствительный ко многим вирусным болезням свиней [13, 17, 24].

Восприимчивость позвоночных животных других видов, обитающих в Африке (гиппопотамы, дикобразы, гиены, шакалы, львы, обезьяны), домашних и синантропных (лошади, крупный рогатый скот, овцы, козы, собаки, кошки, мыши, куры, голуби), лабораторных (морские свинки, белые мыши, кролики) оказалась отрицательной или не подкреплена достаточными

доказательствами [1, 16, 41]. Таким образом, круг позвоночных хозяев вируса АЧС ограничивается домашними и (с определенными исключениями) дикими свиньями.

Важный момент в экологии вируса АЧС - открытие C.Sanchez-Botija в 1963 г. [36] способности аргасовых клещей (в частности, *Ornithodoros erraticus*) воспринимать и передавать вирус домашним свиньям, что послужило основанием для отнесения возбудителя АЧС к экологической группе арбовирусов. Восприимчивость к вирусу АЧС оказалась уникальной для клещей *Ornithodoros* spp, так как все остальные исследованные представители иных родов кровососущих и жалящих членистоногих не обладали такой способностью [1, 17, 40]. Впоследствии в работах W.Plowright et al. в 1969-1974 гг. установлены сроки персистирования, локализация и уровни размножения вируса АЧС в организме орнитодорин, трансвариальная, трансфазовая и половая передача с эффективностью 55-88% [14, 31]. Помимо европейского вида *O. erraticus* показана аналогичная восприимчивость *O. moubata/porcinus* в Африке, *O. turicata*, *O. coriaceus* - в США и *O. puertoricensis* - в Карибском регионе [13, 17, 41].

Экспериментальные данные о восприимчивости к вирусу АЧС диких свиней и аргасовых клещей подтверждаются показателями превалентности вирусоносительства или серопозитивности в Африке. Выборочные данные свидетельствуют, что из трех упомянутых видов африканских диких свиней преобладающее значение имеют бородавчники, 40% среди них в Восточной и Южной Африке - вирусоносители и до 75% - серопозитивные. Все крупные неблагополучные популяции бородавчников инфицированы более чем на 80%. В этих регионах выявляется 0,6-5,1 % инфицированных клещей [31, 39, 41].

Следует отметить неожиданный интерес исследователей к вирусу АЧС, предположительно играющему роль этиологического фактора в индукции синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) у людей. Отмечено поразительное совпадение между АЧС и СПИД'ом в географическом, хронологическом распространении (Центральная и Восточная Африка, Бразилия, Гаити) и экстенсивной симптоматологии. Хотя данные серологического анализа неоднозначны, вопрос продолжает обсуждаться [5].

Способы распространения. Как справедливо указывали Я.Р.Коваленко и соавт. [1], не вызывает сомнений факт, что в условиях Африки дикие свиньи - основной резервуар вируса АЧС, а домашние свиньи заражаются от них. АЧС в том эпизоотологическом стереотипе, который наблюдается в Европе и Америке, принято относить к инфекциям с алиментарным механизмом передачи возбудителя [3]. Также справедливо, что «эпизоотология АЧС имеет ряд особенностей, зависящих не только от биологии возбудителя, но и от условий ведения свиноводства и среды обитания восприимчивых животных» [1]. В развитие этих важнейших положений реализация эпизоотического процесса при АЧС выражается четырьмя принципиально различными типами [2].

Во-первых, вирус АЧС циркулирует среди африканских диких свиней в соответствии со всеми закономерностями, присущими природно-очаговым болезням, вызывая у них состояние бессимптомного переболевания с продолжительной персистенцией возбудителя. Исторически неопределенно длительное время вирус эволюционировал в этом цикле, в результате чего сформировались природные очаги АЧС в ареалах африканских диких свиней, последние стали естественными хозяевами и резервуарами вируса без видимого ущерба для их биологии. Совпадение ареалов инфицированных диких свиней и восприимчивых клещей комплекса *O. moubata/porcinus* в традиционно неблагополучных по АЧС регионах Восточной, Южной и Центральной Африки наводит на мысль о трансмиссивном механизме кругооборота вируса в природных очагах с участием переносчиков в качестве вектора, тем более, что непосредственной горизонтальной передачи вируса среди диких свиней никогда не наблюдали [1, 17, 41].

Однако в целом низкие уровни вирусемии у инфицированных бородавочников, недостаточные для эффективной трансмиссии кровососущими членистоногими по аналогии с кругооборотом типичных арбовирусов, относительно небольшой коэффициент инфицированности клещей, их отсутствие в некоторых неблагополучных по АЧС регионах Западной Африки оставляют под вопросом однозначное определение механизма передачи вируса среди диких свиней [31].

Нельзя исключить вероятность его паравертикального распространения от родителей потомству по типу, например,

вируса лимфоцитарного хориоменингита мышей (ЛХМ) и ряда других инфекций с сообщением «расщепленной» толерантности новорожденным по Notchin. Это могло бы объяснить характер преимущественно бессимптомного течения АЧС у бородавочников [20].

Во-вторых, вирус передается из природных очагов от диких свиней домашним. Поскольку подавляющее большинство первичных вспышек острого течения АЧС среди последних экологически связано с местами обитания инфицированных бородавочников и распространения болезни удавалось легко избежать, ограничивая выпасы домашних свиней огражденными территориями, то, вероятно, в этих условиях происходит горизонтальная передача возбудителя без участия переносчиков. Как полагали Я.Р.Коваленко и соавт. [1], домашние животные на пастбищах заражались от контаминированных растений, почвы и т.п. путем попадания возбудителя в организм при дыхании, через поврежденную кожу, слизистые и т.д. Однако заразительность бородавочников-вирусоносителей при контактах как в эксперименте, так и в полевых условиях проблематична и ее не удавалось наблюдать никому, равно как и случаев острой АЧС у диких свиней с активным вирусомыделением [41]. Поэтому в данном случае с учетом низкой активности инфицированных бородавочников в качестве источников вируса механизм передачи возбудителя АЧС остается окончательно невыясненным.

Результаты распространения вируса по направлению от диких свиней к домашним на первом этапе естественной истории не выходили за рамки последствий эпизодического выноса болезни из пределов природных очагов и выражались во вспышках острой АЧС, что служило своеобразным индикатором активности циркуляции возбудителя в природе. Однако в середине 70 гг. С.Ф.Чевелевым и др. [6] в Народной Республике Конго установлено принципиально важное явление - широкое бессимптомное носительство вируса АЧС домашними свиньями местных пород с высоким коэффициентом инфицированности (более 40%). Оказалось, что реализация данного типа эпизоотического процесса в условиях Африки на современном этапе характеризуется не только эпизодическим выходом возбудителя из природных очагов, но его прогрессирующим

внедрением в домашнее свиноводство, формированием и существованием сейчас наряду с природным сходного с ним самостоятельного антропоургического цикла. В связи с бессимптомным переболеванием заразительность инфицированных аборигенных свиней-вирусоносителей в НР Конго в эксперименте, так же как и среди бородавочников, не была определена, поэтому механизм антропоургической циркуляции вируса остался неизвестен [6].

В-третьих, вирус АЧС распространяется без непосредственного участия источника возбудителя инфекции антропогенным путем в результате транспортировки контаминированных продуктов, главным образом консервированной свинины от инфицированных животных, и последующего попадания их в корм свиньям. Этому способствует высокое содержание вируса в мясе вынужденно убитых животных (6-9 lg инфекционных единиц в 1 грамме), традиционное нетермическое консервирование свинины, сохраняющее вирус без снижения активности неопределенное время [1, 36]. Таким способом возникали, очевидно, все первичные острые вспышки АЧС в ранее благополучных регионах независимо от расстояния и географического расположения. Таким же антропогенным путем происходит распространение АЧС после первичного заноса по благополучной зоне, причем масштабы и скорость в обоих случаях непредсказуемы [1, 10, 16]. Например, в Бразилии в течение только 1978-1979 гг. болезнь была распространена по 18 штатам [21, 30]. На север Италии АЧС в 1983 г. занесена фермером-свиноводом с мясом кабанов, добытым им на охоте на территории неблагополучной Сардинии [13].

Здесь несомненна алиментарная передача возбудителя инфекции. При этом способы и обстоятельства «достижения цели» варьируют от нелегального контрабандного импорта и охотничьих трофеев до кражи мяса подопытных животных в лабораториях [1, 2, 41].

Наконец, *в-четвертых,* вирус АЧС распространяется в «неафриканском» нозоареале горизонтально перезаражением домашних свиней при совместном содержании, перевозках и прочих контактах или через факторы передачи при развитии

эпизоотии в процессе эволюции болезни от острых к персистентным формам течения в условиях домашнего свиноводства. В отличие от иных типов эпизоотической процесс здесь обычный для инфекционных болезней свиней, налицо все три звена традиционной эпизоотической цепи. Циркуляция вируса независима от природного цикла и других способов реализации эпизоотического процесса, по сравнению с ними осуществляется значительно быстрее, что имеет важное значение для эволюции возбудителя.

Судя по данным полевых наблюдений и изучению патогенеза, больные острой формой АЧС свиньи становятся заразительными за 1-2 дня до начала лихорадочной реакции. Вирус экскретируется в больших количествах вплоть до их гибели. Хронически больные и вирусоносители выделяют очень мало вируса, их секреты и экскреты через 1-2 недели после исчезновения клинических признаков практически неинфекционны, и передача возбудителя, эффективная при контакте с больными острой АЧС, от них крайне редка [1, 2, 3, 16].

Вирус попадает в организм через ротовую или носовую полость (оро-назально) после проглатывания или вдыхания инфицированного материала. Местом внедрения служит лимфатическая система пищеводно-глоточной области, а первичная инфекция локализуется в миндалинах и подчелюстных лимфоузлах. Возможно проникновение вируса через нижнюю часть респираторного тракта [18, 23]. На определяющую роль в проникновении вируса в организм миндалин и эпителия верхних дыхательных путей при данном типе распространения АЧС указывает тот факт, что инфицирующие дозы при интраназальном заражении минимальны; заражение с кормом воспроизводится в 100 раз и более высокими дозами вируса [1, 23, 32].

В целом механизм горизонтальной передачи возбудителя инфекции при АЧС в условиях домашнего свиноводства менее активен, чем при классической чуме. Диффузия вируса в стаде после первичного заболевания единичных животных относительно медленная. От первых случаев падежа, нередко не выходящих за рамки обычного и остающихся вне подозрения на АЧС, до «чумы» в истинном, драматическом смысле проходит не менее 1.5-3 месяцев, то есть несколько прогрессивно нарастающих циклов заражения, чередующихся с периодами мнимого благополучия [9].

Эволюция. Исходным моментом эволюции АЧС служит первый этап ее обозреваемой естественной истории, характеризующийся двумя альтернативными и противоположными по выражению формами течения - бессимптомной, длительной «уравновешенной» персистенцией возбудителя у диких свиней в природных очагах и острой фатальной со 100% летальностью болезнью при вспышках у домашних свиней в Африке. Поэтому эпизоотические штаммы вируса, выделенные в этой ситуации (например, Tengani, Hinde), наиболее вирулентны [1, 15, 26, 32, 39].

Впоследствии при распространении эпизоотии АЧС среди домашних свиней, особенно вне африканского нозоареала, с реализацией эпизоотического процесса четвертого, «ускоренного» типа болезнь эволюционировала в направлении прогрессивного увеличения количества животных, переболеваящих подостро и хронически, или увеличения продолжительности жизни, супрессии клинических признаков и т.п. Так, в Испании через два года после заноса АЧС выявляли домашних свиней-вирусоносителей [1, 17]. В целом «внеафриканские» штаммы вируса отличаются умеренной вирулентностью и вызывают летальную АЧС, например, в 44% случаев для «бразильского» и в 3-10% - для позднего «доминиканского» изолятов [1, 25, 28].

Эволюция АЧС, судя по анализу развития эпизоотической ситуации и вышеизложенным экологическим аспектам, идет по пути формирования независимого антропургического цикла со становлением популяционного равновесия между вирусом и домашними свиньями по типу бессимптомного вирусоносительства среди аборигенных свиней, установленного С.Ф.Чевелевым в НР Конго [6]. Возможно, что такого рода циклы сложились в Иберийском регионе (при серологическом обследовании внешне благополучных хозяйств или убойных свиней в настоящее время выявляется 0.75-5.7% серопозитивных) и формируются в Бразилии, где аналогичные показатели колеблются от 0,008 до 0,9% [4, 22, 27]. Выделяемые в антропургических очагах АЧС изоляты вируса являются изначально авирулентными, как правило, нередко негемадсорбирующими и прогрессивно ревертируют по мере пассирования их на свиньях в лабораторных условиях [38].

Скорость эволюции болезни, направленной таким образом, оказалась необычно высокой. Так, в Гаити в 1978 г. по мере

развития эпизоотии смертность с 80-100% в начале снизилась до 3-10% в течение нескольких недель [28]. Столь резкое изменение вирулентности возбудителя в полевых условиях и чрезвычайно короткий срок *a priori* логически подразумевают, что механизм этого явления не может быть обусловлен обычным мутационным процессом или естественной селекцией в организме животных под влиянием традиционных иммунных и т.п. факторов среды обитания с прогрессивной постепенной перестройкой генофонда популяции, например, за счет резерва мутационной изменчивости. Его основу, вероятно, составляет изначально выраженная гетерогенность возбудителя, вызывающего в одном цикле у разных животных всю гамму форм проявления болезни - от острой летальной до бессимптомной персистенции. Об этом свидетельствует общее свойство всех изолятов последнего времени («европейской» группы) вызывать не 100% летальность, а подострое, хроническое течение АЧС [28, 29].

По существующим правилам борьбы с болезнью все очевидно: больные животные уничтожаются и тем самым ликвидируется наиболее вирулентная часть популяции возбудителя, а «персистентные» клоны остаются замаскированными в организме скрыто больных свиней. Можно предположить, что быстрый непреднамеренный «искусственный» отбор таким путем ослабленных клонов вируса из исходно гетерогенной по вирулентности популяции - отличительная черта эволюции АЧС в плане традиционных представлений о естественной изменчивости возбудителей инфекционных болезней. Иными словами, предсуществующая гетерогенность и искусственный отбор противопоставляются мутационному процессу и естественной селекции в качестве альтернативного механизма обеспечения быстрого образования новых разновидностей возбудителя и перехода течения болезни от острого к персистентному как генерального направления эволюции явлений инфекционной патологии.

Наряду с общими закономерностями, в эволюции АЧС, вероятно, могут быть явления обратного порядка. Нельзя исключить, что замаскированные в организме скрыто больных, вирусоносителей и т.п. «персистентные» варианты способны и в полевых условиях восстанавливать или усиливать вирулентность, а также другие свойства, как это происходит в лаборатории при

серийных пассажах вируса на свиньях и в культуре клеток [1, 12]. Настораживает в этом отношении обнаружение положительных по АЧС сывороток свиней в Бразилии, собранных в 1976 г., то есть задолго до первых вспышек болезни в мае 1978 г., кроме того, сомнительность эпизоотологической связи всех эпизоотических очагов в стране с первоначально обнаруженными в штате Рио-де-Жанейро [30].

Персистентные формы инфекции. По мнению W.Hess [17], ни один из первых исследователей не задумывался глубоко над потенциальной опасностью подострой и хронической форм АЧС. Тем не менее, так называемые выздоровевшие животные, оставшиеся пожизненными носителями вируса, упоминаются в ранних работах. Это показывает, что домашние свиньи давно проявили способность «уживаться» с АЧС. До 1974 г. исследовано лишь ограниченное количество таких животных: у них отмечали при внешнем клиническом благополучии постоянную или циклическую вирусемию, на вскрытии - интерстициальную отечную пневмонию, перикардит и гиперплазию лимфоидных органов [10, 16, 17]. Впоследствии, как свидетельствуют данные по эволюции возбудителя, роль персистентных форм течения АЧС прогрессивно возрастала. Чрезвычайные меры борьбы с инфекцией, основанные на депопуляции восприимчивых животных и жестком ограничении клинически очевидного биологического цикла возбудителя, сформировали причинно-следственные связи с эволюцией АЧС в направлении скрытого эпизоотического процесса. При таких условиях, так же как и при сбалансированном природном цикле, неопределенно длительная персистенция возбудителя значительно увеличивает потенциальный период заразительности. В связи с этим по всем законам функционирования паразитарных систем, как следствие, происходит обратно пропорциональное сокращение статистически необходимой численности восприимчивой популяции хозяина - персистенция экологически «выгодна» для возбудителя АЧС.

В настоящее время персистентная инфекция служит основным механизмом сохранения вируса АЧС в энзоотических зонах по аналогии с природными очагами. Специальными экспериментами и наблюдениями показано, что титр вируса в крови и органах персистентно инфицированных домашних свиней и

бородавочников на несколько порядков ниже, чем при острой АЧС [1, 10, 32]. Чувствительные свиньи, контактировавшие с персистоно инфицированными животными, в том числе бородавочниками, не подвергались заражению. Однако даже в тех случаях, когда вирус в тканях таких животных не могли определить доступными культуральными методами, скармливание или инокуляция тканевых гомогенатов вызывали заболевание АЧС, то есть они потенциально активны как источник возбудителя инфекции [23, 25, 41].

Истинное распространение персистоно течения АЧС определить весьма сложно, и количественная эпизоометрическая оценка его значения дается только в предположительной форме. Причиной этому служит тот факт, что нехарактерные в данном случае клинические признаки (общее ухудшение состояния, отставание в развитии, иногда чешуйчатая кожа, опухание суставов конечностей) и патологоанатомические изменения не учитываются диагностикой. Имеющиеся данные литературы свидетельствуют, что персистоно инфицированные, особенно выздоровевшие от АЧС животные остаются пожизненными вирусоносителями - явление, характерное для ряда типичных персистоно вирусных инфекций [11, 17, 20]. Принципиально важно, что именно в этих условиях происходит модификация вируса АЧС, а также создается разнообразие компонентов вирусной популяции, «подставляемой» под действие разных факторов естественного или непреднамеренного «искусственного» отбора. Этот механизм обуславливает циклическую природу лихорадки и вирусемии при персистоно тении АЧС, то есть периодичность активизации инфекционного процесса и функционирования таких животных как источников возбудителя. Таким образом, свойства изолята вируса АЧС, выделенного в конкретный период, определяются той разновидностью возбудителя, которая доминирует в это время.

Экономика. На современном этапе принадлежность АЧС к особо опасным конвенционным инфекциям и острая актуальность ее изучения обуславливаются главным образом не ссылками на малую изученность, эпизоотологические или иные особенности, а связанными с ее глобальным распространением возросшими *экономическими проблемами и социальными последствиями*. Хотя непосредственные потери от гибели больных животных, как

правило, не столь велики, колоссальных сумм ущерб достигает при организации и осуществлении мероприятий по искоренению болезни за счет депопуляции, то есть убоя всех свиней на больших сопредельных с неблагополучной зоной территориях, компенсационных выплат, карантинных ограничений, экспортных запретов [2, 8, 33]. Количественные данные, характеризующие материальные затраты в отдельных странах и регионах на контроль, ликвидацию АЧС, восстановление поголовья свиней и другие статьи, приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. Поголовье свиней, ликвидированное при вспышках и эпизоотиях АЧС в некоторых странах и регионах в 1967-1985 гг. [2, 30, 33].

| Страна, регион | Годы | Количество убитых свиней (тысяч голов) |
|---|-------------------|---|
| Италия | 1967, 1978 | 100 |
| Республика Куба | 1971 | 500 |
| | 1980 | 166 |
| Доминиканская Республика и Гаити | 1978-1979 | 1 000 |
| о. Мальта | 1978 | 80 |
| Бразилия | 1978 | 100 |
| Бельгия | 1985 | 32 |

Таблица 3. Убытки от АЧС в некоторых странах и регионах в 1957-1983 гг. [2, 30, 33].

| Страна, регион | Годы | Убытки (млн долларов) |
|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| Португалия | 1957-1977 | 18 |
| | 1979-1983 | 36 |
| Испания | 1960-1983 | 383 |
| Италия | 1967, 1978 | 5 |
| о. Мальта | 1978 | 29.5 |
| Доминиканская Республика | 1978-1979 | 43.3-78.3 |
| Бразилия | 1978 | 27.6 |

Подсчитано, что в целом на борьбу с АЧС в течение последних лет затрачивалось 100 млн долларов ежегодно [33]. В специальном исследовании-проекте по оценке риска заноса АЧС в штат Флорида (США) указывается, что в случае возникновения болезни в стране ущерб за 10 лет составит 560 млн долларов (для сравнения можно назвать сумму бюджета всего животноводства США - 50 млрд долларов) [8]. Угроза АЧС сдерживает развитие свиноводства в Африке, где до сих пор на всем континенте насчитывается 1.2 % мировой популяции свиней [41].

Особо тяжелые, многофакторные последствия имела эпизоотия АЧС в Бразилии, начавшаяся в 1978 г. Сложившаяся ситуация может служить примером беспрецедентного социально-экономического влияния эпизоотии АЧС на существование крупного государства в случае заноса и распространения этой инфекции. Правительство страны ранее предпринимало специальные меры по расширению свиноводства как отрасли производства пищевого белка, дающей большие экономические выгоды перед другими в себестоимости и быстром снабжении населения, а также имеющей социальные преимущества вследствие обеспечения высокорентабельной занятости значительного количества мелких собственников в сельскохозяйственных районах. Как известно, сейчас Бразилия - четвертое в мире государство по численности свиней (40 млн голов) и экспортирует ежегодно 12 338 тонн свинины на сумму свыше 20 млн долларов. В этой отрасли хозяйства занято около 2 млн населения [21, 22, 33].

Эпизоотии АЧС сопровождалась сокращением на 40% потребления свинины на внутреннем рынке и прекращением ее экспорта, эмбарго некоторыми странами на другие продукты животноводства и даже растениеводства, в частности, соевые бобы и бананы. Ущерб от принятых мер по борьбе с АЧС на первом этапе при чрезвычайных обстоятельствах (депопуляция, эмбарго импортеров и др.) значительно превышал выгоды (соотношение 3.25:1). Лишь во второй фазе искоренения болезни, основанной на серологическом обследовании, баланс приобрел положительное значение (1:1.62). Чрезмерное поступление свиней на перерабатывающие предприятия для вынужденного убоя, вследствие этого значительное превышение поставок свинины на внутренний рынок над сократившимся спросом на нее и резкое падение цен привели к ухудшению материального состояния

предпринимателей и населения страны, занятых в области свиноводства, увеличению уровня безработицы, банкротству мелких фермеров и т.п. [30, 33].

Изложенные обстоятельства обосновывают несомненную актуальность проблемы в настоящее время. Наряду с ящуром АЧС за последние годы стала экономически наиболее важной в числе прочих конвенционных болезней сельскохозяйственных животных. На фоне колоссальных убытков вполне оправданны сравнительно небольшие расходы на научные исследования даже с учетом их прогрессивной интенсификации [7, 33].

Осуществление международной кооперации исследований по АЧС, планы совместных работ и вопросы финансирования НИР многократно обсуждаются в последние годы на специальных заседаниях различных организаций ООН, ФАО, Общего рынка, на Всемирных ветеринарных конгрессах. Научные проекты включают такие направления, как иммунологическое и биохимическое изучение вируса, иммунология болезни, перспективы применения вакцин, прежде всего убитых и генно-инженерных, патогенез и эпизоотология. Наиболее важным, приоритетным в их числе считается выяснение иммунологических основ АЧС [7, 34, 35, 40].

Литература

1. Коваленко Я.Р., Сидоров М.А., Бурба Л.Г. Африканская чума свиней. М.: Колос, 1972.
2. Макаров В. В., Козлова Д. И. Профилактика вирусных болезней с.-х. животных. М.: Россельхозиздат, 1981.
3. Руководство по общей эпизоотологии / Под ред. И.А.Бакулова и А.Д.Третьякова. М: Колос, 1979.
4. Andrade M. // In African swine fever, CEC. Luxemburg, 1983, 152-160.
5. Beldekas I., Teas L, Hebert J. // The Lancet, 1986, 8480, 564-565.
6. Boussafou D., Tchevelev S.F., Tcheriantnikov L.L. et al. // Proc. 3-rd symph. rec. trop. vet. med., Liblice, CSSR, 1976, 50-55.
7. Brown F. // Bull. Inst. Pasteur, 1982, 80, 1, 153-155.
8. Buisch W. // The bovine practitioner, 1980, 15, 162-164.
9. Carnero R., , Qayot G., Costez C., Delclos G. // Bull. Soc. Sci. veter. med. comp., Lyon, 1974, 76, 5, 349-358.
10. Coggins L. // Progr. med. Virol., 1974, 18, 48-65.
11. De Boer C., Pan J., Hess W. // J. Am. vet. med. assn., 1972, 160, 4, 528-532.
12. De Tray D. // Adv. vet. Sci., 1963, 8, 299-333.

13. Gibbs E., Butler J. // *J. am. vet. med. assn.*, 1984, 6, 644-647.
14. Greig A. // *Arch. ges. virusforsch.*, 1972, 39, 1-3, 240-247.
15. Greig A., Plowright W. // *J. hyg. Camb.*, 1970, 68, 673-682.
16. Hess W. // *Virol. monogr.*, 1971, 9, 1-33.
17. Hess W. // *Adv. veter. sci. comp. med.*, 1981, 25, 39- 66.
18. Heuschele W. // *Arch. ges. Virusforsch.*, 1967, 21, 34, 349-356.
19. Hog cholera / classical swine fever and african swine fever. CEC, Luxemburg, 1977, 469-470, 724-732, 741-745, 772-781.
20. Hotchin J. // *Viruses affect. man and amin.*, 1971, 213-249.
21. Lyra T. // *African swine fever. CEC, Luxemburg*, 1983, 42-58.
22. Lyra T., Mattus M. // *African swine fever. CEC, Luxemburg*, 1983, 59-62.
23. McVicar J. // *Am. J. vet. res.*, 1984, 45, 8, 1535-1541.
24. McVicar J. et al. // *J. am. vet. med. assn.*, 1984, 179, 5, 441-446.
25. Mebus C., Dardiri A. // *Am. J. Vet. res.*, 1980, 41, 11, 1867-1869.
26. Montgomery R. // *J. Comp. Path.*, 1921, 34, 159-191, 243-262.
27. Ordas A., Sanchez-Botija C., Diaz S. // *Africane swine fever. CEC, Luxemburg*, 1983, 67-73.
28. Pan J. // *Am. J. vet. res.*, 1984, 45, 2, 361 - 366.
29. Pan J., Hess W. // *Am. J. vet. res.*, 1985, 46, 2, 314-320.
30. Peritz F. // *Bull. off. int. epiz.*, 1981, 93, 3-4, 485-499.
31. Plowright W. // *Hog cholera / classical swine fever and african swine fever. CEC, Luxemburg*, 1977, 575-587.
32. Plowright W., Parker J., Peirce M. // *Vet. rec.*, 1969, 85, 668-674.
33. Report of the FAO/EEC expert consultation of african swine fever and classical swine fever. FAO, Rome, 1984, 1-24.
34. Report of the CEC/FAO expert consultation of ASF research. Sardinia, 1981.
35. Report of the unformal discussion on research needs to produce an african swine fever vaccine. FAO, Rome, 1980, 1-17.
36. Sanchez-Botija C. // *Res. scient. techn. Off. int. epiz.*, 1982, 1, 4, 1031-1064.
37. Sanchez-Botija C. // *Bull. off. int. epiz.*, 1963, 60, 895-899.
38. Sanchez-Botija C., Ordas A., Solana A., Carnero M. // *An. inst. invest. veterin.*, 1976, 1977, XXIV, 7-17.
39. Scott G. // *J. Am. vet. med. assn.*, 1972. 160, 4, 532-533.
40. Sellers R. // *African swine fever; report on research requirments 1984-1988. AVRI*, 1982, 1-11.
41. Thompson J. // *Onderstepoort J. vet. res.*, 1985, 52, 201-209.
42. Vigario J., Terrinha A., Noura Nunes J. // *Arch. ges. Virusforsch.*, 1974, 45, 3, 272-277.
43. Wardley R., Andrade C., Black D. et al. // *Arch. virol.*, 1983, 76, 2, 73-90.

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ МАВРИКИЙ*

Республика Маврикий (РМ) - небольшое островное государство, относящееся к Юго-восточной Африке (см. рисунок 1), 17 октября 2007 г. была добавлена к списку стран, неблагополучных по АЧС. Болезнь своевременно не взята полностью под контроль, в результате чего разведение свиней в стране сильно пострадало (в стране осталось приблизительно 25% или меньше от всего поголовья свиней) и, вполне возможно, не скоро полностью восстановится. Ситуация по АЧС в отдельном изолированном регионе (возникновение, распространение, кофакторы и т.п. эпизоотологическая атрибутика) - показательный пример эмерджентности особо опасной инфекции. В данном случае ее анализ имеет приоритетный характер, в том числе для РФ, отдельные регионы которой стали неблагополучными по этой инфекции с 2007 года с прогрессивно нарастающей напряженностью обстановки и дальнейшим распространением болезни на новые территории (Ставропольский и Краснодарский края).

АЧС - распространяющаяся (evolving) разрушительная вирусная болезнь, которая в настоящее время угрожает разведению свиней во всем мире. Это одна из самых серьезных болезней животных, поскольку вызывает высокую смертность среди свиней, социально-экономические последствия и имеет склонность к быстрому и непредвиденному межгосударственному распространению.

* Компендиум дипломной работы выпускницы кафедры ветеринарной патологии Российского университета дружбы народов Эмритлолл Юбхашины (Маврикий), научный руководитель - доктор биологических наук, профессор Макаров В.В. Опубликовано в «Ветеринарном консультанте», 2008, 22, 10-12.

АЧС относится к группе трансграничных инфекций животных, определенных ФАО как болезни, которые оказывают существенное влияние на экономику, торговлю и продовольственную безопасность значительного количества стран, могут легко распространиться из одной страны в другую и достигать эпидемических масштабов, для их контроля и уничтожения требуется международное сотрудничество.

В течении 2007 г. вспышки АЧС были зарегистрированы в восточно-африканских странах, в частности, Кении, Мадагаскаре, РМ и Замбии, а также в Нигерии и Буркина-Фасо. Все эти страны эндемичны, за исключением РМ, в которой болезнь возникла впервые в ее истории, спустя несколько месяцев после последней вспышки на Мадагаскаре. В подтверждении вспышки АЧС в РМ участвовали специалисты МЭБ, Ондерстепортского ветеринарного института (ЮАР) и ФАО. Как показал анализ обстановки, наиболее вероятным фактором заноса инфекции в РМ явились импортированные продукты или судовые отходы свиного происхождения из Мадагаскара - самой близкой неблагополучной страны в территориальном и хронологическом отношении, имеющей с РМ тесные деловые, торговые связи, включая поставку рабочей силы для флота, поскольку морские порты не обеспечены карантинной станцией или установками для сжигания отходов на месте. Впоследствии ретроспективный анализ позволил выявить конкретного владельца фермы как наиболее вероятного незаконного потребителя инфицированных отходов: инкриминирующими факторами послужили близость фермы к морскому порту и несвоевременная продажа некондиционных свиней ("сброс" поголовья) в сентябре 2007 г. предположительно в связи с появлением признаков АЧС.

В 2007 г. в РМ было приблизительно 495 зарегистрированных коммерческих свиноферм и ориентировочно 17-18 тысяч голов свиней, без какой-либо информации о частном свиноводстве. Импорт свинины для потребления в сфере туризма составляет ежемесячно около 46 тонн. Только 15% местного населения потребляет свинину. Свиней диких видов, традиционных природных резервуаров АЧС - бородавочников и гигантских лесных свиней, а также клещей рода *Ornithodoros*, на территории РМ нет.

АЧС первично зарегистрирована в трех пунктах (рисунок 1). Фактором разрозненного возникновения вспышек послужило то, что утилизация портовых и судовых отходов и мусора осуществляется без контроля со стороны государственных органов частными компаниями, которые собирают материал по всей стране и транспортируют для сжигания на единственную установку, расположенную в аэропорту в юго-восточной области страны.



Рисунок 1. Три первые вспышки АЧС на Маврикии (показаны стрелками).

Самые первые случаи нового заболевания в июле 2007 г. характеризовались гибелью свиней с признаками геморрагического диатеза. РМ эндемична по КЧС, которая контролируется вакцинацией, поэтому специалистами был первоначально принят именно этот ложный диагноз без лабораторного исследования (квазидиагностика становится типичной в эпизоотологии АЧС). Поскольку смертность продолжала нарастать, патологический материал был направлен на исследование в Ондерстепортский ветеринарный институт, где диагноз на АЧС был установлен 15.10.07 и окончательно подтвержден 24.10.07. Филогенетический анализ вирусного изолята показал 100% его соответствие штаммам из Мозамбика и Мадагаскара.

Квазидиагностика и трехмесячная задержка в установлении и верификации АЧС способствовали тому, что болезнь распространилась во многих областях страны; на 27.11.07, по клиническим признакам и смертельным случаям, было уже 15 неблагополучных ферм. Как установлено, основными причинами столь быстрого распространения инфекции при этом явились канонические для эпизоотологии АЧС факторы эпизоотического риска:

- § кормление свиней различными отходами без обезвреживания;
- § неконтролируемые и неопознаваемые источники таких кормов (морские суда, порты, гостиницы, домашние хозяйства и т.п.);
- § неупорядоченное комплектование ферм поросятами;
- § использование одних и тех же транспортных средств для разнообразных перевозок свиней (на фермы, на рынок, на бойни и т.п.);
- § отсутствие ограничений и контроля за перемещениями людей, животных, транспорта, так или иначе экспозированных в отношении болезней свиней;
- § незаконные и неконтролируемые перемещения свиней, свинины, других продуктов на фермах и за их пределами по всей стране после регистрации болезни;
- § отсутствие должного контроля объектов ветеринарного надзора и ятрогенез.

Краткое официальное изложение эпизоотии АЧС в РМ в формате сообщений МЭБ представляется следующим образом:

| | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------------------|----------------------|---------------|-------------|-------------------|--------------|
| Резюме вспышек | Совокупность вспышек: 3 | | | | | |
| Итог: зараженных животных | Вид | Восприимчивые | Случаи | Пало | Уничтожено | Убито |
| | Свинья | - | - | 549 | 49 | - |

| | | | | | |
|--|---------------|-----------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| Статистика вспышек | Вид | Заболеваемость | Смертность | Летальность | Потери* |
| | Свинья | - | - | - | 598 |
| *потери восприимчивой популяции от смерти, уничтожения или убоя. | | | | | |

На рисунках 2 и 3 представлены оригинальные иллюстрации эпизоотии АЧС в РМ.



