

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

**Кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней**

**ЭПИЗОТОЛОГИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ.  
ГУБКООБРАЗНАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ  
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Учебно-методическое пособие

для студентов факультета ветеринарной медицины  
по специальности «Ветеринарная медицина»  
и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям

Витебск  
ВГАВМ  
2023

УДК 619:614.48

ББК 48.173

Э71

Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета ветеринарной медицины УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» от 4 октября 2022 г. (протокол № 1)

Авторы:

доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор *П. А. Красочко*; доктор ветеринарных наук, профессор *В. С. Прудников*; доктор ветеринарных наук, профессор *И. А. Красочко*; доктор биологических наук, доцент *П. П. Красочко*; кандидат ветеринарных наук, доцент *Я. П. Яромчик*; доктор ветеринарных наук, профессор *О. Ю. Черных*; доктор медицинских наук, профессор *Н. Н. Полещук*; кандидат биологических наук *А. Н. Асташонок*; кандидат ветеринарных наук, доцент *О. Р. Билецкий*; начальник управления контроля за противоэпизоотической и профилактической работой Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Минсельхозпрода Республики Беларусь *И. И. Царик*

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси *Н. А. Ковалев*; доктор ветеринарных наук, доцент *Д. Г. Готовский*

**Эпизоотология и инфекционные болезни. Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота** : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям / П. А. Красочко [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2023. – 64 с.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с учебной программой по дисциплине «Эпизоотология и инфекционные болезни» в разделе «Частная эпизоотология» для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1-74 03 02 (7-07-0841-01) «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям. Содержит текстовые задания. В пособии освещены вопросы этиологии возбудителя, его свойств, представлена информация о распространении, ущербе, клиническом течении, патологоанатомических признаках, отбору проб, диагностике, биобезопасности и профилактике губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота.

УДК 619:614.48

ББК 48.173

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2023

## Содержание

Методика проведения практических занятий по эпизоотологии со студентами 5 курса факультета ветеринарной медицины	4
Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота	6
Требования к отбору образцов биологического материала для лабораторной диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота	15
Гистологические исследования мозга коров	21
Требования по мониторингу для получения статуса в Республике Беларусь	32
Биологическая безопасность при извлечении проб стволовой части мозга КРС	33
Комплекс мероприятий по профилактике и борьбе с губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота	36
Список использованной литературы	37
Приложения	40

## МЕТОДИКА

проведения практических занятий по эпизоотологии со студентами 5 курса факультета ветеринарной медицины

**1. Тема:** Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота - методы диагностики. Мероприятия по профилактике и ликвидации болезни.

**2. Время:** 2 часа.

**3. Место проведения** - практикум кафедры.

**4. Цель занятия:** научить студентов диагностике вызываемых трансмиссивными инфекционными агентами (прионами) при губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота и организации мероприятий по ликвидации болезни.

**5. Материальное обеспечение занятия:**

а) Этиология губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота;

б) Окончательная диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота;

ж) Схема мероприятий, направленных на борьбу с губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота

5.2. Видеофильм «Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота»

**6. Методика проведения занятия и регламент.**

Преподаватель в течение 2-3 минут проверяет присутствующих и определяет цель занятия. После этого в порядке беседы и опроса студентов выясняются следующие вопросы (25 минут):

6.1. Определение болезни, распространение и экономический ущерб, наносимый болезнью.

6.2. Этиология болезни (причина болезни). При этом подчеркивается исключительная особенность возбудителя: прион – самореплицирующаяся инфекционная белковая частица, которая преобразуется из неинфекционных собственных аналогов нормальных белков ЦНС крупного рогатого скота и обладает исключительной устойчивостью к действию ряда физических и химических факторов;

6.3. Эпизоотологический метод диагностики. Восприимчивость крупного и мелкого рогатого скота, источник возбудителя инфекции, пути заражения, факторы передачи, объяснение стационарности, интенсивность эпизоотического процесса, заболеваемость и летальность.

6.4. Клинический метод диагностики: указывается на длительный инкубационный период, основные клинические признаки болезни (обращается внимание на многообразие симптомов болезни, связанных с нарушением функции головного мозга, медленное развитие симптомов болезни).

6.5. Патологоанатомический метод диагностики. Локализация патологоанатомических изменений только в головном мозге. Указывается на решающее значение морфологических исследований в постановке диагноза на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота.

**7. Диагностика губкообразной энцефалопатии** крупного рогатого скота. Определяется значимость рассмотренных методов диагностики и уточняется, когда диагноз на губкообразную энцефалопатию считается установленным окончательно.

**8. Дифференциальная диагностика.** Указывается на необходимость дифференциации губкообразной энцефалопатии от бешенства, листериоза, болезни Ауески, нервной формы инфекционного ринотрахеита, злокачественной катаральной горячки, а также от отравлений фосфорорганическими, хлорорганическими, ртутьорганическими соединениями, фосфидом цинка, мышьяком, поваренной солью.

