

УДК 57

**ВЫЯВЛЕНИЕ НОВОГО ПЕСТИВИРУСА
В РЕСПУБЛИКЕ ТАДЖИКИСТАН****Аноятбекова Афшона Музафарбековна**
аспирант**Алексеевкова Светлана Валерьевна**
кандидат биологических наук**Юров Константин Павлович**
доктор ветеринарных наук

Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, Москва

Аннотация. Распространение эмерджентных инфекций в значительной степени связано с расширяющимися экономическими связями. Одним из путей распространения новых заболеваний могут служить биологические препараты. Установлена контаминация коммерческой вакцины против ЧМЖ, используемой для вакцинации овец и коз в Таджикистане, НоВи вирусом, который недавно был обнаружен в Швейцарии в фетальной сыворотке КРС, импортированной из Бразилии.

Ключевые слова: вирус, овцы, козы, вакцина, РНК, филогенетический анализ, штамм, ПЦР.

IDENTIFICATION OF A NEW PESTIVIRUS IN THE REPUBLIC OF TAJIKISTAN

Anoyatbekova Afshona Muzafarbekovna
graduate student

Alekseenkova Svetlana Valeryevna
candidate of biology

Yurov Konstantin Pavlovich
doctor of veterinary sciences

Ya.R. Kovalenko All-Russian research institute of experimental veterinary
science, Moscow

Abstract. Distribution of emergent infection substantially connected with the extending economic relations. Biological preparations can serve as one of the ways of spreading new diseases. The commercial vaccine against PPRV used for vaccination of sheep and goats in Tajikistan is established to be contaminated with the Hobi-like virus which has been recently found in Switzerland in bovine fetal serum originated from Brazil.

Key words: virus, sheep, goats, vaccine, RNA, phylogenetic analysis, strain, PCR.

Введение. Появление новых или генетически изменившихся вирусов, распространение эмерджентных инфекций в настоящее время приобретает постоянный характер. В большой мере этому способствуют расширяющиеся международные экономические связи [1].

В Республике Таджикистан, наряду с традиционными экономическими отношениями с РФ, существенно увеличился импорт (перегон) скота из сопредельных восточных и центрально-азиатских стран (Турции, Афганистана и др.), неблагополучных по некоторым опасным ви-

русным болезням животных. Это обстоятельство побуждает ветеринарную службу Таджикистана ужесточить противоэпизоотические мероприятия, направленные на профилактику ряда инфекционных болезней, в том числе чумы мелкого рогатого скота.

Чума мелкого рогатого скота (ЧМЖ) впервые описана в 1942 г. в Западной Африке в Кот-д'Ивуаре. Болезнь была определена как подобная чуме крупного рогатого скота (rinderpest), но не передающаяся этому виду животных [8].

Возбудители – ВЧМЖ и вирус чумы КРС имеют близкое антигенное родство [9]. Определены три филогенетические группы вируса крупного рогатого скота и 4 филогенетические группы ВЧМЖ: 1, 2, 3 и 4 [7]. Вирус первой и второй групп был обнаружен в Западной и Центральной Африке, а штаммы 3-й группы идентифицированы в Восточной Африке и на Аравийском полуострове. Возбудитель, отнесенный к 4-й группе, который считается изолятом Азиатского происхождения, широко распространен от Юго-Восточной Азии до Ближнего Востока и Северной Африки. Вирус быстро распространяется и постепенно вытесняет штаммы 3-й группы [2; 7].

В странах, неблагополучных по чуме МРС, вакцинопрофилактика является обязательным компонентом противоэпизоотических мероприятий. Известны шесть аттенуированных вакцинных штаммов ВЧМЖ, которые относятся или к 2-й или к 4-й филогенетической группе. Вакцинный вирус 2-й филогенетической группы индуцирует иммунитет против всех штаммов ВЧМЖ всех филогенетических групп.