Рисунок 2. Свиньи, павшие от АЧС.



Рисунок 3. Бескровный убой свиней в камере с помощью углекислого газа в рамках применения политики стемпинг аут (1-4 - последовательность операций).

Всесторонний анализ реальной эпизоотии АЧС в РМ позволяет дополнить базу данных относительно эпизоотологических признаков болезни, сформулировать представления о факторных особенностях, определяющих ее эмерджентное возникновение (занос "извне") и территориальное распространение (вынос "изнутри") на современном этапе. Данные анализа чрезвычайно актуальны для ветеринарной науки, практики и образования РФ, других стран и регионов с развивающейся экономикой, где в силу последнего затруднено применение радикальных способов искоренения инфекций. В числе факторов эпизоотического риска (кофакторов эпизоотий) АЧС выявляются следующие нетривиальные обстоятельства, прежде всего относящиеся к так называемому *человеческому фактору*.

- § *Квазидиагностика* и отложенное осуществление политики стемпинг аут (уничтожение неблагополучных свиней, туш, трупов, дезинфекция зараженных помещений) на недели и месяцы после подтверждения диагноза.
- § Отсутствие или недостаточная материальная компенсация владельцам за уничтоженных свиней (деньги, альтернативные объекты животноводства), недовольство и отказ последних сотрудничать с властями.
- § Отказ владельцев от ликвидации свиней и их сокрытие даже на неблагополучных фермах.
- § Сохранение (сокрытие) свиней с клиническими признаками болезни лишь с изоляцией их от остального поголовья.
- § Отсутствие информации или сокрытие трупов свиней, павших на инфицированных фермах.
- § Несоблюдение элементарных ограничительных мер в зараженных хозяйствах, свободное перемещение свиней вне помещений.
- § Невозможность конфискации свинины, накапливаемой в холодильниках владельцев ферм, которые проводили самовольный убой и ликвидацию свиноголовья.
- § Незаконный убой свиней и распространение свинины владельцами ферм из-за неудовлетворенности компенсацией.
- § Отсутствие каких-либо ограничений в содержании и доступе собак и других животных в зараженных хозяйствах.

- § Самые разнообразные нарушения карантина зараженных помещений вплоть до полной свободы перемещений персонала, оборудования, свиней и т.д.
- § Отсутствие дезинфекции транспортных средств.
- § Отсутствие или недостаточность дорожного контроля за движением людей и животных в зараженных областях.
- § Чрезвычайные трудности в контроле и утилизации навоза и иных объектов свиноводства (стоков, трубопроводов и т.п.) в зараженных помещениях ("dangerous contact premises"), особенно до проведения политики стемпинг аут.
- § Территориальная близость захоронений свиней в рамках политики стемпинг аут от свободно живущих диких свиней. То же в отношении путей транспортировки больных свиней, трупов, контаминированных объектов свиноводства.
- § Практическая нереальность полного уничтожения туш путем сжигания любыми видами топлива.
- § Недостаточность санитарной обработки ветеринарных специалистов, персонала, спецодежды после работы в зараженных помещениях, высокий риск ятрогенного распространения АЧС "изнутри".
- § Самые различные отказы, вплоть до саботажа и сопротивления, от участия в мероприятиях по ликвидации эпизоотий со стороны владельцев свиней.
- § Низкая активность и эффективность административных, общественных органов, печати в осведомлении, оповещении, широкой информации, привлечении к противоэпизоотической деятельности населения, неветеринарных органов и ресурсов.

Комментарий научного руководителя.

Конкретные результаты работы свидетельствуют, что в настоящее время эпизоотологический стереотип африканской чумы свиней характеризуется преобладающим значением **человеческого фактора** в возникновении, распространении, формировании эндемичности болезни. В их числе - *квазидиагностика*, значительные по продолжительности задержки в установлении и верификации АЧС, неприятие существующих противоэпизоотических мер владельцами свиноводческих хозяйств, безответственность, пассивность, неэффективность действий

административных, общественных органов, сельского населения в целом. Как следует из современных примеров (помимо АЧС нами проведены аналитические эпизоотологические исследования по ньюкаслской болезни в Республике Чад, бешенству в западном регионе РФ с аналогичными выводами), исключительно факторы перечисленного порядка обуславливали такие важные явления эпизоотологии, как *эмерджентность* и *эндемичность* инфекций.

Из результатов выполненной работы вытекают некоторые обобщения, имеющие, на наш взгляд, особую научно-практическую актуальность.

1. На современном этапе глобальной эволюции заразных болезней происходят кардинальные изменения эпизоотических процессов, лежащих в основе формирования заболеваемости, как в общих, так и в частных аспектах эпизоотологии.

2. Основополагающими причинами возникновения, распространения, эмерджентности, эндемичности болезней становятся не тривиальные обстоятельства, относящиеся к их естественной истории, биологии, патологии, а факторы социально-хозяйственного порядка и синэргизирующая деятельность человека в целом.

3. Исходя из этого, требуется радикальный практический и особенно научный пересмотр догматических концепций эпизоотологии. Факторы человеческой деятельности во всем многообразии следует рассматривать как *движущие силы эпизоотических процессов* [причинность (этиология), факторы риска (время, территории, популяции)] в их реальности и потенциальной управляемости. Схоластика «эпизоотических цепей» и «механизмов передачи инфекции» должна быть отброшена.

КОММЕНТАРИЙ К СОВРЕМЕННОЙ СИТУАЦИИ ПО АЧС*

Африканская чума свиней известна с начала 20 в., с первых попыток интродукции свиней культурных пород в колониальные страны субэкваториальной и южной Африки. На первом этапе естественной истории, до выноса в Португалию (1957) и Испанию (1960), АЧС имела стереотип типичной природно-очаговой экзотической болезни с естественной циркуляцией вируса в популяциях диких африканских свиней, внутрисемейной передачей и течением в виде персистентной толерантной инфекции. При возникновении первых случаев антропоургического цикла на домашних (неаборигенных) свиньях инфекция приобретала острое течение с летальностью до 100%. На последующих этапах естественной истории АЧС эволюционировала в сторону самостоятельного антропоургического цикла с укоренением в южноевропейских странах, двукратным эмерджентным заносом и распространением в странах Центральной и Южной Америки (1971 и 1978-1980).

В последние 15 лет АЧС была энзоотична для африканского континента и, вероятно, «вернулась» к своему исходному природно-очаговому экзотическому стереотипу. К началу 21 в., после полувекового неблагополучия, был практически оздоровлен Иберийский полуостров (Испания и Португалия). Болезнь эпизодически регистрировалась в виде вспышек различных масштабов преимущественно в регионе Западной Африки (Котдивуар, Того, Бенин, Нигерия, Конго, Ангола), вне Африки энзоотичной оставалась только Сардиния, где болезнь укоренилась в популяциях диких свиней.

* По материалам ProMED. Опубликовано в «Ветеринарном консультанте», 2007, 12, 4-6.

Однако сейчас АЧС неожиданно появилась в Грузии. 22 и 26 апреля 2007 г. было впервые официально «замечено», а 17 мая сообщено официально в МЭБ об обнаружении нескольких вспышек болезни среди свиней, предположительно *синдрома послеотъемного мультисистемного истощения* (СПМИ), вызываемого свиным цирковирусом 2. Далее, 4 июня 2007 г. Референсная лаборатория МЭБ в Пербрайте (Великобритания) выявила в пробах патологического материала, полученного в этих случаях, вирус АЧС с помощью тестов «золотого стандарта» (выделение вируса в культуре клеток, ИФА, ПЦР). Вирус АЧС «Грузия 2007» был отнесен к наиболее распространенному генотипу II, изоляты которого выделялись в 1993-2002 гг. в регионах юго-восточной Африки (Мозамбик, Замбия, Мадагаскар), реже в западной, центральной Африке и на Сардинии.

Неблагополучными оказались сразу 11 пунктов (деревенские и частные фермы) по всей республике, от приморских портовых районов Абхазии и Аджарии до восточных территорий вблизи границ с Азербайджаном (рисунок). Правительством Грузии приняты классические в таких случаях меры по уничтожению неблагополучных животных и изоляции пунктов, к тому времени уже было уничтожено более 20 тысяч свиней (от 10 до 7100 голов в отдельных пунктах) при общей численности свинопоголовья в республике в 1 млн. [Такая «неожиданность» в масштабах, кстати, типична для эпизоотологии АЧС: в Бразилии при обнаружении первого случая инфекции в марте 1978 г. вскоре, в течение последующих двух месяцев, по всей стране установлены еще 15 неблагополучных пунктов и далее, без очевидных эпизоотических связей инфекция регистрировалась в 18 штатах.]

Если эпизодическое возникновение новых вспышек АЧС в энзоотичной Африке в принципе прогнозируемы, то этот ее географический «прыжок» в черноморско-закавказский регион поверг в шоковое состояние международные организации МЭБ/ФАО/ЕС, эксперты которых планируют провести аналитические исследования на месте в ближайшее время. Это уже второй за последнее время беспрецедентный факт появления эмерджентных инфекций в северной Европе после эпизоотии катаральной лихорадки овец, возникшей в Западной Европе с августа 2006 г.



Рисунок. Вспышки АЧС в Грузии, первые числа июня 2007 г. (<http://www.oie.int/wahid>).

В этой связи также пересматриваются эмерджентные случаи массовой патологии свиней, в частности, возникшие в Китае и Вьетнаме в недавнее время. По данным ProMED, в Китае массовая заболеваемость в середине 2006 г., принеся серьезные убытки, была первоначально обозначена как новая «высоко лихорадочная болезнь свиней» («swine high fever disease», SHFD) факторной этиологии, впоследствии отнесенная к варианту репродуктивного и респираторного синдрома свиней, который регистрируется в Юго-восточной Азии с 1997 г. До мая 2007 г. по официальным сообщениям заболеваемость составила 45 тысяч голов с летальностью 40%. Однако у экспертов есть основания полагать, что болезнь на самом деле распространилась очень широко, с охватом 10 провинций и заболеваемостью миллионов свиней (такая «избирательность» и расхождения в объявляемой и реальной обстановке типичны для закрытых стран, в частности, бывшего СССР и Китая). В северных провинциях Вьетнама с апреля 2007 г. также диагностируется масштабная эпизоотия с летальностью 20%, отнесенная к РРСС.

В Грузии первоначально подозревался цирковиральный СПМИ. Возникает вопрос, не происходит ли глобальное распространение АЧС в виде, замаскированном, в «лучшем» случае, под другие инфекции с клинически и патологоанатомически сходной и нехарактерной, экстенсивной симптоматикой, или в форме микстинфекций? Пока единственный способ избежать **квазидиагностики** - рекомендации МЭБ включать тест на АЧС в исследовании всех «недиагностируемых» и сомнительных случаев. Здесь особенно полезна ретроспективная диагностика любой хронологической глубины, т.е. выявление специфических для АЧС антител и всесторонний серомониторинг, желательна ревизия хранящихся образцов сывороток при всех подозрительных и невыясненных случаях.

АЧС, относящаяся на данном этапе к категории наиболее важных, трансграничных инфекций с катастрофическим потенциалом, - одна из самых серьезных проблем эпизоотологии в виду чрезвычайно большого прямого ущерба (высокой летальности восприимчивых животных), способности к возникновению и эпизоотическому распространению в самых неожиданных регионах мира, невозможностью специфической профилактики, радикальной эффективностью в противозоотическом отношении только депопуляции. При этом в последнем случае масштабы мероприятия определяет **первостепенность безусловного пресечение выноса инфекции «изнутри»** (распространение ее за пределы неблагополучных пунктов по региону и дальше), **нежели занос «извне»**. Именно полное, надежное обезвреживание всего экспозированного (живого и неодушевленного) должно быть поставлено в качестве первостепенной задачи.

Новый аспект эпизоотологии АЧС - вероятность замаскированного распространения инфекции и **квазидиагностики** существенно усугубляет ее экономическое и эпизоотическое значение. Важнейшей эпизоотологической особенностью АЧС, ее «коварством» является чрезвычайно быстрое изменение форм течения инфекции среди домашних свиней от острого, со 100% летальностью в первичных очагах (вспышках), до хронического и бессимптомного носительства с непредсказуемыми последствиями скрытого распространения и укоренения в эндемичных зонах. Ее современный стереотип - уже далеко не повальная болезнь со 100% летальностью, быстро распространяющаяся через эпизоотические

цепи и пресловутый «механизм передачи». Скорее это скрытая, тардивная эпизоотия, еще и недиагностируемая или маскированная сходными инфекциями, что, по здравом размышлении над перечисленными прецедентами в Китае, Вьетнаме и Грузии, вполне реально. Все это уже известно по данным литературы об АЧС в Испании, Конго, Бразилии, Гаити и др.

Экономический ущерб, наносимый АЧС, складывается из прямых потерь по радикальной ликвидации болезни, ограничений в международной торговле и выражается десятками миллионов долларов. В частности, при ликвидации инфекции путем тотальной депопуляции свиней потери составили на о. Мальта 29,5 млн \$ (1978), в Доминиканской республике - 60 млн \$ (1978-79). Бразилия во время эпизоотии АЧС (1978-79), помимо прямого ущерба, понесла еще большие и основные потери из-за эмбарго на всю сельскохозяйственную продукцию (бананы и т.п.). Вследствие первичной вспышки инфекции в Котдивуаре (1996) убито 25% популяции свиней с прямым и косвенным ущербом в ходе эрадикации в сумме от 13 до 32 млн \$. Угроза АЧС - основной фактор, сдерживающий развитие свиноводства в Африке; до последнего времени на континенте насчитывается немногим более 1% мировой популяции свиней.

Ситуация в Грузии достаточно банальна. Каким образом АЧС оказалась там, установить вряд ли будет возможно. Далее, такие «подострые» случаи часто скрываются до тех пор, пока сохраняется надежда, что все обойдется. Это неизбежно приводит к тому, что «разгоревшийся пожар» уже не просто остановить - АЧС в своем коварстве весьма своеобразна. Опыт показывает, что это теперь надолго. Географическое распространение болезни однозначно свидетельствует, что эпизоотия в республике существует давно, иначе не бывает. [В той же Бразилии после идентификации болезни в 1978 г. серопозитивность ретроспективно выявлена в сыворотках, хранящихся в серум-банках и полученных за два года до этого.] Несвоевременные, значительно просроченные диагностика АЧС и оповещение о неблагополучии по конвенционной инфекции способствовали неопределенно длительному периоду ее «свободного плавания», что крайне опасно для сопредельных Армении, Азербайджана и, разумеется, России. Нельзя не учитывать преимущественно примитивное, мелкотоварное частное содержание свиней в южных республиках

бывшего СССР, которые свободно перемещаются где угодно, – эти беспорядочные контакты, добыча отходов и отбросов в качестве корма по помойкам, свалкам и т.п. являются главным фактором распространения АЧС. При этом неизбежны контакты с дикими кабаном, популяции которых весьма значительны в благоприятных южных условиях с многочисленными лиственными лесами, разнообразными поймами, плавнями и т.п. Именно так инфекционные болезни свиней передаются кабанам. Если это уже случилось - последствия непредсказуемы.

По сообщению СМИ, российские органы в связи с этой ситуацией 7 июня 2007 г. уже ввели ограничения на импорт мясных продуктов из Грузии. Заметим, что отечественная ветеринария достаточно компетентна в отношении всех без исключения аспектов АЧС, вооружена большим опытом работы с этой инфекцией, имеет квалифицированных специалистов-эпизоотологов, снабжена средствами и методами диагностики, неспецифической профилактики, ветеринарно-санитарной защиты. Теперь и в РФ, по аналогии с предложением МЭБ, также целесообразно проводить дифференциальную диагностику на АЧС в случаях возникновения сходной патологии свиней. Не худо бы ретроспективно «покопаться» с этой целью и в доступных серум-банках.

Следует воздать должное роли Провидения в лице руководителя Роспотребнадзора Геннадия Григорьевича Онищенко, который год назад ограничил контакты с «дружественной» республикой из-за контрафактных вин, а также визовые и иные препятствия. Это безусловно имеет положительное предупредительное и противоэпизоотическое значение.

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В КАВКАЗСКОМ РЕГИОНЕ

- ü **Африканская чума свиней в Грузии**
- ü **Африканская чума свиней в России и эпизоотологический риск для региона**
- ü **Дикий европейский кабан.**
 1. **Ветеринарная биология и эпизоотология**
 2. **Природная очаговость африканской чумы свиней**
 3. **Моделирование и прогнозирование природно-очаговой африканской чумы свиней**

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В ГРУЗИИ*

Африканская чума свиней (АЧС) – высококонтагиозная вирусная инфекция домашних свиней, обычно заканчивающаяся летально и для которой до сих пор не создано вакцин. Это потенциально глобальная инфекция, поэтому большинство стран, свободных от этой инфекции, принимают серьезные меры по предотвращению ее проникновения. При возникновении вспышки АЧС продуктивность свиноводства можно сохранить только при высоком уровне биологической защиты. Болезнь эндемична для свиней домашних и диких видов к югу от Сахары и на Сардинии (рисунок 3).

Заражение свиней происходит обычно орально-назальным путем при контакте с инфицированными особями или с кормом при потреблении контаминированных возбудителем продуктов (отходы, мусор и т.п.). В регионах, где имеется переносчик инфекции (мягкие клещи *Ornithodoros*), трансмиссивная передача инфекции является важнейшей [Возбудитель АЧС – единственный ДНК-содержащий арбовирус.]** В Африке наличие клеща *Ornithodoros moubata* и субклинической [персистентной толерантной] инфекции у бородавочников диких популяций обуславливают поддержание циклов вируса АЧС в естественных условиях, из чего следует, что для профилактики инфекции необходимо возведение глухих изгородей на фермах, расположенных в восточных и южных районах Африки, где обитают бородавочники.

* Авторизованный перевод из EMPRESS Watch, FAO с комментариями. Опубликовано совместно с Н.Ю.Курнявко в «Ветеринарном консультанте», 2007, 24, 3-5, журналах «Международный вестник ветеринарии», 2008, 1, 6-10 и «Ветеринарная практика», 2008, 3, 22-27.

** Здесь и далее в квадратных скобках – примечания и комментарии авторов перевода.

Штаммы [изоляты] вируса АЧС различаются по вирулентности, хотя различные серотипы не идентифицируются. [Последнее абсолютно неверно, поскольку по результатам отечественных исследований, выполненных во ВНИИВВиМ, вирус АЧС обладает выраженным серологическим и иммунологическим плюралитетом. По данным реакции задержки гемадсорбции и перекрестного иммунологического тестирования на животных, серологическим различиям выделенного в чистом виде изолятоспецифического гемадсорбирующего антигена в реакции количественной радиоиммунопреципитации идентифицированы четыре основных сероиммунотипа вируса (Вишняков И.Ф., 1992, 1996; Серeda А.Д., Макаров В.В., 1992, 1993, 1994). Зарубежными исследователями проведена внутривидовая дифференциация вируса АЧС по генотипам (полиморфизму длин фрагментов рестрикции), первоначально также на четыре группы (Wesley, 1982, 1984). По странному стечению обстоятельств, в результате абсолютно независимой сероиммуно- и генотипизации в отдельные группы попали одни и те же известные географические изоляты.] В настоящее время дифференцированы 16 генотипов вируса АЧС. Вирус АЧС очень устойчив в экскрементах инфицированных свиней, тушах, и в некоторых мясных продуктах и свежем мясе (рисунок 1).

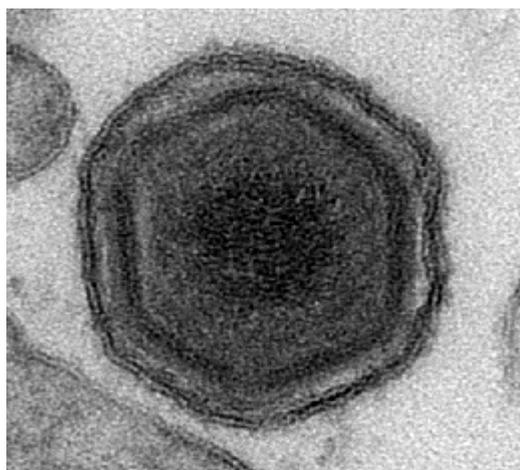


Рисунок 1. Вирус африканской чумы свиней - крупный оболочечный ДНК-содержащий вирус рода *Asfarvirus* [от African Swine Fever And Related Viruses, единственный представитель семейства *Asfarviridae*].

Различают острую, подострую и хроническую формы течения АЧС, в основном зависящие от вирулентности вируса. В первичных случаях, на неэндемичных территориях заболеваемость и смертность достигают 100%. У клинически выздоровевших свиней в течение нескольких недель наблюдается вирусемия, следовательно, такие животные представляют риск в течение еще шести месяцев после клинического выздоровления. Первыми клиническими признаками заболевания является лихорадка (свыше 40°C), угнетение и потеря аппетита, затем - поверхностные кровоизлияния (рисунок 2). Свиноматки могут abortировать на всех стадиях супоросности. Однако, основываясь только на клинических признаках, нельзя поставить точный диагноз, а можно только подозревать его. При патологоанатомическом исследовании обнаруживают обширные геморрагии лимфатических узлов, селезенки и почек, что может быть дополнительным признаком АЧС. Окончательный диагноз ставится только на основании лабораторного исследования.



Рисунок 2. Острое течение АЧС: на фоне общей бледности кожи кровоизлияния в области конечностей и живота.

Дикие свиньи (одичавшие домашние) и европейский дикий кабан (рисунок 3) в одинаковой степени восприимчивы к АЧС, что существенно осложняет контроль данного заболевания, если инфекция станет эндемичной в этих популяциях.



Рисунок 3. Контроль за распространением вируса АЧС среди диких свиней может быть очень сложным.

Эпизоотическая ситуация. АЧС эндемична во многих странах к югу от Сахары (рисунок 4). В Европе заболевание появилось в Португалии в 1957 году, затем вновь возникло в 1960 году и распространилось на территории Испании. В Испании и Португалии болезнь сохранялась эндемичной до 1995 года. С Пиренейского полуострова она распространялась во Францию (1964, 1967, 1977), Италию (1967, 1978, 1980), Бельгию (1985) и Нидерланды (1986), на о-ва Мадейру (1965, 1974, 1976) и Мальту (1978). Последняя вспышка на Пиренейском полуострове была зарегистрирована в Португалии в 1999 году. В настоящее время АЧС до сих пор эндемична на о.Сардиния. За пределами Африки и Европы вирус АЧС был обнаружен в Доминиканской республике (1978), Бразилии (1978), Гаити (1980) и на Кубе (1971, 1980). Заболевание никогда не регистрировалось в Азии.

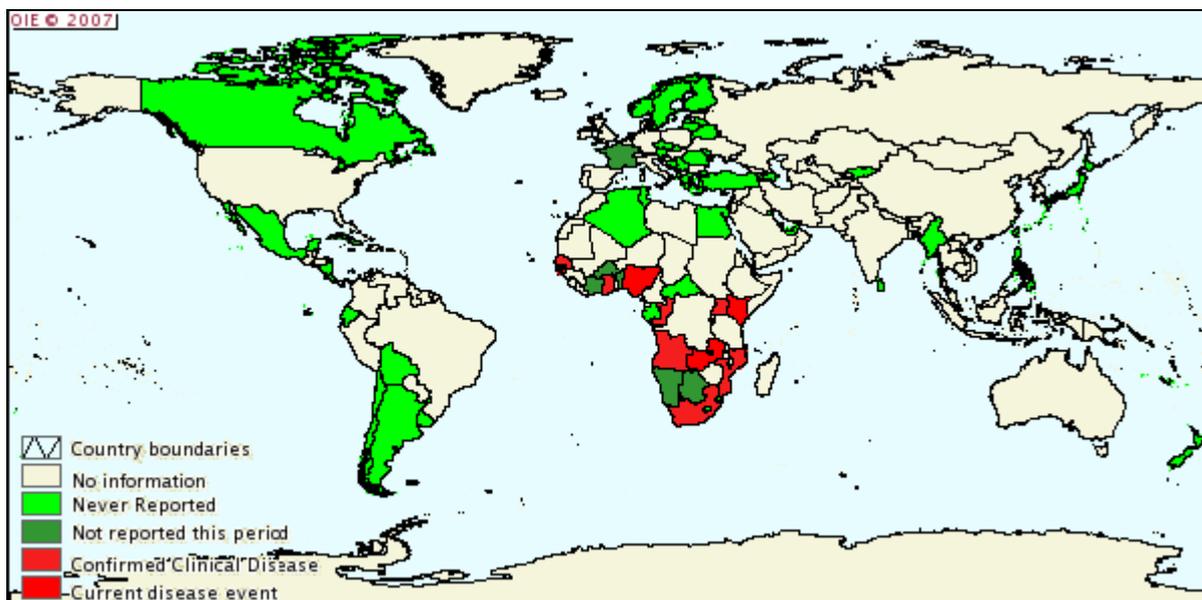


Рисунок 4. Ситуация по АЧС в мире по данным МЭБ за июль-декабрь 2006.

АЧС в Грузии. 5 июня 2007 года Грузия официально заявила Всемирной Организации Здоровья Животных [World Animal Health Organization (WAHO) - современное наименование Международного Эпизоотического Бюро (МЭБ)] о наличии АЧС после окончательного подтверждения референсной лабораторией МЭБ в Пербрайте (Великобритания) (рисунок 5). Дальнейший анализ подтвердил, что вирус АЧС в Грузии очень схож с вирусом АЧС из Юго-Восточной Африки (Мозамбик, Мадагаскар и Замбия) [третий серотип по систематике ВНИИВВиМ].



Рисунок 5. Первые вспышки АЧС, зарегистрированные на территории Грузии (по данным МЭБ).

Это было первое официальное заявление о наличии вируса АЧС в Кавказском регионе. Однако за несколько недель до официального заявления было отмечено увеличение смертности поросят, которое обычно связывают с синдромом постотъемного мультисистемного истощения [возбудитель - цирковирус свиней 2], о чем и было заявлено в МЭБ 22 мая 2007 года.

После первого заявления были зарегистрированы несколько вспышек АЧС в различных регионах, диагноз основывался в основном на клинических признаках. Однако только малая часть объявленных вспышек была подтверждена лабораторным диагнозом. Ко второй неделе июня 2007 года 52 из 65 районов стали подозреваемыми по болезни, более 30 000 свиней пали и 3900 голов были уничтожены. Но, как было отмечено, уничтожались только клинически больные животные.

С того момента, как вирус АЧС широко распространился по республике, возникли мысли о недооценке масштабов инцидентности болезни из-за недостатка надзора и регулярной регистрации. Стали прогнозироваться новые вспышки в зараженных областях. До сих пор не известно, но полагают, что, как только произойдет заражение диких кабанов, вирус станет эндемичным, как это случилось на Пиренейском полуострове и о.Сардиния.

Эпизоотические пути возникновения болезни не выяснены. Первый клинический случай, который относят к АЧС, был отмечен в порту Поти, расположенном на восточном побережье Черного моря (май 2007). Далее болезнь распространилась на восток по главным транспортным магистралям. Большинство свиней заражались на открытых площадках при вольном выпасе. Источник вируса до сих пор неизвестен, но власти подозревают занос через порт Поти. Вирус мог проникнуть на судах, на которых могли завести контаминированные вирусом мясные продукты и мясо. Содержание свиней на свободном выпасе, свалки отходов, мусора и привели к возникновению инфекции.

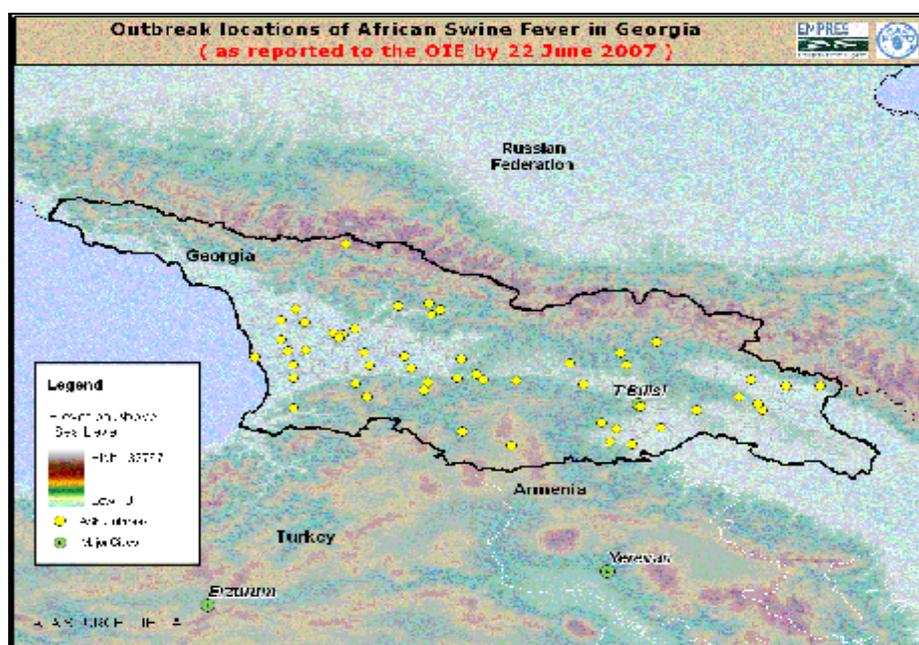


Рисунок 6. Вспышки АЧС в Грузии по данным МЭБ на 22 июня 2007 года.

Задержка в официальном обнаружении новой болезни позволила инфекции широко распространиться (рисунок 6). За время информирования МЭБ о нескольких случаях болезни АЧС распространилась повсеместно. Возникла необходимость в разработке дифференциальной диагностики АЧС от других болезней свиней. Грузия и прилегающие регионы в настоящее время столкнулись с исключительным эпидемиологическим случаем.

По настоящее время [материал опубликован в июне 2007 г.] не было зарегистрировано ни одного случая заболевания АЧС у диких кабанов, несмотря на то, что дикие кабаны и свиньи очень распространены в Грузии и могут легко контактировать с домашними свиньями.

Свиноводство в Грузии. В 2005 году поголовье свиней в республике насчитывало около 500 000, что чуть больше, чем в 2004 году (473 000 голов). Из немногим более 2.5 миллионов голов всех сельскохозяйственных животных в Грузии (включая, КРС, буйволов, свиней, овец и коз) свиньи составляют почти 20%. Сходная ситуация и по животноводческой продукции: производство свинины составило 360 000 т в 2004 году и 370 000 т в 2005 году. Производство свинины и поголовье свиней в Грузии составляют лишь малую часть от мирового уровня - 0,03% и 0,05%, соответственно.

В Грузии свиньи содержатся в основном в подсобных хозяйствах (непрофессиональная система содержания) и на маленьких фермах (профессиональная и полупрофессиональная система).

Наибольшая плотность отмечается в восточной и западной частях Грузии. Некоторое поголовье свиней отмечается в гористой местности вдоль границ с Россией, Турцией и Арменией (рисунок 7). Содержание свиней широко распространено и традиционно в сельской местности. Это до сих пор составляет существенную часть сельского хозяйства, является основным источником мяса для сельских жителей и определяет их основной доход. Такие свиньи не отправляются на бойни, убой производят в домашних условиях. Обычно мясо в этих случаях отправляется на свободные рынки или непосредственно к покупателю.

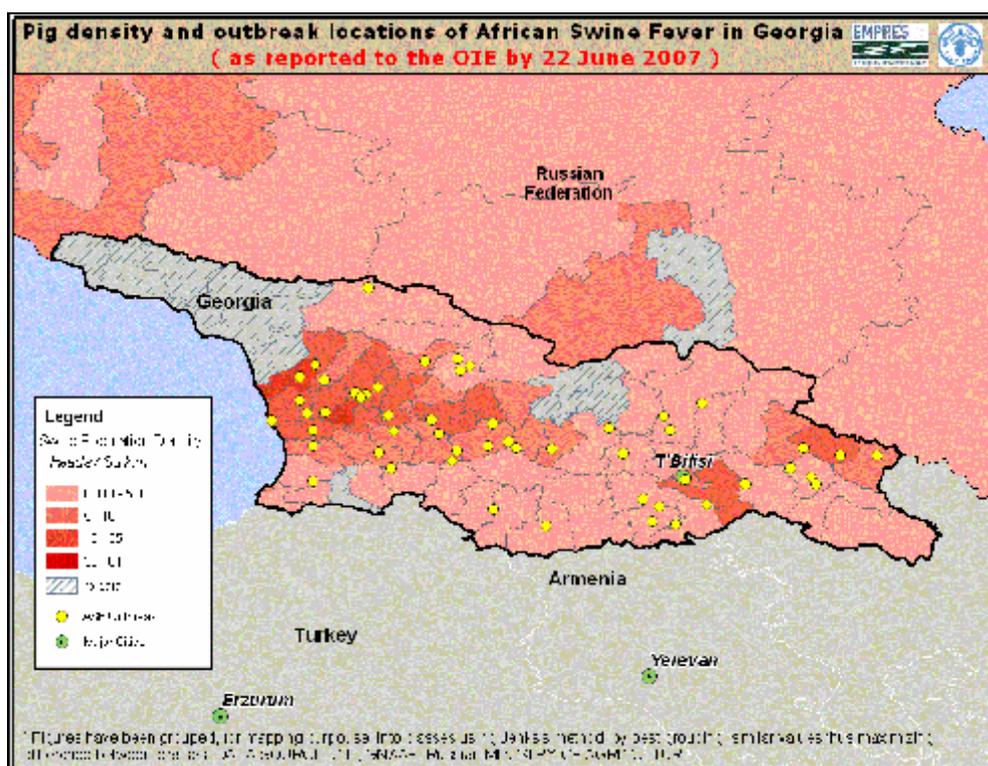


Рисунок 7. Плотность популяций свиней и локализация вспышек АЧС в Грузии по данным МЭБ на 22 июня 2007 года.

Угроза для Европы и других регионов. Ни в одной из стран, которые граничат с Грузией, не было зарегистрировано случаев АЧС до настоящего момента [еще раз отметим, что материал опубликован в июне 2007 года. Осенью 2007 года АЧС распространилась и зарегистрирована в Армении, Нагорном Карабахе, Абхазии, РФ (Чечня) и, возможно, других регионах], хотя ФАО опубликовала предупреждения специально для этих стран. Однако, из-за ограниченного количества работников ветеринарных служб в Грузии и возможного неконтролируемого передвижения свиней и продуктов свиноводства между Грузией и соседними странами, нельзя исключать [трансграничное] распространение АЧС. Более того, инфицированные дикие кабаны и дикие свиньи могут также способствовать распространению вируса, т.к. не существует никакого контроля их передвижения.