Затем студенты просматривают видеофильм «Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота».

В конце первого часа в течение 10 минут студенты изучают **«Ветеринарно-санитарные правила профилактики, диагностики и ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота»**, утвержденные Постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 25 июня 2018 г. № 60.

Для углубленного изучения студентами данной темы и освещения запланированных вопросов при проведении лабораторно-практического занятия ниже приводятся краткие теоретические и практические сведения и основные положения нормативных документов Международного Эпизоотического Бюро и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

## ГУБКООБРАЗНАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

**Определение болезни.** Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС) – трансмиссивная инфекционная медленно развивающаяся прионная болезнь взрослого крупного рогатого скота, характеризующаяся длительным (до 2,5-8 лет) инкубационным периодом, патологическим нервным синдромом, развитием диффузной дистрофической энцефалопатии головного и спинного мозга без признаков воспаления (нейроны и серое вещество мозга пронизаны вакуолями и напоминают губку) и 100% летальностью.

**Статус инфекционной болезни по МЭБ:** В соответствии с Кодексом здоровья наземных животных Международного эпизоотического бюро (МЭБ) 2016 года (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH) с 1 января в список МЭБ на основании решения Всемирной Ассамблеи Делегатов включены следующие болезни:

В категорию «Болезни и инфекции крупного рогатого скота» включено 13 болезней, из них 9 инфекционных и 4 паразитарных, в том числе - губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота. О возникновении болезни Центральное бюро МЭБ ставится в известность в течение 24 часов.

**Историческая справка.** ГЭ КРС была зарегистрирована впервые в ноябре 1985 г. в Англии под названием «болезнь бешеной коровы». Существует мнение, что эта болезнь существовала в Европе раньше. Клинические проявления заболевания заключались в изменении поведения коров: развитии чувства страха или агрессии, появление атаксии, некоординированной походки с падением, нарушение ответа на тактильное или звуковое раздражение. Название «губкообразная энцефалопатия» применительно к крупному рогатому скоту было введено G. Welleetal., (1987) для обозначения симптомокомплекса новой болезни, при которой нейроны и серое вещество мозга имеет губкообразную структуру. Фактически одновременно болезнь установили в Ирландии, а с 1990 – 1991 гг. МЭБ информирует о неблагополучии по ней Швейцарии и Франции. В последующие годы заболеваемость коров в Англии приняла эпидемический характер с пиком заболеваемости к 1992 г., составляющим до 1000 голов крупного рогатого скота в неделю. К 1997 г. было инфицировано около 1 млн животных, из которых около 54 000 попали на переработку в пищевую промышленность. Данное заболевание быстро распространялось и было объявлено как особо опасная болезнь (*notifiable disease*).

В настоящее время установлено, что ГЭ КРС появилась в результате экспонирования на крупном рогатом скоте скрепи – подобного агента (возбудителя скрепи овец), находившегося в мясокостной муке, которая входила в рацион этих животных. В мясокостную муку 1984 года стали добавлять также субпродукты, полученные при убое КРС, что также способствовало значительному увеличению случаев ГЭ. Подтверждением этого явилось уменьшение, а затем и быстрый спад эпизоотии в Англии после введения в июле 1988 г. запрета на кормление крупного рогатого скота белками, полученными от жвачных животных.

**Распространение.** С начала регистрации ГЭ КРС с 1985 г. произошло распространение данной инфекции практически в большинстве странах мира. По состоянию на 2003 год неблагополучными по ГЭ КРС являются 17 стран: Бельгия, Великобритания, Германия, Дания, Ирландия, Испания, Италия, Канада, Нидерланды, Польша, Португалия, Словакия, Словения, Франция, Чехия, Швейцария, Япония.

Сведений о выявлении неблагополучных стран в 2022 году не выявлено (приложение, рис. 1).

**Экономический ущерб.** ГЭ КРС представляет собой социально-экономическую катастрофу для неблагополучных по этой болезни стран. Крупный рогатый скот, больной ГЭ, является одной из причин заболевания людей болезнью Крейтцфельда–Якоба (БКЯ), которая ныне названа «Новый вариант БКЯ», отличающийся по ряду признаков от классического (спорадического) варианта БКЯ. Одним из существенных признаков являлось резкое снижение среднего возраста заболевших людей (до 27 лет) при среднем возрасте больных спорадической БКЯ, превышающим 50 лет. От этой болезни умерло в настоящее время в мире более 2000 человек. В Европе по причине возникновения ГЭ КРС было уничтожено более 4 млн крупного рогатого скота. Около 3 млн скота, находящегося в инкубационном периоде, были убиты на мясокомбинатах и попали в пищевую цепь человека. Прогнозируется, что около 70 тыс. человек, по этой причине, могут заболеть болезнью Крейтцфельда–Якоба.

