

Настораживающим фактом явилось обнаружение чувствительности к Эболавирусной инфекции домашних свиней [4]. Вирус субтипа Рестон изолирован при вспышках репродуктивно-респираторного синдрома свиней на Филиппинах в 2008–2009 гг., показана их восприимчивость при экспериментальном заражении вирусом субтипа Заир, который размножался в организме свиней и был способен к передаче между ними. Более того, установлено спонтанное инфицирование человека при экспозиции с зараженными свиньями (работников свиноферм и убойных предприятий) [4, 7].

Таким образом, свиноводческие фермы в неблагополучных зонах могут становиться потенциальным амплификатором ЭВБ уже в антропогенных условиях, и этот фактор риска требует необходимого внимания. С этой целью рекомендовано устанавливать наличие свиноферм в зоне неблагополучия, контролировать и профилировать возможность передачи инфекции по типу «свинья → человек», включая контроль производства пищевых продуктов свиного происхождения, устанавливать присутствие вируса у свиней, применять меры биобезопасности для исключения контактов «летучие мыши → свиньи» для предотвращения передачи Эболавирусной инфекции в свинные популяции. В частности, службам ветеринарного надзора и здравоохранения в зонах регистрации болезни рекомендованы конкретные меры контроля этого фактора риска [7]:

- ♦ установление системы клинического и серологического мониторинга на свинофермах для быстрой идентификации Эболавирусной инфекции среди свиней;

- ♦ при выявлении инфекции у свиней — немедленное оповещение компетентных органов здравоохранения для создания специальной предупредительной программы мероприятий;

- ♦ в подтвержденных случаях циркуляции Эболавируса в популяции свиней — применение радикальных мер искоренения (убой животных и уничтожение туш, компенсация потерь владельцев, ограничения и контроль за перемещениями свиней в инфицированной зоне, карантинирование ферм, прочие меры, рекомендованные международными стандартами и правилами);

- ♦ для предупреждения передачи Эболавирусной инфекции на другие свинофермы путем трансмиссии «животные → человек → животные»:

- недопущение прямого контакта с кровью и органами инфицированных свиней, утилизации или переработки туш или плодов без соответствующего обезвреживания;

- применение надежных средств защиты персонала (спецодежда) при работе на инфицированных фермах с различными биоматериалами (животные, туши, плоды, плаценты) и их утилизации;

- кулинарная обработка всех продуктов животного происхождения (кровь, мясо, молоко);

- ♦ ужесточение контроля за производством пищевых продуктов свиного происхождения для исключения возможности попадания контаминированной свинины в потребительские цепи;

- ♦ привлечение внимания к проблеме Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), международное сотрудничество свиноводов, производителей, экспортеров в профилактике рисков трансграничного распространения ЭВБ.

В качестве заключения следует отметить возрастающее значение нетривиальных путей и причин эмерджентного возникновения и распространения новых инфекций и зоонозов, таких как психосоциальные, ритуальные, культовые, религиозные факторы, национальные традиции и привычки [3, 7, 8]. Для этой группы заболеваний ВОЗ предложено общее название *cultural-related diseases* — болезни, обусловленные особенностями культуры. Примеров подобных ассоциаций достаточно, чтобы не считать это явление исключением в современной ветеринарной и гуманитарной эпидемиологии. В частности, это прионная инфекция Куру и ритуальный каннибализм у папуасов Новой Гвинеи, вирус иммунодефицита человека, половые извращения и наркотики в цивилизованных странах, вирусные гепатиты В и С, другие гемоконтактные инфекции и переливание крови повсеместно, атипичная пневмония и употребление в пищу виверр в Китае, птичий грипп и кухонная обработка живой инфицированной птицы на юго-востоке Азии.

### БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают признательность студентам ветеринарного отделения Российского университета дружбы народов Вадиму Родионову, Шиловой АLINE и Ольге Татушиной за помощь в сборе и подготовке материалов по теме.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Геморрагические лихорадки. — URL: <http://med-enc.narod.ru/infekciya/060.html>.
2. Макаров В.В., Бакулов И.А. О роли патогенности микроорганизмов в инфекционной паразитарной системе // Вестник с.-х. науки. — 1990. — № 7. — С. 92–97.
3. Эмерджентность, чрезвычайные ситуации и зоонозы / В.В. Макаров, А.М. Смирнов, В.В. Сочнев [и др.] // Ветеринарная патология. — 2004. — № 3 (10). — С. 36–45.
4. Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus / R. Barrette, S. Metwally, J. Rowland [et al.] // Science. — 2009. — Vol. 325, № 5937. — P. 204–206.
5. Filovirus infections / V. Wahl-Jensen, C. Peters, P. Jahrling [et al.] // Tropical infectious diseases: principles, pathogens and practice / ed. L. Richard [et al.]. — 3rd ed. — Philadelphia, PA, Elsevier, JAMA, 2011. — P. 483–491.
6. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus / E. Leroy, B. Kumulungui, X. Pourrut [et al.] // Nature. — 2005. — Vol. 438. — P. 575–576.
7. WHO. Ebola and Marburg virus disease epidemics: preparedness, alert, control, and evaluation. — Geneva, Switzerland, Aug. 2014. — 123 p.
8. WHO. Ebola Filovirus. — URL: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/>.
9. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Vol. II. Chlamydioses, Rickettsioses and Viroses. — 3rd ed. — PAHO, 2003. — 416 p.

УДК 619:616.98:578.842.1:616-076

## РЕЗУЛЬТАТЫ УЧАСТИЯ В МЕЖДУНАРОДНЫХ СЛИЧИТЕЛЬНЫХ ИСПЫТАНИЯХ ПО ДИАГНОСТИКЕ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

А.М. Тимина<sup>1</sup>, М.Р. Якупов<sup>2</sup>, А.В. Щербakov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [timina@arriah.ru](mailto:timina@arriah.ru)

<sup>2</sup> аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [vavilova@arriah.ru](mailto:vavilova@arriah.ru)

<sup>3</sup> заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: [ascherbakov@arriah.ru](mailto:ascherbakov@arriah.ru)

### РЕЗЮМЕ

В статье описаны результаты участия референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ» в XI международных сличительных испытаниях по диагностике африканской чумы свиней, организованных Референтной лабораторией по АЧС Европейского Союза (URL-CISA-INIA, Мадрид, Испания). В ходе испытаний был правильно определен инфекционный статус всех закодированных проб. Результаты испытаний свидетельствуют о том, что разработанные и используемые в лаборатории тест-системы на основе ИФА и ПЦР обладают высокой чувствительностью и специфичностью и обеспечивают достоверные результаты при проведении диагностики африканской чумы свиней.

Ключевые слова: африканская чума свиней, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

UDC 619:616.98:578.842.1:616-076

## RESULTS OF PARTICIPATION IN INTERNATIONAL PROFICIENCY TESTING ON AFRICAN SWINE FEVER DIAGNOSTICS

A.M. Timina<sup>1</sup>, M.R. Yakupov<sup>2</sup>, A.V. Scherbakov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: [timina@arriah.ru](mailto:timina@arriah.ru)

<sup>2</sup> PhD student, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: [vavilova@arriah.ru](mailto:vavilova@arriah.ru)

<sup>3</sup> Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: [ascherbakov@arriah.ru](mailto:ascherbakov@arriah.ru)

### SUMMARY

Results of participation of the FGBI «ARRIAH» Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases in the XI International Proficiency Testing on African Swine Fever Diagnostics arranged by the European Union Reference Laboratory for ASF (URL-CISA-INIA, Madrid, Spain) are described in the paper. As part of the testing the infectious status of all coded samples was correctly determined. Testing results show that used in the Laboratory test-systems on the basis of ELISA and PCR have high sensitivity and specificity and provide highly reliable results during African swine fever diagnostic procedure.

Key words: African swine fever, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction.

## ВВЕДЕНИЕ

Вирус африканской чумы свиней (АЧС) является возбудителем особо опасного заболевания, характеризующегося острой геморрагической лихорадкой и большой летальностью.

АЧС эндемична в Африке, на Мадагаскаре и о. Сардиния (Италия). Более 30 лет (в 1960–1990 гг.) болезнь была распространена в Португалии и Испании. Спорадические вспышки АЧС, вызванные заносом инфекции, регистрировались во второй половине 20 столетия в некоторых других странах Европы (Франции, Бельгии, Нидерландах), а также на Кубе, в Бразилии, Гаити и Доминиканской Республике [2]. В Россию болезнь проникла в ноябре 2007 г. из Грузии. С 2007 г. продолжается распространение АЧС среди диких кабанов и домашних свиней на территории европейской части России.