Предполагается, что вакцинация одним штаммом обеспечивает полную защиту от заражения гетерогенным штаммом, тем же самым штаммом ВЧМЖ или штаммом ВЧМЖ другой филогенетической группы [8]. Однако, новый изолят вируса (ВЧМЖ/Nanakpur) нечетко реагирует в перекрестной реакции с моноклональными антителами, а также с гипериммунной сывороткой против Индийского вакцинного штамма

(Sungri/96). Сложилось мнение, что некоторые вакцины против ЧМЖ прежде всего эффективны в условиях субтропического климата (Южная Азия и Африка).

В Таджикистане для иммунизации овец и коз применяют вирус-вакцины производства Индии, Турции и др. Однако, в ряде случаев вакцинация не обеспечивает достаточной иммунной защиты поголовья овец и коз против инфекции.

В связи с этим возник естественный вопрос о необходимости изучить характеристики вакцинного штамма, используя современные молекулярно-генетические и иммунологические методы.

Материалы и методы

Материал для исследования. Из нескольких хозяйств Республики Таджикистан был получен клинический (пробы сывороток крови) и патологический материал от животных с клиническими признаками, характерными для пестивиральной инфекции.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и определение нуклеотидных последовательностей. ОТ-ПЦР для идентификации генов, кодирующих полипептиды N и F вируса чумы мелкого рогатого скота; ОТ-ПЦР для идентификации генов неструктурного полипептида NS3 вируса ВД-БС КРС выполнили в соответствии с рекомендациями Международного Эпизоотического Бюро (OIE Terrestrial Manual, 2013). Определение нуклеотидных последовательностей выполнено в компании ЗАО «Синтол» на генетическом анализаторе.

Филогенетический анализ. Выравнивание частично расшифрованных последовательностей генов исследуемых вируса ЧМЖ и вируса ВД-БС генотипа 3 с полными нуклеотидными последовательностями известных штаммов из базы данных INSD проводили, используя компьютерную программу «FASTA3» (Европейский институт биоинформатики).

Филогенетический анализ и построение дерева выполнили с помощью интерактивной программы MABL.

Реакция диффузионной преципитации (РДП). Для проведения РДП готовили 0,8 % агар на 0,01 М фосфатно-буферном солевом растворе рН 7,2-7,4.

Результаты и обсуждение

Для контроля иммунного ответа у вакцинированных животных на первом этапе исследований использовали реакцию диффузионной преципитации в геле с вакцинным вирусом ЧМЖ в качестве антигена. Положительный результат на ЧМЖ был получен с **20-25 %** исследованных проб сыворотки крови. Низкая (неудовлетворительная) эффективность вакцинации овец и коз послужила основанием для исследования вакцины, использовавшейся для иммунизации животных с помощью молекулярно-генетического метода – ПЦР.

При электрофоретическом анализе продуктов амплификации обнаруживали фрагмент ДНК длиной 371 п.о., специфичный для ПЦР при использовании праймеров, фланкирующих фрагмент гена полипептида F вируса ЧМЖ. Кроме того, на тех же электрофореграммах получен положительный результат амплификации с праймерами, фланкирующими фрагмент гена неструктурного полипептида NS3 вируса ВД-БС КРС. Из этого следует, что в вакцине против ЧМЖ присутствует геном вируса ВД-БС. Для уточнения полученных результатов провели определение нуклеотидных последовательностей продуктов амплификации.

Сравнительный анализ с помощью компьютерной программы «FASTA3» нуклеотидной последовательности исследуемого вируса ВД-БС показал общность происхождения исследуемого штамма со штаммами ВД-БС генотипа 3 (т.н. Нови-подобного вируса), зарегистрированными в INSD.

Таким образом, в составе коммерческой вирус-вакцины против ЧМЖ выявлен вирус вирусной диареи третьего типа, т.н. НоВи-подобный вирус. Впервые НоВи вирус был обнаружен в Швейцарии. Вирус выделили из сыворотки плода КРС, которую в качестве компонента питательной среды импортировали из Бразилии [11]. Позже он был обнаружен в фетальной сыворотке в Южной Америке, в культуре клеток, в пробах биоматериала от буйвола, в сыворотке крови теленка в Таиланде [9]. В Бразилии в 2014 году описан первый случай болезни, напоминающей болезнь слизистых КРС и выделен цитопатогенный штамм вируса от телят [12].