Экономический ущерб при ГЭ КРС складывается также из высокой заболеваемости до 60% и 100% летальности. В соответствии с ветеринарно-санитарными правилами клинически больных губкообразной энцефалопатией животных и потомство убивают и уничтожают. Неблагополучие по ГЭ крупного рогатого скота страны или административной территории ограничивает экспорт племенного и пользовательного крупного рогатого скота. Учитывая широкое распространение ГЭ КРС в ряде государств и большую устойчивость возбудителя этой болезни в мясных продуктах и во внешней среде, нельзя исключить возможность появления болезни в других странах, в том числе и в Республике Беларусь.

**Этиология.** Возбудителем ГЭ КРС является прион. Прион – это новый тип инфекционного агента, коренным образом отличающийся от бактерий и вирусов. Слово «прион» образовано от английских слов «proteinaceous infectious particle» («белковая инфекционная частица») и очень точно отражает природу возбудителя: прион не содержит ни ДНК, ни РНК, являясь всего лишь молекулой белка. Причем аминокислотная последовательность данного белка кодируется геномом хозяина. В химическом плане прион представляет собой низкомолекулярный белок с молекулярной массой 27-30 тысяч дальтон. В то же время при воздействии различных концентраций протеиназы К и индикации продуктов распада в геле выявляются минорные фракции инфекционного приона, различающиеся также по молекулярному весу (от 6,5 до 17-21 000 дальтон). При экстрагировании из ткани мозга прионы быстро агрегируют в различные разноразмерные структуры: глобулы диаметром 10-25 нм,

«прионные палочки» размером 100-200 нм и диаметром 20 нм, фибриллы размером 200-1500 нм, диаметром 25-27 нм.

Отличие же между нормальным белком PrP<sup>c</sup> («proteinparticlecellular» – «клеточная белковая частица») и его патологической изоформой PrP<sup>Sc</sup> («proteinaceousparticlescrapie» – «белковая частица скрепи») заключается в различной пространственной укладке молекул, то есть в их вторичной и третичной структурах. Во вторичной структуре PrP<sup>Sc</sup> преобладают β-складчатые структуры, в то время как для PrP<sup>c</sup> характерно преобладание α-спиралей. Наличие характерных β-структурных доменов объясняет высокую температурную и протеолитическую устойчивость инфекционных прионов. Недавно появились данные о различном характере гликозилирования PrP<sup>c</sup> и PrP<sup>Sc</sup>. Различия в третичной структуре обуславливают наличие различных штаммов PrP<sup>Sc</sup>.

Теорию прионных инфекций и термин «прион» предложил С. Прузинер (1982), за что им получена Нобелевская премия (приложение, рис. 2).

Некоторые авторы связывают наличие штаммов прионов с различиями в характере их гликозилирования, другие указывают, что эти различия наблюдаются и при исследовании прионов из разных участков одного и того же мозга. Известно, что штаммы прионов, например на существующих лабораторных моделях, не вызывают грубых дистрофических изменений в ЦНС или формируют отдельные очаги вакуолизации в коре и/или подкорковых структурах, базальных ядрах; другие – вообще не вызывают характерных изменений как в головном, так и спинном мозге, хотя накапливаются в ткани ЦНС в значительных титрах, третьи, наоборот, характеризуются наибольшей вирулентностью и полностью воспроизводят весь патоморфологический паттерн, характерный для БКЯ человека (приложение, рис. 3).

Прионы обладают инфекционными свойствами, по 8 параметрам характерными для хорошо изученных классических вирусов. К ним относятся: способность проходить через бактериальные фильтры с диаметром пор до 25-100 нм; неспособность размножаться на искусственных питательных средах; репродукция до титров от 10<sup>4</sup> до 10<sup>11</sup> инфекционных доз на 1 г мозговой ткани, возможность адаптации к новому хозяину с укорочением инкубационного периода; генетический контроль чувствительности некоторых хозяев; воспроизведение феномена титрования с определением ЛД<sub>50</sub>; возможность клонирования штаммов методом конечных разведений, воспроизведения феномена интерференции между разными штаммами агента, персистенции в культуре клеток, полученных из ткани зараженного организма.

PrP<sup>c</sup> обнаруживают во многих тканях организма, в том числе в скелетной мускулатуре, почках, плазме крови, на поверхности лейкоцитов, легких, языке, кишечнике, однако наибольшая его концентрация в нервной ткани, и несколько меньше – в лимфатической. Меньше всего PrP<sup>c</sup> содержится в печени. Прионы способны размножаться в культуре клеток нейробластомы. Изучение их

свойств проводят на специально созданных для этой цели культурах клеток, экспрессирующих на наружных мембранах значительные количества PrP.