Включение дикой природы в эпизоотию АЧС делает ликвидацию болезни невозможной в короткий срок. Более того, распространение инфекции в Грузии идет по "благоприятному" для нее сценарию, если только правительством как можно быстрее не будут приняты строгие меры.

Инфекция у домашних свиней считается тупиковой из-за высокой летальности, однако дикие кабаны могут стать мостом для распространения [укоренения] вируса в благополучные районы.

Вдобавок к вышеперечисленным проблемам, потенциальным вектором передачи вируса являются клещи, которые очень широко распространены в южной части кавказского региона. Это может существенно осложнить искоренение инфекции в этих регионах, т.к. вирус АЧС может персистировать в *Ornithodoros spp* несколько лет. Наличие этих векторов в свиноводческих хозяйствах, характер осуществления и их самодостаточность должны быть тщательно изучены.

Предложения. Широкое распространение инфекции до первого официального заявления и тип разведения свиней на свободном выпасе делают крайне сложным осуществление эффективных мер по ее контролю. Однако общие правила, относящиеся к трансграничной передаче инфекции, должны быть соблюдены. В частности, должно быть осуществлено следующее.

1. Немедленное прекращение любых перемещений свиней по территории Грузии.
2. Изоляция свиней подсобных хозяйств, содержание строго без выгула (для исключения контакта домашних свиней с дикими кабанами) (карантин). Организация пропускных пунктов на всех точках между зараженными и незараженными районами. Карантин должен быть наложен на достаточное время для переживания эпидемии, предполагает поставку кормов для сохранения поголовья в незараженных областях.
3. Тесное сотрудничество между ветеринарными службами соседних государств и международными сообществами для предотвращения распространения болезни за пределы Грузии.
4. Оповещение общественности и требование от владельцев сообщать о возможных случаях возникновения АЧС.
5. Проведение тщательного эпизоотологического исследования.

6. Уничтожение всех свиней инфицированных стад и контактировавших с ними.
7. Введение простых и четких понятий для владельцев.
8. Выявление потенциальной роли диких кабанов как резервуара инфекции.
9. Предупреждение о появлении болезни и способах защиты в свободных от нее регионах.
10. Увеличение количества лабораторных исследований.
11. Контроль качества кормов.
12. Разъяснение потенциальной роли клещей как переносчиков вируса.
13. Осуществление превентивных мер по распространению вируса в зараженных областях и за их пределами:
 - § помощь владельцам в обеспечении кормами
 - § принудительные меры с несогласными
 - § подключение местных властей (или местной администрации), в т.ч. полиции, для сообщения о возможных перемещениях свиней
 - § ужесточение запретов на перемещение и торговлю свиньями
 - § ранняя отбраковка подозрительных животных
 - § снижение риска для диких популяций (поиск и уничтожение трупов, в частности около и внутри лесных зон, оценка уровня заболеваемости диких популяций)
 - § развитие стратегии реабилитации и реструктуризации свиноводства после достижения контроля на всей территории страны. Оглашение этой стратегии для поддержания осуществляющихся выбраковок и контроля
 - § предотвращение повторного заноса патогенов, включая вирус АЧС, путем тщательного пограничного контроля и контроля утилизации отходов с морских и воздушных судов.

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В РОССИИ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ РИСК ДЛЯ РЕГИОНА*

Африканская чума свиней (АЧС) – трансграничная высококонтагиозная вирусная инфекция, передающаяся при прямом контакте, орально при поедании контаминированных кормов, клещами некоторых видов. Заболевание оказывает серьезное социо-экономическое влияние на источники дохода, международную торговлю и безопасность обеспечения белковым питанием населения. К АЧС одинаково восприимчивы как дикие свиньи, так и европейский кабан (*Sus scrofa*), что сильно затрудняет искоренение, если заболевание приобретает эндемический характер внутри данной популяции. У себя на «родине», в Африке, АЧС вызывает инаппарантную инфекцию у диких свиней трех видов: бородавочников (*Phacochoerus africanus*), кистеухих (*Potamochoerus larvatus*) и речных свиней (*Potamochoerus porcus*). Люди невосприимчивы.

Эмерджентное заболевание потенциально может возникнуть и распространяться везде, где разводят свиней, о чем свидетельствует ее естественная история [2]. Поэтому большинство стран принимают серьезные меры по предотвращению ее заноса. АЧС эндемична среди домашних и диких свиней на большей части Африки южнее Сахары и на итальянском острове Сардиния в Средиземноморье. В регионах, где появляется эта инфекция, свиноводство поддерживается только благодаря введению строгих мер биобезопасности на частных подворьях или путем зонинга - установления территорий, свободных от болезни.

* Авторизованный перевод из EMPRESS Watch, FAO, 2009 с добавлениями и комментариями. Опубликовано совместно с Д.А.Гаврюшкиным в журналах «Ветеринарная практика», 2010, 1, 15-27, «Ветеринарная патология», 2010, 2, 88-97, принято к печати в журнале «Ветеринария», 2011.

Первые вспышки АЧС в кавказском регионе возникли в 2007 г., и заболевание с тех пор распространилось по югу РФ, где плотность свиней высока и близки границы Украины и Казахстана. В октябре 2009 г. изолированная вспышка была отмечена в Ленинградской области, в 2000 км от источника-эндемичной зоны юга РФ и в 200 км от Финляндии и Эстонии. Очевидно, что есть риск дальнейшего распространения заболевания на Восточную Европу и другие территории, где развито свиноводство, либо путем бесконтрольного ввоза зараженной свинины, либо с инфицированными дикими кабанам.

ФАО подняла тревогу и предупредила страны о возрастающем риске заноса АЧС в виду описанной выше динамики ее распространения и потому, что после укоренения болезни от нее очень трудно избавиться и она может нанести тяжелый ущерб национальной экономике. Эффективного лечения или вакцинопрофилактики АЧС не существует, в связи с чем наиболее эффективная защита от инфекции в благополучных регионах основывается на предотвращении ее заноса.

Возбудитель, клиника и патология.

Вирус АЧС.

ДНК-содержащий вирус АЧС рода *Asfivirus* - единственный в семействе *Asfarviridae* - поражает свиней вне зависимости от возраста и пола. Важнейшим его свойством, во многом определяющим эпизоотологию болезни, является выраженная устойчивость к неблагоприятным воздействиям. В подходящей белковой среде вирус устойчив к широким колебаниям температур и рН. Будучи незащищенным, он быстро инактивируется солнечным светом и высушиванием. В виду устойчивости вируса в широком диапазоне рН (1.9-13.4) против него эффективны лишь определенные дезинфектанты. Вирус относительно стабилен в экскретах больных свиней, в свиных тушах, в некоторых свиных продуктах и свежей свинине, устойчив к снижению рН, которое сопровождает процесс созревания мяса, и не инактивируется замораживанием и оттаиванием. Гниение необязательно инактивирует вирус. Он остается инфекционным в фекалиях не менее 11 дней, в костном мозге - месяцами.

Особую роль в распространении АЧС играет способность вируса сохранять инфекционные свойства в продуктах свиного происхождения, таких как охлажденное мясо (15 недель и более, если мясо заморожено), копченые колбасы и ветчины, необработанные высокой температурой (3-6 месяцев). Недоваренная, сушеная, копченая и соленая свинина, кровь, свиные туши и костная мука, полученные от свиней из неблагополучных по АЧС районов, должны считаться потенциально инфицированными и опасными, если идут на корм свиньям или выбрасываются на помойки, где свиньи могут кормиться. Однако проваренная и консервированная свинина безопасна, если прошла термическую обработку при температуре 70°C в течение не менее 15 минут.

Второй особенностью вируса АЧС является установленная генетическая вариабильность изолятов, выделенных в различных неблагополучных регионах, оцениваемая по первичной структуре С-терминального фрагмента гена мажорного капсидного белка р72. Метод, основанный на сиквенсе амплифицированных ПЦР-продуктов, оказался пригоден для филогенетического анализа вируса, проведенного с использованием более пятидесяти полевых изолятов различного географического, хронологического, гостального происхождения, которые разделены на 22 генотипа. Из этого числа 21 генотип представляют изоляты от домашних, диких свиней и клещей Восточной и Южной Африки со специфическим распределением по странам: подобная гетерогенность вируса косвенно указывает на активную эволюцию АЧС в регионе как «колыбели» происхождения болезни, первым названием которой было «восточно-африканская чума свиней». Напротив, преимущественно одним, I генотипом вируса гомогенно представлены изоляты, выделенные во время вспышек в Европе, Западной и Центральной Африке, Карибском регионе, Бразилии на протяжении 40-летнего периода с 1957 г. (рисунок 1) [3, 4].

Трансмиссия.

Заражение происходит главным образом оро-назальным путем при контакте с инфицированными свиньями или при поедании вирусосодержащих свиных продуктов и других контаминированных

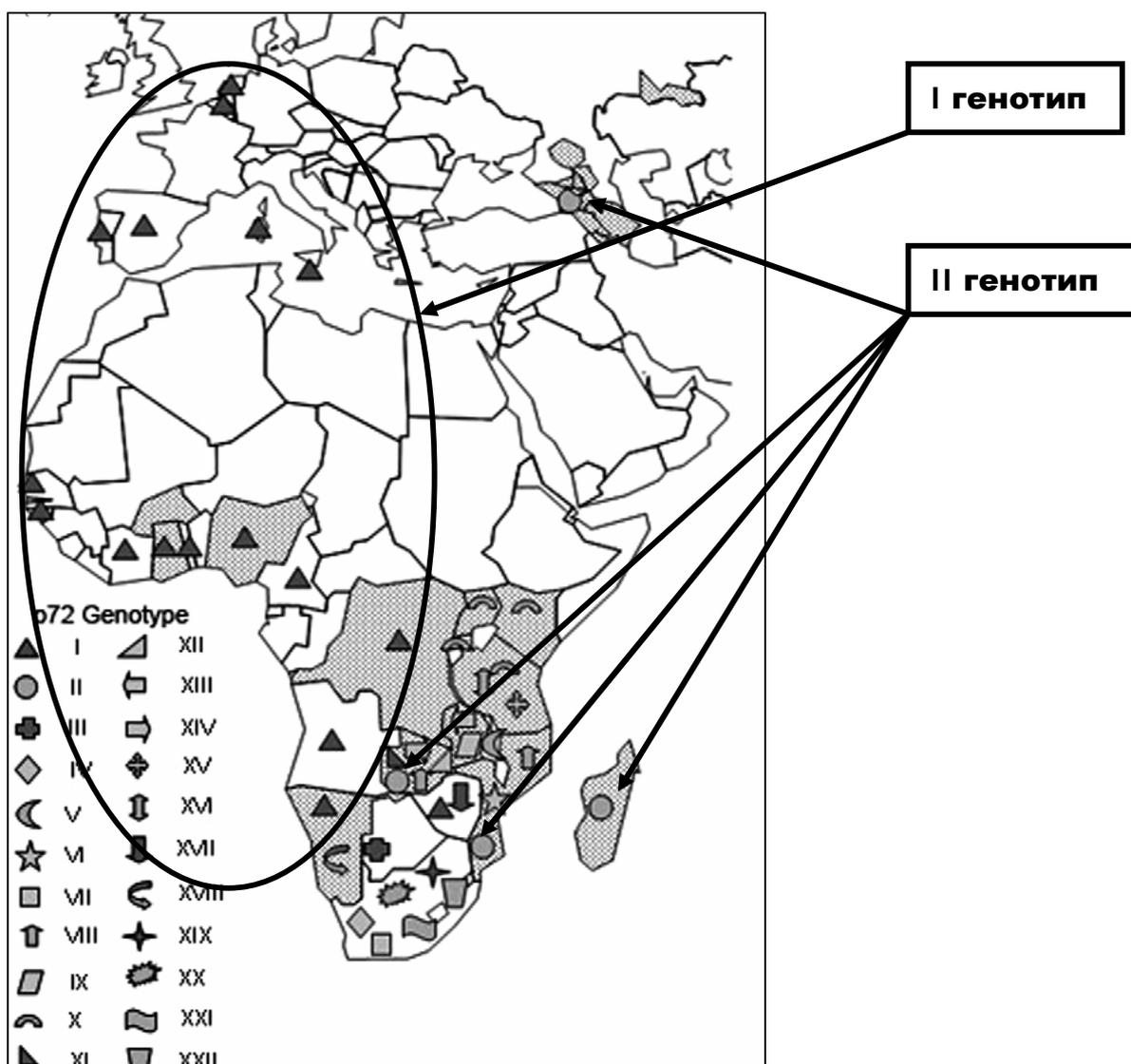


Рисунок 1. Ареалы географического распространения генотипов вируса АЧС [по 3, 4].

кормов (помоев, пищевых отходов). В персистенции вируса на определенной территории важную роль может играть векторная трансмиссия с участием мягких клещей рода *Ornithodoros* (в регионах, где они обитают). В отсутствие клещей циркуляция вируса АЧС среди домашних свиней в основном зависит от наличия достаточно крупной, непрерывной в территориальном и временном отношении популяции свиней, с большой плотностью животных и высоким уровнем воспроизводства, что обеспечивает постоянное наличие интактных хозяев для эстафетного воспроизведения новых случаев заражения и дальнейшего распространения инфекции. Аэрогенная передача отмечена только

на очень близком расстоянии. Трансмиссия через контаминированный транспорт, оборудование, инструменты, одежду и даже насекомых возможна при интенсивной контаминации окружающей среды. Водная передача наименее вероятна вследствие сильного разведения вируса.

Течение.

Инкубационный период болезни - от 5 до 15 дней. Вирулентность отдельных изолятов вируса существенно варьирует, клинически проявляясь в острой, подострой и хронической формах заболевания. Манифестация болезни у домашних свиней обычно молниеносная или острая, когда заболеваемость и смертность внутри зараженного хозяйства может достигать 100%. У клинически выздоровевших свиней вирусемия может сохраняться в течение нескольких недель. Выздоровевшие животные представляют угрозу, так как вирус обнаруживается в их тканях через 6 месяцев после переболевания.

Первым клиническим признаком АЧС обычно является острая лихорадка ($>40^{\circ}\text{C}$), сопровождающаяся угнетением и потерей аппетита. Свиноматки могут абортить на любой стадии супоросности (и служить при этом источником вируса для других свиней в хозяйстве). При клиническом осмотре, однако, АЧС можно только заподозрить. Дополнительными признаками при патологоанатомическом вскрытии могут служить множественные гемorragии в лимфоузлах, селезенке, на почках. Окончательный диагноз ставится только при лабораторном исследовании. Детальные инструкции по лабораторной диагностике АЧС можно найти в «Руководстве по диагностическим исследованиям и вакцинам для наземных животных», глава 2.1.12 [5].

После заражения домашние свиньи могут выделять инфицирующие количества вируса за 24-48 часов до появления клинических признаков. Во время разгара болезни со всеми секретами и экскретами во внешнюю среду выделяются огромные массы возбудителя. Вирус в высоких титрах присутствует в крови и тканях. Свиньи, пережившие острую стадию болезни, могут оставаться источниками заражения несколько месяцев, но редко выделяют вирус дольше 30 дней.

У свиней и бородавочников антитела обнаруживаются в сыворотке крови через 7-12 дней после первых клинических признаков и сохраняются долго, возможно, пожизненно. Они не защищают полностью от повторного заражения домашних свиней, хотя были сообщения о том, что имеет место некоторая резистентность к заражению гомологичными штаммами вируса. Серопозитивные свиноматки передают антитела поросятам вместе с молозивом. У подостро и хронически больных свиней репликация вируса продолжается даже в присутствии антител.

Ситуация в кавказском регионе и Российской Федерации (рисунок 2).

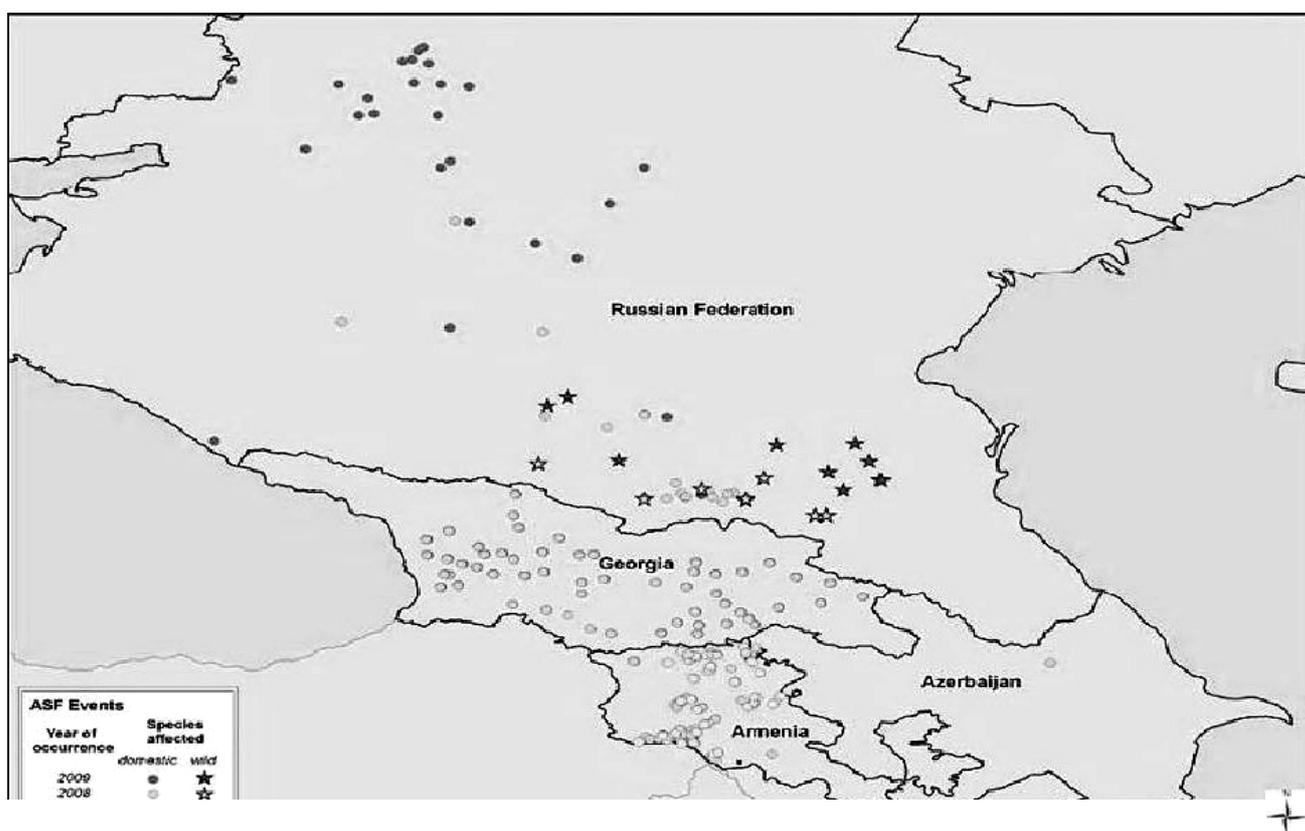


Рисунок 2. Вспышки АЧС на Кавказе и в Российской Федерации в 2007-2009 гг. Кружками обозначены вспышки среди домашних свиней, звездочками - среди диких кабанов.

Грузия.

Хотя сообщение об АЧС поступило в МЭБ 5 июня 2007 г., первые клинические случаи наблюдались еще в мае этого года в окрестностях порта Поти на восточном побережье Черного моря. Все свидетельства указывают на то, что вирус был занесен в Грузию вместе с мусором с международных судов, везших контаминированную свинину или свиную продукцию. Поскольку большинство свиней в Грузии традиционно содержится на вольном выгуле и кормлении отбросами, доступ к мусорным свалкам с пищевыми отходами с этих судов делает правдоподобным такое объяснение заноса АЧС. Затем инфекция распространилась вдоль главных транспортных путей сначала на восток, затем на север, откуда и поступали сообщения о вспышках заболевания. После марта 2008 г. о новых вспышках более не сообщалось. В некоторых пораженных регионах уже возобновили подворное содержание свиней, так что риск реинфекции снова возрастает. В рамках надзора над заболеванием в ноябре-декабре 2009 г. со всех регионов Грузии будут собраны образцы крови для ELISA-теста.

Это было первое официальное сообщение об эмерджентном появлении АЧС в кавказском регионе. Секвенирование грузинского изолята вируса АЧС выявило близкое родство с изолятами из Юго-восточной Африки (Мозамбика, Мадагаскара, Замбии) и принадлежность ко II генотипу [4].

Армения.

Первая вспышка зарегистрирована 6 августа 2007 г. в северном районе республики, граничащем с Грузией. Источником послужило, скорее всего, распространение из Грузии; АЧС могла быть занесена путем законной или контрабандной перевозки свиней и свиной продукции, перемещения через границу свободно выгуливаемых домашних свиней или диких кабанов. Большинство вспышек зарегистрировано в тех же северных районах вблизи границ с Грузией. Последняя официально подтвержденная вспышка болезни произошла в мае 2008 г. Текущий надзор сосредоточен на четырех ранее зараженных районах, характеризующихся лесистой местностью, где свиней содержат по свободно-выгульной системе.

[По данным WANIS в марте 2010 г. на севере Армении возникла реэмерджентная вспышка АЧС с поражением более 100 голов.]

Российская Федерация.

Вспышки зарегистрированы в основном на частных подворьях, а также на некоторых коммерческих фермах и среди диких кабанов. В декабре 2007 г. из РФ в МЭБ поступило сообщение о вспышке АЧС, первой с 1970-х гг. Заболевание было выявлено у пяти диких кабанов, найденных мертвыми в начале ноября на берегах рек Аргун и Шатой-Аргун в республике Чечня на границе с Грузией. Еще два диких кабана в Чечне оказались серопозитивны по АЧС в первой половине 2008 г. В конце июня 2008 г. заболевание впервые обнаружено у домашних свиней на юге Северной Осетии. Хотя точные детали заноса АЧС в РФ неизвестны, похоже, это связано со вспышками в соседней Грузии.

В течение лета 2008 г. болезнь распространилась в несколько областей и республик к северу от Кавказа (43 вспышки с июля по октябрь): Оренбургскую область (близка граница с Казахстаном), республику Ингушетия и Ставропольский край. Среди диких кабанов серопозитивных животных выявлено больше не было. В течение оставшегося 2008 г. был выявлен лишь 1 случай заболевания дикого кабана в Кабардино-Балкарии. Затем, в первой половине января 2009 г., заболеваемость снова возросла: больные животные были выявлены в Ставропольском (3 случая) и Краснодарском (1) краях на фермах, частных подворьях и у диких кабанов. С марта по июль 2009 г. было зарегистрировано 12 вспышек среди домашних свиней (Ростовская область, Ставропольский край, Северная Осетия) и 8 вспышек среди диких кабанов (Чечня и Кабардино-Балкария). После почти двухмесячного перерыва АЧС снова появилась в конце сентября 2009 г.: вспышки отмечены среди свиней в Ростовской области (16), Калмыкии (2), Ставропольском крае (4), Северной Осетии (1), среди диких кабанов в Дагестане (2) и Чечне (1). 1 октября 2009 г. возникла вспышка на ферме воинской части в Ленинградской области, в 2000 км от ранее зараженных пунктов на юге России. Предположительно, АЧС занесена с инфицированной свиной откуда-то из южных регионов страны.

[По данным WAHIS в течение первого квартала 2010 г. на юге РФ зарегистрировано не менее 10 вспышек АЧС среди домашних и диких свиней (Краснодарский край, Ростовская область, Дагестан, Кабардино-Балкария).]

Азербайджан.

Единственная зарегистрированная в Азербайджане вспышка АЧС возникла 28 января 2008 г. в деревне Ник в районе Габала (северо-запад страны, около 180 км от границы с Грузией). Большинство жителей деревни – христиане, что объясняет относительно крупный размер поголовья свиней (4600 голов) в сравнении с другими деревнями. Свиньи содержались на частных подворьях и свободно выгуливались на дворах или пастбищах. Свиней содержали преимущественно для домашнего потребления и мелкой локальной торговли. Местные ветеринарные службы полагают, что вирус АЧС был занесен либо с зараженной свининой, импортированной из Грузии, либо инфицированными дикими кабанями.

Свиноводческий сектор экономики.

В странах Кавказа, РФ и бывших странах СССР значение промышленного разведения свиней неодинаково (таблица).

Таблица. Популяции свиней в регионе.

| СТРАНЫ | ПОГОЛОВЬЕ |
|--------------------|-----------------------------------|
| Армения | 300 000-1 000 000 |
| Азербайджан | 20 000 |
| Белоруссия | 3 842 000 (данные 2008 г.) |
| Грузия | 510 000 (2007 г.) |
| Китай | 494 400 000 (2007 г.) |
| Латвия | 417 000 |
| Литва | 1 127 000 |
| Молдова | 400 000 (2008 г.) |
| РФ | 15 128 888 |
| Румыния | 6 815 000 (2007 г.) |
| Турция | 1 400 |
| Финляндия | 1 435 000 |
| Эстония | 346 000 |

Однако подворное выращивание свиней широко распространено и является важным источником мяса для сельского

населения и часто служит серьезным источником дохода. Подсобных свиней обычно и забивают подворно. Традиционно свиньями торгуют на свободных рынках или напрямую с потенциальными покупателями. Ущерб, наносимый заболеваниями свиней бюджету свиноводов, особенно бедным мелким заводчикам, очень велик, во многом в виду отсутствия четких норм компенсации.

Кавказ.

Популяция свиней в Армении оценивается по разным данным от 300 тыс. до 1 млн. голов, находящихся преимущественно на севере республики. В Грузии наибольшая плотность свиней сосредоточена на востоке и в западных регионах. Разведение свиней в Армении и Грузии носит сезонный характер из-за холодной зимы, в течение которой поросята почти не рождаются. Пиковое время забоя свиней - Новый год и Рождество. В связи с этим численность поголовья бывает наименьшей в январе, когда остаются в основном взрослые производители, и наибольшей в летние месяцы (июнь-август), когда численность животных в несколько раз превосходит зимнюю. Кроме того, вследствие отсутствия регистрации стад и системы идентификации животных, их реальная численность скорее всего превышает зарегистрированную.

Способы ведения свиноводства разнятся в странах Кавказа, но большинство свиней содержатся в небольших подсобных хозяйствах, где животные свободно гуляют, роясь в отбросах в дневное время, и к вечеру возвращаются в стойло (рисунок 3). Существуют также и полупрофессиональные фермерские хозяйства, насчитывающие по несколько сотен свиней, содержащихся в полностью закрытых специализированных помещениях, однако системы выращивания свиней для промышленных целей с высоким уровнем биобезопасности практически отсутствуют. Боенских предприятий очень мало, и забой в основном осуществляется на местах содержания, даже в крупных хозяйствах.



Рисунок 3. Типичный «экотоп» домашней свиньи в южных регионах.

В Азербайджане и Чечне территории, где разводят свиней, немногочисленны, так как население в своем большинстве исповедует ислам, и потребление свинины, следовательно, ограничено численностью христианского меньшинства. Однако в Азербайджане насчитывается около 20 тысяч свиней, и страна планирует десятикратно увеличить производство в ближайшие годы.

В РФ свободный выгул свиней запрещен. В Южном федеральном округе (до 2010 г.), занимающем 585 500 кв.км, насчитывается 3.97 млн. свиней (6.78 голов/кв.км). На Украине 59% свиней содержится на частных подворьях (непрофессиональное содержание по 1-2 головы на двор), остальное поголовье - в промышленных комплексах. Частные хозяйства характеризуются низким уровнем биобезопасности, в то время как на промышленных предприятиях уровень биобезопасности средний. В Молдавии большинство свиней сосредоточено в северной и центральной частях страны, содержится в основном в мелких частных хозяйствах и среднемасштабных свиноводческих фермах с низкими показателями биобезопасности. В Белоруссии, в отличие от Украины и Молдовы, до 70% популяции свиней сосредоточено в промышленных, средних и крупных, специализированных фермах. Тем не менее, 1 млн. свиней содержится в мелких подсобных хозяйствах.

Основные проблемы в РФ и риск для региона.

Хотя подробной государственной стратегии прогрессивного контроля АЧС не разработано, Россельхознадзор подготовил систему предписаний и план действия для сдерживания АЧС и предотвращения дальнейшего распространения заболевания внутри страны. Согласно государственному законодательству, местные государственные ветеринарные службы (районные, областные и др.) отвечают за ветеринарное обслуживание и отчитываются не перед Россельхознадзором, а перед местной администрацией. Россельхознадзор разработал инструкции по предотвращению и контролю АЧС и организовал встречи и семинары для местных властей разных уровней. Но на практике местные власти не всегда принимают все необходимые меры, например, строгий карантин или меры биобезопасности, для раннего распознавания АЧС и реагирования на ее вспышки. Системы учета и слежения за животными не позволяют отследить все перемещения свиней, торговлю свининой и продукцией свиноводства. Вероятно, существует огромный объем незаконной торговли и транспортировки свиной продукцией. Таким образом, похоже, АЧС была вынесена за пределы региона эндемичного распространения в Оренбургскую (2008 г.) и Ленинградскую (2009 г.) области.

Другая проблема заключается в недостатке доверия и кооперации между хозяевами свиней и местными властями и ветслужбами. В некоторых случаях компенсация была неудовлетворительной, и владельцы утратили веру в своевременное и справедливое возмещение ущерба. Это может привести к тому, что о заболевании не будут сообщать, но экстренно забивать свиней для домашнего потребления или продажи на местных рынках, туши (и внутренности, боенские отходы) могут быть попросту выброшены в ближайшем лесу. Выборочная проверка уже выявляла наличие вируса в задержанной мясной продукции, которая перевозилась для продажи и происхождение которой было подложно декларировано с целью обхода ограничений, наложенных властями.

Кормление пищевыми отходами - распространенная практика при подворном содержании свиней. Необходимо больше информационных и образовательных кампаний для владельцев свиней и ветеринарных специалистов для предотвращения АЧС.

Дикие свиньи. Роль этих животных в распространении и персистенции АЧС в кавказском регионе и РФ, к сожалению, практически неизвестна. На большой площади Чечни и Ингушетии регулярно встречаются серопозитивных (обычно мертвых) диких кабанов, что свидетельствует о том, что дикий кабан занимает важное место в эпидемиологии этой инфекции. Дикие кабаны скорее всего содействуют распространению вируса, так как их перемещение между регионами и странами не поддается контролю. Хотя этот вид обычно не мигрирует, они могут кочевать, например, при суровых климатических условиях или во время гона (периода спаривания), если плотность дикого кабана невелика. Инфекция может распространяться, как описано для классической чумы свиней, там, где географическое распределение дикого кабана непрерывно. Там, где дикий кабан не обитает или есть естественные или искусственные барьеры, инфекция распространяться не будет.

Поэтому распределение и размер популяции дикого кабана можно использовать для прогнозирования потенциального разноса вируса. К сожалению, доступных данных по численности, распространению и плотности дикого кабана очень мало. Распределение дикого кабана тесно связано с местами его привычного обитания - лесистой местностью, болотами и реками. Дикий кабан непрерывно распространен от РФ к западу. В то время как плотность его в частях Западной Европы велика, доступная информация по Восточной Европе и Кавказу отмечает очень низкую плотность, обычно меньше 1 гол/кв.км. В Южном административном округе РФ насчитывается 40 тысяч диких кабанов с плотностью 0.01 гол/кв.км. Скорость распространения эпизоотии на новые территории коррелирует с плотностью дикого кабана - чем выше плотность, тем быстрее диссеминация.

Плотность также может быть критическим показателем для потенциального эндемического укоренения инфекции в окружающей среде. В Армении и Грузии дикий кабан находится под охраной из-за низкой численности (но встречается и незаконный отстрел). Для болезни с такой высокой летальностью, как у АЧС, логично предположить, что для циркуляции инфекции необходима высокая плотность дикого кабана, что не соответствует условиям в регионе. В настоящее время географическое распределение дикого кабана на неблагоприятных территориях

достаточно однородно, с возможными коридорами на Украине и в странах Прибалтики.

Дикий кабан может скрещиваться с домашними свиньями, особенно когда последних содержат по свободно-выгульной системе и при низком уровне биобезопасности. При нехватке корма дикие кабаны охотнее приближаются к фермам. Естественная среда обитания домашних свиней и диких кабанов частично совпадает, в частности, в конце лета и начале осени, когда дикие кабаны спускаются в населенные долины, чтобы кормиться фруктами и орехами, и встречаются там свободно пасущихся домашних свиней. Осенью дикий кабан не покидает пределов леса.

Клещи рода *Ornithodoros*. Вдобавок к указанным проблемам, в Кавказском регионе обитают некоторые потенциальные переносчики вируса АЧС - мягкие клещи *O. alactagalis*, *O. pavlovskyi* и *O. lahorensis*. Некоторые авторы относят их к группе *Ornithodoros erraticus*, а современные представления подразумевают, что в Евразии только виды этой группы способны переносить вирус. Механического переноса иксодовыми (твердыми) клещами, вероятно, не существует, так как эти клещи питаются на хозяине только один раз, а затем отваливаются и линяют. Считается, что вирус не может выжить в тканях только что вылинявшего клеща. Однако лабораторных исследований возможности векторной передачи вируса иксодовыми клещами не проведено. Стоит трем описанным видам клещей *Ornithodoros* послужить подходящим вектором, потребуются дополнительные усилия, чтобы оздоровить определенное хозяйство, что еще больше усложнит контроль заболевания. В теле клещей вирус может персистировать несколько лет и даже десятилетий.

Наличие этих клещей внутри и вблизи загонов и в местах кормления свиней, а также способность клещей служить вектором, сейчас исследуется Проектом Технического Сотрудничества ФАО в Армении и Грузии. Пока клещей в свинарниках найдено не было, как не было выявлено и антител у диких кабанов. Сбор образцов крови продолжается.

Следует сказать, что вероятность укоренения и становления эндемичности АЧС велика. В отсутствие сдерживающих мер АЧС может быстро распространиться на другие страны в регионе. На востоке и юге от Кавказа находятся преимущественно исламские

страны (Турция, Казахстан и Иран) с незначительными популяциями свиней (за исключением небольшого их количества в изолированных христианских общинах). Наиболее подверженными риску окажутся Финляндия, страны Балтии, Украина и Белоруссия на западе и Китай на востоке. Последствия могут быть катастрофическими.

Два основных фактора риска определяют вероятность распространения АЧС в Европе:

- § завоз зараженной свинины, обычно работниками свиноводства, путешествующими по Европе;
- § географически непрерывное распространение дикого кабана от РФ к Украине и далее на запад.

Меры предотвращения и контроля.