До 2011 г. чума обнаруживалась в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах, а в 2012–2013 гг. распространилась и на территориях Центрального и Северо-Западного федеральных округов.

В связи с тем, что вакцины против АЧС на сегодняшний день не разработаны, меры борьбы с болезнью ограничиваются ранней постановкой диагноза с последующим уничтожением инфицированных животных и животных, находящихся в угрожаемой зоне. В этих условиях первостепенное значение отводится методам быстрой и высокоспецифичной диагностики АЧС.

В референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ» для диагностики АЧС используется комплекс методов. Для обнаружения вируса АЧС в биологическом материале применяется стандартная ПЦР и ПЦР в реальном времени. Для выявления антител к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней разрабо-

тан непрямой вариант ИФА, основанный на использовании в качестве антигена рекомбинантных белков р30 [1] и рК205R.

В апреле 2014 г. лаборатория принимала участие в XI международных сравнительных испытаниях, проводимых Референтной лабораторией по АЧС Европейского союза (URL-CISA-INIA, Мадрид, Испания). В данной статье описаны результаты сравнительных испытаний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Образцы.** Для участия в международных сравнительных испытаниях из Референтной лаборатории по АЧС Европейского союза (URL-CISA-INIA, Мадрид, Испания) была получена панель инактивированных образцов для тестирования, включающая 11 лиофилизированных сывороток крови и 8 гомогенизированных лиофильно высушенных тканей. Образцы были закодированы, характеристика образцов (табл. 1) стала известна участникам после завершения испытаний.

**ПЦР и ПЦР-РВ.** Панели сывороток и тканей исследовали методами стандартной ПЦР и ПЦР в реальном времени. Стандартную ПЦР проводили по методике М. Агуэро с соавт., 2003 [5], ПЦР-РВ — по методике D.P. King с соавт., 2003 [4]. Обе методики рекомендованы OIE (Всемирной организацией здравоохранения животных) для диагностики АЧС.

**ИФА.** Сыворотки крови исследовались на наличие антител к вирусу АЧС в р30-ИФА [1] и рК205R-ИФА, разработанных в референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также в коммерческом наборе INGEZIM PPA COMPAC 11.PPA.K3 (Ingensa, Испания).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Панели тканей и сывороток крови были исследованы на наличие ДНК вируса АЧС, а сыворотки крови тестировались также на наличие антител к вирусу.

Для обнаружения ДНК вируса АЧС применяли стандартную ПЦР с электрофоретической детекцией результатов и ПЦР в реальном времени. Методом стандартной ПЦР ДНК вируса АЧС была обнаружена в трех

образцах сывороток крови (№№ 2, 8, 11) и пяти образцах тканей (№№ 1, 2, 4, 6, 7) (рис. 1).

Все пробы, показавшие положительный результат в стандартной ПЦР, подтвердили свой инфекционный статус и в ПЦР в реальном времени (рис. 2). Однако сыворотка № 6, показавшая в стандартной ПЦР отрицательный результат, была положительной в ПЦР-РВ. Полученное разногласие, вероятно, объясняется низкой концентрацией вируса в пробе С6 и меньшей чувствительностью стандартной ПЦР по сравнению с ПЦР-РВ.

Таким образом, по результатам исследований в двух вариантах ПЦР положительными на АЧС были признаны 4 пробы сывороток и 5 проб тканей.

На наличие антител к вирусу АЧС сыворотки крови проверяли методом иммуноферментного анализа. При этом использовали три тест-системы: р30-ИФА и рК205R-ИФА, разработанные в ФГБУ «ВНИИЗЖ», а так-