В отличие от PrP<sup>c</sup>, представленного в клетке в мономерной форме, отдельные молекулы PrP<sup>Sc</sup> имеют тенденцию слипаться с образованием «прионовых палочек» или «скрепи-ассоциированных фибрилл», которые обнаруживаются при электронной микроскопии.

Повышается и устойчивость к воздействию протеолитических ферментов. В частности протеиназа К полностью разрушает PrP<sup>c</sup> (молекулярная масса 32 – 35 kDa), при обработке же ею PrP<sup>Sc</sup> протеазоустойчивая часть молекулы остается неразрушенной (молекулярная масса 27 – 30 kDa, в литературе часто обозначается PrP 27 – 30 или PrP<sup>res</sup> (resistant – устойчивый). Это свойство протеиназы К позволяет дифференцировать PrP<sup>Sc</sup> от PrP<sup>c</sup> и широко используется при лабораторной диагностике ГЭ КРС, а также для выделения PrP<sup>Sc</sup>. Гомогенат ткани обрабатывают протеиназой К, которая разрушает протеазочувствительные белки, затем осаждают протеазоустойчивый PrP<sup>Sc</sup> ультрацентрифугированием в градиентах плотности сахарозы или урографина. PrP<sup>Sc</sup> не растворим в воде, что значительно затрудняет исследование его свойств. Поэтому для исследовательских целей был создан растворимый аналог PrP<sup>Sc</sup>, сохраняющий все его основные свойства. Денатурация PrP<sup>Sc</sup> invitro приводит к полной потере инфекционных свойств. При последующей ренатурации происходит их частичное восстановление.

Прионы чрезвычайно устойчивы к нагреванию, воздействию ионизирующего и ультрафиолетового излучений, обычным химическим дезинфицирующим средствам, таким как этиловый спирт, глутаровый альдегид, формалин.

**Эпизоотологические данные.** В естественных условиях заболевают ГЭ крупный рогатый скот в возрасте от 2 до 11 лет, при этом чаще восприимчивы 4-летние животные, а также парнокопытные 6 (антилопа южно-африканская, куду и ньяла, сернобык, аравийский орикса и др.) и кошачьи 4 видов. Болезни больше подвержены животные молочных стад (по сравнению с мясными). Заболевают ГЭ КРС в основном коровы, реже – племенные (старше 2-х лет) быки. Наиболее часто заболевают животные голштинофризкой породы, установлена генетическая предрасположенность отдельных индивидуумов к ГЭ КРС.

Восприимчивыми к экспериментальному интерцеребральному заражению оказались, кроме крупного рогатого скота, свиньи, овцы, козы, мыши, норки (в том числе при оральном заражении) и обезьяны – мармозетки. Свиньи не восприимчивы к оральному заражению. Птица и лошади не восприимчивы вообще к ГЭ. Из лабораторных животных восприимчивы мыши, морские свинки, норки и сирийские хомяки.

От больного ГЭ КРС и при употреблении в пищу продуктов их убоя могут заболеть люди болезнью Крейтцфельда – Якоба. Согласно Кодексу здоровья наземных животных Международного эпизоотического бюро продукты убоя крупного рогатого скота подразделяются на материалы специфического риска и прочие. Материалами специфического риска для всех возрастных групп

крупного рогатого скота, в том числе для молодняка младше 30 месяцев, являются миндалины и подвздошная кишка, а для крупного рогатого скота старше 30 месяцев – следующие органы и ткани: головной мозг, глаза, спинной мозг, череп, позвоночник и говядина, механически отделенная от черепной коробки и позвоночного столба. Материалы специфического риска от крупного рогатого скота запрещается использовать в пищу людям, для изготовления лекарственных средств для людей и животных, косметической продукции, в медицинских целях. Ввезенные на территорию стран-участников Таможенного союза Евразийского экономического сообщества из стран неблагополучных по ГЭ КРС подлежат изъятию и уничтожению путем сжигания.

4 декабря 2000 Евросоюз проголосовал за запрет использовать в пищу продукты убоя крупного рогатого скота, убиваемого на мясо в возрасте старше 30 месяцев без гистоисследования головного мозга.

*Источником возбудителя инфекции* являются больные и находящиеся в инкубационном периоде животные.

*Факторами передачи возбудителя инфекции* являются продукты убоя овец, больных скрепи и крупного рогатого скота, больного ГЭ, в том числе находящихся в инкубационном (доклиническом) периоде. Кроме того, методы выявления животных в инкубационный период заболевания их ГЭ отсутствуют, из-за чего продукты убоя таких животных могут попадать в кормовую и пищевую цепь, т.е. служить факторами передачи и обуславливать появление ГЭ у крупного рогатого скота и болезни Крейтцфельдт – Якоба у людей.