Вакцин или других препаратов для профилактики и лечения АЧС не существует. В связи с этим особенно важно, чтобы свободные от АЧС территории оставались таковыми за счет предотвращения заноса инфекции. Все применяемые меры контроля и эрадикации основаны на классических методах, включая надзор, эпизоотологическое исследование, трасинг (контроль перемещения) и стемпинг аут зараженных стад, а не только отдельно взятых животных с выраженными клиническими симптомами. Эти меры сочетаются со строгим карантинном, мерами биобезопасности и контролем передвижения животных.

Профилактика.

Политика карантинирования при импорте. Кодекс МЭБ (глава 2.6.6) [6] содержит указания по безопасному ввозу домашних и диких свиней, свинины и свиной продукции, свиного семени, эмбрионов, яйцеклеток и других продуктов, содержащих ткани свиней (например, для фармацевтической промышленности). Следует уделять особое внимание, чтобы обеспечить задержание карантинными службами пищевых продуктов и других материалов свиного происхождения, ввозимых в страну через международные воздушные и морские порты и наземные границы. Эти меры должны включать проверку багажа, в том числе личного имущества, из стран, угрожаемых по АЧС. Любой изъятый материал должен быть безопасно утилизирован путем глубокого

закапывания или сжигания. Так же следует поступать с пищевыми отходами с самолетов и кораблей, и ни в коем случае не сваливать их в местах, где они окажутся доступными животным, роющимся в отбросах.

Скармливание пищевых отходов. Эта мера - рискованное занятие, так как таким образом можно занести ряд заболеваний в здоровую популяцию свиней. Не следует скармливать свиньям пищевые отходы, потенциально содержащие останки свиней. Информационные кампании должны быть рассчитаны на владельцев свиней, чтобы они понимали опасность скармливания пищевых отходов, перед скармливанием своим свиньям проваривали их в течение 30 мин и давали им остыть. Лучше наложить запрет на скармливание пищевых отходов, т.к. ожидать согласия от домашних заводчиков не приходится. На любой ферме с высоким уровнем биобезопасности скармливание пищевых отходов должно быть запрещено.

Содержание свиней. Нужно поощрять содержание свиней в правильно оборудованных загонках - это поможет снизить количество бродячих, роющихся в мусоре свиней (рисунок 3), их контактов с дикими свиньями и кабанам, особенно на территориях, где риск заноса АЧС особенно велик. Однако традиционных способов содержания свиней во многих странах не изменить за один раз, до тех пор, пока заводчики не сочтут выгодным содержать свиней взаперти.

Информирование. Владельцев свиней и работающий персонал нужно информировать об АЧС, чтобы они могли распознавать и знать заболевание, что делать и куда обращаться при подозрении АЧС.

Биобезопасность. Фермеров следует поощрять к повышению уровня биобезопасности - сведению до минимума посетителей фермы, ограждению периметра, удалению навоза, загрузке и выгрузке свиней из транспорта за пределами огороженного периметра, очистке и дезинфекции транспорта после перевозки свиней. Ограда по периметру территории содержания свиней предотвратит распространение инфекции от домашних свиней к диким, и наоборот. В идеале ограждение должно быть двойным, с расстоянием, по крайней мере, 1 м. Нельзя допускать диких свиней к обедкам домашних. Свободный выгул свиней в сельской местности представляет дополнительную сложность для

биобезопасности, но в этом случае применяются те же самые принципы. Оборудование и помещения надо периодически вычищать и дезинфицировать. Использовать одно оборудование на разных фермах не следует, только если оно должным образом не чистится и дезинфицируется. Хозяева свиней и рабочие должны избегать контактов с другими свиньями и посещениями других свиноводов. Для работы со свиньями должна быть выделена специальная одежда и обувь. Ремонтных животных для разведения следует завозить только из проверенных благополучных мест. Случайных посетителей, особенно тех, кто мог контактировать со свиньями, на ферму допускать нельзя. Также рекомендуется размещать у входа на ферму таблички с просьбой не приближаться к свиньям. Внутренности и отходы убоя свиней следует должным образом утилизировать. Если заболевание имеет место в данном хозяйстве, у входов и выходов нужно организовать дезинфекционные установки (дезинфектант, щетка, ведро с водой или ножная ванна).

Контроль.

Общественное информирование. Нужно публиковать информацию о вспышках АЧС, подчеркивая опасность скармливания пищевых отходов, особенно в мелких подворных хозяйствах. Частных фермеров нужно поощрять к повышению уровня биобезопасности. В каждой стране и каждом регионе на государственном уровне следует применять систему раннего оповещения, подталкивающую фермеров регулярно обследовать восприимчивых животных и сообщать о подозрительных симптомах и случаях падежа свиней. Общественное информирование необходимо и для того, чтобы уверить потребителей, что мясо, получаемое от здоровых животных, безопасно для потребления. Путем информирования и встреч на уровне деревень можно обеспечить взаимодействие хозяев свиней. Гражданские власти тоже должны располагать информацией об эпизоотической обстановке и быть начеку.

Надзор. Во всех подозрительных случаях, включая все зараженные и прилежащие к ним территории, в течение не менее 40 дней от последней даты возможного заражения (максимальный инкубационный период) следует осуществлять интенсивный надзор, основанный на клиническом осмотре,

патологоанатомическом и серологическом исследовании и сообщениях владельцев свиней и охотников. Владельцев свиней путем пропаганды следует привлекать к пассивному надзору. В каждом случае обнаружения зараженного хозяйства нужно установить происхождение заболевания («занос извне») и возможные контакты («вынос изнутри»). В целях определения временного распространения болезни рекомендуется проводить ретроспективный анализ журнала убоя (на предмет выявления предыдущего чрезмерного количества выбракованных из-за лихорадки или патологических изменений животных) и образцов, отправленных в лабораторию в случаях, похожих на АЧС.

Карантин и трасинг. На все зараженные и подозреваемые территории как можно раньше должен быть наложен карантин. Вывоз с карантинируемой территории свиней, их продукции и другого потенциально инфекционного материала должен быть запрещен до окончания исследования и постановки диагноза. Персоналу запрещается покидать ферму, не сменив одежду и обувь. При свободно-выгульной системе содержания и в деревнях свиней нужно запирасть.

Выделяют две зоны карантинирования: (i) *режимную зону* (restricted area), обычно радиусом 3 км, включающую все зараженные территории и некоторые или все прилегающие и подозреваемые территории, и (ii) *контролируемую зону* (control area), которая является буферной вокруг первой. Установление режимной зоны предотвратит распространение заболевания благодаря тому, что перемещение между вероятно зараженными территориями и за их пределы будет прекращено. Перемещение потенциально контаминированных материалов разрешено внутри контролируемой зоны, но вывоз их далее запрещен и осуществляется только с разрешения ветеринарных властей. Зоны с другим статусом могут иметь другие ограничения, например, полный запрет любых передвижений, перевозку свиней только на бойни или перемещение на другую территорию с предварительной инспекцией и проверкой.

Зонинг. Если заболевание эндемично лишь в определенной части страны и возможно определить зараженные и свободные от болезни зоны, следует установить строгий контроль перемещения свиней и свиной продукции между этими зонами, тогда

зонирование является важным компонентом в элиминации или эрадикации заболевания.

Стемпинг аут и утилизация. Все инфицированные и контактировавшие с ними свиньи должны быть гуманно убиты. Владельцы свиней часто отказываются от поголовного убоя, или практики стемпинг аут, так как часто на местах нет адекватной программы компенсации. Это может способствовать диссеминации заболевания путем неконтролируемого незаконного перемещения больных животных. После завершения кампании стемпинг аут туши убитых свиней должны быть безопасно утилизированы: их следует сжечь или глубоко зарыть, желательно прямо на месте убоя. Такие меры помогают предотвратить поедание останков дикими, бродячими животными и растаскивание туш с места утилизации. Утилизация большого числа свиней в короткие сроки представляет логистические трудности и проблемы для окружающей среды [7].

Компенсация. Это - ключевой момент в обеспечении раннего информирования со стороны владельцев свиней. Отсутствие соответствующей компенсации вовремя и в полном объеме может привести к умалчиванию о случаях заболевания, экстренному убою свиней владельцами для личного потребления, продажи на местных рынках или неправильной утилизации в местах, посещаемых домашними или дикими свиньями.

Очистка и дезинфекция. Перед дезинфекцией важно механически очистить свинарники, оборудование, транспорт и т.п. от органических субстанций. Транспорт и обслуживающий персонал (обувь, одежду, инвентарь) нужно дезинфицировать при входе и выходе с фермы. Проверенными дезинфектантами являются моющие средства, гипохлориты, щелочи и глутаральдегид. Важно убедиться, что использование дезинфектантов соответствует нормативным требованиям, так как некоторые средства обладают остаточными эффектами или представляют опасность для окружающей среды. Оборудование, которое нельзя дезинфицировать, следует заменить или подвергнуть экспозиции под солнечными лучами.

Борьба с векторами. Механически переносить вирус АЧС от стада к стаду способны некоторые кровососущие насекомые, а именно *Stromoxys calcitrans* и муха Це-це (*Glossina morsitans*).

Следовательно, для предотвращения такой трансмиссии можно применять программы по борьбе с насекомыми.

Борьба с клещами. Элиминация из старых свинарников клещей *Ornithodoros* - очень сложная задача из-за их долгой жизни и устойчивости. Клещи могут длительное время обходиться без пищи, забиваясь в щели, недоступные для акарицидов. Рекомендуется не держать свиней в инфицированных постройках, изолировать и даже разрушать эти свинарники и отстроить их заново в другом месте.

Животные-сентинел и репопуляция. Депопулированные помещения должны оставаться свободными от животных в течение не менее 40 дней после очистки и дезинфекции. Следует использовать серонегативных свиней-сентинел (индикаторов), ведя за ними серологическое и клиническое наблюдение в течение 6 недель для обнаружения возможной реинфекции.

Контроль в дикой природе.

В случае укоренения АЧС в популяции диких свиней или кабанов элиминировать ее будет гораздо сложнее, практически невозможно. Поэтому стратегия должна быть направлена на *минимизацию контактов между дикими и домашними свиньями.* Предпочтительно сооружение двойного ограждения вокруг свинарников, нивелирование или снижения числа диких свиней в районе мест содержания домашних свиней, немедленное уничтожение туш, внутренностей и других останков свиней с целью предотвращения поедания их дикими свиньями и другими падальщиками.

Если, несмотря на описанные меры, укоренение произошло, для ее контроля существует несколько неоднозначных способов. *Охота* может оказаться контрпродуктивной, так как она провоцирует кабанов к перемещению ближе к населенным пунктам и к миграции на большие расстояния. К тому же охота не всегда снижает численность диких кабанов. *Прикармливание* кабанов с целью привлечения их в определенные места и ограничения расселения увеличивает возможность близких контактов и передачи инфекции. Тем не менее, там, где охота организована и регулируется, охотники и охотничьи клубы могут оказать важное содействие усилиям ветслужб в надзоре за АЧС.

Литература.

1. Beltron-Alcrudo D., Guberti V., De Simone L. et al. African swine fever spread in the Russian Federation and the risk for the region. EMPRES Watch, 2009. <ftp://ftp.fao.org/docrep>
2. Бакулов И.А., Макаров В.В. Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней // Вестник сельскохозяйственной науки, 1990, № 3.
3. Bastos A., Penrith M., Cruciere C. et al. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. Arch. Virol. 2003, 148 (4).
4. Rowlands R., Michaud V., Heath L. et al. African Swine Fever Virus Isolate, Georgia, 2007. Emerg. Infect. Dis. 2008, 14 (12).
5. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2004. OIE. <http://www.oie.int/eng/normes>
6. Terrestrial Animal Health Code. OIE, 2007. <http://www.oie.int/eng/normes>
7. Стемпинг-аут. Политика и тактика в искоренении болезней (руководство по применению ФАО). Пер. с англ. под ред. В.В.Макарова и др. М., 2010, РАКО/РУДН, 133 с.

ДИКИЙ ЕВРОПЕЙСКИЙ КАБАН.

1. ВЕТЕРИНАРНАЯ БИОЛОГИЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЯ*

В связи с эмерджентностью возникновения и распространения африканской чумы на территории РФ среди домашних и диких свиней с 2007 года последние приобретают особое значение как потенциальные природные резервуары болезни с возможным формированием самого нежелательного для страны эпизоотологического феномена - природной очаговости этой опасной трансграничной инфекции [3, 4]. *Цель настоящей работы* - формулировка и оценка гипотез относительно возможной роли диких кабанов в эпизоотологии АЧС на данном этапе ее распространения в РФ. В ее первой части обсуждаются биоэкологические признаки кабанов, приводятся суммированные данные по распространению в их природных популяциях наиболее важных инфекций животных и человека, формулируются особенности кабанов, имеющие эпизоотологическое значение.

Материалы и методы.

Исследование проведено в формате систематического обзора, объектом которого явились результаты оригинальных работ и первичных публикаций по биоэкологическим особенностям кабанов ветеринарно-прикладного значения и инфекциям, распространенным в их популяциях. По условиям систематического обзора как особой формы научного исследования со специальной, структурированной методологией [5, 8] были осуществлены тотальный информационный поиск по теме, несмещенный отбор описательной, количественной информации и доказательств, критическая оценка полученных данных, их суммирование, анализ и интерпретация результатов.

* Опубликовано в журнале «Ветеринария», 2010, 7, 28-31 совместно с О.И.Сухаревым, А.А.Коломыцевым и О.Б.Литвиновым.

Поиск доказательной информации осуществлен в отобранных базах данных и научных изданиях (ProMED, WAHID, EMPRES, OIE Publications, OIE Working Group of Wildlife Diseases, Wildlife Disease Association, USGS, J. Wildlife Diseases, Theriogenology, и др.). Все источники доступны в World Wide Web и имеются у исполнителей. Сведения о численности домашних и диких животных, все количественные данные географического порядка получены из общедоступных и официальных ресурсов [1, 2, 6, 7, 12].

В целях статистического обобщения данных, включенных в систематический обзор, использован качественный и количественный метаанализ - научно-систематический прием доказательной медицины, позволяющий объединить результаты независимых исследований [5, 8].

Ветеринарная биология.

Кабан (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758), или вепрь, дикая свинья, предок домашней свиньи - крупное, массой до 200 кг всеядное парнокопытное нежвачное млекопитающее семейства Suidae. Ареал обитания - широколиственные и смешанные леса материковой Средней Европы от Атлантики до Урала, Средиземноморье, включая отдельные районы Северной Африки, степные районы Евразии, Средней Азии, на северо-востоке Передней Азии, на севере доходит до 50° с. ш., на востоке до Амура и Гималаев (рисунок). В древности в Средней Европе и на Ближнем Востоке кабан водился практически повсеместно, теперь во многих местах истреблен (например, во всей Англии).

В России кабан населяет значительные территории Европейской части (кроме северо-восточных тундровых и таёжных районов), на Кавказе, в Южной Сибири, на Тянь-Шане он восходит до 3300 м. На протяжении последних семи лет наблюдается устойчивое и относительно быстрое увеличение поголовья с ежегодным приростом от 5 до 15% (в некоторых областях до 50% и более). Население кабана, в частности, в 2008 году составляло в Северо-Западном административном округе 40 тысяч голов, в Центральном - > 112, Южном - ок. 38, Приволжском - 62 [1, 2, 6, 7, 9, 12].



Рисунок. Ареал расселения кабана [1, 12].

Предпочтительными биотопами кабанов являются богатые водой, болотистые лесистые, заросшие камышом или кустарником местности. В последние годы, в связи с прогрессирующей гуманизацией природно-территориальных комплексов, обитание кабанов проявляет выраженную приуроченность к антропогенному ландшафту и даже синантропность, что значительно повышает уровень разнообразных спонтанных контактов и общений между дикими, домашними свиньями и человеком в ветеринарно-эпидемиологическом плане. Пища кабанов, главным образом, природно-растительного происхождения (плоды, желуди, орехи, корни и т.п.), может включать различных почвенных беспозвоночных, мелких животных и падаль. Существенным сезонным пищевым ресурсом являются выращиваемые на полях и огородах плоды, овощи (прежде всего картофель), зерновые, которые в летне-осенние периоды созревания подвергаются массовым интенсивным нашествиям этих животных, нередко со значительными вредоносными последствиями для агропромышленного и приусадебного сельского хозяйства.

Животные круглый год ведут активный образ жизни, формируют стада (семьи) из самок, детенышей и молодых самцов по 10-30 голов; старые самцы живут поодиночке. У кабанов годичный цикл размножения, самки приносят один раз в год (весной) 4-6 поросят. Годовая динамика численности характеризуется высокой спонтанной смертностью в первые

месяцы жизни, уровень которой в периоды роста или депрессии популяции варьирует от 35 до 70%, и 10% охотничьей добычей [1, 2, 6, 7, 12].

Биотопическое распределение кабанов обуславливается прежде всего пищевыми ресурсами. Средние размеры стадий, осваиваемых за зиму, при обеспечении пищей - 2-4 кв. км. Протяженность суточного хода (в среднем 3-4 км) зимой варьирует значительно и определяется доступностью корма. Перемещения могут ограничиваться расстояниями от мест дневки до ближайших картофельных полей и иных антропогенных угодий (1.5-2 км), реже - от одних полей к другим (7-11 км). Кроме прочего, высокая мобильность этих животных дает им возможность в поисках пищи, в зависимости от сезона и иных причин совершать длительные миграционные заходы на многие сотни километров, что особенно типично для 2-3 летних самцов в периоды гона [1, 2, 6].

Инфекции, распространенные в популяциях диких кабанов.

Европейский кабан по восприимчивости практически не отличается от свиней домашних пород, разводимых в самых разных географических регионах [9, 10, 11, 12]. Однако в связи с диким образом жизни не существует достоверных наблюдений и документированных данных о спонтанном течении инфекционных болезней и особенно естественных эпизоотий среди этих животных. Поэтому весьма информативны данные скрининговых исследований в отношении как инфекций, присущих представителям семейства Suidae, так и полипатогенных. Подвергнутые отбору данные серологического скрининга за 15 лет, абстрагированные и объединенные метаанализом, приведены в таблице.

В числе отобранных 45 объектов (*страна/инфекция*) выявлены 29 положительных и 16 отрицательных результатов при соотношении 2.23 к 1 (индекс надежности). Серопревалентность варьировала от единичных случаев до 70%. Наибольшее неблагополучие эпизоотических ситуаций выявлено по парвовирусной (Испания, Италия, Хорватия), цирковирусной (Испания, Чехия) инфекциям и болезни Ауески (Испания, Италия,

Таблица. Систематический обзор результатов серологического скрининга распространенных и некоторых контролируемых эпизоотических инфекций животных в популяциях диких свиней в европейском регионе (Giovanni et al., 1988; Laddomada et al., 1994; Muller et al., 1998; Albina et al., 2000; Vicente et al., 2002, 2005; Vengust et al., 2005; Roic et al., 2005; Ruis-Fons et al., 2006; Ebanl et al., 2003; Lari et al., 2006; Lelesius et al., 2006; Sedlak et al., 2008; Kukushkin et al., 2008) [по 9-12].

| Период обследований (годы) | Объемы выборок (голов) | Результаты скрининга | ПВИС* | Болезнь Ауески | СЦВ* | КЧС* | РРСС* | Грипп (H1) | ВБД* | ТГЭС* | Ящур | ВБС* | Leptospira | Mycobacterium bovis | Salmonella | Brucella |
|----------------------------|------------------------|--|-------|----------------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|-------|-------|------------|---------------------|------------|----------|
| 1991-2008 | 20-4750 | Число стран: обследованных / в т.ч. серопревалентных | 4 / 4 | 7 / 5 | 3 / 3 | 4 / 4 | 8 / 1 | 2 / 1 | 1 / 1 | 1 / 1 | 2 / 0 | 3 / 0 | 2 / 2 | 4 / 4 | 1 / 1 | 3 / 2 |
| | | % серопозитивности | 3-70 | 9-61 | 50 | 1-39 | 0-11 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 5-12 | 2-57 | 4 | 0-30 |

* ПВИС - парвовирусная инфекция свиней, СЦВ - свиной цирковиринус-2, КЧС - классическая чума свиней, ВБД – вирусная диарея КРС, ТГЭС - трансмиссивный гастроэнтерит свиней, РРСС - репродуктивный и респираторный синдром свиней, ВБС - везикулярная болезнь свиней.

Чехия, Словения, Восточная Германия). Настораживающими являются находки серопозитивности по классической чуме в благополучных странах Европы вплоть до начала 21 в. Представляет интерес обнаружение серопозитивности кабанов по африканской чуме свиней на уровне 10% в 1991-1993 гг. в Испании в ходе эрадикации болезни [9, 10, 11, 12].

Кроме возбудителей зоопатогенных инфекций, по данным серологического, бактериологического и ПЦР-скрининга, среди кабанов выявлено широкое распространение возбудителей зооантропонозов и описано много случаев прямой передачи инфекций человеку. В частности, в популяциях кабанов превалентность вируса гепатита Е составляла 25-42% (Испания, Италия), цирковируса ТTV, ассоциированного с гепатитом человека, - > 80%. Выявлена позитивность по возбудителям гриппа А Н1 (4%), туляремии (6%), лептоспироза (6%), Ку-лихорадки (6%), бруцеллеза (20%), туберкулеза (до 57%), чумы (> 60%), интенсивное инвазирование кабанов *Trichinella* sp и *Toxoplasma gondii* [10, 11].

Эпизоотологические признаки.

В биоэкологии кабанов на индивидуальном и популяционном уровнях выделяется ряд особенностей (физиология, этология, фенология, распределение в биотопах), которые с точки зрения ветеринарии могут быть определены как *эпизоотологические признаки вида*.

1. Прежде всего кабаны рассматриваются как вредные и проблемные животные:

§ согласно «Агроэкологическому атласу России» (2003) кабаны признаны вредителями сельского хозяйства из-за наносимого ими ущерба (потравы картофеля и зерновых, повреждения полей);

§ при перемещениях и оккупации территорий они провоцируют несчастные случаи (аварии на дорогах, нередкая агрессивность в отношении людей);

§ представляют реальную эпизоотическую угрозу свиноводству [многие инфекции не только свиней, но и полипатогенные, в числе которых трансграничные классическая и африканская

чума, болезнь Ауески, бруцеллез (см. таблицу), многие полигостальные инвазии];

§ представляют потенциальную угрозу здравоохранению, являясь носителями и резервуарами возбудителей многих зооантропонозов.

2. Благодаря семейному образу жизни с приуроченностью стадий к биогеоценотическим условиям кабаны как вид расселены и формируют дискретные территориальные стабильные компактные кластеры-очаги восприимчивых группировок [1, 2, 6]. Экологическая кластеризация хозяина - каноническое условие становления и развития природной очаговости болезней по всем законам учения Е.Н.Павловского.

3. Хорошо известный элемент фенологии кабанов - интенсивные нашествия в агроценозы - обуславливает разноплановые связи между природными и антропогенными экотопами и их населением. В конечном итоге это выражается реальными контактами диких и домашних свиней с различными последствиями - от прямого и опосредованного обмена инфекциями и паразитами, контаминации ими хозяйственной среды до скрещивания самок домашних свиней с самцами диких кабанов и рождения гибридного потомства.

4. Важным эпизоотическим фактором является повсеместный рост популяций кабанов и территориальная экспансия ими новых территорий. Это обусловлено рядом причин, таких как снижение роли хищников (в биосистеме *волки-кабаны*), отсутствие биотопической конкуренции, тенденции природно-социальных и климатических изменений, глобальное повышение экологических требований [благодаря последнему сформировалась особая категория заразных болезней, ассоциированных с законодательными и регулирующими мероприятиями в области охраны природы (legislation and regulation enforcement associated diseases)] [1, 2, 7, 9, 10, 11].

Заключение.

По данным метаанализа, нозоареал и инфекционный нозологический профиль популяций диких кабанов свидетельствуют о высокой степени неблагополучия и активном процессе проэпизоотичивания на территории всей Европы. Важно,

что в числе инфекций диких кабанов те, по которым в домашнем свиноводстве достигнуто благополучие, они ликвидированы или контролируются.

Эпизоотологические признаки, убиквитарность и высокая, возрастающая плотность населения кабанов в европейском регионе создают самые благоприятные перспективы для дальнейшей резервации возбудителей заразных болезней животных и как следствие - потенциального фактора эмерджентности и эпизоотического распространения как индигенных, так и экзотических инфекций. В целом, по-видимому, нет серьезного повода говорить об эпизоотической обособленности диких кабанов от домашнего свиноводства.

Литература.

1. Дикий кабан. http://ru.wikipedia.org/wiki/Sus_scrofa
2. Кульпин А.А. Особенности биотопического распределения и питания кабана (*Sus scrofa* L.) на севере Европейской части России // Вестник НГУ им. Н.И.Лобачевского. – 2008. - № 2. - С. 82-86.
3. Курнявко Н.Ю., Макаров В.В. Африканская чума свиней в Грузии // Международный вестник ветеринарии. – 2008. - №1. – С. 6-10.
4. Макаров В.В. Комментарий к современной ситуации по АЧС (по материалам ProMED) // Ветеринарный консультант. – 2007. - №12. – С. 4-6.
5. Общая эпидемиология с основами доказательной медицины. Под ред. В.И.Покровского и Н.И.Брико. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
6. Русаков О.С., Тимофеева Е.К. Кабан (экология, ресурсы, хозяйственное значение на Северо-Западе СССР). Л.: Изд-во ЛУ, 1984.
7. Состояние ресурсов охотничьих копытных животных, медведей, соболя, бобра, выдры и их добыча в РФ в 2003-2008 гг. (инф. материалы). М., 2009. – С. 16-27.
8. Cochran database of systematic reviews, 1995.
9. Infectious diseases of wildlife: detection, diagnosis and management // Rev. sci. tech. OIE. – 2002. - 21 (1-2).
10. Livestock diseases and zoonoses // Phil. Trans. R. Soc. 2009, 364 (1530), 2637-2642, 2683-2707.
11. Ruiz-Fons F. et al. A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoirs viruses // Vet. J., 2008, 176, 158-169.
12. Wildlife husbandry and diseases // Rev. sci. tech. OIE., - 1996, -1.

ДИКИЙ ЕВРОПЕЙСКИЙ КАБАН. 2. ПРИРОДНАЯ ОЧАГОВОСТЬ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

В предыдущей публикации [3] показано, что нет оснований говорить об эпизоотической обособленности диких кабанов от домашнего свиноводства, а в их природных популяциях существуют благоприятные условия для эмерджентного возникновения и эпизоотического распространения инфекций животных и зооантропонозов, в том числе АЧС. Там же изложены основные материалы и методы исследования. Во второй части работы в формате систематического обзора анализируются природная очаговость, признаки паразитарной системы африканской чумы у диких свиней *per se* и на юге РФ.

Природная очаговость и паразитарная система АЧС.

Спонтанная восприимчивость диких свиней различных видов к АЧС хорошо известна. Заболевание было неоднократно воспроизведено в экспериментах, установлено в естественных условиях у диких европейских кабанов в течение продолжавшейся около сорока лет эпизоотии на Иберийском полуострове, длительное время сохраняется в природно-очаговой форме на о. Сардиния. Важно, что у кабанов показано нелетальное течение и серопозитивность при естественной инфекции [1, 5, 6, 8, 9].

В этом отношении АЧС достаточно полно исследована у диких африканских свиней, главным образом у наиболее многочисленных бородавочников (*Phacochoerus* sp), а также гигантских лесных (*Hylochoerus meinertzhageni*) и кистеухих (*Potamochoerus* sp) свиней, биоэкология которых в традиционном субсахарном нозоареале характеризуются эпизоотологическими признаками, сходными с таковыми диких европейских кабанов [3].

* Опубликовано в журнале «Ветеринария», 2010, 9, 24-28 совместно с О.И.Сухаревым, Б.В.Боевым, А.А.Коломыцевым и О.Б.Литвиновым.

Основные признаки АЧС, имеющие общее эпизоотологическое и паразитосистемное значение, сводятся к тому, что паразитарная система имеет выраженный стереотип природноочаговой инфекции с диморфным экотипом «+/+», т.е. природный цикл с персистенцией среди диких свиней предполагает и возможное антропоургическое распространение инфекции среди домашних свиней (рисунок 1). При этом диморфизм паразитарной системы АЧС далеко не равнозначен [1, 5, 9].

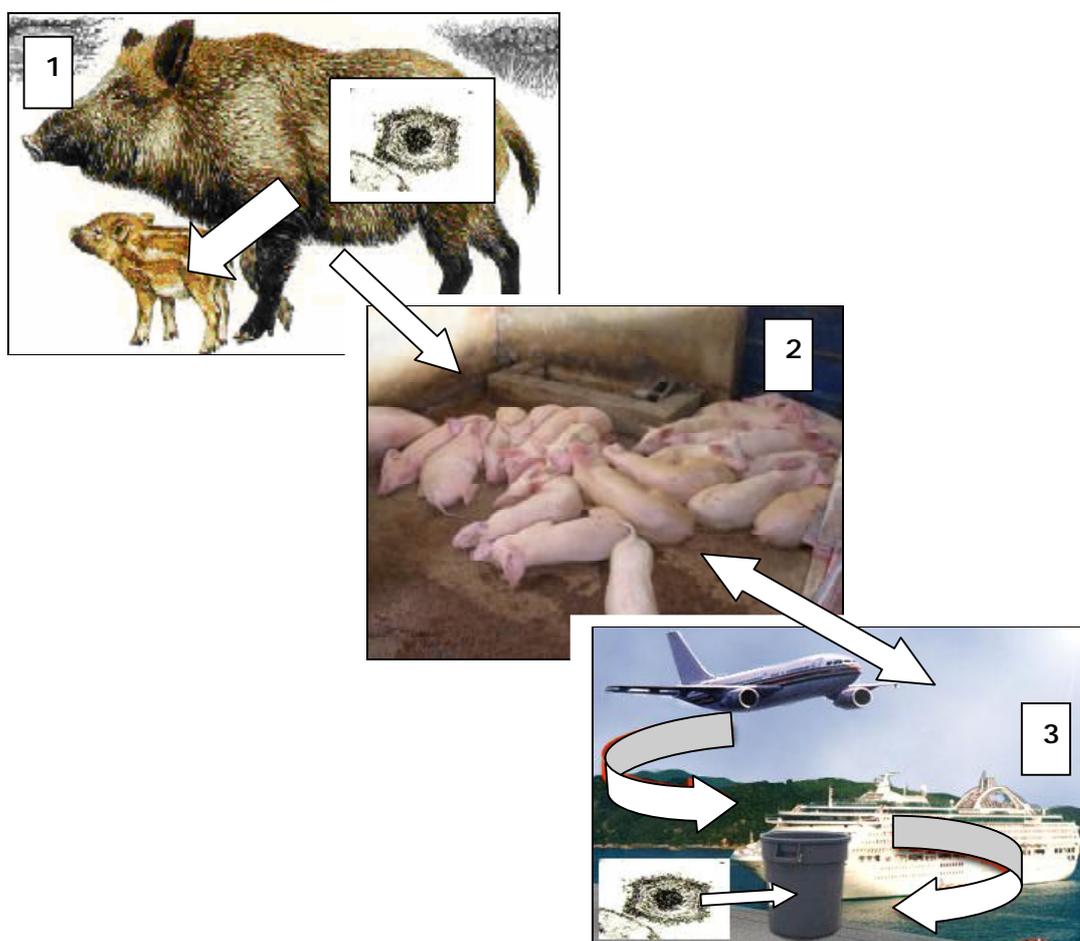


Рисунок 1. Элементы эпизоотического процесса при АЧС: 1 - природно-очаговая «семейная инфекция» диких свиней, 2 - возникновение в антропоургических условиях, 3 - основные пути непредсказуемого территориального распространения [по 4, 5, 6].

Согласно общим эволюционно-экологическим закономерностям и канонам учения о природной очаговости Е.Н.Павловского цель паразитосистемного объединения соактантов - их видовое сбалансированное взаимосохранение. Это достигается эволюцией паразитарных систем в направлении усиления их интеграции (согласно правилу усиления интеграции биологических систем И.И.Шмальгаузена), главным образом, оптимизации отношений *паразит↔хозяин*, нанесения наименьшего взаимного вреда. [Наиболее убедительной иллюстрацией является паразитарная системы современного лисьего бешенства с радикальными изменениями свойств возбудителя, хронизацией инфекции и проявления эпизоотического процесса (В.В.Макаров и др., 2002-2005).]

Кругооборот вируса АЧС в природных очагах предназначен именно для его сохранения как биологического вида, поэтому *de facto* природно-очаговая инфекция в этом отношении представляется как некий закономерный результат определенно направленной эволюции. Случаев летальной инфекции в эпизоотическом плане среди диких африканских свиней не наблюдается, превалентность вирусоносителей составляет 40%, серопозитивности - 75%, все их крупные популяции инфицированы более чем на 80% (для популяций бородавочников в регионах восточной и южной Африки). Инфицированные животные до трех месяцев высоко вирулентны со способностью трансмиссии вируса клещами *Ornithodoros* sp., носительство с выделением вируса из лимфоидной ткани сохраняется до восьми месяцев [5, 6, 8, 9].

В антропоургических условиях эпизоотический процесс АЧС имеет во многом оппозитное проявление - характер случайных острых эпизоотических вспышек ограниченной продолжительности, чаще тупиковых. «Внесистемность» инфекции и экологическая удаленность от природно-очаговой персистенции обуславливают остроту и тяжесть клинического течения, экстенсивную септическую патологию с высокой летальностью в первичных случаях [1, 5] (см. рисунок 1).

Патогенетические механизмы саморегуляции паразитарной системы АЧС.

Приведенные особенности эпизоотологии АЧС и ее «коварство» объясняются важнейшей чертой - чрезвычайной вариабельностью вирулентности различных изолятов возбудителя (признак, вынесенный в современное определение болезни) и быстрой его изменчивостью при распространении среди домашних свиней по этому признаку, определяющему саморегуляцию паразитарной системы по В.Д.Белякову (1983). Как было показано ранее [1, 2], в основе процесса лежит изначально выраженное клональное разнообразие природных вирусных популяций, обуславливающее быстрое изменение вирулентности вируса в полевых условиях, и его альтернативное значение по сравнению с постепенной, «случайной» гетерогенизацией возбудителя путем мутагенеза и накопления преимущественных мутантов. Для природных популяций возбудителя АЧС оказался характерным необычайно богатый, поддерживаемый на высоком уровне мобилизационный резерв изменчивости как причина постоянной готовности вируса к шифтовым модификациям при возникновении отбора. Градиент штаммовых различий отражает состояние мобилизационного резерва изменчивости вируса АЧС по признаку вирулентности в локальных природных популяциях [2].