Таблица 1  
Описание панели образцов

№ пробы	Клиническая форма АЧС	Вирулентность вируса АЧС	Изолят вируса АЧС	Генотип вируса АЧС	Происхождение	
					ДПИ	описание
C1	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
C2	острая	вирулентный	Ukr12/Zapo	II	7	Украинский 10 ГАЕ/мл
C3	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
C4	хроническая	аттенуированный	NH/P68	I	107	Португальский NH/P68 10 <sup>3</sup> ТЦД <sub>50</sub> /мл
C5	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
C6	острая	вирулентный	NH/P68- L60-Arm07	I-II	9 после заражения изолятом Армения 07	Португальский NH/P68 10 <sup>5</sup> ТЦД <sub>50</sub> /мл + Португальский L60 10 ГАЕ/мл + Армения 07
C7	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
C8	острая	вирулентный	L60	I	7	Португальский L60 10 ГАЕ/мл
C9	подострая	умеренный	Ken05/Tk1	X	70	Кенийский Ken05/Tk1 10 ГАЕ/мл
C10	хроническая	аттенуированный	NH/P68-L60	I	22	Португальский NH/P68 10 <sup>5</sup> ТЦД <sub>50</sub> /мл + Португальский L60 10 ГАЕ/мл
C11	хроническая	аттенуированный	NH/P68	I	34	Португальский NH/P68 10 <sup>5</sup> ТЦД <sub>50</sub> /мл
T1	острая	вирулентный	Ukr12/Zapo	II	5	Украинский 10 ГАЕ/мл, селезенка
T2	подострая	умеренный	Ken05/Tk1	X	18	Кенийский Ken05/Tk1 10 ГАЕ/мл, лёгкие
T3	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
T4	острая	вирулентный	Ken06.Bus	IX	16	Кенийский Ken06.Bus 10 ГАЕ/мл, сердце
T5	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					
T6	острая	вирулентный	Arm07	II	9	Армения 07 10 ГАЕ/мл, почки
T7	острая	вирулентный	L60	I	7	Португальский 10 ГАЕ/мл, лёгкие
T8	здоровая свинья (не инфицированная вирусом АЧС)					

С — сыворотка;  
Т — ткань;  
ДПИ — дни после инфицирования.

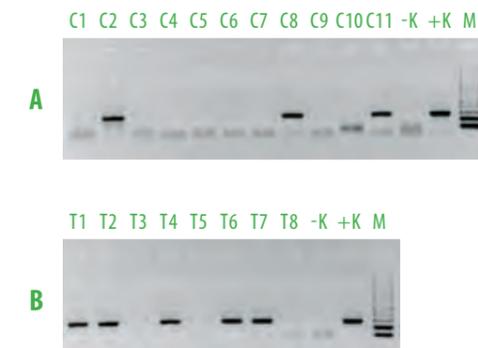


Рис. 1. Обнаружение ДНК вируса АЧС в пробах сывороток крови (А) и тканей (Б) методом стандартной ПЦР  
C1–С11 — образцы инактивированных сывороток;  
Т1–Т8 — образцы инактивированных тканей;  
-К, +К — отрицательный и положительный контролли;  
М — маркер молекулярного веса ДНК.

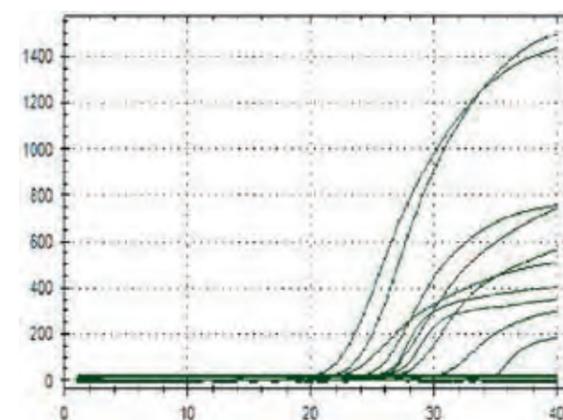


Рис. 2. Обнаружение ДНК вируса АЧС в пробах сыворотки крови и тканей методом ПЦР в реальном времени

№ лунки	флюорофор	Характеристика пробы	Сt
C01	HEX	сыворотка 1	N/O
C02	HEX	сыворотка 2	20,19
C03	HEX	сыворотка 3	N/O
C04	HEX	сыворотка 4	N/O
C05	HEX	сыворотка 5	N/O
C06	HEX	сыворотка 6	34,43
C07	HEX	сыворотка 7	N/O
C08	HEX	сыворотка 8	24,21
C09	HEX	сыворотка 9	N/O
C10	HEX	сыворотка 10	N/O
C11	HEX	сыворотка 11	30,18
D01	HEX	ткань 1	25,49
D02	HEX	ткань 2	24,73
D03	HEX	ткань 3	N/O
D04	HEX	ткань 4	26,85
D05	HEX	ткань 5	N/O
D06	HEX	ткань 6	24,87
D07	HEX	ткань 7	22,22
D08	HEX	ткань 8	N/O
D09	HEX	отр контроль	N/O
D10	HEX	пол контроль	21,61