В приложении, табл. 1 показана степень инфицированности тканей прионами при ГЭ КРС.

Передача классической ГЭ КРС (ГЭКРС типа С) происходит при использовании в качестве корма мяса и мясокостной муки, а также корма, содержащего мясную и мясокостную муку, зараженные прионом ГЭКРС. Нет фактов, подтверждающих горизонтальную трансмиссию, мало данных представлено и в поддержку теории о вертикальной трансмиссии. Эпидемиологические данные и экспериментальные исследования трансмиссии демонстрируют, что инкубационный период составляет не менее 2 лет и может длиться более десяти лет.

Считается, что ГЭ КРС не передается при совместном содержании животных, а фактором передачи является зараженная мясокостная мука. При этом, с точки зрения возможного алиментарного заражения наибольшую опасность как для животных, так и для человека, представляют продукты, содержащие нервную и лимфатическую ткань.

Экстракты из мозга коров, больных ГЭ КРС, вызывают заболевание при интрацеребральном заражении у крупного рогатого скота, овец, норков, свиней. Возбудитель ГЭ КРС может передаваться алиментарным путем мышам, овцам и норкам. Также отмечены положительные результаты заражения при оральном пути введения большой дозы инфекционного агента.

Молоко, кожа, шкура и кровь крупного рогатого скота, больного ГЭ, не содержит возбудителя в количествах, достаточных для заражения. По данным

отдельных исследователей, прионы могут содержаться в сперме и эмбрионах (приложение, табл. 2).

Наличие межвидового барьера, равно как и его относительность, были показаны в многочисленных экспериментах. Для заражения животного прионом от животного другого вида требуются большие дозы инфекционного агента, инкубационный период очень длительный, однако при последующих пассажах продолжительность инкубационного периода сокращается в 2-3 раза, заражение наступает при чрезвычайно малых дозах инфекционного агента. *S. Prusiner* выделяет 3 составляющих межвидового барьера:

- различия в аминокислотной последовательности PrP донора и реципиента;

- штамм приона;

- видовая специфичность так называемого белка X-фактора, выступающего, по некоторым данным, в качестве посредника при взаимодействии PrP<sup>Sc</sup> и PrP<sup>c</sup>.

Для выяснения способности приона ГЭ КРС преодолевать межвидовой барьер в отношении видов, генетически близких к человеку, им были заражены макаки. Через несколько лет у них развились неврологические расстройства, были обнаружены скопления прионного белка, подобные наблюдаемым при Новом варианте болезни Крейтцфельда-Якоба (нвБКЯ).

*Заражение* крупного рогатого скота происходит преимущественно при попадании в его организм алиментарным путем белков жвачных (патогенных прионов), которые обычно содержатся в мясокостной муке, белковых брикетах, суперконцентратах и других кормах, их содержащих, полученных из продуктов убоя овец или коз, больных скрепи, или крупного рогатого скота, больного ГЭ. По степени же значимости способа инфицирования прионами людей установлена следующая последовательность: интрацеребральный, интравенозный, интраперитонеальный; подкожный и оральные. Отсутствуют достоверные доказательства передачи возбудителя болезни непосредственно от крупного рогатого скота к крупному рогатому скоту, а также между овцами и крупным рогатым скотом. Случаи инфицирования агентом скрепи от овец к человеку не подтверждены. В очень редких случаях просматривается вертикальный путь передачи возбудителя. Вероятность заболевания теленка, родившегося от больной коровы, немного выше, чем у теленка, родившегося от здоровой коровы. Не установлено связи между стадией стельности, сезонностью года и заболеваемостью. Болезнь регистрируется в виде медленных *энзоотий* и *эпизоотий*. **Заболеваемость – 60%, летальность – 100%.**

**Патогенез** заболевания изучен мало. Распространение PrP<sup>Sc</sup> по организму происходит с участием лимфатической системы и нервных волокон. Лимфатическая система играет важную роль в распространении прионов: при заражении мышей, лишенных селезенки, инкубационный период значительно увеличивался, однако удаление тимуса не оказывало влияния на продолжительность инкубационного периода. Существует мнение, что лимфоциты способны транспортировать PrP<sup>Sc</sup> в мозг, однако у лимфоцитов,

циркулирующих в крови, не было обнаружено инфекционных свойств, не смотря на значительное накопление PrP<sup>Sc</sup> в селезенке. Многие авторы считают, что в размножении прионов в селезенке участвуют фолликулярные дендритные клетки, но есть также данные, ставящие под сомнение это утверждение.

Скорость превращения PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup> зависит от степени гомологичности их первичных структур. Аминокислотная последовательность PrP крупного рогатого скота и овец различна в 7-8 позициях, что создает предпосылки для преодоления межвидового барьера прионом скрепи (приложение, рис. 4).