По некоторым данным более 30 % партий эмбриональной сыворотки КРС, поставляемых в Европу из Южной Америки, контаминированы НоВи вирусом [3; 13].

Сообщения о выделении вируса этой группы в других странах Европы, Северной Америки, России, Индии и Австралии отсутствуют [3].

Заключение. На территории стран СНГ зарегистрирован пестивирус третьего типа (НоВи вирус), который является контаминантом вирусвакцины против ЧМЖ. Указанное может служить причиной неудовлетворительных результатов вакцинопрофилактики чумы мелких жвачных животных.

Список использованных источников

1. Юров К.П., Алексеенкова С.В., Пчельников А.В., Мникова Л.А., Ишкова Т.А., Юров Г.К. Современный подход к диагностике респираторных инфекций крупного рогатого скота, вызываемых корона- и герпесвирусами // Ветеринария. 2013. № 8. С. 23-29.
2. Amirbekov M.A. Yurov K.P. Zabegina E.F. Epizootology of the lamb. Respiratory infections in the Republic of Tajikistan // XXV Congress of the World Veterinary Association; XX congress of the World Small Animal Veterinary Association proceedings. 1995. P. 154.
3. Bauermann F.V., Ridpath J.F., Weiblen R., Flores E.F. Hobi-like viruses: an emerging group of pestiviruses // J. Vet. Diagn. Invest. 2013. № 25 (1). P. 6-15.
4. Decaro N., Lucente M.S., Mari V. Atypical pestivirus and severe respiratory disease in calves. Europe // Emerg. Infect. Dis. 2011. № 17. P. 1549-1552.
5. Decaro N., Mari V., Pinto P. Hobi-like pestivirus : Both biotypes isolated from diseased animals // J. Gen. Virol. 2012. № 93. P. 1976-1983.
6. Haider N., Rahman M.S., Khan S.U., Mikolon A., Gurley E.S., Osmani M.G. Shanta I.S., Paul S.K., Macfarlane-Berry L., Islam A., Desmond J., Epstein J.H., Daszak P., Azim T., Luby S.P., Ziedner N., Rahman M.Z. Identification and epidemiology of a rare Hobi-like pestivirus strain in Bangladesh // Transbound. Emerg. Dis. 2014.
7. Kgotlele T., Macha E.S., Kasanga C.J. Partial Genetic Characterisation of Peste Des Petits Ruminants Virus from Goats in Northern and Eastern Tanzania //Transboundary and Emerging Diseases. 2014. № 61. P. 56-62.
8. Kumar N., Maherchandi S., Kashyap S.K. et al. Peste Des Petits Ruminants Virus Infection of Small ruminants: A Comprehensive Review // Viruses. 2014. № 6. P. 2287-2327.

9. Muniraju M., Munir M., Parthiban A.R. et al. Molecular Evolution of Peste des Petits Ruminants Virus // Emerging Infectious Diseases. 2014. № 20. P. 2023-2033.
10. Liu L., Kampa J., Belak S., Baule C. Virus recovery and full-length sequence analysis of atypical bovine pestivirus Th/04_ Khonkaen // Vet. Microbiol. 2009. № 138. P. 62-68.
11. Schierrmeier H., Strebelow G., Depner K., Hoffman B., Beer M. Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species // J. Gen Virol. 2004. № 85. P. 3647-3652.
12. Weber M.N., Mosen A.C., Simoes S.V., Almeida L.L., Pessoa C.R., Budaszewski R.F., Silva T.R., Ridpath J.F., Riet- Correa F., Driemeier D., Cana C.W. Clinical presentation resembling mucosal disease associated with «Hobi»-like pestivirus in a field outbreak // Transbound Emerg. Dis. 2014.
13. Xia H., Vijayaraghavan B., Belak S., Liu L. Detection and identification of the atypical bovine pestiviruses in commercial foetal bovine serum batches // PLoS ONE. 2011. № 6 (12). P. 28553.