

**СЕКЦИЯ 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ
ПРОДУКТИВНОСТИ И ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИММУНИТЕТА
ЖИВОТНЫХ**

УДК 619: 579.834.115:636.9

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗОЛЯТОВ
ВИРУСНОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ ВТОРОГО
ТИПА, ВЫДЕЛЕННЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
В 2018-2019 ГОДАХ**

Белов Сергей Викторович, лаборант-исследователь, ФГБНУ ФИЦВиМ

Кольцов Андрей Юрьевич, в.н.с., ФГБНУ ФИЦВиМ

Живодёров Сергей Петрович, зав. отделом, ФГБНУ ФИЦВиМ

Цыбанов Содном Жамьянович, д.б.н., профессор, ФГБНУ ФИЦВиМ

Кольцова Галина Сергеевна, к.б.н., зав. лабораторией, ФГБНУ ФИЦВиМ

Аннотация. Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) – это высоко контагиозное остро протекающее заболевание с характерным явлением геморрагического диатеза во всех органах, в особенности в органах дыхания и печени. ВГБК способна нанести существенный экономический ущерб, как промышленному кролиководству, так и кролиководству частного сектора. В данной статье предоставлены данные о биологических свойствах и особенностях изолятов вируса геморрагической болезни кроликов второго типа (ВГБК-2).

Ключевые слова: выделение вируса, кролики, калицивирус, эволюция, RHDV2, вирус геморрагической болезни кроликов.

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) – высоко контагиозная и быстро развивающаяся болезнь, поражающая в первую очередь европейских кроликов (*Oryctolagus cuniculus*) [1, 4]. Болезнь была впервые зарегистрирована в 1984 г. в Китае и распространилась по всему миру в течение нескольких лет [2, 6]. В некоторых странах, таких как Австралия, возбудитель ВГБК был введен в качестве агента биоконтроля [9]. Возбудителем ВГБК является вирус геморрагической болезни кроликов (RHDV), представитель рода *Lagovirus* семейства *Caliciviridae*.

Передача вируса происходит оральным, назальным или контактным путями [3]. Инкубационный период варьируется от одного до трех дней, а клинические признаки могут включать респираторные и неврологические расстройства, а также апатию и анорексию, однако часто клинические признаки отсутствуют вовсе. При аутопсии наиболее часто поражения обнаруживаются в печени (некроз печени), селезенке (спленомегалия), легких и трахеи (гиперемия и кровоизлияния). В то время как печень в основном ис-

пользуется в диагностических целях, поскольку она содержит самые высокие титры вируса, селезенка также может представлять интерес для диагностики, особенно при хронических или подострых формах заболевания.

Вирус ВГБК представляет собой одноцепочечный вирус с положительным РНК-геномом длиной 7,4 т.п.н.

GI.2 (ВГБК-2) – это новый генотип, который впервые был описан во Франции в 2010 г. и привел к массовому сокращению популяции европейских кроликов. Интересно, что представители GI.2 способны вызывать гибели молодых кроликов (моложе двух месяцев) и зайцев видов *Lepus europaeus*, *L. timidus*, *L. Corsicanus* и *L. Capensis* в отличие от других вариантов вируса, которые способны заражать только кроликов. Большая генетическая гетерогенность (> 15%) между GI.1 и GI.2 может быть причиной неполной/низкой защиты вакцин, разработанных против изолятов генотипа GI.1, при вспышках GI.2.

Наконец, генотипы GI.3 и GI.4 соответствуют непатогенным формам калицивирусов, репликация которых не приводит к гибели животных [6].

В России вспышки ВГБК ежегодно регистрируют в разных регионах России. Все изоляты, выделенные после 2003 года, были идентифицированы как GI.1a (или подтип RHDVa). Однако в 2018 году впервые на территории нашей страны (Тверская область) был выявлен изолят ВГБК-2. Таким образом, возбудитель вирусной геморрагической болезни кроликов продолжает представлять серьезную угрозу для развития кролиководства нашей страны.

В рамках изучения биологических свойств российских изолятов вируса ВГБК-2 животные были случайным образом разделены на три экспериментальных и одну контрольную группы. С этой целью использовали взрослых кроликов породы Шиншилла возрастом от 2-х недель до 4 месяцев.

Кролики группы 1 (n=5) были инфицированы осветленной 10% суспензией печени изолята RHDV-2/RUS52/2019/1 в объеме 1,0 см³. Животные группы 2 (n = 5) были инфицированы внутримышечно вирусным материалом изолята, выделенного в Московской области (RHDV2/RUS Ram/2018), в объеме 1,0 см³, содержащим 10⁷ копий вируса. Животные группы 3 (n = 5) были инфицированы внутримышечно вирусным материалом изолята, выделенного в Красноярском крае (RHDV2/RUSKras/2019), в объеме 1,0 см³, содержащем 10⁷ копий вируса. Контрольные животные оставались не инфицированными.

