

**РЕЗЮМЕ**

На основе мониторинга мировых генных баз данных EMBL и GenBank и с использованием метода ПЦР, разработана и экспериментально апробирована на 1250 головах высокочувствительная тест-система диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС). Применение данной разработки позволило снизить инфицированность вирусом лейкоза 6-ти месячных телок ОНО «Кленово-Чегодаево» в 6,5 раза. Таким образом, применение ПЦР в комплексе противолейкозных мероприятий обеспечивает более раннее и полное выявление зараженных животных и сокращает сроки оздоровления стада.

**SUMMARY**

On the base of the monitoring of the world gene banks EMBL and GenBank using the RCR method the high sensitive testing system for diagnostics of the bovine leukemia virus (BLV) was developed and approved for the testing of 1250 animal samples. Introduction of the developed system in the farm "Klenovo-Chegodaevo" made it possible in 6.5 times to decrease the percent of the infected animals among the 6 months old calves. Thus the using of the PCR together to anti-leukemia measure provides the earlier and fuller detection of the infected animals and decreases the period of the full recovery of the flock.

**А.М. Смирнов**

*(Отделение ветеринарной медицины РАСХН)*

## **ЗАДАЧИ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ И ПРАКТИКИ В РАМКАХ НАЦИОНАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ПАНДЕМИИ И ПАНЗООТИИ ГРИППА ПТИЦ**

Проблема профилактики и борьбы с гриппом птиц является весьма актуальной.

Существует два мнения о возникшей эпизоотии гриппа птиц. Первое — это эпизоотия искусственного происхождения — вроде мы отказались от «ножек Буша» и получили птичий грипп. Кстати, это мнение усиленно муссируется прессой, также обвиняют в этом и науку.

И второе мнение объективное, которое предостерегает о том, что если ослабить соответствующие профилактические и карантинные ветеринарно-санитарные мероприятия, то эпизоотия может принять характер панзоотии, которая повлечет большие экономические потери и в случае мутации вируса гриппа — массовое заболевание людей с летальным исходом.

Сказанное подтверждается, какими быстрыми темпами вирус гриппа птиц распространяется в нашей стране: лето–осень 2005 г. — вспышки в 80 очагах в ряде районов 6-ти областей Сибири и Дальнего Востока: Новосибирской, Омской, Челябинской, Тюменской, Курганской областей, Алтайского края. В октябре 2005 г. та же беда постигла Тульскую, Тамбовскую и Астраханскую области.

Птичий грипп также активно захватывает Европу. За последние месяцы текущего года он зарегистрирован в 11 странах: во Франции, Румынии, Словакии, Швейца-

рии, Италии, Германии, Австрии, Словении, Венгрии, Греции, Хорватии, Польше.

Также существует ошибочное мнение о том, что грипп птиц появился недавно и распространен преимущественно в Юго-Восточной Азии.

На самом деле ВГП (подтип H7N7) изолировали от больных цыплят более 100 лет тому назад, а именно в 1902 г. в Италии, то есть за 31 год до открытия вируса гриппа человека.

За последние 200 лет его наиболее патогенную форму, названную чумой кур, неоднократно регистрировали на всех континентах земного шара.

В нашей стране тяжелые вспышки болезни наблюдали в 60–70 годах прошлого века в Московской, Калининской, Калужской, Рязанской, Тульской и ряде других областей. И хотя с 1992 г. Россию считают благополучной по данной инфекции, тем не менее есть основания предполагать, что среди диких и домашних птиц в нашей стране, как и во многих других регионах мира, циркулируют штаммы ВГП с пониженной вирулентностью.

Периодически происходят изменения антигенов (гемагглютинина H и нейраминидазы N) ВГП, ответственные за патогенные свойства агента и его способность преодолевать межвидовые барьеры. Различные подтипы возбудителя вы-

деляли от свиней (HiNbHjN7 H3N2 H5N1) лошадей (H3N8), норок (HiоN4), тигров и леопардов (H5Ni), тюленей (H7N7 H4N5 H4N6 H3N3), китов (Hi3N2 H13N9), кошек (H5Ni) и людей (HiN, H2N2 H3N2 H3N8 H5N] H7N3 H7N7). Результаты филогенетического анализа изолятов ВГП, полученных от разных видов млекопитающих и птиц, позволяют предположить, что основным природным резервуаром инфекции служат водоплавающие пернатые. Сезонные миграции диких птиц создают условия для широкого распространения ВГП.

К счастью, число подтипов ВГП, способных вызывать у людей тяжелую инфекцию, невелико.