Установлены и причины явления, обусловленные тем, что мишенями вируса АЧС являются мононуклеарные фагоциты, где исключается рецепторзависимый эндоцитоз как основной для большинства вирусов селекционирующий фактор [2]. В отсутствие отбора, согласно закону Харди-Вайнберга, частота генотипов в популяции не меняется. В условиях «семейной инфекции» у диких свиней эпизоотическая цепь выражается в паравертикальном заражении и распространении возбудителя от родителей потомству по аналогии с хорошо исследованной моделью «семейного» лимфоцитарного хориоменингита мышей с сообщением расщепленной толерантности новорожденным по Hotchin (1971). [При этом в «семейном цикле» природноочаговой АЧС не имеет особого значения способ паравертикальной передачи инфекции - прямым контактом от персистентно инфицированной матери за счет повышения экскреции возбудителя вследствие родового стресса или трансмиссивно через клещей-орнитодорин. Согласно

обобщенным данным по эпизоотиям АЧС в различных регионах Африки роль этих клещей в циркуляции вируса весьма относительна [6].]

Изначально выраженная гетерогенность возбудителя по признаку вирулентности обуславливает в одном «семейном» цикле у новорожденных всю гамму форм проявления болезни - от острой летальности до бессимптомной персистентной толерантной инфекции. В ограниченной семейной группе с гибелью части потомства естественным образом исключаются вирулентные составляющие популяции возбудителя с сохранением персистентных, нелетальных клонов.

На основании изложенных механизмов скорость эволюции АЧС (точнее сказать изменчивости), направленной таким образом, необычно высока как в природных, так и в антропоургических очагах. Например, при эпизоотии на о. Гаити (1978-1979 гг.) в течение нескольких недель летальность изолятов снизилась со 100 до 10%. [Столь резкое снижение вирулентности исключает *a priori* эволюцию за счет канонического мутационного процесса и естественной селекции в организме под влиянием иммунных и т.п. факторов отбора с прогрессивной постепенной перестройкой генофонда популяции.] Основной движущий механизм явления - быстрый непреднамеренный искусственный отбор из готового неоднородного состава, при котором с гибелью или уничтожением хозяина (свиней) все летальные компоненты (клоны) естественных популяций вируса так или иначе исключаются из кругооборота и циркуляции, но остаются преобладающими персистентные клоны, замаскированные хроническим или скрытым течением [1, 2].

Разумеется, наряду с такими закономерностями эволюции АЧС есть и явления обратного порядка - реверсия, усиление вирулентности персистентных вариантов в полевых условиях с возвратом к острому течению болезни.

Этой отличительной чертой эволюции АЧС в плане традиционных представлений о естественной изменчивости возбудителей - разнонаправленной селекцией ослабленных или вирулентных клонов из высоко гетерогенных природных популяций - объясняется экзквизитный, вспышечный характер эпизоотического процесса при АЧС среди домашних свиней, диморфизм природноочаговой инфекции и другие ее особенности [1, 2].

АЧС и природная очаговость на юге РФ.

Эпизоотическую обстановку по АЧС на территории республик кавказского региона и юга РФ характеризуют подвергнутые несмещенному отбору исчерпывающие сведения из официальных источников (ProMED, WAHID) и СМИ за 2007-2009 гг., абстрагированные и объединенные метаанализом в таблице и выраженные графически на рисунках 2 и 3.

Таблица. Систематизированные показатели количественной эпизоотологии АЧС в наиболее неблагоприятных регионах юга РФ в 2007-2009 гг. (по 7).

| | Количественные данные (поголовье) | | | | | Индексы (%) | | |
|----------------------------|-----------------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| | Экспозировано | Заболело | Пало | Уничтожено | Убито | Очаговости* | Смертности** | Летальности |
| Всего | 47400 | 3240 | 2910 | 25000 | 14000 | 6.8 | 6.1 | 89 |
| Северная Осетия | 25900 | 2040 | 2020 | 19000 | 9700 | 7.8 | 7.8 | 99 |
| Ставропольский край | 9000 | 700 | 460 | 2850 | 4200 | 7.7 | 5.1 | 66 |
| Краснодарский край | 7100 | 310 | 250 | 800 | 0 | 4.3 | 3.5 | 80 |
| Ростовская область | 5150 | 80 | 80 | 2300 | 0 | 1.5 | 1.5 | 100 |

* в данном случае показатель регистрируемого распространения болезни в популяции риска (экспозированных, или подозреваемых в заражении животных), выражаемый отношением числа заболевших к ее общей численности.

**показатель тяжести влияния инфекции на популяцию риска, выражаемый отношением числа павших к ее общей численности.

Общая картина развития заболеваемости свидетельствует, что АЧС получила эпизоотическое распространение с вовлечение популяций как домашних, так диких свиней. Официально зарегистрированы 74 вспышки болезни среди домашних свиней и 26 вспышек с участием диких кабанов на территории 9 административных единиц ЮАО РФ. АЧС при возникновении и распространении сохраняет эпизоотологический стереотип высоколетальной инфекции с типичными клиническими и патологоморфологическими проявлениями [7].

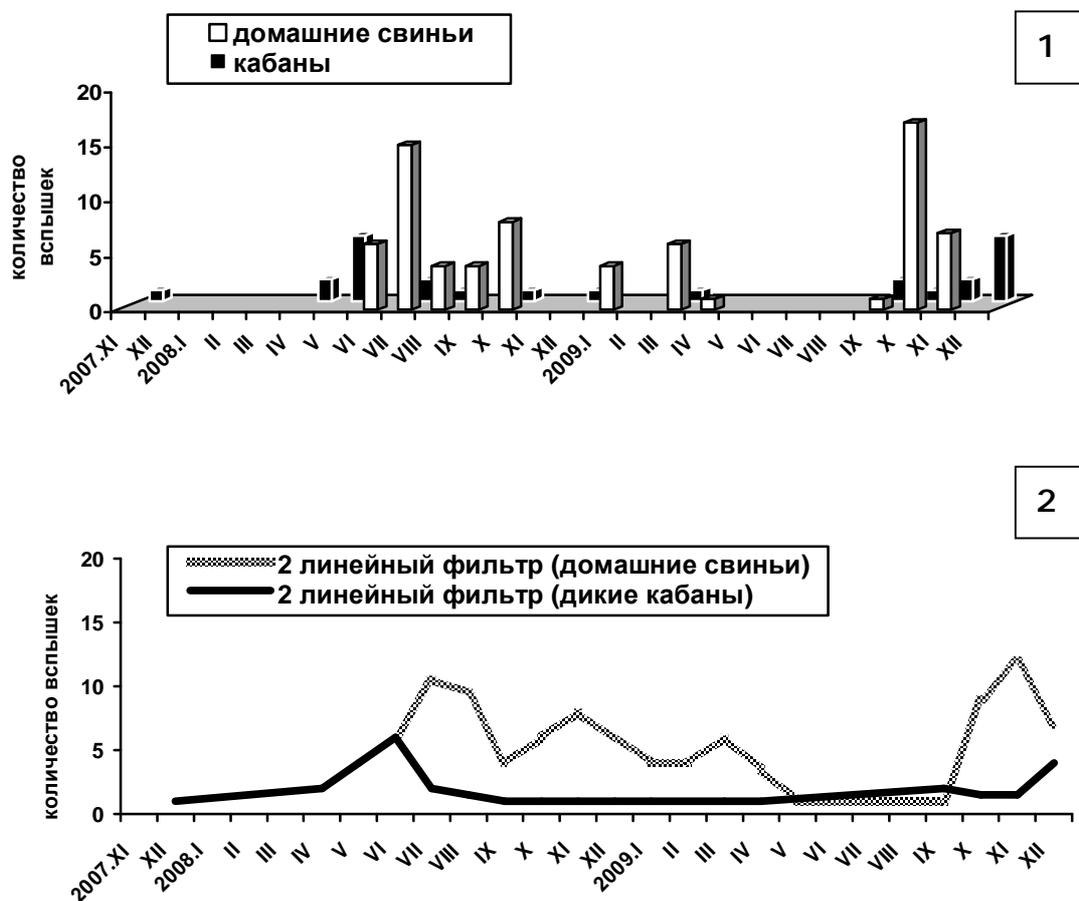


Рисунок 2. Хронология вспышек АЧС среди домашних и диких свиней в южном регионе РФ в 2007-2009 гг.: количество (1) и тренды (2).

Болезнь впервые возникла среди кабанов и последовательно регистрировалась в Чечне (ноябрь 2007 г., затем апрель и май 2008 г.), Северной Осетии (июль и август 2008 г.) и Ингушетии (июль, октябрь 2008 г.). Именно в этот период, с июня по октябрь, возникла чрезвычайная ситуация в Северной Осетии - 29 вспышек АЧС среди домашних свиней, 6 вспышек в Ставропольском крае, инфекция была занесена в Краснодарский край, Кабардино-Балкарию (см. рисунки 2 и 3).

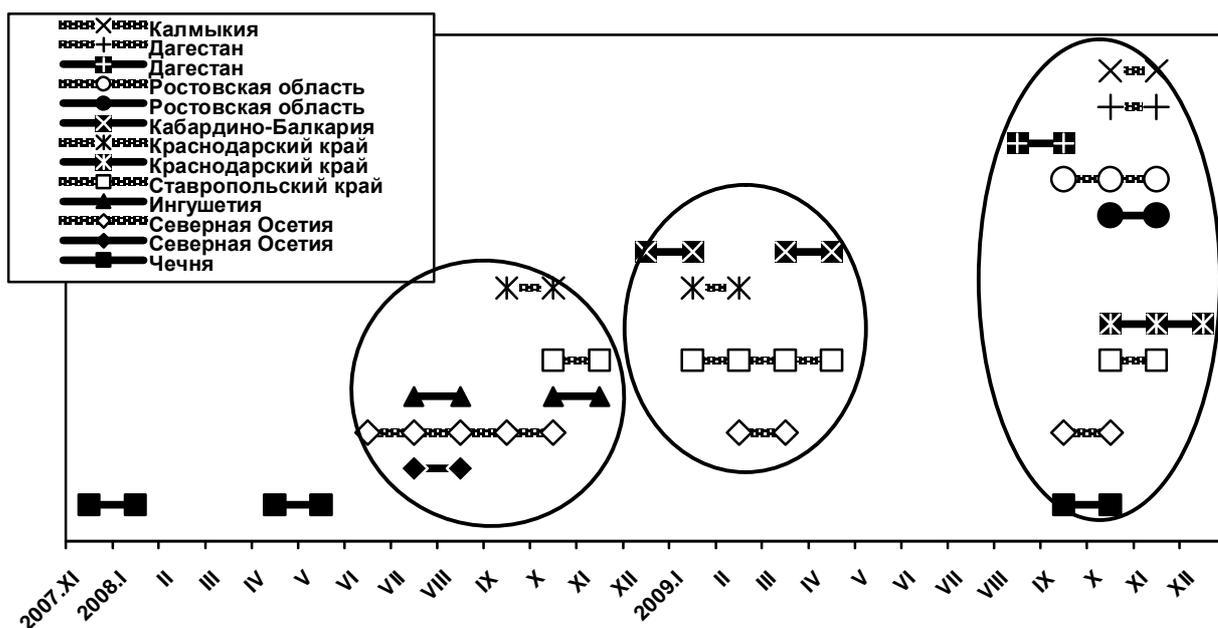


Рисунок 3. Региональная динамика эпизоотии АЧС на юге РФ в 2007-2009 гг. (светлые символы - домашние свиньи, черные - кабаны).

В динамике эпизоотического процесса за этот период выражены три пика - три графических кластера интенсивности: июнь-октябрь 2008 г. (Северная Осетия), январь-апрель и сентябрь-ноябрь 2009 г. (Ставропольский край и Ростовская область, соответственно). Очевидно, что первые два представляют первичную территориальную инвазию АЧС в ЮФО РФ. Третий пик (30 вспышек) последовал в осенний период после относительного четырехмесячного благополучия в течение лета 2009 г. В него вовлечены как домашние, так и дикие свиньи семи неблагоприятных регионов по всему периметру округа от Дагестана, Чечни, Северной Осетии до Калмыкии и Ростовской области (рисунок 3).

На третьем пике эпизоотии АЧС у кабанов практически одновременно выявлена в Дагестане, Чечне, Краснодарском крае (район г. Сочи) и Ростовской области, т.е. от Каспийского до Азовского и Черного морей. Такое распределение зарегистрированных вспышек однозначно свидетельствует о формировании самостоятельного природного цикла инфекции в популяциях этих животных и природной очаговости болезни на территории округа, пространственной диффузности и фронта эпизоотии с высокой плотностью заболеваемости.

Несмотря на относительно короткий, двухлетний период эпизоотии вполне вероятна «ускоренная» эволюция АЧС в популяциях кабанов в том же направлении и по тем же патогенетическим механизмам саморегуляции паразитарной системы, как это происходило в Африке, Испании, на о. Сардиния и описано выше [1, 2, 8, 9], со становлением персистентной толерантности. В пользу гипотезы свидетельствует по крайней мере отсутствие фатальной гибели кабанов при достаточном территориальном распространении инфекции и плотности их населения в Предкавказье [3]. Таким образом «семейный» механизм эволюции АЧС в сочетании с высокой плотностью населения и неизбежными внутривидовыми контактами при перемещениях становится основным фактором риска дальнейшего формирования и пространственного распространения природноочаговой инфекции. Сформировавшаяся природная очаговость болезни приобретает векторный потенциал первичного источника инфекции по отношению к вспышкам АЧС среди домашних свиней и ее возможного антропургического цикла.

Литература

1. Бакулов И.А., Макаров В.В. Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней // Вестник сельскохозяйственной науки. - 1990. - № 3. – С. 46-55.
2. Макаров В.В. и др. Популяционная структура вируса африканской чумы свиней по признаку количественной гемадсорбции // Вопросы вирусологии. – 1991. - №4. –С. 321-324.
3. Макаров В.В. и др. Дикий европейский кабан. 1. Ветеринарная биология и эпизоотология // Ветеринария. – 2010. - № 7. – С. 28-31.
4. Эрмитлолл Юбхашини. Африканская чума свиней в Республике Маврикий // Ветеринарный консультант. -2008. - № 22. – С. 10-22.
5. Arias M., Sánchez-Vizcaíno J. African Swine Fever. In: Trends in emerging viral infections of swine. ISU Press; 2002, p. 119–24.
6. Costard S. et al. African swine fever : how can global spread be prevented? // Phil. Trans. R. Soc. 2009, 364 (1530), 2683-2696.
7. Office International des Epizooties-World Animal Health Information Database (WAHID) Interface.
8. Ruiz-Fons F. et al. A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoirs viruses // Vet. J., 2008, 176, 158-169.
9. Wilkinson P. The persistence of African swine fever in Africa and the Mediterranean // Prev. vet. Med. 1984, 2, 71-82.

ДИКИЙ ЕВРОПЕЙСКИЙ КАБАН.

3. МОДЕЛИРОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРИРОДНО-ОЧАГОВОЙ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ*

Настоящее сообщение является третьей частью работы, посвященной анализу природной очаговости африканской чумы свиней, в том числе в южном регионе РФ. В предыдущих ее элементах описаны биоэкологические признаки диких европейских кабанов, суммированы данные по распространению в их природных популяциях наиболее актуальных инфекций животных и человека, сформулированы видовые особенности, имеющие эпизоотологическое значение [4]. Обсуждены природная очаговость, паразитарная система АЧС и патогенетические механизмы ее саморегуляции *per se*, дан анализ распространения болезни на юге России в 2007-2009 гг. и становления феномена природно-очаговой инфекции [5]. Изучение общей картины процессов распространения АЧС в пределах бывшего ЮФО РФ свидетельствует о том, что эта трансграничная инфекция получила эпизоотическое распространение с вовлечением популяций как домашних свиней, так и диких кабанов: за анализируемый период официально зарегистрированы 74 вспышки болезни среди домашних свиней и 26 вспышек с участием диких кабанов на территории 9 административных единиц [5, 6].

В сложившейся ситуации особое значение и актуальность приобретают исследования по созданию математических и компьютерных инструментов для решения задач по анализу («восстановлению») и прогнозу параметров эпизоотического процесса природно-очаговой АЧС в популяциях кабанов, уже имеющего вектор первичной инфекции по отношению к вспышкам болезни и эпизоотиям среди домашних свиней на территории России с непредсказуемым потенциалом потерь [1, 2, 3, 5, 6].

* Принята к печати в журнале «Ветеринария», 2010, 12, совместно с Б.В.Боевым, О.И.Сухаревым и О.Б.Литвиновым.

Цель настоящего сообщения - описание современного научного инструментария (математической модели и компьютерной программы), ориентированного на изучение процессов возникновения и распространения АЧС в популяциях диких кабанов на территории южных регионов РФ.

Материалы и методы.

В качестве эпизоотологических предпосылок моделирования вспышек АЧС среди кабанов были приняты три основные формы проявления болезни, реально определяющие параметры эпизоотического процесса:

- § течение с относительно краткосрочным разрешением (как правило, 4-7 суток со 100%-ным фатальным исходом, т.е. сверхострое и острое);
- § подострое течение (до 15-25 суток с летальностью 50-100%);
- § хроническая или персистентная инфекция, сопровождающаяся вирусносительством неопределенной продолжительности (от 2 месяцев до пожизненного).

Как показывает анализ имеющихся данных, при заносе АЧС в первичных очагах на неэндемичных территориях клинически преобладающими являются острые формы болезни с инкубационным периодом 2-6 суток, началом заразительного периода за 2 суток до первых признаков (гипертермия), длительностью клинического периода 1-5 суток и неизбежной летальностью; более продолжительная инкубация может быть только результатом вторичных вспышек и эволюции, требующей определенного времени [5, 6, 7, 8].

Математическая модель развития эпизоотической вспышки АЧС в популяции кабанов, построенная на этой основе, позволяет предложить ее рабочую структуру типа **SEI₁I₂RF**, где: **S** - восприимчивые животные, **E** - зараженные животные в инкубации, **I₁** - больные особи в острых формах, **I₂** - больные особи в подострой форме, **R** - хронически и персистентно больные (носители), **F** - особи, павшие от АЧС.

В рамках этих представлений математическая модель АЧС с учетом процессов распределенности во времени четырех стадий-

состояний (**E**, **I1**, **I2** и **R**) имеет вид системы нелинейных интегродифференциальных уравнений (1-8) в частных производных с соответствующими начальными и граничными условиями.

1. Изменение числа восприимчивых кабанов - **S**: $x(t)$ в природном очаге:

$$dx(t)/dt = -u(0,t);$$

$$\text{начальные условия: } x(t_0) = \alpha * p(t_0);$$

2. Изменение числа кабанов в инкубационном периоде - **E**: $u(t, t)$:

$$\frac{\partial u(t,t)}{\partial t} + \frac{\partial u(t,t)}{\partial t} = -g(t) * u(t,t);$$

$$\text{начальные условия: } u(t, t_0) = u_0(t);$$

3. Изменение числа больных кабанов в острых формах - **I1**: $y_1(t, t)$:

$$\frac{\partial y_1(t,t)}{\partial t} + \frac{\partial y_1(t,t)}{\partial t} = f * g(t) * u(t,t) - d_1(t) * y_1(t,t);$$

$$\text{начальные условия } y_1(t, t_0) = 0;$$

4. Изменение числа больных кабанов в подострой форме - **I2**: $y_2(t, t)$:

$$\frac{\partial y_2(t,t)}{\partial t} + \frac{\partial y_2(t,t)}{\partial t} = (1-f) * g(t) * u(t,t) - d_2(t) * y_2(t,t);$$

$$\text{начальные условия } y_2(t, t_0) = 0;$$

5. Изменение числа кабанов с хроническим течением - **R**: $zr(t)$:

$$\frac{\partial zr(t,t)}{\partial t} + \frac{\partial zr(t,t)}{\partial t} = (1-e) * d_2(t) * y_2(t,t) - d_3(t) * zr(t,t);$$

$$\text{начальные условия } zr(t, t_0) = 0;$$

6. Изменение числа больных кабанов, погибших от АЧС - $zf(t)$:

$$dzf(t)/dt = \int \partial d_1(t) * y_1(t,t) dt + e * \int \partial d_2(t) * y_2(t,t) dt;$$

$$\text{начальные условия: } zf(t_0) = 0;$$

7. Граничные условия эпизоотии АЧС в природном очаге:

$$u(0,t) = (1(t)/p(t)) * \{x(t) * (\int \partial y_1(t,t) dt + \int \partial y_2(t,t) dt + \int \partial zr(t,t) dt)\};$$

$$\text{начальные условия: } y(0,t) = 0;$$

8. Изменение численности живых кабанов на территории природного очага:

$$dp(t)/dt = - \int \partial d_1(t) * y_1(t,t) dt - e * \int \partial d_2(t) * y_2(t,t) dt;$$

$$\text{начальные условия: } p(t_0) = p_0;$$

где: $t = (t - t_{inf})$ - время, прошедшее с момента заражения АЧС отдельного животного (дни); t_{inf} - время (момент) заражения отдельного животного (дни); t - календарное время развития вспышки АЧС (дни); l - средняя интенсивность контактов восприимчивых особей с источниками инфекции (контаминированными факторами среды или больными животными); $a < 1$ - группа риска заражения АЧС в очаге; $g(t)$ - вероятность окончания инкубационного периода АЧС (2-6 дней);

$d1(t)$ - вероятность окончания клинически острого периода АЧС (1-5 дней); $d2(t)$ - вероятность окончания подострого периода АЧС (15-25 дней); $f=0.50$ - доля больных в острой форме АЧС; $d3(t)$ - вероятность окончания хронического периода АЧС (от 60 дней до года); $e=0.70$ - коэффициент смертности среди хронически больных кабанов.

Все указанные в этой модели значения функций [$g(t)$, $d1(t)$, $d2(t)$, $d3(t)$] и параметров [l , a , f , e] имеют характерное биологическое содержание. Их значения могут быть определены в результате обработки информации относительно зараженных, больных и павших от АЧС животных в эпизоотическом очаге.

Результаты и обсуждение.

Компьютерная программа «**African swine fever**» в инициативном порядке была реализована в НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН в начале 2010 года в виде Windows-приложения с вычислительным алгоритмом модели (1-8) по методу сеток (экран программы представлен на рисунке 1).

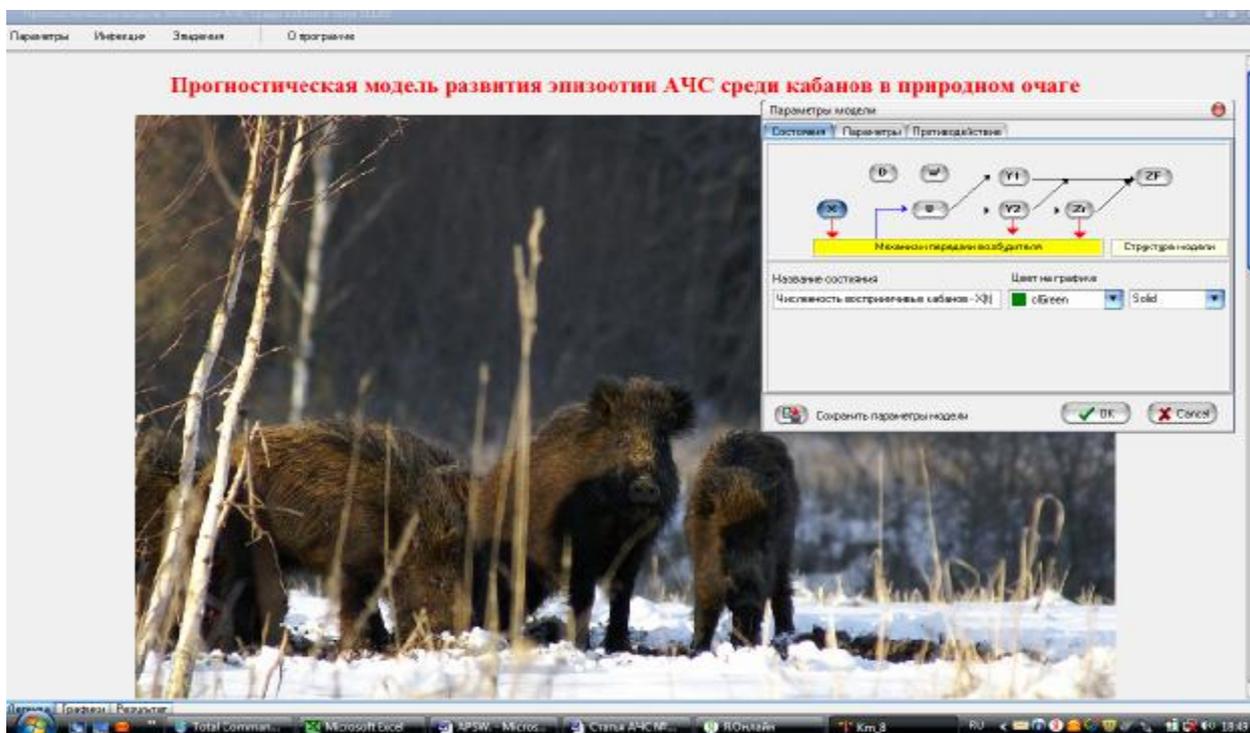


Рисунок 1. Компьютерная программа для изучения локальных вспышек АЧС среди кабанов.

Программа ориентирована на проведение вычислительных экспериментов с математической моделью (1-8) с целью «восстановления» параметров реальных вспышек АЧС и прогноза их развития на юге РФ с различными начальными условиями в очагах поражения.

В таблице 1 приведены оценки численности домашних свиней и диких кабанов в административных субъектах юга России по состоянию на 2007 год. Рассчитаны уровни плотностей распределения домашних и диких животных по территориям субъектов, оценены значения ранга (rang) или значимости этих территорий по интенсивности потенциальных контактов между ними. Очевидно, что наибольшую степень риска для животных и активизации процессов распространения АЧС на данной территории представляют Краснодарский край (rang=1), Северная Осетия (rang=2) и Кабардино-Балкария (rang=3).

Таблица 1.
Расчет риска (произведения плотностей) распространения АЧС
в субъектах южного региона РФ (2007 год).

| Rang территории | Субъекты (республики, края и области) | Площадь, тыс. кв.км | Поголовье, тыс. гол. | | Плотность, гол./кв.км | | Произведение |
|-----------------|---------------------------------------|---------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------|--------------|
| | | | Свиньи | Кабаны | Свиньи | Кабаны | |
| 1 | Краснодарский | 75.5 | 1678.5 | 12.5 | 22.232 | 0.166 | 3.681 |
| 2 | Северная Осетия | 8 | 79.7 | 2.4 | 9.963 | 0.300 | 2.989 |
| 3 | Кабардино-Балкария | 12.5 | 27.9 | 4.1 | 2.232 | 0.328 | 0.732 |
| 4 | ЮФО в целом | 585.5 | 3971.3 | 40.1 | 6.783 | 0.072 | 0.488 |
| 5 | Ростовская | 100.8 | 934 | 3.5 | 9.266 | 0.035 | 0.322 |
| 6 | Карачаево-Черкесия | 14.1 | 17.4 | 3.3 | 1.234 | 0.234 | 0.289 |
| 7 | Ставропольский | 66.1 | 598.9 | 1.2 | 9.061 | 0.018 | 0.164 |
| 8 | Волгоградская | 112.8 | 521.7 | 2.8 | 4.625 | 0.025 | 0.115 |
| 9 | Астраханская | 44.1 | 32.8 | 1.9 | 0.744 | 0.043 | 0.032 |
| 10 | Калмыкия | 74.7 | 47 | 0.8 | 0.629 | 0.011 | 0.007 |
| 11 | Дагестан | 50.3 | 2.5 | 4.1 | 0.050 | 0.082 | 0.004 |
| 12 | Адыгея | 7.6 | 30.9 | нд | 4.066 | нд | нд |
| 13 | Ингушетия | 4 | нд | 0.5 | нд | 0.125 | нд |
| 14 | Чечня | 15 | нд | 3 | нд | 0.200 | нд |

Условия, принятые в качестве опорной точки для дальнейших экспериментальных расчетов, приведены в таблице 2. Для «восстановления» параметров вспышки АЧС и расчетов по прогнозу ее развития объектом избрано сообщество (семья) кабанов со средней численностью в 21 голову, занимаемой площадью в 78.5 кв.км (окружность с радиусом 5 км); именно в таких количественных пределах формируется реальная вспышка АЧС.

Таблица 2.
Исходные данные для вычислительных экспериментов по оценке вспышек АЧС среди диких кабанов на территориях риска (по состоянию на 2007 год).

| Субъекты | Общая площадь, кв. км | Общая численность кабанов, гол. | Площадь на 1 голову, кв. км | Плотность (голов) на площади радиусом: | | |
|------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|--|--------|---------|
| | | | | R=3 км | R=5 км | R=10 км |
| Краснодарский край | 75500 | 12500 | 6.06 | 5 | 13 | 52 |
| Северная Осетия | 8000 | 2400 | 3.3 | 8 | 24 | 94 |
| Кабардино-Балкария | 12500 | 4100 | 3.05 | 9 | 26 | 103 |
| Среднее значение по трем субъектам | 32000 | 6333 | 3.78 | 7 | 21 | 83 |

При проведении расчетных исследований в соотношениях математической модели вспышки АЧС среди кабанов (1-8) использованы настройки для функций и параметров, перечисленные в таблице 3.

Таблица 3.
Функции, параметры модели и их значения для вычислительных экспериментов по оценке вспышек АЧС среди диких кабанов на территориях риска (по состоянию на 2007 год).

| Функции и параметры модели | Минимальное значение | Среднее значение | Максимальное значение | Закон распределения | Примечание (плотность) |
|----------------------------|----------------------|------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|
| $0 < g(t) < 1$ | 2 | 4 | 6 | нормальный | $dg(t)/dt$; N(4,2) |
| $0 < d1(t) < 1$ | 1 | 3 | 5 | нормальный | N(3,2) |
| $0 < d2(t) < 1$ | 15 | 20 | 25 | нормальный | N(20,5) |
| $0 < d3(t) < 1$ | 60 | 210 | 360 | нормальный | N(210,50) |
| $0 < l = \text{Const}$ | 0.05 | 0.125 | 0.2 | эксперимент | оценивается |
| $0 < a < 1$ | 0.9 | 0.95 | 1 | эксперимент | оценивается |
| $0 < f < 1$ | 0.5 | 0.55 | 0.6 | эксперимент | оценивается |
| $0 < e < 1$ | 0.70 | 0.75 | 0.80 | эксперимент | оценивается |

Далее положено, что в этом сообществе кабанов одна особь заражена вирусом АЧС и находится в инкубационном периоде заболевания. Результаты вычислений приведены на рисунке 2, где показаны графики изменения основных переменных вспышки $x(t)$, $u(t)$, $y_1(t)$, $y_2(t)$, $z_r(t)$, $z_f(t)$ - эпизоотическая динамика спонтанной «семейной» инфекции за период в 120 дней. Как следует из расчетов, вспышка болезни привела в течение четырех месяцев к падежу 18 из 21 гол. Таким образом, согласно результатам вычислений по прогнозу развития природной вспышки АЧС, на исходной территории в живых остаются только 3 кабана-носителя инфекции. Они в течение длительного времени (до года и больше) могут перемещаться и заражать особей из других сообществ на ближайших территориях. Если этот процесс повторится многократно, то сформируется природный очаг АЧС на значительной площади с выносом инфекции к домашним животным, которые контактируют с кабанами [5].

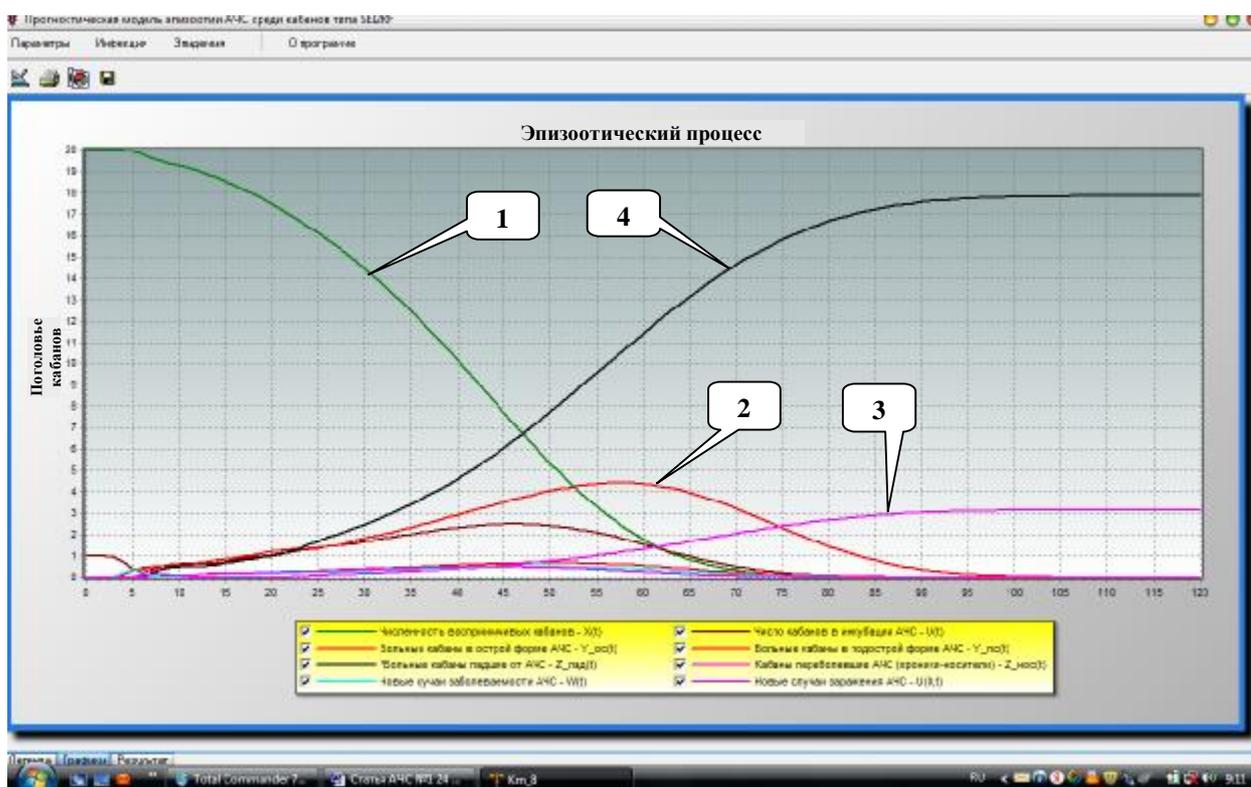


Рисунок 2. Развитие вспышки АЧС в сообществе кабанов на территории обитания: 1 - восприимчивые кабаны, 2 - больные кабаны, 3 - кабаны-носители, 4 - павшие.