**Таблица 2**  
Обнаружение антител к вирусу АЧС в пробах сыворотки крови свиней методом ИФА

Шифр пробы	Результаты ИФА (ПП — процент позитивности)		
	р30-ИФА (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)	рК205R-ИФА (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)	Ingezim PPA Compac (Ingenaza, Испания)
C1	0%	0%	20%
C2	0%	4%	11%
C3	0%	0%	20%
C4	<b>81%</b>	<b>44%</b>	<b>101,3%</b>
C5	0%	0%	20%
C6	<b>103%</b>	<b>100%</b>	<b>100,6%</b>
C7	0%	0%	12%
C8	0%	6,4%	0%
C9	<b>97%</b>	<b>90,7%</b>	<b>100,4%</b>
C10	<b>88%</b>	<b>97,9%</b>	<b>100%</b>
C11	<b>40,3%</b>	<b>91,2%</b>	<b>100%</b>

р30-ИФА и рК205R-ИФА: ПП>25% — положительный, ПП<20% — отрицательный, ПП>20%<25% — сомнительный результат; Ingezim PPA Compac: ПП>50% — положительный, ПП<40% — отрицательный, ПП>40%<50% — сомнительный результат.

**Таблица 3**  
Итоговая таблица результатов исследований с заключительным диагнозом на АЧС

Образцы	Обнаружение антител	Обнаружение вируса	Заключительный диагноз на АЧС
Сыворотки	1	отрицательно	отрицательный
	2	отрицательно	<b>положительно</b>
	3	отрицательно	отрицательный
	4	<b>положительно</b>	отрицательно
	5	отрицательно	отрицательный
	6	<b>положительно</b>	<b>положительно</b>
	7	отрицательно	отрицательный
	8	отрицательно	<b>положительно</b>
	9	<b>положительно</b>	отрицательно
	10	<b>положительно</b>	отрицательно
	11	<b>положительно</b>	<b>положительно</b>
Ткани	1		<b>положительно</b>
	2		<b>положительно</b>
	3		отрицательный
	4		<b>положительно</b>
	5		отрицательный
	6		<b>положительно</b>
	7		<b>положительно</b>
	8		отрицательный

же коммерческий набор Ingezim PPA Compac (Ingenaza, Испания). Все тест-системы выявили антитела в 5 из 11 зашифрованных образцов (табл. 2).

По результатам обнаружения ДНК вируса АЧС и антител к вирусу определялся инфекционный статус каждой пробы, т.е. ставился заключительный диагноз. Форма заключительного диагноза была установлена организатором сличительных испытаний. Заполненная форма, содержащая полученные нами результаты, приведена в табл. 3 в переводе на русский язык. Как

видно из табл. 3, положительный диагноз на АЧС был поставлен для 12 из 19 исследованных образцов.

Заполненная форма в установленный срок была отправлена организатору сличительных испытаний, и в мае 2014 г. из URL (Референтной лаборатории по АЧС Европейского союза) был получен отчет, содержащий анализ результатов, полученных ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Отчет содержал описание закодированных проб (табл. 1), а также сравнивал наши результаты с референтными результатами, полученными в URL.

В таблицах 4 и 5 сравниваются результаты двух лабораторий, полученные методами стандартной ПЦР и ПЦР-РВ для проб тканей и сывороток соответственно. По пробам тканей результаты двух лабораторий

**Таблица 4**  
Сравнительные результаты обнаружения ДНК вируса АЧС в образцах тканей

Участник испытаний	Результаты по образцам тканей								Метод исследования
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	
ФГБУ «ВНИИЗЖ»	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	ОИЕ-ПЦР
	<b>25,5</b>	<b>24,7</b>	н.о.	<b>26,9</b>	н.о.	<b>24,9</b>	<b>22,2</b>	н.о.	ОИЕ ПЦР-РВ
	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	заключение
URL	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	ОИЕ-ПЦР
	<b>25,8</b>	<b>24,7</b>	н.о.	<b>27,0</b>	н.о.	<b>22,7</b>	<b>23,7</b>	н.о.	ОИЕ ПЦР-РВ
	<b>25,7</b>	<b>24,1</b>	н.о.	<b>27,5</b>	н.о.	<b>24,0</b>	<b>23,1</b>	н.о.	URL-ПЦР
	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	отр.	заключение