Вопросы гриппа рассматривались на встрече экономических лидеров Азиатско-Тихоокеанского экономического сотрудничества (АТЭС), президента США Д.Буша и президента Российской Федерации В.Путина в Пугане (Южная Корея) 18 ноября 2005 года.

Этот вопрос включен в повестку дня совещания стран «Группы восьми», которое состоялось в июне 2006 г. в Санкт-Петербурге под председательством президента нашей страны.

И совсем недавно, 6 декабря 2005 г., вышло Постановление Совета Федерации Федерального собрания РФ «О неотложных мерах по предотвращению распространения и ликвидации очагов заболевания домашних птиц гриппом и другими опасными инфекционными болезнями на территории Российской Федерации».

Учитывая сложившуюся эпизоотическую ситуацию по высокопатогенному гриппу птиц, 14 апреля 2005 г., то есть в тот момент, когда опасный патоген гриппа А птиц на территории РФ еще не регистрировался, но многочисленные и тяжелые вспышки были зарегистрированы во многих странах мира провели заслушивание этого вопроса на объединенных президиумах РАСХН и РАМН.

В соответствии с планом мероприятий по диагностике, профилактике и ликвидации гриппа птиц на территории Российской Федерации, утвержденным 17.08.2005 г. заместителем Министра сельского хозяйства Российской Федерации С.Г. Митиным, Всероссийскими НИИ ветеринарными институтами (ВНИИВСГЭ, ВНИИВВиМ, ВНИВИП, ВИЭВ, ВНИТИБП) были разработаны и направлены 26.08.2005 г. на утверждение в Минсельхоз России следующие правовые нормативные документы:

1 «Временные ветеринарно-санитар-

ные правила по содержанию, убою домашней птицы и переработке продукции птицеводства при ликвидации очагов вирусных болезней птиц».

2 «Временные ветеринарно-санитарные правила обеспечения безопасности на птицеводческих предприятиях промышленного типа»).

3 «Временная инструкция по борьбе с высокопатогенным гриппом птиц».

Совместно с Россельхознадзором разработан план мониторинга гриппа А птиц в Российской Федерации и мероприятий по его обеспечению, и Концепция научно обоснованной системы профилактических мероприятий по недопущению заноса и распространения гриппа А птиц на территории Российской Федерации.

14 декабря 2005 г. на совместном заседании Президиума Российской академии сельскохозяйственных наук и Президиума Российской академии медицинских наук обсужден вопрос «Итоги выполнения совместного Постановления от 14 апреля 2005 г. по проблеме «Грипп А птиц -непредсказуемый и социально опасный зооноз».

Изучение эволюции вируса гриппа, мониторинг его изменчивости и циркуляции среди животных и людей признано одним из приоритетных направлений биологической науки, имеющим важнейшее значение для биобезопасности страны.

ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН совместно с ФГУП ГНУ ВВ «Вектор» Роспотребнадзора в течение 2004–2005 гг. проводили в инициативном порядке мониторинг вируса гриппа у домашней и дикой птицы в Сибири.

Все образцы (3300 проб) собирались и анализировались согласно протоколам, полученным в Центре, сотрудничающем с ВОЗ по экологии вируса гриппа у птиц и животных, Мемфис, США. Было выделено 54 изолята вируса гриппа типа А следующих серотипов: H4N6, H4N8, H3N6 и H5N1.

Во ВНИИВВиМ РАСХН ведется постоянный мониторинг циркуляции антигенов вируса гриппа птиц. Исследовано 2139 проб сыворотки крови диких птиц из Владимирской, Московской, Тверской и др. областей, антитела к вирусу зооноза не были выявлены.

ВНИТИБП РАСХН разработал «Набор для определения уровня антител к вирусу гриппа А кур иммуноферментным методом».

Совместно с НИИ гриппа РАМН Всероссийским научно-исследовательским

ветеринарным институтом птицеводства проведены поисковые исследования вакцинных штаммов из подтипа по гемагглютиниру H5 и получены хорошие результаты по сероконверсии антител в РЗГА после иммунизации цыплят. На данном этапе этим институтом разработана бивалентная вакцина (H5K1и H7N7) против гриппа птиц, которой можно привить 1-дневных цыплят. Также уже зарегистрирована вакцина ВНИИЗЖ, которая нарабатывается на Покровском биоузаве.

#### **Разработка и усовершенствование диагностических тест-объектов гриппа птиц**

Разработку и усовершенствование диагностических тест-систем гриппа птиц проводят во ВНИИВВиМ, ВНИТИБП, ВНИИЗЖ и других НИИ. Так, во ВНИТИБП разработан набор для определения уровня антител к вирусу гриппа птиц типа А иммуноферментным методом. Во ВНИИВВиМ разработаны и представлены в Россельхознадзор Методические рекомендации по использованию набора препаратов на основе моноклональных антител для проведения антигенного мониторинга гриппа птиц и дифференциальной диагностики гриппа птиц и ньюкаслской болезни методом твердофазного иммуноферментного анализа.