Для того, чтобы предупредить или не допустить такое развитие событий, необходимы меры по депопуляции кабанов, например, сокращение их численности в 2-3 раза. Результаты вычислений по прогнозу вспышки АЧС после мер депопуляции приведены на рисунке 3, где показаны графики аналогичных изменений тех же основных переменных $x(t)$, $u(t)$, $y_1(t)$, $y_2(t)$, $zr(t)$, $zf(t)$ за 120 дней.

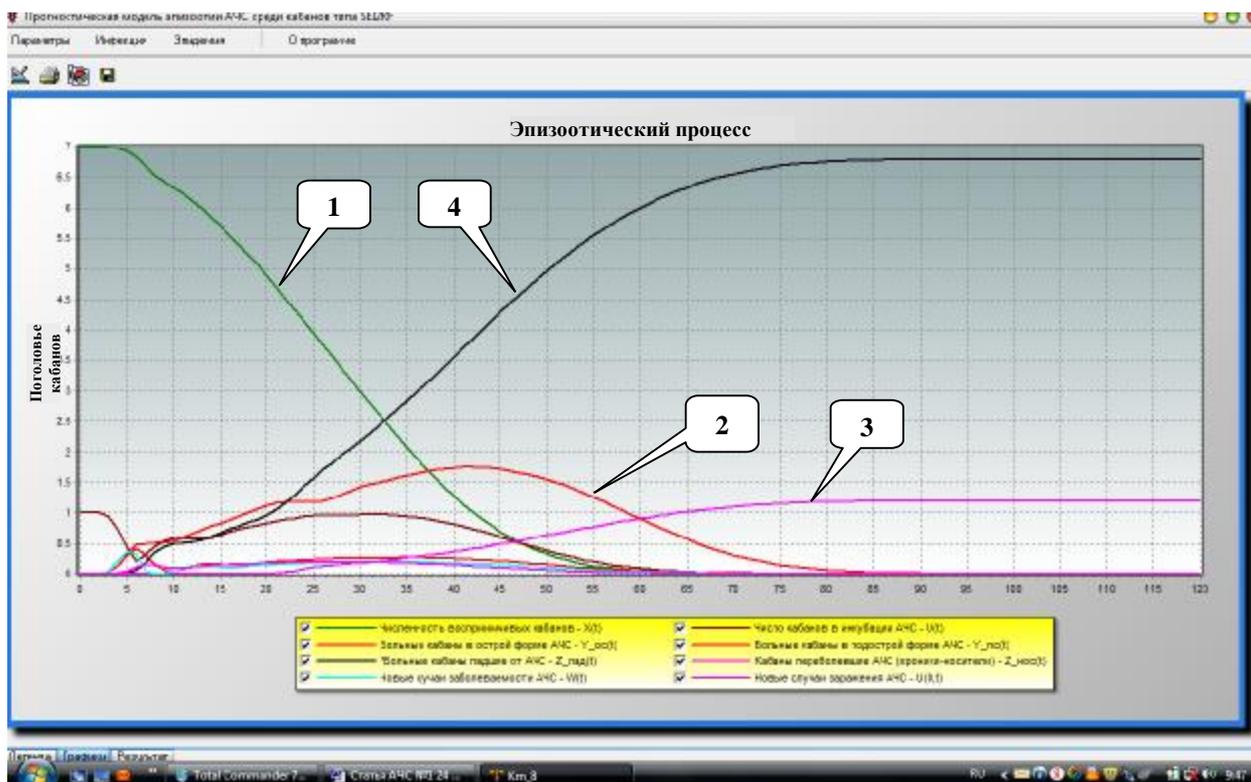


Рисунок 3. Развитие вспышки АЧС в сообществе кабанов после мер по депопуляции: 1 - восприимчивые кабаны, 2 - больные кабаны, 3 - кабаны-носители, 4 - павшие.

Из сравнения графиков на рисунках 2 и 3 следует, что меры по депопуляции исходного сообщества кабанов с 21 до 8 голов предотвращают появление на территории по меньшей мере двух кабанов-вирусоносителей. Это существенно ограничивает распространение АЧС на другие территории.

Так как процесс территориального перемещения вирусносителей и их тесных контактов с восприимчивыми особями из других сообществ трудно предсказуем, то можно предложить создание на компьютере «супер-модели» процессов распространения АЧС на объединении (сумме) территорий юга РФ (бывшего ЮФО). Такая модель, верифицированная на вспышках болезни в 2008-2009 гг., позволит оценить эффективность мер по депопуляции кабанов и дать «сетку» прогнозов развития эпизоотической ситуации. При создании «супер-модели» было принято, что в календарном времени « t » реализуется непрерывная последовательность локальных вспышек АЧС среди кабанов на территориях, соседних с первичным очагом. Эти вспышки описываются сотнями систем уравнений типа (1-8) или локальными моделями вспышек для $k=1, 2, 3, \dots$ отдельных территорий бывшего ЮФО типа площади пребывания 20-21 особи (площадь с радиусом 5-6 км). Схожий подход применяется при моделировании пандемии гриппа в 100 и более городах мира [1, 2, 3].

Заключение.

Прогнозы развития эпизоотии АЧС в южном регионе РФ в целом можно рассчитать по многомерной «супер-модели» с векторными переменными $x(t)=(x_1, x_2, \dots, x_k, \dots, x_n)$; $u(t)=(u_1, u_2, \dots, u_n)$; $y_1(t), y_2(t), z_r(t), z_f(t)$, которые вычисляются и в виде таблиц или графиков выводятся на компьютер, в том числе на электронную карту.

Конечно, все расчеты проводятся на определенное календарное время (1-2 года) по различным сценариям заноса инфекции животными-носителями АЧС [$z_r(t)$] на свободные от нее локальные территории. Что касается практической реализации «супер-модели» эпизоотии АЧС среди кабанов на юге РФ, то основные трудности связаны с отсутствием необходимой для этой модели информации по статистике вспышек АЧС и объективных оценок изменения популяции кабанов в пределах конкретных территорий региона.

Опыт моделирования пандемии гриппа и ГИС показывает, что «супер-модель» эпизоотии АЧС у кабанов и модель пандемии гриппа имеют много общего и в своей компьютерной реализации [2, 3].

Литература.

1. Боев Б.В. Современный этап математического моделирования процессов развития и распространения инфекционных заболеваний // В сб. «Эпидемиологическая кибернетика: модели, информация, эксперименты», НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи АМН СССР. М., 1991. С. 6-14.
2. Боев Б.В., Макаров В.В. Гео-информационные системы и эпидемии гриппа // Ветеринарная патология, 2004, №3 (10), 1-59.
3. Гинцбург А.Л., Боев Б.В. Компьютерное моделирование эпидемий // Наука в России, 2005, №5, 52-57.
4. Макаров В.В. и др. Дикий европейский кабан. Ветеринарная биология и эпизоотология // Ветеринария, 2010, № 7, 28-31.
5. Макаров В.В. и др. Дикий европейский кабан. Природная очаговость африканской чумы свиней // Ветеринария, 2010, № 9, 24-28
6. African swine fever spread in the Russian Federation and the risk for the region. EMPRES Watch– Dec. 2009. fao.org/docrep.
7. [African swine fever](http://www.oie.int/eng/maladies). In: Technical Disease Cards. [oie.int/eng/maladies](http://www.oie.int/eng/maladies).
8. African Swine Fever. <http://www.cfsph.iastate.edu>.

ЭПИЛОГ

**(КОММЕНТАРИИ, ОБСУЖДЕНИЕ,
РАЗМЫШЛЕНИЯ)**

- ü ***Вирусология***
- ü ***Иммунология***
- ü ***Эпизоотология***
- ü ***Африканская чума свиней в кавказском
регионе***
- ü ***Общее заключение***

В этой дополнительной главе, построенной в форме постулатов, в целом многие авторские комментарии и умозаключения делаются отвлеченно и без особых ссылок в расчете на то, что по прочтении основного содержания Сборника уже можно было разобраться в излагаемых вопросах, тем более требующих хотя бы минимальной компетенции в контексте темы, - материал не для любителей. По поводу всех обсуждаемых положений, терминов и т.п., требующих, по логике, ссылок, просьба обращаться к статьям и библиографиям в них в конкретных главах и разделах Сборника - все там, а здесь ничего нового нет.

В порядке предыстории следует повторить, что АЧС, и тем более вирус, долгое время оставались в разряде объектов неизученных, малоизвестных, неклассифицированных и т.п., в своей сути не имеющих доступных аналогий-моделей и, следовательно, привычных для обыденной науки ориентиров и «подсказок». Все необходимо было делать с чистого листа, путем самого настоящего поиска от начала до конца, без оглядок на кого-то.

В такой ситуации единственным залогом успеха начинаемой работы, главным идейным и технологическим двигателем фундаментальных НИР вполне логично становятся правильные выбор исследовательского мировоззрения, принципов, направлений и **методизм** вообще со своей специализированной структурированной методологией - объектами, приемами, способами, средствами познания (включая реагенты, приборное оснащение и т.д.). Из имеющегося арсенала в первой половине 1970 гг. были хорошо отработаны лишь общие базовые методические предпосылки - культивирование и выращивание в препаративных количествах вируса в клеточной системе КМС, очистка и концентрирование вируса, электронная микроскопия ультратонких срезов, серотиповой плюралитет (А.А.Коломыцев, В.С.Перзашкевич и др.).

В связи с научной переориентацией работы лаборатории биохимии ВНИИВВиМ с 1976 года с профиля сервисного подразделения на самостоятельную тематику фундаментально-прикладного порядка и получением новых плановых заданий пришлось отказаться от тривиальной, статической биохимии с феноменологическими методами тестирования (спектрофотометрия и проч.) и перевести все количественные биохимические измерения на высокоразрешающую радиометрию с метаболической изотопной

меткой. С приемом вскоре в лабораторию биохимии, взамен устаревшего контингента, группы молодых специалистов химико-биологического профиля - выпускников МГУ, других университетов, биофака МВА в течение какого-то времени, но довольно быстро, определились наиболее важные и перспективные целевые установки, сложились конкретные направления НИР и необходимые представления в области методологии, в основном, молекулярно-биологического плана.

ВИРУСОЛОГИЯ

1. Исходя из морфологических подробностей портрета вируса АЧС, строение вириона как физического тела «надмолекулярной» организации дает возможность объяснить известную необычно высокую его устойчивость ко всякого рода инактивирующим воздействиям и сохраняемость в заведомо неблагоприятных условиях. Очевидно, что ожидаемой лабильности вируса АЧС из-за содержания липидов, как у канонических оболочечных вирусов (гриппа, парамиксо-, тога- и др.), высокочувствительных к жирорастворителям, не может быть в виду того, что в составе вирионов они не играют какой-либо структурно-функциональной роли из-за необязательности суперкапсидной оболочки. В свою очередь капсид как «емкость», хранилище генома с многокомпонентной (около 2000 субъединиц) профилированной икосаэдрической укладкой структурных составляющих даже по физическим качествам обладает сравнительно высокой стерической, конфигурационной, «угловой» жесткостью по аналогии с упорядоченной жесткостью кристаллических решеток в физической химии.

2. Отсутствие необходимости суперкапсидной оболочки вириона вируса АЧС объясняет, почему вирусиндуцированный гемадсорбирующий антиген, модулирующий мембрану клетки-хозяина и ответственный за феномен, является неструктурным вирусным белком, в отличие от структурных мембранных гемагглютининов многочисленных гемагглютинирующих оболочечных вирусов (того же гриппа, парамиксо- и др.).

Аналогичным образом неструктурными, растворимыми элементами являются также гемагглютинины вирусов оспы, тоже липидсодержащих, крупных сложно устроенных цитоплазматических дезоксирибовирусов, но вовсе без биомембраны.

Все гемагглютинины оболочечных вирусов в тривиальном понимании представляют стереотипные в структурном отношении трансмембранные гликозилированные белки (гликопротеины). В вирусной физиологии гемагглютинины играют двоякую роль. Во-первых, в процессе внутриклеточной инфекции они участвуют в универсальных механизмах транспорта созревающих вирионов через аппарат Гольджи с антигенной модуляцией клеточных мембран, делающей зараженные клетки объектом атаки эффекторов противовирусного клеточного иммунитета еще до наступления завершеного почкованием морфогенеза вирионов и их *экзоцитоза*. Во-вторых, они являются критическими элементами в распознавании и реакциях вируса с рецепторами мембран чувствительной клетки-хозяина, определяя начало клеточной инфекции и *эндоцитоз*, поэтому служат объектом атаки эффекторов нейтрализующего гуморального иммунитета.

Отсюда гипотетически складывается некий общий градиент эволюции феномена, имеющий безусловное прикладное отражение в частных стереотипах противовирусного иммунитета:

§ исходный момент - *вирус АЧС*, вызывает гемадсорбцию, экспрессирует в мембране клетки-хозяина «гемагглютинин», необходимый только при экзоцитозе (в связи с чем вполне логично претендующий на роль антигенной мишени клеточного иммунитета), не способный далее, в виду неструктурности, к вирусной или самостоятельной гемагглютинации, не нужный для распознавания такой своеобразной клеточной мишени с рецептор-независимым фагоцитозом, как макрофаги (проще говоря, условно-дефектный, не являющийся следовательно мишенью гуморального иммунитета и вирусной нейтрализации);

§ промежуточное положение - *вирусы оспы*, вызывают как гемадсорбцию, так и гемагглютинацию, экспрессируют гемагглютинин только в мембране клетки-хозяина, но в дальнейшем он «существует» самостоятельно, без участия вирионов, как неструктурный индивидуальный белок вызывает гемагглютинацию, хотя и вирусспецифическую, также необходим только при экзоцитозе (антигенная мишень клеточного

иммунитета, но не участвует в вирусной нейтрализации);

§ наиболее цельная, совершенная ситуация - *канонические гемагглютинирующие оболочечные вирусы*, вызывают гемадсорбцию и гемагглютинацию, экспрессируют гемагглютинины и в мембране клетки-хозяина при экзоцитозе (антигенные мишени клеточного иммунитета), и на поверхности вирионов как важнейшие элементы распознавания чувствительных клеток и эндоцитоза (антигенные мишени гуморального иммунитета и вирусной нейтрализации).

3. Критическая роль клеток системы мононуклеарных фагоцитов Ван Ферта в патогенезе АЧС на организменном, клеточном и ультраструктурном уровнях однозначно постулирована и подробно охарактеризована как своего рода стереотипная модель взаимоотношений *макрофаг+патоген*. Это одна из важных фундаментальных реальностей в инфектологии, пока еще не полностью осознаваемая вирусологами, патологами и иммунологами, серьезно работающими с АЧС и подобными инфекциями.

[В исследованиях по этому направлению во многом определяющим явился именно методизм как биохимических, так и особенно цитоморфологических экспериментов. В последнем случае речь идет о повсеместном применении электронной микроскопии для наиболее убедительного, наглядного доказательства явлений. Особенно удачным оказалось применения сравнительно невысоких инструментальных увеличений (до 10 000), дающих возможность видеть ультратонкие срезы полноразмерной клетки и проводить высокоразрешающий учет, как качественный, так и количественный, контрастированных цитопатических изменений параллельно с текущими фазами репродукции вируса АЧС, имеющего крупные размеры (начальные стадии, сборка, транспорт, гемадсорбция, экзоцитоз).]

Как установлено, вирус АЧС оказывает ряд эффектов на клетки этой уникальной организменной системы, анатомическим субстратом которой являются своего рода эндосимбионты макроорганизма с физиологией, независимой от вездесущей нейро-гуморальной регуляции и во многом реликтовой, аналогичной свободно живущим одноклеточным организмам типа амёб и некоторых одноклеточных водорослей (фагоцитоз и внутриклеточное пищеварение как одна из примитивным форм жизнедеятельности). При этом эффекты

варьируют в зависимости от его вирулентности. Так, вирулентные варианты вируса по сравнению с авирулентными изменяли некоторые ключевые элементы метаболической активации («метаболического взрыва») клеток СМФ, в основном, в сторону угнетения (ГМФП превращения глюкозы, реакционноспособный кислород, и др.), их репродукция сопровождалась менее выраженной экспрессией гемадсорбирующего антигена, модулирующего их мембрану в качестве мишени в протективных реакциях клеточного иммунитета, образованием цитоплазматических компартментов созревания вирионов (телец-включений), синхронным экзоцитозом, и др. Такие признаки вирулентности свидетельствуют о генетической природе выработанных вирусом АЧС специализированных адаптаций к паразитированию в экстремальных условиях внутримакрофагальной среды с мощным микробицидным аппаратом в норме и формированию микропаразитарной системы *вирус+макрофаг* как определенного эволюционного итога.

4. Вирус АЧС классифицирован сейчас в отдельное семейство *Asfarviridae* на основании двух принципиальных таксономических признаков - икосаэдральной симметрии укладки капсида, как у представителей *Iridoviridae*, и нефрагментированной двухцепочечной ДНК с ковалентно замкнутыми концами и стратегией генома, как у *Rohoviridae*. Вирусы трех перечисленных семейств, вместе с представителями *Phycodna-* и *Mimiviridae*, имеют целый ряд объединяющих свойств и составляют группу так называемых цитоплазматических дезоксирибовирусов. Комбинация, подобная вирусу АЧС, кстати, не уникальна - фикодавирусы с аналогичным сочетанием этих таксономических свойств (иридовирусный капсид и поксвирусная ДНК) насчитывают более сотни видов (семь родов), поражающих морских и пресноводных эукариотических водорослей с гетеротрофным типом питания (отметим - снова одноклеточный хозяин-«фагоцит»!). Таким образом, по всем правилам диалектики вирус АЧС занимает всего лишь промежуточное положение между двумя указанными вирусными таксонами, что не дает никаких оснований говорить о его «гибридной» природе - это биологический нонсенс.

Спонтанная паразито-хозяинная роль именно клеток СМФ с их совершенно особыми свойствами и статусом внутри макроорганизма,

но не других представителей фагоцитирующего ряда, наводит на гипотетическую мысль о вирусе АЧС как исходном симбионте одноклеточных свободно живущих организмов и возможном заключительном этапе его филогенеза по пути «фагоцитирующие клетки членистоногих - основных хозяев цитоплазматических икосаэдральных дезоксирибовирусов → клетки СМФ диких африканских свиней → то же других восприимчивых представителей семейства Suidae».

Отсюда вполне вероятно, что африканская чума свиней как инфекция животных могла произойти от членистоногих, имея в виду таксономические предпосылки и естественную восприимчивость к вирусу, по крайней мере, клещей *Ornithodoros*. В эпизоотологии универсальны такие ситуации перехода паразитов на новых хозяев с формированием новых паразитарных систем и возникновением новых болезней как одного из ведущих факторов эмерджентности, в данном случае становлением вируса АЧС - паразита фагоцитов членистоногих как зоопатогенного возбудителя.

5. Исчерпывающим образом документированное в форме многочисленных коллажей описание апоптозного механизма цитопатогенного действия вируса АЧС на клетки СМФ в культуре со стереотипными этапами и многочисленными деталями неслучайно удостоилось опубликования в весьма престижном научном издании. В принципе это первая в отечественной литературе экспериментальная работа по апоптозу как совсем новому научному явлению, являющаяся приоритетом ветеринарной вирусологии; до этого было лишь несколько обзоров зарубежной литературы*.

* Кстати, первое наблюдение необычного цитопатогенного действия в клетках КМС апоптозного, конденсационного типа, оставшееся неосознанным на том этапе, было сделано в предыдущих экспериментах по определению нецитотоксических концентраций ингибиторов метаболизма и опубликовано в статье «Ультраструктурные изменения в А-клетках костного мозга свиней под действием ингибиторов гликозилирования» в журнале «Доклады ВАСХНИЛ», 1989, 7, 38-40 совместно с А.А.Ефимовой, М.С.Малаховой и А.Д.Середой.

В настоящее время в инфекционной патологии при внутриклеточном паразитизме апоптоз достаточно хорошо

охарактеризован и логично рассматривается как явление защитного порядка - «сознательный» суицид, превентивное самопожертвование подвергшейся заражению клетки с ликвидацией среды обитания паразита и прерыванием его жизнедеятельности в интересах клеточной популяции. Поэтому по существующим представлениям для внутриклеточных паразитов одним из ведущих факторов патогенности может быть как про-, так и антиапоптозная способность; в последнем случае это парадоксальное действие таким образом, чтобы, несмотря ни на что, эксплуатировать «несогласную» клетку-хозяина «насильно», как можно дольше сохраняя функциональность *комплекса клетка+паразит*. Это явление, следуя патогенетической логике облигатного внутриклеточного паразитизма, может быть универсальным в становлении их персистенции, т.к. показано у вирусов, хламидий, риккетсий. В нашем случае апоптоз воспроизведен в культуре клеток изолятом Ф-32 вируса АЧС европейской группы умеренной вирулентности, чем может быть и объяснена ярчайшая картина явления со всеми атрибутами. Возможно, что в защите от АЧС поиск путей регуляции апоптоза (прежде всего иммунологическими средствами), может стать одним из перспективных направлений.

6. Новые в науке, приоритетные данные по внутривопуляционной гетерогенности и физико-химическому полиморфизму вируса АЧС достойны, чтобы их отметить особо. С точки зрения методизма (эспериментальный дизайн, аранжировка, методический аппарат доказательств) исследования выполнены безукоризненно. Объективная характеристика гемадсорбции и природы вирулентности получена путем сравнения последовательных изменений этих свойств на линейных вариантах вируса от исходных, полноценных природных вирулентных изолятов до полученных из них модифицированных пассажных авирулентных дериватов. Показателен остроумный прием статистической характеристики вирусных субпопуляций при объективной невозможности получить в культуре клеток КМС их фиксированные признаки по типу общеизвестного S-маркера (размера негативных колоний под агаром). Эксперименты с ДИ-частицами представляли полный набор исчерпывающих доказательств их наличия в популяции вируса АЧС и роли в вирусной физиологии согласно прототипным представлениям. Безусловным доказательством их делеционной природы являются

«живые» свойства - *гемадсорбция гамма-инактивированного вируса* и индуцируемый ими апоптоз.

Из полученных результатов очевидно, что материальным субстратом вирулентности как генетического свойства вируса АЧС (штаммового, изолятоспецифического, субпопуляционного) является феноменология гемадсорбции во всем содержательном ее контексте - от характера внутриклеточного созревания и экзоцитоза вирионов до антигенной модуляции зараженной клетки и вариабельной мишени роли последней в эффекторных реакциях клеточного иммунитета. Количественное содержание в популяции вируса ДИ-частиц подвержено генетическому контролю и служит физическим регулятором вирулентности.

7. Исследования по гликопротеинам вируса АЧС проведены и опубликованы в период, когда фундаментальные результаты по этому направлению, а тем более с практическими выводами, в вирусологии имели эксклюзивный характер, что делает их также предметом престижа отечественной ветеринарной вирусологии. И здесь подкупает методическое остроумие и результативность, особенно эффектные в опытах по ингибиторному «управлению» процессами вирусной репродукции (рисунок 1) и молекулярно-биологическими характеристиками вирусных ГП в связи с механизмами вирулентности вируса АЧС. [Идеология относительно ведущей роли структуры и функции гликопротеинов в вирулентности в настоящее время имеет концентрированное подтверждение в механизме патогенеза вируса птичьего гриппа H5. Оказалось, что его способность поражать с фатальными последствиями различные системы организма животных разных видов зависит от α 2-3- или α 2-6-геометрии гликозидных связей сиалогликанов гемагглютинаина, определяющей их топологию и создающей формы гликана «конусообразную» или «раскрытого зонтика», соответственно.]

Безусловным научно-практическим выходом с большими перспективами в диагностике, иммунологии и поиске средств защиты является идентификация неструктурного гликополипептида вируса АЧС в качестве изолятоспецифического гемадсорбирующего антигена, его получение в чистом виде в аналитических и микропрепаративных количествах. Здесь успешно применены

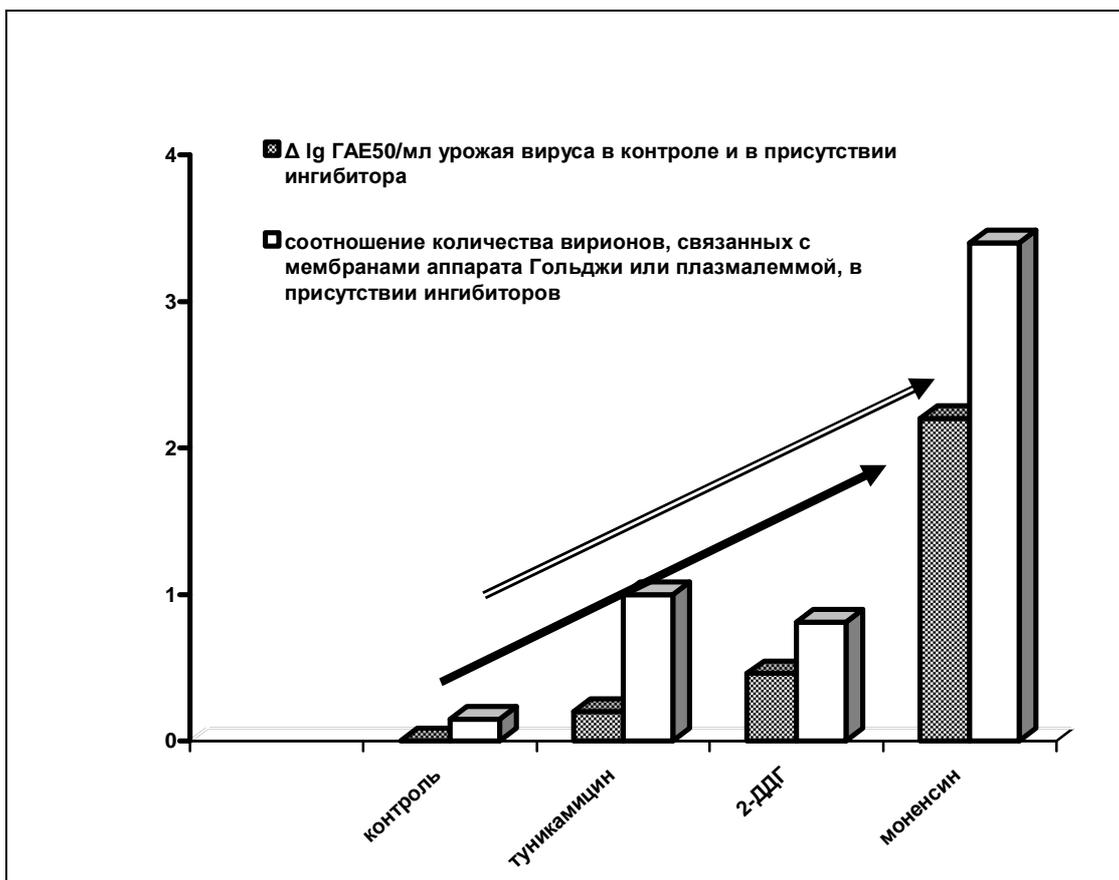


Рисунок 1. График по данным таблицы 2 на стр. 60 Сборника. Очевидно, что все три ингибитора, особенно моненсин, препятствуют выходу вирусных частиц из аппарата Гольджи на плазмалемму. Чем сильнее блок, тем больше снижение урожая вируса (светлая и черная стрелки, соответственно).

приоритетные данные ВНИИВВиМ по сероиммунотипизации изолятов вируса АЧС, их систематика по серогруппам, стандартные препараты антигенов (серотипы/изоляты) и антисывороток. Материальная суть открытия, защищенная авторским свидетельством, научно-обоснованная и логично вытекающая из всего комплекса фундаментальных исследований лаборатории биохимии (см. выше постулаты 1, 2 и 6), подтверждена в прямых иммунологических экспериментах.

ИММУНОЛОГИЯ

8. Отсутствие при АЧС вирусной нейтрализации, невозможность тестировать ответ организма на инфекцию или иммунизацию с помощью банальной реакции нейтрализации было и, может быть, остается камнем преткновения для работников с ограниченным кругозором, привыкших «искать там, где светло». Исходя из того, что известно о макрофагах как единственной спонтанно чувствительной клеточной модели для вируса, отсутствие нейтрализующего иммунитета можно было объяснить, и достаточно убедительно, умозрительным образом, а не тратить по недомыслию огромные средства, массу времени и проч. на рутинные опыты по проверке случайно надерганных «вакцинных» вариантов на поросятах по типу «выжил/пал». Тому, кто мало-мальски знаком с основами иммунологии и известно, что такое фагоцитоз, опсонизация, Fc-рецепторы и прочие атрибуты анатомии и физиологии макрофагов, давно следовало перенести все это на вирус АЧС с позиций общих представлений о тривиальном цикле вирусного развития - сразу все станет ясным. В начальной стадии исследований по АЧС, представленных в Сборнике, только С.Ф.Чевелев пытался осмыслить проблему макрофагов в этом контексте; судя по ситуации, воз и ныне там.

Публикация на эту тему поставлена первой в разделе именно по этим соображениям. Специальных экспериментов для решения вопроса не делалось, оставалось только собрать доказательства. Поэтому статья - своего рода систематическая компиляция фрагментов разных работ, соединенных для этой цели и подвергнутых метаанализу в полном соответствии с логикой доказательной медицины. Получается, что и здесь никакой мистики, все определяется структурой и физиологией макрофагов (см. выше постулаты 3 и 5).

9. На первом же, исходном этапе фундаментальных исследований по иммунологии АЧС была сформулирована главная идея - идея *асимметрии противoinфекционного иммунитета*. В самом примитивном выражении она означает, что эффекторное звено иммунного ответа развивается по двум самостоятельным ветвям - гуморальному, В-зависимому и клеточному, Т-зависимому, с разными «действующими лицами», механизмами и реакциями, автономно и не равнозначно. Если иммунная система организма, по каноническим представлениям иммунологии, распознает субстанции, несущие признаки генетической чужеродности (антигены в самом широком смысле), и реагирует на них стереотипно (антиген есть антиген!), то

реализация третьего, эффекторного звена механизмов и реакций определяется в основном патогенетической стратегией возбудителя. В этом исходные реальные анатомо-физиологические предпосылки асимметрии иммунитета (см. ниже постулат 12).

В виду изначальной недееспособности при АЧС нейтрализующей, гуморальной ветви эффекторов иммунитета начались поиски «там, где не светло». Логично, что во второй половине 1970 гг. в лабораториях биохимии и иммунологии ВНИИВВиМ в ходе безостановочных дискуссий, теоретических семинаров у Рэма Викторовича Петрова - тогдашнего кумира и лидера отечественной иммунологии, интенсивного изучения литературы, стажировок, т.е. своего рода «мозгового штурма», уже сложился соответствующий понятийный аппарат познания и «Т-клеточное» мышление, теоретические, методологические представления о биомембране, клеточном иммунитете с его эффекторами и реакциями, были получены изначальные навыки лабораторной практики*, хотя однозначных, окончательных решений многих вопросов, в том числе и методических, в мировой литературе не существовало.

* Эти «представления» достаточно подробно апробированы на научно-технических мероприятиях и освещены в научной печати в первой половине 1980 гг. Вот основные публикации:

§ Макаров В.В., Чевелев С.Ф., Коломыцев А.А. Иммунопатология при вирусных болезнях животных // Ветеринария. - 1982. - № 2. - С. 29-32.

§ Макаров В.В. Иммунология персистентных вирусных инфекций // Ветеринария. - 1983. - № 2. - С. 27-29.

§ Макаров В.В., Чевелев С.Ф. Иммунологическая депрессия при вирусных инфекциях // Ветеринария. - 1983. - № 8. - С. 25-27.

§ Макаров В.В. Мембранные антигены вирусов. В кн. «Вопр. вет. вирусол., микробиол. и эпизоотол.». Покров. - 1983. - С. 42-50.

§ Макаров В.В., Чевелев С.Ф. Вирусы как причина вторичных иммунодефицитов животных // Вопросы вирусологии. - 1984. - № 2. - С. 148-152 (на оттиски этой статьи поступило около сорока запросов, большинство из-за рубежа).

§ Макаров В.В. Гуморальный иммунитет и нейтрализация вирусов. В кн. «Вопр. вет. вирусол., микробиол. и эпизоотол.». Покров. - 1985. - С. 10-17.

§ Бакулов И.А., Макаров В.В., Коломыцев А.А. Клеточный иммунитет при вирусных болезнях свиней // Вестник с.х. науки. - 1985. - № 3. - С. 87-94.

§ Бакулов И.А., Макаров В.В. Эпизоотический процесс: теоретический аспект проблемы // Вестник с.х. науки. - 1986. - № 11. - С. 111-118.

Достаточно сказать, что в первых опытах при тестировании аллогенной рестрикции, противоклеточного действия ЦТЛ, АЗКЦ,

интерлейкина-2 и других факторов клеточного иммунитета опыты проводились сплошь «методом тыка», а количественный порядок иммунного цитолиза варьировал от единиц до тысячи процентов! [Кстати, феномен аллогенной рестрикции, механизмы иммунологического узнавания и цитотоксического действия Т-лимфоцитов, за которые Доэрти и Цинкернагель получили Нобелевскую премию 1996 года, был установлен ими в 1974 году, что хронологически соотносимо с началом работ, приведенных в Сборнике.]

10. В конце концов все, что предполагалось, было получено.

ü Доказана противоклеточная природа иммунной защиты при АЧС - не против корпускулярного вируса, а против зараженных клеток, оппозитная в данном случае опосредованной антителами нейтрализации. Главный смысл противоклеточной защиты - вирусспецифическая антигенная модуляция клеточных мембран, которая до созревания вирусного потомства делает объектом иммунологической атаки зараженную клетку, как это наглядно показано на электронной микрофотографии и подробно прокомментировано в легенде рисунка 2. Киллинг и иммунный лизис такой клетки сопровождается прерыванием вирусного развития на ранних стадиях, до экзоцитоза.

ü Установлены и количественно охарактеризованы прототипные эффекторы и реакции протективного клеточного иммунитета, определяющие устойчивость при АЧС, - цитотоксические Т-лимфоциты-киллеры (атака ЦТЛ показана также на рисунке 2) и антителозависимая клеточная цитотоксичность.

ü Поставлена и последняя точка в данном цикле экспериментов по иммунологии АЧС - материальное, что называется, «в натуре» доказательство протективного антигена в форме мембранного гемадсорбирующего серотипоспецифического гликопротеина ГП 110-140 (рисунок 3) (см. постулат 2).