У всех инфицированных кроликов болезнь протекала в сверхострой форме, поэтому клинические признаки практически отсутствовали. Кролики перед гибелью издавали характерный крик падали на пол клетки с запрокинутой головой. У некоторых животных были отмечены предсмертные конвульсии.

Животные из группы 1 пали через 24 часа после заражения, а животные из группы 2 и группы 3 через 72 часа (рис.1). При наружном осмотре тушек кроликов были обнаружены серозно-геморрагические пенные истечения из ноздрей.

Контрольные животные (не инфицированные) оставались здоровыми на протяжении всего эксперимента.

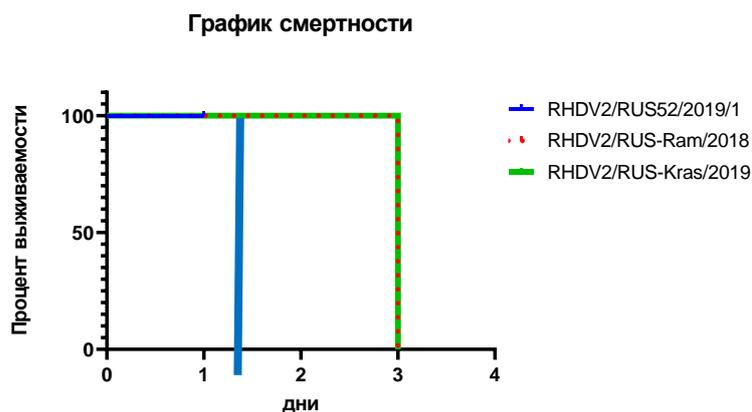


Рисунок 1. Смертность животных, инфицированных изолятами RHDV-2/RUS52/2019/1, RHDV2/RUS-Ram/2018 и RHDV2/RUS-Kras/2019.

При внутреннем осмотре обнаружено, что основные патологоанатомические изменения отмечались в печени, легких, почках, селезенке, сердце и желудочно-кишечном тракте. Изменения характеризовались точечными и полосчатыми кровоизлияниями во внутренних органах (рис. 2).

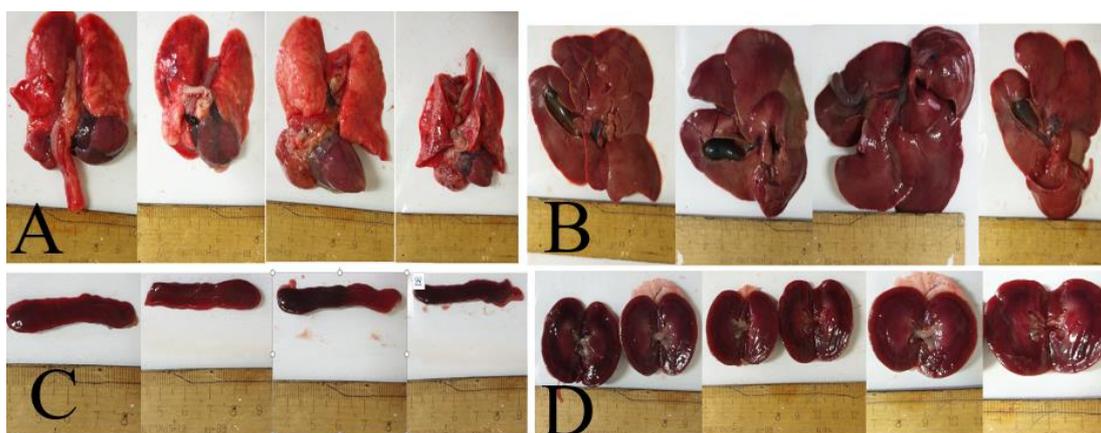


Рисунок 2. Патологоанатомические изменения внутренних органов кроликов, инфицированных изолятом вируса геморрагической болезни кроликов 2 типа: А – легкие, В – печень, С – селезенка, D – почки.

На основании данных патологоанатомического вскрытия было установлено, что дифференцировать изоляты вируса ВГБК-2 от изолятов вируса ВГБК классического подтипа и подтипа RHDVa невозможно в связи со схожестью патологической картины. Таким образом, для дифференциации подтипов необходимо использовать лабораторные исследования.

В результате проделанной работы было установлено, что изоляты вируса геморрагической болезни кроликов 2 типа патогенны для кроликов разных возрастных групп, вызывая 100% гибель инфицированных животных. Болезнь протекала бессимптомно и носила молниеносный характер. Все животные пали в течение суток после внутримышечного заражения от много-

численных патологических изменений во внутренних органах, таких как печень, легкие, почки, селезенка, сердце и желудочно-кишечном тракте.

С целью определения гемагглютинирующих характеристик изолятов вируса ВГБК-2 проводили реакцию гемагглютинации (РГА) с использованием 1% взвеси эритроцитов крови человека 0(I) и IV групп в забуференном физиологическом растворе (рН 7,2) при температуре инкубирования реакционной смеси $4\pm 2^\circ\text{C}$.