#### **Разработка средств и методов осуществления ветеринарно-санитарных мероприятий в возможных очагах инфекции**

Серьезное состояние эпизоотической ситуации по гриппу и другим остро-заразным болезням птиц (болезни Ньюкасла, Марека) в мировом масштабе повышает риск усугубления эпизоотической обстановки в Российской Федерации. Опасность эпизоотических вспышек связана не только с возможным заносом высокопатогенных типов возбудителей перелетной птицы, особенно в период весенней миграции, но и при импорте птице продуктов.

Особую опасность для переноса возбудителей заразных болезней птиц представляет пищевое яйцо, на скорлупе, а также в белке и желтке которого возбудители сохраняются до 2-х месяцев, что подтверждено экспериментальным путем отечественными и зарубежными учеными. Доказана трансвариальная передача возбудителей болезней птиц. В замороженных тушках, полученных от переболевших кур, вирус гриппа может сохраняться от 330 до 480 дней.

В связи со сложной эпизоотической об-

становкой в мире по болезням птиц, с начала 90-х годов ввоз в Российскую Федерацию из-за рубежа пищевого яйца запрещен.

Однако на государства СНГ запрет на ввоз в Россию пищевого яйца не распространялся. До последнего времени ввоз пищевого яйца из государств СНГ оформлялся в упрощенном порядке на уровне органов управления ветеринарии субъектов РФ. Всего в субъекты Российской Федерации за 9 мес 2004 г. только из республики Беларусь завезено 442 млн пищевых яиц. Большие поставки осуществлялись из Украины. Вместе с тем следует отметить, что информация о появлении тех или иных опасных болезней птиц из стран ближнего зарубежья поступает с большим опозданием, а нередко и специально задерживается.

В России к моменту 1-го совместного заседания двух президиумов РАСХН и РАМН (14.04.05 г.) не были зарегистрированы вспышки гриппа, но был инцидент в Воронежской области на фирме «Золотой петушок», которая в 2004 г. завезла из неблагополучной по гриппу птиц зоны Голландии 480 тыс. инкубационных яиц, из которых было выведено 110 тыс. бройлеров. Однако, в результате кардинальных мер (уничтожение бройлеров и инкубационных яиц, тщательная заключительная дезинфекция, была предотвращена в то время вспышка гриппа. Экономический ущерб составил около 1 млн долларов.

Помимо перелетных птиц, продуктов птицеводства инфицированных яиц, пуха, пера, вирус гриппа может распространяться через инфицированные корма, о чем свидетельствуют вспышки гриппа птиц на птицефабриках в феврале текущего года в Дагестане, Краснодарском и Ставропольском краях, когда еще не было лета диких птиц. В инфицированном зерне вирус гриппа птиц сохраняет жизнеспособность и вирулентность в течение 90–120 дней. Технологии обеззараживания зерна на токах в неблагополучных пунктах по гриппу не разработаны. Зерно пачкается фекалиями ворон, голубей, воробьев.

Инфицированное оборудование для птицефабрик также может быть фактором передачи инфекции.

В 2004 г. на Каменскую птицефабрику Алтайского края (г. Каменск-на-Оби) было завезено инфицированное оборудование для вывода цыплят с уничтоженной от гриппа птицефабрики из Нидерландов, где в 2004 г. пало и уничтожено от гриппа птиц четверть национального поголовья

птиц — 30,7 млн голов кур. И только бдительность ветеринарной службы позволила предотвратить занос возбудителя гриппа птиц на Каменскую птицефабрику. Напрашивается вопрос как могло попасть инфицированное оборудование на птицефабрику?

Не решены вопросы утилизации больной гриппом птицы и уничтожение инфицированного помета.

Решающим и, пожалуй, единственным способом предотвращения эпизоотии в условиях, когда отсутствует поголовная вакцинация, являются ветеринарно-санитарные мероприятия, включающие строжайший карантин и тотальное уничтожение сжиганием птицы на зараженной территории и инфицированного помета, в котором вирус гриппа сохраняется до 300 дней.

Мы считаем, что сжигание необходимо проводить в специальных мобильных малогабаритных, недорогих устройствах, которые можно было бы оперативно доставлять автотранспортом (например, а/м типа «Газель») и использовать в очаге возникновения инфекции. Сжигание зараженной птицы в таких мобильных устройствах предполагает полное уничтожение трупов птицы, а не простое «опаливание» птицы на костре с последующим закапыванием, как это, зачастую, делается в настоящее время в крестьянских и фермерских хозяйствах, создавая тем самым вторичные источники заражения. Эти трупы растаскиваются собаками, воронами и др.