Полагают, что попав в организм с пищей или парентерально, PrP<sup>Sc</sup> взаимодействует с PrP<sup>C</sup>, изменяя его пространственную укладку по своему образу и подобию:  $1PrP^{Sc} + 1PrP^C = 2PrP^{Sc}$ , таким образом, происходит накопление PrP<sup>Sc</sup>, влекущее за собой нарушение функции клеток. Взаимодействие происходит в области аминокислотных остатков примерно 95–170. Эта часть PrP имеет очень сходное строение у людей и крупного рогатого скота, чем объясняется более высокая вероятность заражения человека прионом ГЭ КРС, чем, например, прионом скрепи.

Структурно-модифицированная форма PrPSc при попадании в здоровые клетки инициирует цепную реакцию и приводит к преобразованию PrPC в PrPSc (PrPSc обладает самоподдерживающимся свойством, т.е. способностью катализировать конформационное превращение гомологичного ему PrPC в себе подобный [PrPSc]). Такие ненормальные изоформы (т.е. PrPSc) объединяются в высокоструктурированные амилоидные фибриллы, которые, скапливаясь, формируют бляшки. Конец каждого волокна служит своеобразной осью, к которой могут прикрепляться свободные белковые молекулы, в результате чего фибрилла растет (в большинстве случаев присоединяться могут только молекулы PrP, идентичные по первичной структуре PrPSc, поэтому обычно передача прионов видоспецифична; однако возможны и случаи межвидовой передачи прионов). Как было указано выше, прионная форма белка PrPSc чрезвычайно стабильна (устойчива к денатурации под действием химических и физических агентов) и накапливается в пораженной ткани, вызывая ее повреждение и в конечном счете - гибель. Под действием указанных выше процессов в головном мозге (формирование фибрилл, развитие амилоидоза, т.е. внеклеточного диспротеиноза, характеризующегося отложением амилоида с развитием атрофии и склероза ткани, и астроглиоза, характеризующегося разрастанием астроцитарной нейроглии, а также гиперпродукцией глиальных волокон [при отсутствии инфильтративных воспалительных реакций]) происходят: гибель нейронов, образование вакуолей, белковых/амилоидных агрегатов и губкообразные изменения головного мозга.

**Клинические признаки губкообразной энцефалопатии у крупного рогатого скота.** Инкубационный период – от 2,5 до 8 лет, а длительность клинического периода широко варьирует – от 2 недель до 14 месяцев. Болезнь протекает без повышения температуры тела животного, при сохранившемся аппетите. Несмотря на нормальный аппетит у них снижается уровень молочной про-

дуктивности. Клинически проявление болезни наблюдается у животных старше 2 лет и характеризуется признаками поражения центральной нервной системы.

При этом обнаруживают три типа нервных явлений.

*Первый тип нервных явлений* характеризуется развитием у животных чувства страха, нервозности, особенно при входе в помещение, агрессивности (которая является лишь следствием нервного состояния животного), скрежета зубами, беспокойства, боязливости, перемены иерархического места в стаде, стремления отделиться от стада, возбудимости, дрожания отдельных участков тела или всего тела, нераспознаванием препятствий, ляганием при нормальном обращении, атаксии задних конечностей (корова поднимается, как лошадь), частых движений ушами, облизывание носа, почесывание головы ногой о различные предметы. Подобные симптомы отмечены примерно у 98% животных (приложение, рис. 5-6)

*Для второго типа нервных явлений* характерны двигательные расстройства: нарушение координации движений, внезапные быстрые сокращения отдельных мышц или их групп, избыточная подвижность, утрата нормальной походки, рысистые движения, скольжение, загребание передними ногами, подкашивание задних ног при быстром повороте, поднятый хвост и падения, спина дугообразно изогнута, при движении, наоборот, позвоночник вогнут, хвост поднят. Нарушения становятся заметнее при напряжении или быстрой ходьбе и, наконец, могут привести к тому, что животное постоянно лежит и не может встать (приложение, рис. 7-12). Подобные симптомы обнаруживают у 98% больных животных

*При третьем типе нервных явлений* происходит нарушение чувствительности – имеет место гиперестезия при шуме и прикосновении. Регистрируется в 95% случаев (приложение, рис. 13–14).

Кроме этих признаков изменяется общее состояние животных, они худеют, снижаются удои, аппетит сохраняется, но животные с трудом поедают корм.

Продолжительность болезни – от нескольких недель до 12 и более месяцев. Несмотря на отдельные случаи ремиссии, болезнь имеет тенденцию к прогрессированию и заканчивается, как правило, летально.

Указанные выше симптомы могут наблюдаться в разных сочетаниях с различной степенью выраженности. Повышения температуры не отмечают. Болезнь всегда прогрессирует и заканчивается летально. Клинические признаки могут вызвать подозрение на болезнь, но для постановки окончательного диагноза на губкообразную энцефалопатию необходимо подтверждение предварительного диагноза другими методами, в первую очередь гистологическим методом.