**Таблица 5**  
Сравнительные результаты обнаружения ДНК вируса АЧС в образцах сывороток

Участник испытаний	Результаты по образцам сывороток											Метод исследования
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	
ФГБУ «ВНИИЗЖ»	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	<b>пол.</b>	ОИЕ-ПЦР
	н.о.	<b>20,2</b>	н.о.	н.о.	н.о.	<b>34,4</b>	н.о.	<b>24,2</b>	н.о.	н.о.	<b>30,2</b>	ОИЕ ПЦР-РВ
	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	<b>пол.</b>	заключение
URL	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	<b>пол.</b>	ОИЕ-ПЦР
	н.о.	<b>24,7</b>	н.о.	н.о.	н.о.	<b>32,9</b>	н.о.	<b>24,4</b>	н.о.	н.о.	<b>30,7</b>	ОИЕ ПЦР-РВ
	н.о.	<b>20,3</b>	н.о.	<b>39,3</b>	н.о.	<b>33,1</b>	н.о.	<b>24,0</b>	<b>38,3</b>	<b>37,9</b>	<b>32,7</b>	URL-ПЦР
	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>сл. пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	<b>сл. пол.</b>	<b>сл. пол.</b>	<b>пол.</b>	заключение

**Таблица 6**  
Сравнительные результаты выявления антител к вирусу АЧС методом ИФА

Участник испытаний	Результаты по образцам сывороток											Метод исследования
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	
ФГБУ «ВНИИЗЖ»	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	INGENASA K3
	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	р30-ИФА рК205R-ИФА
	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	
URL	отр.	отр.	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	INGENASA K3
	отр.	отр.	отр.	<b>пол.</b>	отр.	<b>пол.</b>	отр.	отр.	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	<b>пол.</b>	URL-ELISA

полностью совпадают. По сывороткам разногласие наблюдалось в отношении пробы C6: у нас она была положительной только в ПЦР-РВ, а в URL — в обоих вариантах ПЦР.

Для обнаружения ДНК вируса АЧС испанцы применяли две модификации ПЦР в реальном времени: так называемую ОИЕ-ПЦР-РВ (King et al., 2003) [4], метод, который рекомендует ОИЕ, и недавно разработанную URL-ПЦР-РВ (Fernandez et al., 2013) [6]. В URL-ПЦР-РВ слабо положительными были пробы C4, C9 и C10, которые в ОИЕ-ПЦР-РВ показали отрицательный результат у нас, и у испанцев.

Полученные результаты ставят вопрос об изучении необходимости перехода от ОИЕ-ПЦР-РВ к URL-ПЦР-РВ как возможно более чувствительному методу.

Сравнение результатов ИФА, полученных в ФГБУ «ВНИИЗЖ», с результатами URL показано в табл. 6. Испанцы использовали две тест-системы: коммерческий набор фирмы Ingenaza и набор собственного производства (URL-ELISA), который ОИЕ рекомендует в качестве референтного теста для выявления антител к вирусу АЧС. Как видно из таблицы, результаты двух лабораторий полностью совпадают.

Полученные результаты подтверждают, что разработанные в ФГБУ «ВНИИЗЖ» р30-ИФА и рК205R-ИФА позволяют достоверно определять антитела к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней.

Этот вывод приобретает особое значение, учитывая результаты сравнения различных коммерческих тест-систем. Сотрудники URL исследовали референтные сыворотки в трех коммерческих тест-системах и показали, что только набор Ingezim PPA Compac (Ingenaza,

Испания) обеспечивает достоверный диагноз, тогда как в наборе ID Screen® African Swine Fever (IDVET) был получен один ложноотрицательный результат, а в наборе ID SVANOVIR® ASFV-Ab (Svanova, Швеция) — четыре ложноположительных результата (табл. 7).

Итоговая сравнительная таблица результатов (табл. 8) свидетельствует о том, что заключительный диагноз по каждому образцу, сделанный двумя лабораториями, полностью совпадает.

## ВЫВОДЫ

В ходе сличительных испытаний был правильно определен инфекционный статус всех закодированных образцов тканей и сывороток крови, по каждой пробе правильно поставлен заключительный диагноз на АЧС.