Такие устройства должны работать в полевых условиях во всех зонах России, начиная с Крайнего Севера и кончая южными областями, в любое время года, быть простыми по конструкции, надежными и удобными в эксплуатации.

Наш институт, имеющий определенный опыт в создании устройств аналогичного назначения для уничтожения биологических материалов (трупов КРС, свиней и др.) и сознавая свою ответственность в создавшейся ситуации, готов разработать такое устройство и провести его полномасштабные испытания во всех потенциально опасных регионах России. При достаточном финансировании работа может быть завершена в сжатые сроки.

Для выполнения данной работы, которую без сомнения можно отнести к работам государственной важности, институту необходимо целевое финансирование в пределах 8,6–8,8 млн рублей.

Данная ситуация усугубляется тем, что в подворьях вместе с птицей зачастую со-

держатся поросята, организм которых при определенных условиях может стать благоприятной средой для мутации вируса и превращения его в штаммы, опасные для человека. В помете вирус сохраняется 300 дней. Технологии обеззараживания помета и несменяемой подстилки не разработаны.

Зарубежная (США и др.) и наша практика профилактики и борьбы с гриппом птиц показывает, что основополагающим звеном в этом является тщательная текущая в очагах инфекции и заключительная перед снятием карантина дезинфекция помещений, оборудования, спецодежды, инвентаря, транспорта и др.

Как показало заслушивание 28 февраля 2006 г. вопроса в Комитете Совета Федерации по аграрно-продовольственной политике «О мерах по поддержке отечественного производства ветеринарно-санитарных и дезинфицирующих средств нового поколения» производство дезинфицирующих средств для ветеринарии и животноводства не обеспечивает нужд производства, как по ассортименту, так и по объемам дезинфектантов. Большие трудности испытывает ветеринарная практика при проведении дезинфекции. Отсутствуют в должном количестве дезинфекционные машины для мойки и дезинфекции помещений, оборудования и инвентаря.

На практике используют (Дальний Восток, Сибирь) для дезинфекции пожарные автомашины, что крайне не эффективно и экономически не выгодно из-за большого расхода дезсредств.

В январе–феврале 2006 г., когда еще не было массового перелета диких птиц, грипп появился в 8 субъектах Южного федерального округа — Краснодарском и Ставропольском краях, Дагестане, Калмыкии, Адыгее и др. Особенно настораживает проникновение вируса в зимние месяцы на промышленные птицефабрики, где погибло и уничтожено более 1,5 млн кур. По-видимому, вероятным источником заноса вируса являются корма.

В постановлении Совета Федерации Федерального собрания РФ от 7 декабря 2005 г. № 404-СФ отмечено, что для выполнения профилактических ветеринарно-санитарных мероприятий, а так же для ликвидации очагов заболевания домашней птицы гриппом необходимо выделение дополнительных финансовых средств. В постановлении совместного заседания Президиумов Россельхоз академии РАНН от 14 декабря 2005 г. (п.п. 4.1.–4.7.) намечены основные направления разработки средств и

методов осуществления ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на профилактику и ликвидацию гриппа птиц, поскольку они являются определяющими.

С учетом вышеизложенного, считаем целесообразным дополнительно поставить на изучение в 2006–2010 гг. следующие задания:

1. Разработка и усовершенствование специфической диагностики и индикации вируса гриппа А птиц на основе использования молекулярно-генетических методов и моноклональных антител.

Для постановки точного диагноза и широкомасштабного мониторинга требуется, наряду с обычными методами внедрение в практику высокочувствительных методов, позволяющих одновременно проводить и дифференциальные исследования на грипп птиц.

2. Разработка экспресс-технологии производства эмульгированной инактивированной масляной полиштамтной вакцины против гриппа А птиц различных подтипов.

3. Разработка эмульгированной инактивированной масляной вакцины против гриппа А птиц подтип А.

4. Разработка рекомбинантной вакцины для специфической профилактики гриппа птиц.

Применение вакцин позволит предотвратить заноса и ограничить распространение вируса гриппа.

5. Разработка комплексных био- и химиопрепаратов для профилактики гриппа птиц.

Противовирусные препараты, обеспечивающие экстренную защиту птиц от вируса до формирования иммунитета и обладающие лечебным эффектом.

6. Разработка режимов и технологии обеззараживания воздуха в птицеводческих помещениях и вентиляционных выбросах в атмосферу с использованием коротковолнового УФ-излучения.