Результаты РГА с использованием образцов 10% суспензий печени кроликов инфицированных изолятами RHDV-2/RUS52/2019/1, RHDV2/RUS-Ram/2018 и RHDV2/RUS-Kras/2019 вируса ВГБК-2, свидетельствовали о том, что исследуемые изоляты агглютинируют эритроциты человека 0(I) и IV групп крови при температуре $4\pm 2^\circ\text{C}$. При этом наиболее выраженная гемагглютинирующая активность была продемонстрирована при использовании эритроцитов человека IV группы крови и инкубировании реакционной смеси при температуре $4\pm 2^\circ\text{C}$ (табл. 1).

Таблица 1

Результаты РГА с использованием образцов 10% суспензий печени кроликов, инфицированных изолятами RHDV2/RUS52/2019/1, RHDV2/RUS Ram/2018 и RHDV2/RUS-Kras/2019 вируса ВГБК-2

Изолят	Эритроциты человека 0(I) группы крови	Эритроциты человека IV группы крови
RHDV-2/RUS52/2019/1	1:16	1:256
RHDV2/RUS-Ram/2018	1:2048	1:4096
RHDV2/RUS-Kras/2019	1:16	1:512

Библиографический список

1. Николаев А.В., Живодеров С.П., Малоголовкина Н.В., Бобровская Н.К., Глухарева Е.Н., Бурмакина Г.С., Луницин А.В., Шевцова Л.И. Новые штаммы вируса геморрагической болезни кроликов. Ветеринария. 2011; 2:25 – 28.
2. Шевченко А. А., Шевченко Л. В., Зеркалев Д. Ю., Шевкопляс В. Н., Черных О. Ю. Вирусная геморрагическая болезнь кроликов // Ветеринария Кубани. 2011. Т. 2. С. 3–6.
3. Шевченко А. А., Шевченко Л. В. Болезни кроликов. Москва: Аквариум, 2011. 160 с.
4. Abrantes, J.; van der Loo, W.; Le Pendu, J.; Esteves, P.J. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): A review. Vet. Res. 2012, 43.
5. Cooke, B.D.; Fenner, F. Rabbit haemorrhagic disease and the biological control of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in Australia and New Zealand. Wildl. Res. 2002, 29, 689–706
6. Capucci, L.; Fusi, P.; Lavazza, A.; Pacciarini, M.L.; Rossi, C. Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to rabbit hemorrhagic disease virus but nonpathogenic. J. Virol. 1996, 70, 8614–8623
7. Duarte M.D. et al. A real time Taqman RT-PCR for the detection of rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) // J Virol Methods. 2015 Jul;219:90-95. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.03.017

8. Liu, S.; Xue, H.; Pu, B.; Qian, N. A new viral disease in rabbit. Anim. Husb. Vet. Med. 1984, 16, 253–255.

9. Lavazza, A.; Capucci, L. Chapter 3.6.2.—Rabbit haemorrhagic disease. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019, 8th ed.; OIE: Paris, France, 2018; pp. 1389–1406

УДК 619:616.98:578.842.1:577.21

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КИНЕТИКИ РЕПЛИКАЦИИ В ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА EP402R И ЕГО «РОДИТЕЛЬСКОГО» ШТАММА KK262 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Крутько Сергей Александрович, санитар, ФГБНУ ФИЦВиМ

Кольцов Андрей Юрьевич, в.н.с., ФГБНУ ФИЦВиМ

*Сухер Михаил Михайлович, начальник группы лаборатории, ФГБНУ
ФИЦВиМ*

Чадаева Анна Александровна, м.н.с., ФГБНУ ФИЦВиМ

Кольцова Галина Сергеевна, к.б.н., зав. лабораторией, ФГБНУ ФИЦВиМ

Аннотация. В данном исследовании была проведена сравнительная оценка репликации двух гомологичных штаммов вируса АЧС в трех клеточных линиях свиного происхождения. Результаты показали, что рекомбинантный штамм с делецией гена EP402R (Δ CongoCD2v) продемонстрировал более высокую репликативную активность в исследуемых клеточных линиях.

Ключевые слова: АЧС, культуры клеток, делеционные штаммы, репликация вируса, Δ CongoCD2v.

Африканская чума свиней (АЧС) представляет собой крупный и сложный ДНК-вирус. Несмотря на наличие более 150 генов, функции большинства из них остаются неизученными [1].

Для изучения роли конкретных генов в развитии инфекции и вирулентности вируса ученые используют методы генной инженерии, создавая рекомбинантные вирусы АЧС с удаленными генами. Этот подход оказался ценным инструментом для разработки экспериментальных вакцин.

Разработка эффективной и безопасной вакцины против АЧС сталкивается с рядом проблем, и одной из ключевых является отсутствие подходящей линии клеток для культивирования вируса.

Хотя вирус АЧС поражает преимущественно моноциты и макрофаги, его размножение возможно и в некоторых перевиваемых клеточных линиях, но с гораздо меньшей эффективностью. Макрофаги, широко используемые для изучения взаимодействия вируса с клеткой-хозяином, реагируют на заражение вирулентными и аттенуированными штаммами АЧС по-разному [2,3].