Применяемые в ФГБУ «ВНИИЗЖ» тесты для диагностики АЧС на основе ПЦР и ИФА обеспечивают достоверные результаты, сравнимые с результатами аналогичных тестов, используемых в Референтной лаборатории по АЧС Европейского Союза.

Первый опыт участия ФГБУ «ВНИИЗЖ» в международных сличительных испытаниях по диагностике АЧС можно признать успешным.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Использование рекомбинантного белка р30 вируса африканской чумы свиней в непрямом варианте иммуноферментного анализа / М.Р. Якупов, А.С. Яковлева, А.В. Каньшина, А.В. Щербаков // Ветеринария. — 2014. — в печати.
2. African swine fever, Mauritius. Promed. — 2007. — URL <http://www.afriquenligne.fr/news/daily-news/>

thousands-of-pigs-killed-in-mauritius-2007102010912 (дата обращения 25.04.14).

3. African swine fever // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). — 2012. — Vol. 2, Chap. 2.8.1. — P. 1067–1079.

4. Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus / D.P. King, S.M. Reid, G.H. Hutchings [et al.] // J. Virol. Meth. — 2003. — Vol. 107. — P. 53–61.

5. Highly sensitive PCR assay for routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples / M. Agüero, J. Fernandez, J. Romero, [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2003. — Vol. 41. — P. 4431–4444.

6. Molecular Diagnosis of African Swine Fever by a New Real-Time PCR Using Universal Probe Library / J. Fernández-Pinero, C. Gallardo, M. Elizalde [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. — 2013. — Vol. 60, № 1. — P. 48–58.

УДК 619:616.98:578.823.1

# О СЛУЧАЯХ ВЫЯВЛЕНИЯ ВАКЦИНОПОДОБНОГО ВИРУСА БЛЮТАНГА 14-ГО СЕРОТИПА В РФ И В СТРАНАХ ЕВРОПЫ В 2011–2012 ГГ.

В.М. Захаров<sup>1</sup>, А.В. Кононов<sup>2</sup>, В.А. Мищенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> эксперт, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zaharov@arriah.ru

<sup>2</sup> заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

<sup>3</sup> ведущий научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Таблица 7

Результаты обнаружения антител к вирусу АЧС в образцах инактивированных сывороток различными методами

Метод обнаружения антител	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	
ИФА	URL-ELISA	-	-	-	+	-	+++	-	-	+++	+++	+
	INGENASA K3	-	-	-	++	-	+++	-	-	+++	+++	++
	IDVET	-	-	-	++	-	+++	-	-	+++	сом.	л.о.
	SVANOVIR	л.п.	-	л.п.	++	л.п.	+++	л.п.	-	+++	+++	++
Методы для подтверждения	URL-IB	-	-	-	++	-	+++	-	-	+++	+++	+++
	URL-IPT	-	-	-	++	-	+++	-	+	+++	+++	+++
Заключение URL о наличии антител к вирусу АЧС	отр.	отр.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	сл. пол.	пол.	пол.	пол.	пол.

URL-ELISA — непрямой метод ИФА [3];

INGENASA K3 — коммерческий набор ИФА Ingezim PPA Compac (11.PPA k3);

IDVET — коммерческий набор ИФА ID Screen<sup>™</sup> African Swine Fever. Непрямой метод ИФА на основе рекомбинантных белков P32, P62 and P72;

SVANOVIR — коммерческий набор ИФА ID SVANOVIR<sup>™</sup> ASFV-Ab. Непрямой метод ИФА на основе рекомбинантного белка P32;

URL-IB — иммуноблоттинг [3] для подтверждения положительных и сомнительных ИФА образцов;

URL-IPT — непрямой иммунопероксидазный метод на культуре клеток BA71V-VERO для подтверждения положительных и сомнительных ИФА-образцов;

л.п. — ложноположительный результат;

л.о. — ложноотрицательный результат.