Известно, что возбудители инфекционных заболеваний, в том числе гриппа птиц, могут распространяться с вентиляционными выбросами на значительные расстояния (до 1 км) и вызывать заражение птицы в других помещениях крупных птицефабрик, которые расположены друг от друга на расстоянии 60 метров. Поэтому обеззараживание воздуха должно проводиться в системах не только вытяжной, но и приточной вентиляции.

Для этих целей перспективным является использование УФ-излучения. В хо-

де исследований будет усовершенствована существующая аппаратура для получения УФ-излучения и разработана оптимальная технология ее применения.

7. Разработка принципиально новой технологии быстрого бескровного умерщвления больной и условно здоровой птицы на крупных птицефабриках в очаге инфекции.

На крупных птицефабриках в очагах инфекции возникает острая необходимость быстрого бескровного уничтожения больной и условно здоровой птицы. С этой целью будет разработана принципиально новая технология бескровного умерщвления больной и условно здоровой птицы с использованием аэрозолей препаратов, позволяющих провести одновременную дезинфекцию помещений. Данная технология позволит быстро — в течение 10–15 мин. обработать как само помещение, так и уничтожить находящуюся в нем птицу (при различных способах содержания в одном помещении может находиться от 100 до 120 тыс. голов). Кроме того, она обеспечит безопасность обслуживающего персонала, так как отпадает необходимость поминки индивидуально каждой птицы.

8. Разработка средств и способов обеззараживания инфицированного помета с целью предупреждения распространения гриппа птиц.

По данным ВНИИВВиМ и ВНИИВС-ГЭ в помете вирус гриппа сохраняет жизнеспособность и вирулентность в течение 300 дней.

Экспериментально установлено, что дезинфекция куриного помета опрыскиванием дезинфицирующими средствами щелочей, кислот, формалина, хлорной извести и др. обеспечивает обеззараживание вируса только с поверхности массы помета (1–2 мм).

При разработке методов обеззараживания помета будут учитываться биологические свойства вируса, его устойчивость во внешней среде и непосредственно в органической массе помета, а также экологически приемлемые технологии его переработки на основе интенсивного аэробного окисления, анаэробной ферментации и биотермических процессов.

Установлено, что в очагах инфекции помет массивно контаминирован вирусом гриппа: в 1 г помета содержится 1 млн инфекционных доз вируса. Необходима разработка двух технологий обеззараживания помета:

а) для индивидуальных подворий, в которых содержится по 20–50 кур в каждом,

где нельзя применять биотермический метод обеззараживания;

б) для крупных птицефабрик, где сосредоточивается огромное количество помета. Например, на Ставропольской птицефабрике, где погибло все поголовье и в настоящее время на улице складировано 200 тонн инфицированного помета, на который садятся голуби, вороны, воробьи и другие птицы, посещают крысы, мыши; помет размывается дождевыми водами.

9. Разработка устройств и технологии уничтожения (сжигание) трупов павшей или вынужденно убитой птицы и других биологических материалов в очагах птичьего гриппа.

В зимних условиях, когда земля проморожена до 1,5 м, в подворьях закопать в землю трупы павших и вынужденно убитых птиц невозможно. Поэтому требуется специальная технология их уничтожения. Будет разработано малогабаритное, мобильное, надежное и удобное в эксплуатации устройство, позволяющее обеспечивать сжигание не менее 300 трупов птиц за 1,5 ч. Такие устройства можно применять в полевых условиях во всех климатических зонах страны.

10. Разработка средств и технологии обеззараживания зерна, инфицированно-

го фекалиями диких птиц (вороны, голуби, воробьи и др.) в очагах гриппа птиц.

Необходима разработка двух технологий обеззараживания зерна: на открытых токах при уборке урожая и не-посредственно на птицефабриках в кормоцехах.

11. Разработка комплексных средств и режимов их применения для дезинфекции и дезинсекции в очагах, неблагополучных по гриппу птиц.

12. Усовершенствование технических средств и разработка технологии применения электрохимически активированного раствора (ЭХАР) хлорида натрия — анолита АНК для дезинфекции при гриппе птиц.

13. Разработка тест-систем экспрессного контроля на наличие вируса гриппа птиц в кормах и продуктах птицеводства на неблагополучных территориях.

Для выполнения НИОКР, включенных в данные предложения, НИИ Россельхозакадемии располагают достаточно квалифицированными научными кадрами и экспериментально-производственными базами, опытом разработки средств диагностики, специфической профилактики, санации объектов ветеринарного надзора, в том числе при особо опасных инфекционных болезнях.