**Патологоанатомические изменения.** При вскрытии трупов, павших от ГЭ КРС животных, характерные патологоанатомические изменения отсутствуют или слабо выражены. Отмечают признаки истощения животных, может наблюдаться отек головного мозга. При гистологическом исследовании в головном и спинном мозге обнаруживают вакуолизацию нейронов - вид губки (спон-

гиоз) и некоторые другие изменения, свойственные губкообразной энцефалопатии (гиперплазия и пролиферация астроцитов, формирование амилоидных бляшек (приложение, рис. 15-16).

Вакуолизация развивается также в нейропиле. Гипертрофия астроцитов менее выражена, чем при скрепи овец. Потеря нейронов чаще наблюдается в вестибулярных ядрах. Отмечается также некроз, гиперхроматоз и сморщивание нейронов, нейронофагия, дистрофия нейритов (аксонов). Бляшки выявляются редко при исследовании методом двойного лучепреломления после окраски конго красным, что характерно и для агента скрепи. В то же время при новом варианте БКЯ, связанном с губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, при патоморфологическом исследовании выявляются многочисленные бляшки.

**Дифференциальный диагноз.** Губкообразную энцефалопатию необходимо дифференцировать в первую очередь от следующих болезней; нервная форма кетоза (он бывает у высокопродуктивных коров, при этом резко выражена кетонурия и кетонолактация); отравление свинцом (имеет место слепота, сильный скрежет зубами, слюнотечение, анемия, истощение, подергивание мышц); пастбищная тетания (она наблюдается весной при первых выгонах на пастбище); гипوماгнемия (легко лечится внутривенным введением солей магния). ГЭ КРС следует также дифференцировать от ботулизма, листериоза, бешенства, болезни Ауески, злокачественной катаральной горячки и других болезней, протекающих с нервными явлениями.

Основным отличительным признаком от губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота является короткий латентный период (от 5 до 15 дней) острое или подострое течение, повышение температуры тела, отказ от корма и другие симптомы, присущие указанным заболеваниям, биопроба, данные вирусологических, бактериологических и токсикологических исследований.

**Диагностика.** Диагноз на губкообразную энцефалопатию устанавливают на основании патогистологических исследований с обязательным учетом клинико-эпизоотических особенностей, характерных для указанной болезни.

Прижизненная лабораторная диагностика не разработана. Из-за отсутствия у животных иммунного ответа, антитела при ГЭ не вырабатываются, поэтому серологическая диагностика не осуществима.

В соответствии с требованиями Международного эпизоотического бюро и Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (2019) основными диагностическими тестами являются (приложение, табл. 3).

## **ТРЕБОВАНИЯ К ОТБОРУ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГУБКООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Выявление подозреваемых в заболевании ГЭ КРС животных основано на учете клинических признаков. Подтверждение предполагаемого диагноза может быть выполнено с использованием различных методов. Хотя биопроба на животных является самым чувствительным способом установления диагноза ГЭ, однако, она стоит дорого и растягивается на очень долгий срок из-за длительности инкубационного периода (месяцы и годы). В связи с этим, в настоящее время подтверждение диагноза проводится на основе данных иммунологических, гистологических и иммуногистохимических методов при исследовании препаратов поперечных срезов стволовой части головного и шейного отдела спинного мозга.

Мозг для иммунологических, гистологических и иммуногистохимических исследований необходимо отбирать у животных сразу после их убоя или гибели до наступления лизиса тканей или размножения микроорганизмов.

Для проведения иммунологических и гистологических исследований используют продолговатый мозг, в котором наиболее часто выявляют характерные для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота гистологические изменения, а также максимальное количество прионов.

Общий принцип взятия материала для диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота основан на четком представлении о патогенезе предполагаемой инфекции и преимущественной локализации возбудителя в головном мозгу, иными словами - на знании тропизма (аффинитета) возбудителя, путей распространения в организме.

Для оценки эпизоотической ситуации и прогнозирования возникновения очагов заразных болезней животных в регионе необходимо:

собрать базовую информацию;

провести отбор проб биологического и патологического материалов для проведения лабораторных исследований, которые будут являться основным критерием в дальнейшей оценке эпизоотической ситуации.

Отбор проб для исследований проводится с целью диагностики болезни, подтверждения статуса здоровья животного и в целях мониторинга.

При отборе материала необходимо соблюдать меры, предупреждающие заражение людей, контаминирование объектов внешней среды, возможность переноса возбудителя от одной пробы к другой.

При отборе патологического материала для обеспечения биологической безопасности и недопущения заражения человека используют спецодежду.

Вскрытие трупа производит только ветеринарный врач в спецодежде, защитных очках, резиновых сапогах и перчатках.