Таблица 8

Сравнение заключительных результатов исследований

	Обнаружение антител		Обнаружение вируса		Заключительный диагноз на АЧС	
	URL	ФГБУ «ВНИИЗЖ»	URL	ФГБУ «ВНИИЗЖ»	URL	ФГБУ «ВНИИЗЖ»
C1	отр.	отр.	отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
C2	отр.	отр.	пол.	пол.	положительный	положительный
C3	отр.	отр.	отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
C4	пол.	пол.	сл. пол.	отр.	положительный	положительный
C5	отр.	отр.	отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
C6	пол.	пол.	пол.	пол.	положительный	положительный
C7	отр.	отр.	отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
C8	сл. пол.	отр.	пол.	пол.	положительный	положительный
C9	пол.	пол.	сл. пол.	отр.	положительный	положительный
C10	пол.	пол.	сл. пол.	отр.	положительный	положительный
C11	пол.	пол.	пол.	пол.	положительный	положительный
T1			пол.	пол.	положительный	положительный
T2			пол.	пол.	положительный	положительный
T3			отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
T4			пол.	пол.	положительный	положительный
T5			отр.	отр.	отрицательный	отрицательный
T6			пол.	пол.	положительный	положительный
T7			пол.	пол.	положительный	положительный
T8			отр.	отр.	отрицательный	отрицательный

## РЕЗЮМЕ

В статье проанализированы случаи выявления блютанга 14-го серотипа в европейских странах и РФ в 2011–2012 гг., связанные с выделением вакциноподобного аттенуированного вируса блютанга.

Ключевые слова: блютанг, серотипы вируса, живые вакцины.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема блютанга продолжает привлекать пристальное внимание ветеринарных специалистов [1, 3, 4, 10, 28] в связи с широким географическим распространением болезни в мире и, в частности, в Европе. Так, по данным МЭБ и Нотификационной системы ЕС по болезням животных [11, 27] на конец сентября 2014 г. только в европейских странах отмечено появление свыше 2,6 тысячи очагов блютанга серотипов 1 и 4, который регистрировался в Албании, Болгарии, Боснии и Герцеговине, Греции, Испании, Италии, Македонии, Румынии, Сербии и Турции.

Но прежде всего интерес к болезни связан с беспрецедентным расширением нозоареала блютанга из эндемичных регионов Африки и Азии в северном направлении, когда граница ареала вместо привычных 40° с.ш. сдвинулась до 58° с.ш. (Швеция, Норвегия). Проникновение вируса блютанга различных серотипов в европейские страны отмечено с октября 1998 г., а в 2006 г. блютангом 8-го серотипа были поражены практически все страны Северо-Западной Европы. Пик интенсивности проявления болезни пришелся на 2007–2008 гг., когда было выявлено более 60 тысяч очагов. Массовые вспышки болезни регистрировались и в последующие годы, но уже в 2011 г. было выявлено всего лишь 39 очагов болезни (Греция, Италия, Испания, Португалия, Кипр).

Подробный эпизоотологический анализ ситуации по блютангу в этот период дан профессором В.В. Макаровым с соавт. в цикле специальных публикаций на эту тему, в том числе и на страницах журнала «Ветеринария сегодня» [2, 6, 7, 8, 9, 10].

Цель настоящей статьи — анализ данных международных информационных систем по официальным источникам МЭБ, ФАО, ЕС о случаях регистрации в странах Европы и Российской Федерации в 2011–2012 гг. блютанга 14-го серотипа, так как, на наш взгляд, эти материалы не получили должного отражения в отечественной научной печати.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

О выявлении в России блютанга 14-го серотипа в печати впервые сообщили сотрудники ГНУ «ВНИИВВиМ» (г. Покров), осуществляющего мониторинг блютанга среди импортируемых в страну племенных животных, в информации, представленной на Ежегодной конференции EPIZONE в июне 2012 г., а также в декабре 2012 г. на ежегодном Международном совещании референтных лабораторий по блютангу в Великобритании [14, 16].

29 августа 2011 г. в ООО «Племенной центр Смоленский Галловей» из Германии (Hagen) была ввезена партия крупного рогатого скота (КРС). На территории Германии животные 8–20 августа исследовались на блютанг в ИФА и ПЦР с негативным результатом. Животных завозили через Польшу и Белоруссию.

По прибытии в Смоленскую область 29 августа животные были помещены в карантин, где 2 сентября 2011 г. были исследованы во ВНИИВВиМ на блютанг в ИФА и ПЦР также с отрицательным результатом.

При повторных серологических исследованиях 28 сентября 2011 г. из 71 головы КРС специфические антитела к вирусу блютанга обнаружены у 5, а в ПЦР были позитивными 4 головы КРС. Последующие серо-