11. Всестороннее изучение феномена асимметрии иммунного ответа при вирусных инфекциях на оппозитных моделях - классической чуме свиней с преобладанием гуморального иммунитета и АЧС с клеточным иммунитетом, дало в качестве побочного

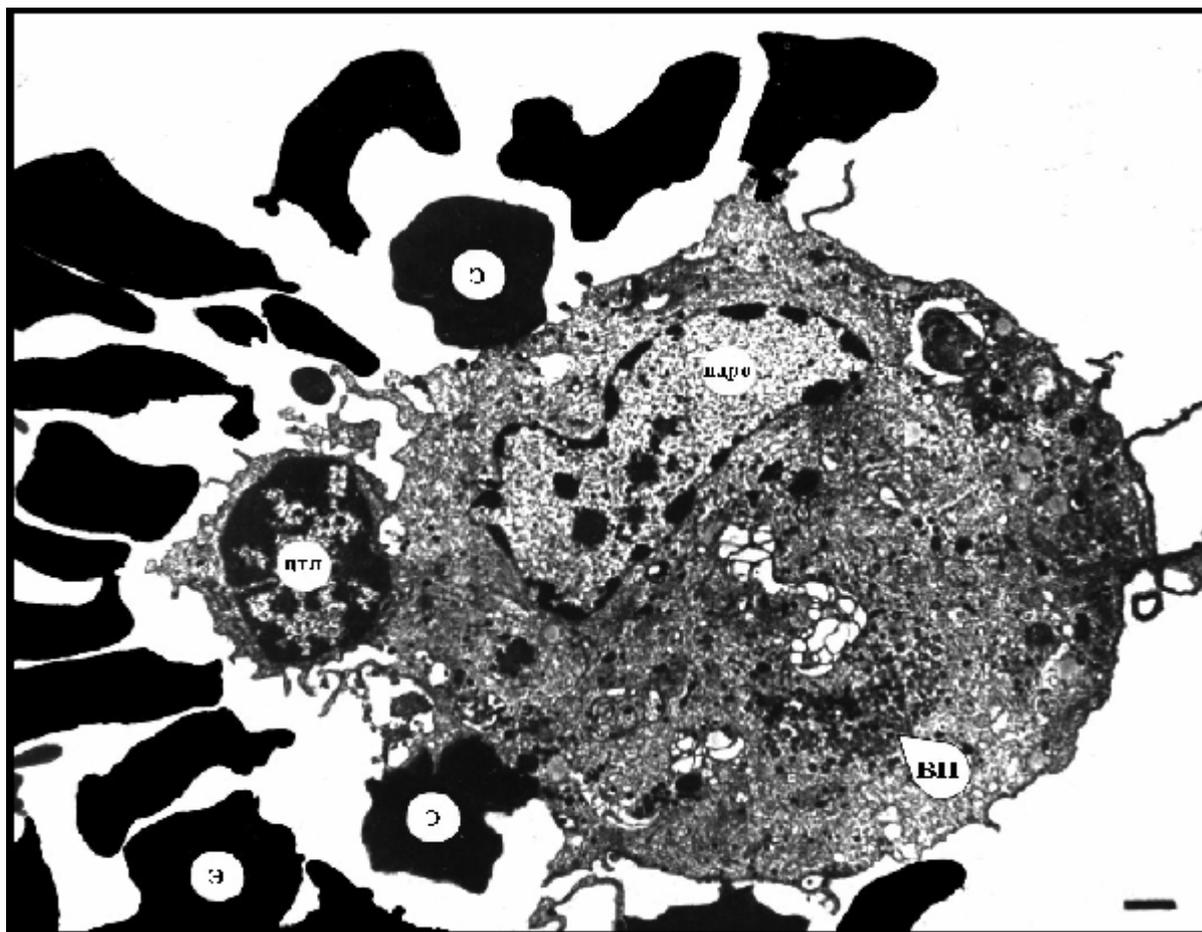


Рисунок 2. Фрагмент коллажа рисунка со стр. 30 Сборника - морфологическая картина «взаимодействия» ЦТЛ и клетки-мишени (макрофаг+вирус АЧС) в аутологичной системе под электронным микроскопом (x 10 000, ЦТЛ - цитотоксический Т-лимфоцит, Э - эритроциты в процессе гемадсорбции, ВП - виропласт). Здесь очередная редчайшая методическая удача - найдена совершенно уникальная электронно-микроскопическая проекция, ультратонкий срез прошел по максимальным диаметрам ЦТЛ-киллера и мишени. Очевидно, что типичная для размножения вируса АЧС гемадсорбция и атака ЦТЛ происходят без видимых признаков разрушения зараженной клетки, содержащей пока только виропласт, т.е. задолго до созревания вирусного потомства. Совпадение топологии и поляризации процессов киллерной атаки и гемадсорбции морфологически свидетельствует о роли гемадсорбирующего антигена в антигенной модуляции зараженной клетки и формировании ее как мишени эффекторов клеточного иммунитета.

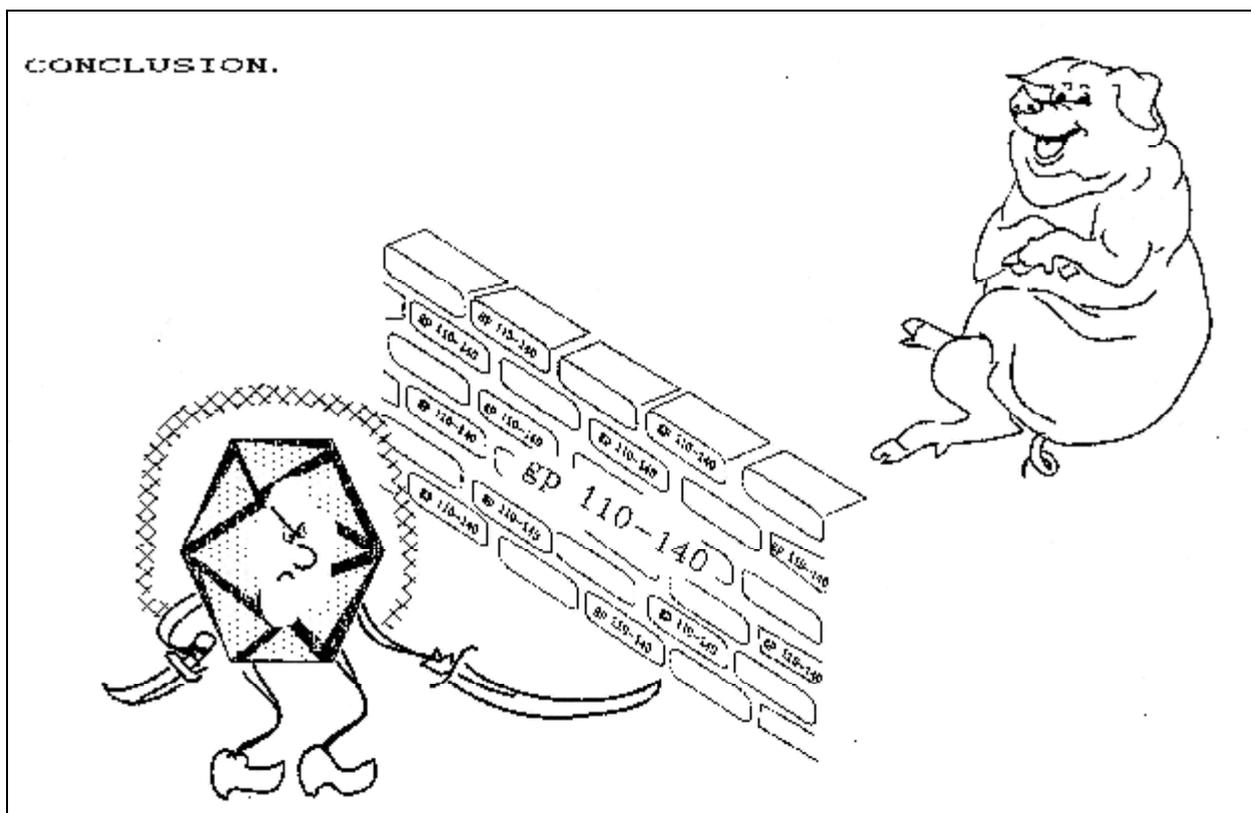


Рисунок 3. Графическая шутка-фрагмент сообщения «Immunological evaluation of virus components and approaches to protection against viral challenge for African swine fever». Third Congress of the Eur. Soc. Vet. Virol., Interlaken, Switzerland, 4-7 Sept., 1994 (Makarov V., Perzashkevich V. et al.).

результата полезную возможность впервые получить ответы на некоторые сложные вопросы иммунологической практики. Так, показана очевидная зависимость качества приобретенного иммунитета при вакцинации препаратами «реплицирующихся антигенов», т.е. живыми вакцинами, от их дозы. Дозо-зависимость эффекторов не только гуморального, но клеточного иммунитета особенно наглядна в виде трендов.

В связи с этой закономерностью установлен дозо-зависимый градиент иммунологической защиты вакцинированного организма, который практически складывается из нескольких элементов ее качества по возрастающей. (i) При низких дозах живых вакцин (точнее низком содержании в дозе «реплицирующегося антигена») и недостаточной напряженности иммунитета организм может быть защищен от летальной инфекции, но проявляет клиническую реакцию в форме неполного набора признаков (прежде всего повышения температуры). Дальнейшая градуальная последовательность возможного ответа - (ii) защита от гибели и клинической картины, но с

наличием внутренних поражений, обнаруживаемых при патоморфологическом вскрытии, (iii) при отсутствии клинической реакции и признаков на вскрытии вакцинированный организм отвечает на заражение обнаруживаемой вирусемией и сероконверсией, и, наконец, идеальный вариант при оптимальной дозировке вакцины - (iv) никакой реактогенности из первых трех возможных вариантов.

Очевидно, все результаты такой «вакцинации», кроме последнего, эпизоотологически опасны и даже могут провоцировать формирование скрытых эпизоотических ниш и проэпизоотичивание. В этом отношении особенно вредны известные ухищрения на практике с дозами вакцины против эпизоотических инфекций, например, классической чумы свиней*.

12. Результативность и теоретическая интерпретация НИР по иммунологии АЧС столь широкого фронта в отношении внутриклеточного паразитизма и протективного иммунитета, получивших признание Российского фонда фундаментальных исследований, позволяют сделать некие заключения наиболее общего и познавательного плана.

Ї Иммунная система осуществляет внутриорганизменные надзорные функции за постоянством среды независимо и автономно, начиная с саморегулирующейся популяции костно-мозговых полипотентных стволовых кроветворных клеток - предшественников «всего и вся». Она анатомически и функционально не подвержена нейро-гуморальной регуляции в обычном понимании, это своего рода спецназ. Суть ее существования - эндосимбиоз (см. постулат 9), однако в отличие от другой автономной системы мононуклеарных фагоцитов ее функции и способности, хотя бы аллогенная рестрикция, далеко не реликтовые.

Ї Иммунный надзор за гомеостазом в виде своеобразного спецназа организован и направлен прежде всего против «внутренней измены» (по остроумному выражению Р.В.Петрова) - спонтанных мутаций, которые неотвратно и закономерно происходят как ошибки репликации ДНК с частотой $1:10^4$ и приводят к возникновению

* Эти и другие практические аспекты феномена нами подробно рассмотрены в статье «Классическая чума свиней - особенности эпизоотического процесса и проблемы на современном этапе», опубликованной в журнале «Аграрная Россия», 2002, 3, 42-48 совместно с С.И.Джупиной и А.А.Коломыцевым.

злокачественных клеток с признаками генетической чужеродности и тканевой несовместимости. В свое время выдающийся отечественный иммунолог Павел Феликсович Здродовский (1963) высказал прозорливое суждение, не оцененное современниками, о том, что в организме нет специальных механизмов противoinфекционной защиты, а имеются только стереотипные физиологические механизмы соответствующего профиля. Действительно, согласно нашему обобщению (тридцатью годами позже), иммунная система располагает вполне конкретным, стереотипным и достаточно ограниченным защитным репертуаром из *пяти* эффекторных систем, *десяти* эффекторов и *четырёх* стереотипных реакций - ничего специального против инфекций. Когда в поле зрения этого надзора (т.е. в организм) попадают антигены иной, в частности, экзогенно-инфекционной природы (токсины, вирусы, бактерии), для защиты от них никаких дополнительных механизмов, кроме стереотипных, не предполагается.

Вот почему искать нужно не «там, где светло», а, берясь за пресловутые вакцины, не только что-то уметь - умение удел ремесленника, но знать то, что есть на самом деле (кстати, не так уж и много). [В этом плане господствующий до сих пор иррационализм иммунитета при АЧС - какая-то мистическая загадка!]

Иммунная система организма *per se* исключительно надежна и устойчива в функциональном отношении. По сравнению с иной соматической патологией, какой-либо массовой, «эпидемической», популяционно значимой инфекционной или неинфекционной патологии для этой системы нет, все сводится к клиническому уровню индивидуальных явлений и случаев. У животных же это вообще маловероятно. [Разумеется, сюда не относятся врожденные, онтогенетически неизбежные транзиторные состояния (у новорожденных и старых особей), а также специфические иммунотропные инфекции (прежде всего экзогенные лейкозы и системные вирусные болезни), доля которых статистически и эпидемиологически невелика. Ситуацию не следует путать и с иммунопатологией, это совсем другое, т.к. даже аутоиммунные болезни и аутоагрессия свидетельствуют не о дефиците, а о силе иммунного ответа, правда, противоположного, патологического направления (типичный пример - гипергаммаглобулинемия при алеутской болезни норки).] Чтобы убедиться в этом, достаточно сопоставить патологическую нагрузку на другие системы организма,

например, респираторный, желудочно-кишечный тракты, органы воспроизводства.

В свое время тот же П.Ф.Здродовский, живший и работавший в блокадном Ленинграде, подчеркивал, что в тех условиях, совершенно жутких с точки зрения здоровья человека, в течение трех блокадных лет никаких эпидемий не было! [Ни брюшного тифа, ни «сыпняка», косивших население Питера в не настолько страшных условиях революции и гражданской войны.] Опубликованные результаты хорошо контролируемой кампании вынужденной рутинной вакцинации детей с разными формами невропатий (синдром Дауна и др.) и банальными соматическими болезнями (респираторная и кишечная симптоматика) показывают, что никаких особенностей в данной ситуации не регистрируется. К сожалению, в ветеринарной литературе таких наблюдений нет, но на практике имеет место по сути то же самое - кто там учитывает клиническое состояние телят, поросят, цыплят, щенят в их массе!, и тем не менее в целом эпизоотии все же небезуспешно контролируются тотальной вакцинацией, несмотря на ставшее сейчас убиквитарным состояние проэпизоотичивания и персистентного инфицирования при некоторых болезнях с иммуносупрессивным потенциалом (наиболее яркие примеры - вирусная диарея и лейкоз КРС).

Û «Иммунодефициты», про которые в ветеринарии не рассуждает разве что ленивый и на которые сейчас на практике списывается все, - это сугубо умозрительная, надуманная профанация, не имеющая под собой никаких реальных оснований. Иммунодефицитные состояния животных никто не тестирует - нет тестов, да и никакой науки нет. При системных вирусных болезнях (вирусная диарея, ИРТ, КЧС, чума плотоядных) приобретенный, вторичный *иммунодефицит - клинический синдром*, возникающий только при клиническом, но не персистентном течении, явлении, статистически редком с точки зрения эпизоотической реальности. Примером истинного приобретенного иммунодефицита являются только вирусные иммунодефициты человека, кошек и КРС (это для тех, кто знает патогенез данных вирозозов). Все остальное - эффекты неблагоприятных факторов среды, первичных, пусковых причин основной патологии продуктивных животных, т.е. *факторных болезней*. Поэтому прежде всего не нужно путать иммунодефициты со снижением резистентности организма.

Û Схоластика и иррациональность значения «иммунодефицитов», слабости иммунной системы в массовой патологии любой природы,

недостаточной иммуногенности биопрепаратов и проч., с одной стороны, создают спасительный хаос в недобросовестных и малокомпетентных головах. С другой - порождают бесплодное суесловие с серьезными материальными издержками и на практике, и в науке. Ведутся массированные атаки на здравый смысл в отношении всякой липы вроде «активинов», безнадежных попыток иммуностимуляции для *a priori* негодных вакцин вплоть до добавления в препаративные формы интерлейкина или интерферона. Главный довод - не научные доказательства, их нет, а просто «помогат», как цитировал одного «дефицитного иммунолога» В.Н.Сюрин.

Никто не задумывается над иммунологическим нонсенсом - как может быть вакцина, да еще живая, «низко иммуногенной», если это действительно вакцина, а не препарат, неактивный по техническим причинам или создающий состояние персистентной инфекции и преимунии (нестерильного иммунитета)? [Все эти потуги напоминают известную ситуацию, когда американцы, после того, как их выкинули из Вьетнама, прислали голодным, но победителям, «миротворческую помощь» в виде целого лайнера таблеток от лишнего веса.]

Û Низкая иммуногенность «вакцин» на самом деле - это низкая протективная способность эффекторного звена, зависящая не от стереотипного иммунного ответа (как сказано выше в связи с суждением П.Ф.Здродовского, т.к. иммунной системе безразлично, какой антиген распознавать и на какой реагировать), а определяемая своеобразием патогенеза и топологии патогенетических мишеней при каждой инфекции или их категориях. Простейший вариант протекции - нейтрализующий иммунитет против внеклеточных паразитов, наиболее сложна эффекторная защита от паразитов, приспособившихся к внутриклеточной персистенции, особенно в макрофагах. В данном случае речь идет не об иммуногенности вакцины (реакция на антиген безусловна), а об отсутствии условий для реализации эффекторного звена и фатальной неэффективности вакцинации в связи с этим как таковой, т.е. вакцина тут не при чем.

Û Инфекции, при которых это положение достаточно очевидно объясняется локализацией патологического процесса, недоступной для циркулирующих эффекторов, многочисленны и ни в коем случае не являются патогенетическим исключением. Наиболее известные примеры - геморрагические лихорадки (Ласса, Эбола, и др.), микобактериозы (лепра, туберкулез), листериоз и другие инфекции с

«забарьерной» локализацией мишеней, алеутская болезнь норок, гнойно-воспалительная патология (стрептококкозы, стафилококкозы, псевдомонозы). В этом ряду и АЧС, когда специфических антител после инокуляции авирулентных вариантов сколько угодно, т.е. иммунная система работает безотказно, а иммунитета нужного качества нет - феномен, типичный для премунции (см. постулат 11).

Û Бесспорен тезис, что вакцинация как мера и средство специфической профилактики не абсолютна и не универсальна. Если нет канонических вакцин против определенных заболеваний, в том числе АЧС, то их и не будет, - никакие иммуностимуляторы не помогут там, где они не действуют; как ни подхлестывай иммунную систему, выше «своей головы она не прыгнет», и в независимых от нее процессах она бессильна. [Для наглядности уместно напомнить школьный анекдот: закон Ома не действует в цепи, если не подведено напряжение.]

ЭПИЗОТОЛОГИЯ

13. Подробный анализ эволюции африканской чумы свиней, выполненный по условиям доказательной медицины в формате систематического обзора и опубликованный двадцать лет назад, явился своего рода синтетическим итогом, квинтэссенцией фундаментальных и прикладных исследований, описанных в Сборнике. Здесь нет ничего удивительного, т.к. это и служило в конце концов целевой установкой всего комплекса НИР по вирусологии и иммунологии АЧС согласно тезису Сталибрасса - «все науки несут помол на мельницу эпизоотологии». Не требуют особого обсуждения наглядно «эпизоотологичные» результаты, касающиеся патогенетики, природы вирулентности, характеристика вирусных изолятов, которые нашли здесь как объяснительное, так и познавательное применение. В этом плане показательны по крайней мере три сформулированных принципиально новых и нетривиальных положения.

Û Во-первых, это *перманентная гетерогенность вирусных популяций* (лабораторных, эпизоотических штаммов, природных изолятов) на относительно высоком уровне на примере признака количественной гемадсорбции (в конечном итоге вирулентности). Феномен означает постоянство большого набора генотипов с нормальным распределением важнейших признаков (вирулентности) и тем самым высокого мобилизационного резерва популяционной

изменчивости с широкими возможностями направленного отбора (выбора приспособленных). Для подавляющего большинства возбудителей во всех случаях отбора (прежде всего естественного) происходит селекция на уровне предельных разведений по типу «горлышка бутылки», а эпизоотический процесс - не что иное, как эволюционные волны жизни, когда формируются новые варианты в циклах «эпизоотии → межэпизоотический период». При АЧС такого отбора нет - макрофаги (отдельные клетки и особенно клеточные популяции) поглощают и репродуцируют любые генотипы-варианты вируса без разбора, и так во всех случаях инфекционного цикла (вспышки, эпизоотии, персистенция), сохраняя внутривидовое многообразие на высоком уровне на протяжении всей естественной истории (см. постулаты 3, 4, 6) в полном соответствии с законом Харди-Вайнберга - «в отсутствие отбора частота генотипов в популяции не меняется».

ü Во-вторых, это *дивергенция вирусных популяций* в течение естественных процессов возникновения и распространения АЧС за счет дрейфа генов и флюктуации генотипов в пределах нормального распределения со сменой доминирующих составляющих при сохранении высокой гетерогенности. Вследствие этого формируются локальные популяции-изоляты, которые могут сохранять топологические и хронологические характеристики. Отсюда - множество самостоятельных изолятов и смесей в колыбели естественно-исторического происхождения АЧС (Юго-восточная Африка) и географические дивергенты (серотипы, генотипы) в Анголе (I серотип), Конго (II серотип), Европейских странах (I и IV серотипы), Южной Америке, Грузии (II генотип) и т.д.

ü В третьих, важная, если не критическая роль *летальности в природном циклах* и *убоя в антропургических циклах* в качестве факторов естественного или непреднамеренного искусственного отбора, соответственно, в эволюции и реальной эпизоотологии АЧС в целом. Нормально распределенные по вирулентности компоненты популяции вируса в каждом элементарном акте эпизоотического процесса (эпизоотической цепи голомиантного типа), из одного источника инфекции сразу формируют весь спектр типов течения АЧС - острых, подострых, хронических, персистентных. Упомянутые факторы отбора «удаляют» из циркуляции, разумеется, наиболее очевидные, вирулентные составляющие при сохранении возбудителя *per se*, в разной степени замаскированного скрытыми формами

инфекции, но за счет той же высокой гетерогенности всегда готового к эпизоотической реверсии. Этим объясняется эффективность и обосновывается безальтернативность радикальной политики в борьбе с АЧС (стемпинг аут в неэндемичных случаях и/или депопуляция при эндемиях) с избыточной широтой мероприятия, по принципу абластики при хирургическом удалении опухолей, что должно гарантировать искоренение инфекции всех типов течения.

14. Систематический обзор показал, насколько малоизученной остается АЧС в реальностях ее проявления с точки зрения современного эпизоотологического исследования и доказательной эпизоотологии - дескриптивной, аналитической, количественной. Очень мало детальных эпизоотологических наблюдений и обследований, не охарактеризованы как полагается, методами эпизоотологического аналитического исследования («случай-контроль», когортное исследование, анализ «ущерб-прибыль») факторы эпизоотического риска, групповая и/или популяционная статистика и динамика отдельных, конкретных вспышек и эпизоотий, их связь с локальными условиями и эпизоотологические паттерны, нет научной, количественной оценки конкретных механизмов трансмиссии - заноса «извне», диффузии инфекции (перезаражения) внутри стада, выноса «изнутри» и распространения между стадами (хозяйствами), мало объективных данных относительно роли членистоногих переносчиков, эпизоотического потенциала диких свиней (кабанов), особенностей их ветеринарной биологии, эпизоотологии и даже популяционной динамики, и т.д. Поэтому невозможно переоценить пусть даже столь небольшой мировой эпизоотологический опыт, полученный (i) в традиционных африканских нозоареалах, где несистематическая борьба с АЧС пассивными мерами сопровождается переменными успехами, (ii) в эндемичной зоне Испании и Португалии в ходе продолжительного, растянувшегося на десятки лет контроля АЧС с помощью паллиативных мероприятий (мониторинга), (iii) в развитых странах (Куба, Бразилия, Доминиканская Республика и др.) в случаях возникновения спонтанных эмерджентных вспышек и эпизоотий и успешного их искоренения активными радикальными мерами (стемпинг аут, депопуляция). Здесь чрезвычайно важны по крайней мере три источника объективных сведений, без которых бессмысленны попытки спекуляций, - бесспорная, доказательная

эпизоотологическая фактология, экономика и безальтернативная результативность радикальной политики как стандарта искоренения АЧС.

15. Начальный этап новейшей естественной истории АЧС, до конца 20 века, характеризовали увенчавшаяся наконец-то оздоровлением сорокалетняя кампания по контролю эндемии с вовлечением диких свиней на Иберийском полуострове (Испания и Португалия) и отсутствие заболеваемости в других регионах мира, кроме традиционных нозоареалов Субсахарной Африки (исключение составляет о.Сардиния, см. ниже постулат 23). Однако эти «успехи» оказались мнимыми и временными, т.к. АЧС в очередной раз показала свое непредсказуемое и неисчерпаемое коварство, совершив в 2007 году «прыжок» через тысячи километров в неожиданном и крайне неприятном для РФ направлении. По мнению компетентных международных организаций, вместе с заносом и распространением блютанга 8 серотипа в Западную Европу в 2006 году это наиболее тревожные события даже в глобальном ретроспекте всей истории инфекционных болезней, включая ящурные пандемии.

16. Новейшая история АЧС, вслед за ее эмерджентностью в Грузии и тем, что происходит после (об этом в отдельном разделе, см. ниже), помимо традиционных элементов эпизоотологии (заболеваемость, смертность, потери, запреты, административные издержки и т.п.), породила по крайней мере две новые и неожиданные проблемы, к которым, видимо, не готова отечественная ветеринарная наука и практика как в техническом, так и ментальном отношении.

ü Во-первых, это *квазидиагностика*, означающая не просто неправильный, ложный или отложенный диагноз, а всю «совокупность» отягченных последствий принятия (или непринятия) профессиональных, административных и т.п. решений в отношении другой, как правило, менее опасной инфекции. Свежие примеры в связи с этим в настоящем Сборнике - синдром постотъемного мультисистемного истощения вместо АЧС в Грузии, новая «высоко лихорадочная болезнь свиней» вместо высокопатогенной формы РРСС в Китае, КЧС вместо АЧС в Республике Маврикий.

ü Во-вторых, *микст-эпизоотии* или проэпизоотичивание с замаскированным «участием» АЧС или других трансграничных инфекций, возникновение и распространение которых не лишены

реальных оснований. Последнее ставит вопрос о серьезном пересмотре требований к диагностике - обязательности тотального тестирования на АЧС и другие опасные инфекции во всех сомнительных и недиагностируемых случаях, интенсивном серомониторинге, ретроспективной диагностике максимальной хронологической глубины, при необходимости - анализе и ревизии серум-банков.

17. На основании публикаций и опыта работы по эпизоотологии АЧС формулируются также некоторые выводы наиболее общего порядка, имеющие научную и практическую актуальность и перспективы в новейшей естественной истории заразных болезней. Вкратце это:

- § очевидность радикальных изменений тривиальных эпизоотических процессов, определяющих формирование заболеваемости;
- § факторы социально-хозяйственного порядка и синэргизирующая деятельность человека как ведущие причины возникновения, распространения, эмерджентности, эндемичности болезней;
- § «человеческий фактор» как основная движущая сила эпизоотических процессов (что особенно наглядно в ситуации с АЧС в Грузии и южном регионе РФ);
- § необходимость радикального пересмотра догматов эпизоотологии и исключения из оборота схоластики «эпизоотических цепей» и «механизмов передачи инфекции».

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В КАВКАЗСКОМ РЕГИОНЕ

18. Публикации, приведенные в этом разделе Сборника, основаны на официальном *on line* материале мировых баз данных по эпидемиологии (ProMED, WANID, EMPRES и др.) и имеют скорее констатирующий, чем аналитический характер. Положение, которое сложилось за период эмерджентного неблагополучия в 2007-2009 гг., применительно к таким случаям и комбинации современной ветеринарной службы РФ «федерально-регионального» формата

характерно, предсказуемо и неудивительно. Все, что касается текущей эпизоотической обстановки как в Грузии, так и в регионах, которые Грузия, по соседски, «наградила» АЧС, достаточно ясно и банально - причины, масштабы бедствия, ущерб, научно-практическая беспомощность, безуспешность предпринимаемых попыток что-либо сделать (см. постулаты 17 и ниже 19).

Следует лишь отметить, что за это время определился некий нетривиальный, но, возможно, критический фактор, - приоритетное значение в борьбе с АЧС ужесточенных радикальных мер по пресечению распространения инфекции *«изнутри»*, за пределы неблагополучных пунктов, перед заносом *«извне»*. Это как раз тот ключевой момент, который никак не хотят (или не могут) понять работники обеих ветвей ветеринарной власти, федерального и регионального уровня. Вся деятельность концентрируется на предупреждениях, обращениях, призывах к несчастным владельцам свиней о недопущении заноса АЧС *«извне»* с плохо скрываемым намерением переложить всю вину за особо опасную заболеваемость на категорию некомпетентных в данном случае *«действующих лиц»* под предлогом *«а мы вам говорили»*. [Например, о тысяче *«предупреждений»* как о достижении за год поведал Донской сельхознадзор - совсем как с приснопамятными тысячами китайских последних предупреждений. Здесь прямая аналогия с пожарами текущим летом: говорили все, мер никаких, а в итоге - отвечайте сами погорельцы. Дело доходит до полного абсурда типа *«ФСБ усилить контроль за ГИБДД»* (!?) (сейчас, видимо, это новые формы противоэпизоотических мероприятий в борьбе с конвенционными болезнями), а упомянутый сельхознадзор показателем своей работы за 2009 год посчитал выписку штрафов на сумму аж в 300 тысяч рублей с небольшим, что в пересчете составляет примерно по рублю на свинью (и это там, где нужен трибунал).] В то же время распространение *«изнутри»*, количество неблагополучных пунктов, интенсивность эпизоотического процесса и в целом напряженность эпизоотической обстановки неуклонно возрастают (см. постулат 20).

19. На всем случившемся безусловно отрицательно сказываются нескончаемые административные ухищрения и тяжелые свары в ведомствах, ответственных за ветеринарию в стране, по части перетасовки властной компетенции - функций, полномочий, ответственности и проч., в полном соответствии со старым надежным

принципом «искать не выход из положения, а кто виноват» (судя по последним событиям с Департаментом ветеринарии Минсельхоза России, здесь уже уместны слова дедушки Крылова: «А вы, друзья, как не садитесь...»). [В этом контексте обращает на себя внимание положительный пример прогрессирующего ведомства Г.Г.Онищенко, нередко противопоставляемого ветеринарному надзору, которое за последние годы прибрало к своим рукам ряд важных участков работы, успешно выходит из угрожаемых ситуаций по эмерджентным зоонозам (атипичной пневмонии, птичьему, свиному гриппу) и «выбивает» под эти проблемы хорошее бюджетное финансирование, превращается в известной степени в политическую силу, и т.д.]

20. События первой половины 2010 года полностью подтверждают изложенное (см. постулаты 18 и 19). При отсутствии официальных сообщений из Грузии, где, по некоторым данным, свиней почти не осталось, до сентября текущего года в кавказском регионе возникло 70 вспышек АЧС – 50 среди домашних свиней и 20 среди кабанов; три вспышки зарегистрированы в Армении (домашние и дикие свиньи), все остальное в РФ, по всему южному фронту эпизоотии. Совершенно непостижимое положение сложилось в Ростовской области (29 вспышек), ареал инфекции неотвратимо расширяется - в зону неблагополучия вовлечены Волгоградская (6 вспышек в июле-августе) и Астраханская (12 вспышек в августе) области. Суммарные характеристики обстановки представлены графически на рисунках 4, 5 и в формате WАNID в таблице.

21. Серьезной эпизоотологической проблемой оказалось все, что связано дикими кабанями. Несмотря на ограниченность научных публикаций, тем не менее удастся составить достаточное представление о реалиях ветеринарной биологии этих животных с полезными эпизоотологическими выкладками. Гораздо лучше обстоит дело с эпизоотологическим мониторингом актуальных инфекций животных и человека; во многих странах Западной Европы ведутся интенсивные исследования в этом направлении, и согласно имеющимся данным, эпизоотическая ситуация среди кабанов в масштабе всего европейского континента весьма настораживающая.

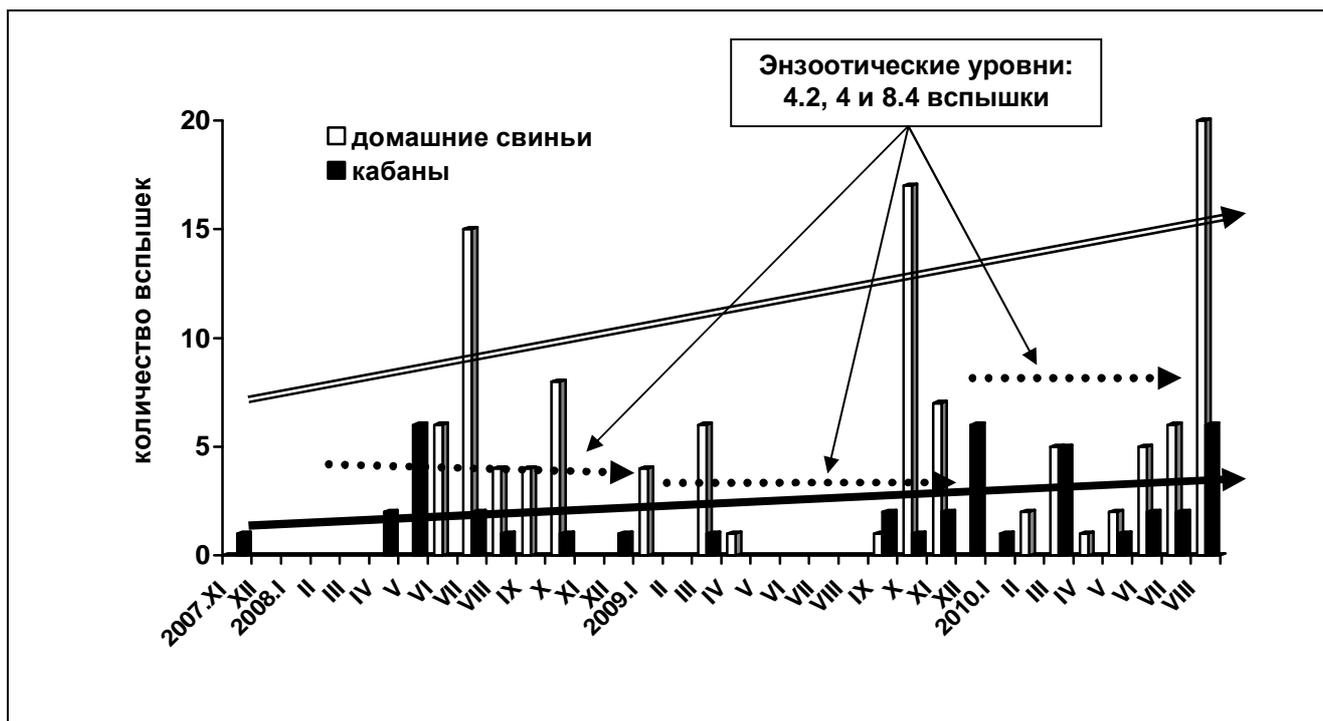


Рисунок 4. Хронологическое продолжение рисунка 2 на стр. 214 Сборника - регистрация вспышек АЧС среди домашних и диких свиней в южном регионе РФ до сентября 2010 гг. Количество, линейные тренды и годовые энзоотические уровни указывают на неуклонный рост напряженности эпизоотической ситуации.

22. В связи с вовлечением диких кабанов в текущий эпизоотический процесс в южном регионе РФ выделяется несколько аспектов.

До сих пор в отечественной ветеринарной науке не ведется сколько-нибудь серьезной работы и почти нет результатов по инфекционной патологии этих широко распространенных, экологически и социально значимых животных [за исключением фрагментарных данных по КЧС А.А.Коломыцева (1994, 1998) и А.Т.Шикова (1994), РРСС С.А.Кукушкина (2009)]. Тем более, практически ничего не ясно в отношении АЧС среди кабанов аутохтонных популяций юга РФ (см. постулат 14), кроме регистрации спонтанной заболеваемости и падежа. [С позиций элементарной логики это непростительное упущение тех, кто занимается сейчас проблемой, т.к. возможности такого экологического эксперимента по эпизоотологии АЧС могут и не повториться (см. следующий постулат 23).]

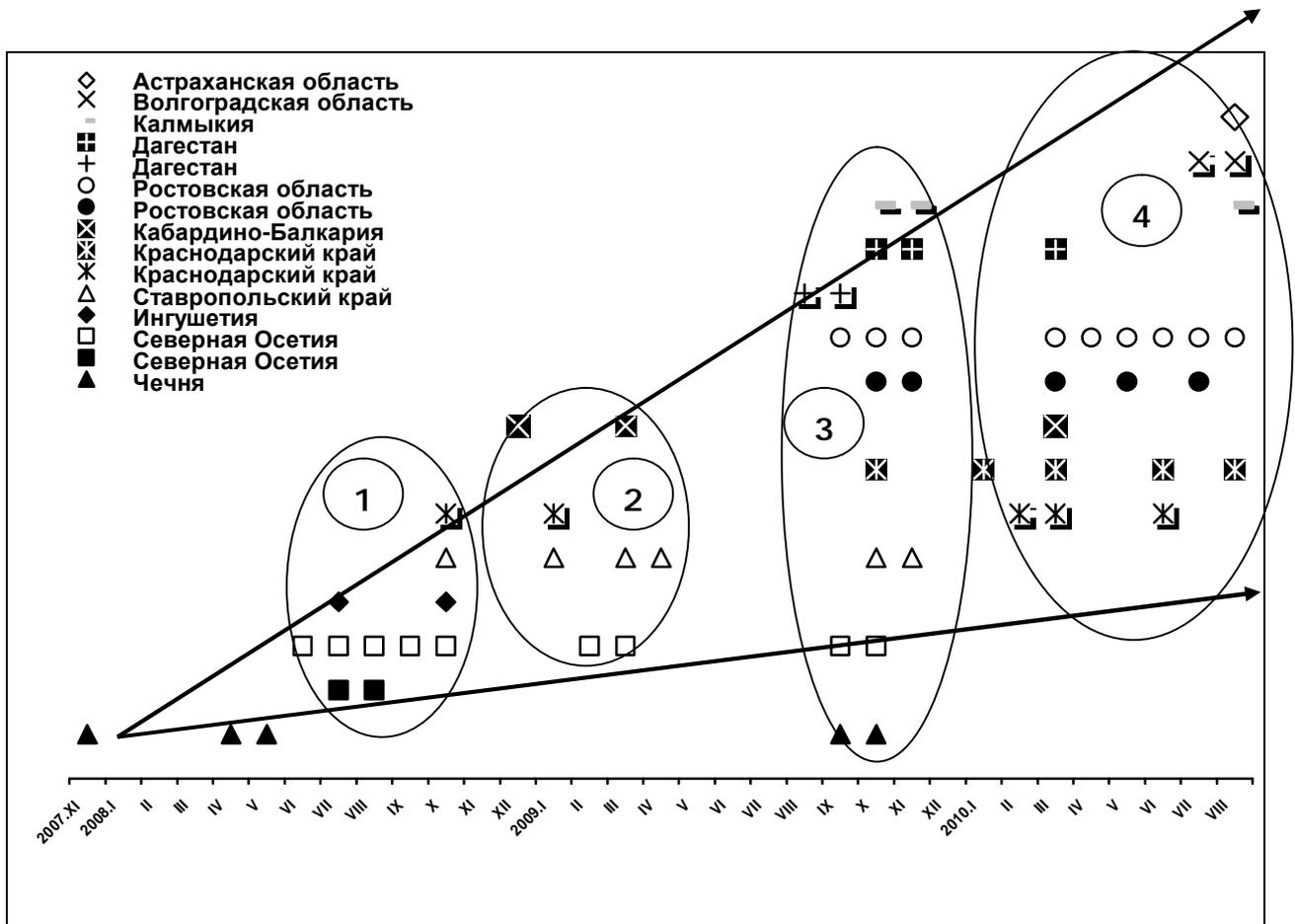


Рисунок 5. Хронологическое продолжение рисунка 3 на стр. 215 Сборника - региональной динамики эпизоотии АЧС на юге РФ в 2007-2010 гг. (светлые символы - домашние свиньи, черные - кабаны). По сравнению с кластеризацией в предыдущем периоде (1, 2, 3) в 2010 г. наблюдается непрерывность эпизоотического процесса и «верный» характер распространения очаговости с вовлечением новых территорий (4).

ü Для обсуждения проблемы с очевидной практической пользой интерпретируются и экстраполируются на ситуацию фундаментальные и аналитические результаты, изложенные в Сборнике, прежде всего относительно общей характеристики паразитарной системы АЧС и патогенетических механизмов ее саморегуляции (см. постулаты 6 и 13).

Таблица. Систематизированные показатели количественной эпизоотологии АЧС в наиболее неблагополучных регионах юга РФ в январе-августе 2010 г. (данные WAHID). Обращает на себя внимание факт далеко не полной ликвидации экспозированных свиней в эпизоотических очагах (последний столбец).

| Области, край | Вспышек всего / среди домашних свиней / кабанов | АЧС среди домашних свиней | | | | | | | | | |
|-------------------|--|--------------------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|--------------|----------------|--------------|-------------|-----------|
| | | Количественные данные (поголовье) | | | | | | Индексы (%) | | | |
| | | Экспозировано | Заболело | Потери | | | | Заболеемость* | Смертности** | Летальности | Потерь*** |
| | | | | Пало | Уничтожено | Убито | Всего | | | | |
| Ростовская | 29 / 24 / 5 | 28500 | 450 | 320 | 4300 | 4400 | 9020 | 1.6 | 1.1 | 71 | 32 |
| Краснодарский | 12 / 5 / 7 | 5300 | 94 | 83 | 4400 | 300 | 4783 | 1.8 | 1.6 | 88 | 90 |
| Волгоградская | 6 / 6 / 6 | 1200 | 36 | 36 | 790 | - | 826 | 3 | 3 | 100 | 69 |
| Всего в РФ | 67 / 49 / 18 | 37500 | 1000 | 450 | 9650 | 4700 | 14800 | 2.7 | 1.2 | 45 | 40 |

*в данном случае показатель регистрируемого распространения болезни в популяции риска (экспозированных, или подозреваемых в заражении животных), выражаемый отношением числа заболевших к ее общей численности.

** показатель тяжести влияния болезни на популяцию животных, выражаемый отношением числа павших к численности популяции риска. Одновременно это может косвенно свидетельствовать об экстренности принимаемых мер.

*** показатель потерь, выражаемый отношением общего числа павших, уничтоженных и убитых к экспозированным, также косвенное свидетельство полноты реализации политики стемпинг аут.

Û Здесь оказываются весьма полезными в качестве научных и дискуссионных ориентиров все имеющиеся сведения по диким африканским свиньям как фактический материал по феномену природной очаговости АЧС *per se*. [Следует отметить, что до последнего времени в зарубежной науке - эпидемиологии, ветеринарии, экологии и т.п. учение Е.Н.Павловского о природной очаговости болезней как экологически реальном явлении биосферы не признано и не упоминается в качестве научного понятия вообще.]

Û Несмотря на явные свидетельства и объективные предпосылки формирования самостоятельного природного цикла АЧС на юге РФ, окончательное суждение может быть принято только при установлении самого главного критерия феномена - природных

очагов как его материальных элементов в пространстве, времени, типологии в полном соответствии со всеми канонами учения Е.Н.Павловского. АЧС на юге РФ - однозначно пока только зооэриоз. Безосновательное, фамильярное «затаскивание» научного понятия в данном случае профанирует саму идею природной очаговости.

Тем не менее, даже на основании скудной и, возможно, не совсем истинной официальной статистики для изучения процессов возникновения и распространения АЧС в популяциях диких кабанов на территории южных регионов РФ удастся адаптировать применение современного научного инструментария в виде математической «супер-модели» и компьютерной программы.

23. В изложенном контексте представляют несомненный научный и познавательный интерес опубликованные недавно подробные данные эпизоотологического надзора при АЧС на о.Сардиния (<http://ec.europa.eu/food>). Это своеобразная модель ограниченной энзоотии с вовлечением диких свиней на внеафриканской территории, дающая впервые необходимое базовое представление о характере эпизоотического проявления инфекции у кабанов и деталях локального развития феномена природной очаговости (см. постулат 14). Вот ориентировочные параметры ситуации.

§ Площадь острова 24 тысячи км², 377 населенных пунктов, общее поголовье домашних свиней 250 000, средняя плотность популяции 11 гол/км².

§ Количество свиней в стаде от 5 до 60 голов, в среднем 14, содержатся на 17 500 фермах.

§ Плотность ферма/населенный пункт от 3 до 504, в среднем 46.4.

§ Более 90% ферм ведут экстенсивное подворное семейное хозяйство с содержанием свиней на свободном выпасе.

§ АЧС занесена на юг острова в 1978 году.

§ Основные факторы эпизоотического риска очевидно универсальны для АЧС (по нисходящей):

▫ подворный тип свиноводства (эпизоотическая кластеризация), для которого характерны игнорирование мер биобезопасности, отсутствие какой-либо упорядоченности, идентификации животных, их бесконтрольные перемещения, контакты со свиньями других ферм и дикими свиньями;

- транспортировка свиней между фермами (важнейший фактор распространения «изнутри»);
- преимущественно свободное содержание свиней (free-ranging), вследствие которого первичным источником возникновения и территориального распространения инфекции повсеместно были домашние свиньи.

§ План эрадикации болезни был принят к действию в 1993 году. Эпизоотическая ситуация после этого за 16 лет графически охарактеризована на рисунке 6.



Рисунок 6. Многолетняя динамика вспышек АЧС на о. Сардиния.

- § За 1993-2009 гг. возникли 963 вспышки инфекции на площади 7.8 тысячи км² (32% общей территории) в 105 населенных пунктах (28%), более одной вспышки - в 26 (7%).
- § В 2008 году при исследовании 292 проб, полученных на бойнях от свиней с 237 ферм из 5 населенных пунктов, 9 оказались серопозитивными (3%, от 2 до 5%, 7 - в зоне риска).
- § Общая численность кабанов на территории острова 75 000 голов, средняя плотность населения - 3 гол/км², ареал обитания - 7.5 тысяч км², популяционная плотность в ареале - 10 гол/км², в зоне эпизоотического риска - 35 000 голов, плотность - 4.5 гол/км².
- § В период охотничьих сезонов 2000-09 гг. при исследовании материала от кабанов в ходе осуществляемого надзора за АЧС обнаруженная серопревалентность составила 2.8% (от 0.4 до 20%, всего 17500 проб, 487 серопозитивных), трижды в 25 пробах выделен вирус, в 22 - в 2007-08 гг. Графически полученные данные выражены на рисунке 7.



Рисунок 7. Результаты многолетнего мониторинга АЧС среди кабанов на о.Сардиния: объемы исследований, серопревалентность, выделение вируса (данные комасштабированы).

§ В контексте эмерджентного распространения АЧС на юге РФ, в числе прочих модельных признаков энзоотии и результатов территориального эпизоотического надзора на о.Сардиния, представляют сравнительный интерес следующие частные моменты:

- эпизоотическая обстановка в целом, эмерджентные пики регистрируемой заболеваемости в 1995 г. (145 вспышек) и 2005 г. (247 вспышек, в среднем по две на каждые три населенных пункта!), продолжающиеся вспышки в 2010 г. очевидно свидетельствуют о паллиативном содержании плана эрадикации и его неэффективности;
- об этом же свидетельствует серопревалентность среди убойных домашних свиней как показатель проэнзоотичивания, близкий по уровню к таковому в период энзоотии в Иберийском регионе среди свиней из благополучных хозяйств или убойных (0.75-5.7%);
- хронологически непрерывная превалентность маркеров инфекции у кабанов (серопозитивность и находки вируса) в течение последнего десятилетия аналогично указывает на проэнзоотичивание уже в природных условиях;
- вместе с тем ничтожно низкий уровень показателей среди кабанов по сравнению с превалентностью у диких свиней в сложившихся природных очагах Африки (>80%) делает реальность

самостоятельных природных циклов АЧС на о.Сардиния маловероятной;

▫ несмотря на ни чем не ограничиваемые контакты с домашними свиньями, кабаны в качестве резервуара и источника инфекции имели и имеют вторичное значение;

▫ тем не менее рост интенсивности мониторинга инфекции среди кабанов в последние четыре года (почти в 10 раз) принят одним из направлений интенсификации плана эрадикации и означает признание нозогенного потенциала природных циклов АЧС фактором высокого эпизоотического риска.

24. Как и по материалам предыдущих разделов, относительно ситуации в кавказском регионе складываются пока скорее впечатления, чем выводы.

Û Вместе с эмерджентностью многочисленных инфекций, занесенных, распространившихся, укоренившихся на территории РФ на рубеже веков и за последние годы (в их числе трансграничные птичий грипп, блютанг, РРСС), прогрессирующая напряженность обстановки по АЧС свидетельствует о хронической неудовлетворительности противоэпизоотической защиты страны как составляющей ветеринарной службы. Вероятно, этому способствуют такие общеизвестные явления ветеринарного двоевластия текущего момента, как административный снобизм, авторитарный стиль, пренебрежение и нигилизм в отношении широкой научной общественности.

Û За «перетягиванием каната» между ветвями ветеринарной власти время для радикальной, единственно эффективной борьбы с АЧС явно упущено. В советский период, при единой, централизованно упорядоченной вертикали управления ветеринарным делом в стране от сельхозотделов ЦК КПСС и Совета Министров Союза через Главное управление ветеринарии МСХ СССР до республиканских, областных управлений и отделов и ниже, подобная проблема не меньшего масштаба была успешно и полностью решена в течение двух месяцев. Причем все было сделано за счет обыденных для того времени и единственно логичных мер ментального и практического порядка - государственного подхода, принятия взвешенных, объективных решений, строгой ответственности, четкой, обязательной исполнительности и контроля, мобилизации всех необходимых ресурсов, сил и средств как

ветеринарного, так и неветеринарного назначения, и т.п. при ведущей роли ветеринарной науки.

Ў Прогнозы - дело крайне неблагоприятное в принципе, и в данном случае это более чем очевидно. И все же, без особых амбиций, можно предположить возможные пути дальнейшего разрешения сложившейся ситуации, которые группируются в три стандартных сценария (см. постулат 14).

§ В существующем положении (см. постулат 20) эффективное искоренение АЧС могло бы быть достигнуто только с помощью активного эпизоотологического надзора и политики депопуляции на территории обоих неблагополучных федеральных округов юга РФ. Не стемпинг аут, т.е. подворное уничтожение свиней в эпизоотических очагах, приемлемый только на неэндемичных территориях при первичных, единичных или малочисленных локальных вспышках, а тотальная ликвидация всего поголовья домашних и диких свиней, единственно радикальная в случае состоявшейся трехлетней эндемии. Таким образом, несмотря на масштабы мероприятий с охватом целых государств, сотни тысяч и миллионы вовлекаемых в них свиней, было предотвращено распространение АЧС при возникновении эмерджентных вспышек на Кубе (1971), Мальте (1978), Гаити (1978-79), оздоровлены от КЧС Бельгия и Голландия (1997-2000). Тем не менее, с учетом известных обстоятельств административного, социального порядка, ментальности населения в настоящее время на юге РФ этот сценарий практически нереален.

§ Противоположный по смыслу и содержанию вариант может заключаться в том, чтобы предоставить эпизоотической ситуации «свободное развитие» в существующих территориальных пределах неблагополучия в качестве индигенной энзоотии без особых вмешательств, так, как это делается в экзотических африканских нозоареалах. В течение трех-пяти лет, рано или поздно обстановка сама собой разрешится, как в Бразилии (1978-1983): либо неблагополучие самоликвидируется на «мелкотоварном», бытовом уровне, т.е. АЧС искоренят сами частные собственники-свиноводы и население, когда реальная жизнь банальным, рыночным способом, через семейный бюджет убедит их в экономической и социально-хозяйственной неизбежности соблюдения жестких противоэпизоотических требований, либо властными структурами на региональном уровне ситуация будет всерьез воспринята как

социальная биокатастрофа и осуществлена радикальная борьба с АЧС на уровне важных государственных проблем продовольственной безопасности (вплоть до первого сценария). [Разумеется, речь не идет об отмене защиты прилегающих территорий и других регионов страны от заноса АЧС, уже имеющего примеры в текущей обстановке, а только о своего рода блокаде.] Развитие событий по этому сценарию в существующих на юге РФ социальных, национальных и т.п. условиях наиболее рационально.

§ Третий сценарий - то, что делается сейчас, т.е. и не первое, и не второе. Паллиативы, мониторинг вместо надзора, полумеры, компромиссы и т.п. как всегда наименее результативны. Судя по данным регистрируемой эпизоотологической статистики (см. таблицу в постулате 20), из радикального контроля выпадает (не попадает под стемпинг аут, а, следовательно, так или иначе расходится по потребительским цепям с непредсказуемыми последствиями, и т.д.) более половины неблагополучного поголовья, а это многие тысячи свиней и масса продукции. Именно таким образом энзоотия в домашнем свиноводстве и природная очаговость могут растянуться на десятки лет, как в Иберийском регионе или на о. Сардиния (см. постулат 23).

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

25. И тем не менее обоснованно напрашивается вполне оптимистичный вывод, что АЧС из малоизвестного объекта инфекционной патологии переходит в разряд основательно исследованных заболеваний, даже по сравнению с наиболее изучаемыми и публикуемыми ящуром, болезнями Ауески и Ньюкасла, гриппом, бешенством. Получены ответы на запутанные, нетривиальные вопросы вирусологии и иммунологии (особенно), многое стало понятно и объяснимо в эпизоотологии. Безусловно, это большая научная заслуга и приоритет прежней, «золотой эры» ВНИИВВиМ, лучшее, что было сделано в фундаментальном плане. Поэтому всем, кто поработал тогда с вирусом АЧС, образно говоря, можно засчитывать «год за три».

Еще раз следует подчеркнуть, что результативность была несомненно predeterminedена «мозговым штурмом», обеспечившим исходный дизайн НИР, прежде всего диалектически правильную, четкую формулировку вопросов и методологический аппарат получения конкретных ответов на уровне феноменологии, чего оказалось вполне достаточно, без лишнего «копания» в деталях и молекулярной зауми (в частности, критическая роль макрофагов, гемадсорбция, вирулентность, гетерогенность и полиморфизм вирусной популяции, отсутствие нейтрализации вируса и иммунологический приоритет противоклеточной защиты, вирусные гликопротеины и материализованный серотипоспецифический протективный антиген). Характеристика вирусиндуцированного апоптоза, выяснение причин ненейтрализуемости вируса, обобщенный иммунологический алгоритм оценки протективного потенциала вирусных компонентов - научный эталон логики доказательной медицины в постановке вопроса и его метааналитическом компилятивном решении.

Другой компонент успеха - исключительный энтузиазм, высокая эрудиция, экспериментальное творчество, интеллект исполнителей, своего рода научный кураж, когда раньше девяти вечера из лаборатории уходить было не принято, а руководящим принципом, по музыкальной терминологии, была неограниченная научно-методическая импровизация, гармонично организованная рамками заданной темы. Вопреки тому, что никакой научной заинтересованности и тем более поддержки со стороны консервативного руководства и тех, кто постарше, в течение двадцати лет не было вовсе, если не наоборот - безразличие, непонимание и даже попытки мешать. Уж слишком ярко все выглядело и кололо глаза по сравнению с работами «на уровне поросенка» и измерением результатов типа «выжил/пал». [Уникальным исключением был только Василий Иванович Попов, заведующий лабораторией иммунологии, который, будучи занятым «под завязку» своей вакциной ЛК-ВНИИВВиМ, отпустил большую часть лаборатории в свободный поиск.] В целом отношение официоза к этой работе строилось по остаточному принципу, а первые защиты диссертаций проходили нередко с заушательским критиканством, в крайне недоброжелательной атмосфере. Успокаивало то, что это закономерно: обскурантизм в науке - своего рода «антистандарт», поиск всегда кем-то воспринимается как нечто второстепенное, под лозунгом «нам

некогда ходить по библиотекам - работать надо». Но недаром говорится в евангельских заповедях: «блаженны гонимые за правду» (Мат. 5, 10).

26. Сформировались определенные теоретические, научные и материалистические предпосылки для окончательного выбора позиций по наиболее общим прикладным направлениям проблемы АЧС - борьбе (противоэпизоотические мероприятия) и профилактике (профилактическая вакцинация, правильнее активная специфическая профилактика). Отечественный, мировой опыт, подкрепленный фундаментальными научными объяснениями, однозначен - строгие радикальные меры при искоренении АЧС (стемпинг аут при первичных вспышках в неэндемичных ситуациях и депопуляция в случае эндемии) безальтернативны и служат противоэпизоотическим стандартом. Всевозможные ухищрения, «обсуждения», «мнения», варианты и т.п. чрезвычайно опасны как практически, так и ментально. [Все неурядицы продолжающегося неблагополучия на юге РФ - из-за несоблюдения этого стандарта, принятого в мировой практике, и неспособности тем самым гарантированно пресечь распространение инфекции «изнутри». Для руководства и тренинга практических специалистов существует основательное пособие ФАО *Manual on procedures or diseases eradication by stamping out*, которое давно применяется в учебном процессе кафедры ветеринарной патологии РУДН в переводе, подготовленном студентами и преподавателями.]

Пока сложнее обстоит дело со специфической профилактикой, хотя и здесь многое ясно. Причины заблуждений и фатальной неэффективности вакцинации против АЧС сводятся к незнанию или игнорированию все той же роли макрофагов и неизбежной гетерогенности вирусной популяции (см. постулаты 3, 6, 13). Отселекционировать чистые, стабильные вакцинные варианты вируса АЧС (как пастеровский вирус-фикс бешенства, фиксированные лапинизированные штаммы ЛК вируса КЧС, ЛТ вируса чумы КРС, прошедшие тысячи модифицирующих пассажей в гетерологичных системах) технически невозможно. Во-первых, авирулентные в лаборатории варианты (которых наделано немало, см. статьи первого раздела Сборника), будучи получены пассированием в культурах единственных спонтанно чувствительных к вирусу гомологичных клеток КМС или лейкоцитов свиней, к тому же патогенетических мишенях *in vivo*, ревертируют, восстанавливая вирулентность; в этом

при первых же попытках, в самом начале 1960 гг. в Испании убедились такие авторитеты, как Sanches Botija и др. Реверсию вирулентности можно просмотреть в лабораторных опытах за их ограниченностью, но ее вероятность будет экспоненциально возрастать по мере увеличения статистических масштабов (это общебиологический закон!) и на уровне животных популяций, в полевых условиях она неотвратима (такой опыт уже был). Во-вторых, направленный искусственный отбор исходно не имеет смысла, т.к. даже при условии генетической очистки доминирующего вакцинного варианта будет потеряна иммуногенность к другим серотиповым, рецессивным компонентам, теоретически имеющимся в эпизоотической, природной вирусной популяции, а рассчитывать на перекрестный иммунитет при таком злокачественном патогенезе бесполезно. Очевидно не случайно серотиповая реакция заключается не в отмене гемадсорбции (как, например, антигемагглютинация), а лишь в ее временной задержке. Так что активная специфическая профилактика АЧС пока может рассматриваться исключительно как явление виртуального порядка. [Изложенное не противоречит результатам выяснения природы протективного иммунитета при АЧС (эффекторов, реакций, протективного антигена) - иммунный ответ, защита и вакцинация далеко не адекватные понятия, и упаси Боже их путать.]

27. В то же время анализ представлений об иммунитете и гипотетических вакцинах против АЧС, судя по последним зарубежным публикациям, свидетельствует об их тупиковом состоянии, не оправдывающем привычных надежд на границу. Определенность научных концепций не просматривается даже в «самых-самых» Plum Island Animal Disease Center и Institute for Animal Health Pirbright Laboratory. Чем дальше от феноменологии, от стереотипности иммунного ответа (см. постулат 12), чем глубже исследование механизмов иммунитета при АЧС (например, «копание» в субпопуляциях Т-лимфоцитов), тем больше неясного, тем паче, что сами по себе молекулярные детали здесь ничего не дадут. [Еще раз следует напомнить о странном упрямстве зарубежных специалистов в игнорировании важнейших феноменов - гемадсорбции, ее роли в вирулентности и сероиммунологического плюрализма вируса. Тем больше заслуга ВНИИВВиМ, выше престиж института!]

28. Очевидно, что в сложившейся ситуации по АЧС в стране, как и везде, где пахнет жареным, обязательно появляются любители погреть руки или просто «позвиздеть», как пикейные жилеты у Ильфа и Петрова. АЧС - безусловно специфический объект инфекционной патологии «не для всех». Как и в проблеме бешенства, о чем писалось неоднократно, уже появляются совершенно дилетантские, на грани невежества «мнения», спекуляции, пустословие, а также неадекватные, высосанные из пальца публикации случайных графоманов и даже (внимание!) уже первая диссертация периферийного пошиба. Недалеко до потери чувства меры, как в случае с тем же бешенством, когда не осталось области без кандидатской по этой болезни, а бешенства хоть отбавляй.

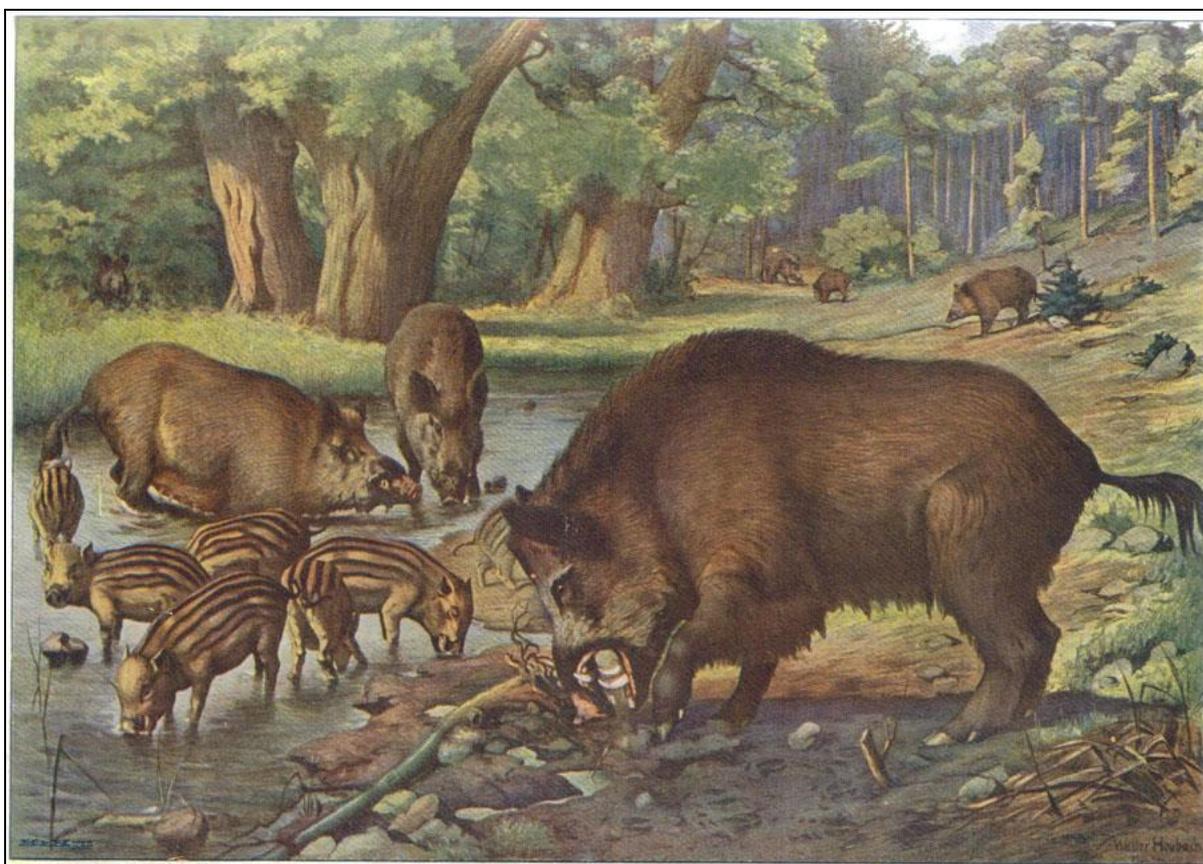
Нужно мобилизовать научную порядочность и интеллект и объективно смириться с тем, чего не дано. Не следует в стремлении «изучать» и «клепать вакцины» любой ценой наивно делать вид, как Иваны, не помнящие родства, что ничего не известно в отношении каких-то мало-мальски значимых прикладных аспектов вирусологии, иммунологии и особенно вакцинации, ибо замалчивание - вторая ложь. Изучать-то особо нечего, все будет бесплодным повторением задов, а здесь, особенно с «вакцинами», уже достаточно посмешили народ. Основное понятно (главное, широко опубликовано), и не стоит униженно выпрашивать бюджетные деньги под неизвестно что, тратить силы, обманывать себя и людей, когда достаточно осмыслить то, что есть. Нужно ориентироваться на закономерности, а не выдумывать особенности.

В то же время жизнь предоставила беспрецедентную возможность (будем надеяться, последнюю) по-настоящему изучить реальную, живую эпизоотологию, природную очаговость, патологию АЧС не как экзотику, а на своей, уже эндемичной территории. Вот куда требуется направить все научные возможности, результаты будут бесценны. Играть же роль «шестерок» в практике провальных противоэпизоотических мероприятий - неблагодарное дело для ветеринарной науки; в двух федерально-региональных ведомствах народу хватает с лихвой, ругаться есть кому, а организовать и обеспечить как полагается меры борьбы - нет никого.

Вредные по определению, спекуляции и схоластика в столь серьезном положении недопустимы. Как безусловные составляющие успеха нужны открытость и объективность информации, гласность выработки и согласованность принятия решений с полным соблюдением традиций конвенции МЭБ 1964 года.

Поэтому еще и еще раз -

ЗНАНИЕ - СИЛА, И НАОБОРОТ.



Walter Heubach (1865-1923). Из «Category: Paintings from Germany».

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|---------------|
| ВВЕДЕНИЕ | стр. 3 |
| ВИРУСОЛОГИЯ | 9 |
| Портреты вирусов: вирус африканской чумы свиней | 10 |
| Африканская чума свиней - модель взаимодействия патогена с системой мононуклеарных фагоцитов | 12 |
| Апоптоз в системе «вирус африканской чумы свиней - мононуклеарные фагоциты свиньи» | 23 |
| Популяционная структура вируса африканской чумы свиней по признаку количественной гемадсорбции | 33 |
| Физико-химический полиморфизм вирусной популяции и дефектные интерферирующие частицы вируса африканской чумы свиней | 45 |
| Функциональная роль гликозилирования вирусных компонентов | 55 |
| Гликопротеины вируса африканской чумы свиней | 65 |
| Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней | 75 |
| Серологические и физико-химические свойства ГП 110-140 вируса африканской чумы свиней | 84 |
| ИММУНОЛОГИЯ | 90 |
| Реакции вируса африканской чумы свиней с антителами и причины отсутствия нейтрализации | 91 |
| Иммунологический алгоритм оценки протективного потенциала вирусных компонентов | 98 |
| Сравнительный анализ показателей функциональной активности гуморального и клеточного иммунитета при вирусных инфекциях | 105 |
| Асимметрия эффекторного звена в противои инфекционном иммунитете | 111 |
| Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет | 120 |

| | |
|--|------------|
| ЭПИЗОТОЛОГИЯ | 132 |
| Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней | 133 |
| Африканская чума свиней в Республике Маврикий | 153 |
| Комментарий к современной ситуации по АЧС | 161 |
| | |
| АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ В КАВКАЗСКОМ РЕГИОНЕ | 167 |
| Африканская чума свиней в Грузии | 168 |
| Африканская чума свиней в России и эпизоотологический риск для региона | 179 |
| Дикий европейский кабан | |
| 1. Ветеринарная биология и эпизоотология | 200 |
| 2. Природная очаговость африканской чумы свиней | 208 |
| 3. Моделирование и прогнозирование природно-очаговой африканской чумы свиней | 217 |
| | |
| ЭПИЛОГ (комментарии, обсуждение, размышления) | 227 |
| Вирусология | 229 |
| Иммунология | 236 |
| Эпизоотология | 246 |
| Африканская чума свиней в кавказском регионе | 250 |
| Общее заключение | 261 |



МАКАРОВ ВЛАДИМИР ВЛАДИМИРОВИЧ

доктор биологических наук, профессор
действительный член РАЕН и РАМТН
заслуженный деятель науки РФ

Подписано в печать11. Формат 60 X 90 ¹/₁₆

Объем 16.75 печ.л. Тираж 500.

Типография, заказ № _____ .

.....