Специалист, направляющий материал для исследования, обязан соблюдать условия упаковки проб, обеспечить сохранность их и безопасность для лиц, получающих материал.

Фактором, способствующим повышению достоверности результатов лабораторных исследований, является соблюдение порядка и условий отбора, хранения, транспортировки материала (требования к температурному режиму, времени доставки, первичной пробоподготовки и т.д.).

### ***Условия проведения патологоанатомических процедур и доставки головы в лабораторию (для проведения научных исследований)***

Животное с клиническими признаками ГЭ КРС умерщвляют введением избыточной дозы одного из препаратов: барбитурата — 2-3 г барбитала в растворе, гемоспоридина (1,5-2,0 г на голову), дитилина и др. Голову отделяют от шеи по атлanto-затылочному сочленению. Труп животного сбрасывают в яму глубиной не менее 2 м, засыпают хлорной известью и закапывают, а голову, упакованную в полиэтиленовую пленку, помещают в металлический контейнер, желательнo со льдом, и транспортируют при температуре +2 - +15 °С в вет. лабораторию. Работу выполняют с соблюдением Санитарных норм и правил «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патологическими биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортирования», утвержденных Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 16.01.2017 г № 2.

Голова должна быть доставлена в научную лабораторию в кратчайшее время, поскольку в результате размножения микроорганизмов в тканях мозга или автолиза мозг становится непригодным для гистологического исследования. Замороженный при транспортировке или при хранении в холодильнике мозг также непригоден для проведения анализа, так как в результате замораживания возникают артефакты, мешающие диагностике. При длительной транспортировке или в жаркую погоду целесообразно в контейнер положить лед.

Мозг для гистологических, электронномикроскопических и иммунохимических исследований необходимо брать у животных сразу после их убоя или гибели до наступления лизиса тканей или размножения микроорганизмов.

### ***Извлечение мозга целиком***

Необходимые для извлечения головного мозга инструменты показаны на рис. 17 (приложение). Они включают нож большой с деревянной ручкой, нож ампутационный, скальпель Вирхова, пинцет Шора, анатомические пилы лучковую и листовую, ножницы пуговчатые.

Сразу после доставки в научную лабораторию с дорсальной части головы КРС удаляют кожу. Далее зажимают голову в тиски, осторожно, чтобы не повредить мозг, распиливают лобную кость сбоку вертикально по отношению к глазным ямам с помощью анатомической пилы (приложение, рис. 18, разрез 1). Затем производят надрезы лобной кости с каждой стороны от точек, находя-

щихся на оси глазных ям, продлевая их каудально до наружных слуховых проходов. Продлевают эти разрезы каудально до большого затылочного отверстия также осторожно, чтобы исключить повреждение мозга (разрез 2). Делают продольный разрез посередине лобной и затылочной костей до большого затылочного отверстия (разрез 3). Затем разделяют и удаляют распиленные левую и правую части черепной коробки. Рассекают и снимают твердую мозговую оболочку. Переворачивают голову, чтобы под действием силы тяжести мозг отделился от основания черепа. Продолжают работу, продвигаясь от каудального надреза вперед; для перерезания нервов вентральной стороны черепа используют скальпель. Извлекают мозг целиком, немедленно помещают его в фиксирующий раствор и оставляют в нем на 2 недели (приложение, рис. 19-21) По окончании работы все одноразовые инструменты и материалы должны быть сожжены. Другие инструменты должны подвергаться дезинфекции.

Далее рассекают и снимают твердую мозговую оболочку. После чего переворачивают голову, чтобы под действием силы тяжести мозг отделился от основания черепа. Для перерезания нервов вентральной стороны черепа использовать скальпель. Извлечь мозг целиком, немедленно поместить его в фиксирующий раствор и оставить в нем на 2 недели.

#### ***Фиксация и транспортировка мозга для проведения гистологических и иммуногистохимических методов диагностики ГЭ КРС***

Отобранный целиком мозг в дальнейшем, по согласованию с научной лабораторией фиксируется формалином (для гистологического и иммуногистохимического методов диагностики).

Для фиксации необходима емкость, размер которой позволяет разместить ствол мозга, не деформируя его.

Для фиксации мозга готовят 4% раствор формальдегида, рН 7,0, в количестве по 250 мл на каждую пробу по следующей прописи (приложение, табл. 4).

Образцы ткани мозга от каждого животного следует разместить в отдельных емкостях. Стволовую часть мозга в течение возможно более короткого времени после взятия необходимо поместить в фиксирующий раствор и выдержать в течение 7 суток при комнатной температуре. На 7 день раствор следует заменить на равный объем свежего фиксирующего раствора.

#### **Отбор продолговатого мозга**

В соответствии с «Ветеринарно-санитарными правилами профилактики, диагностики и ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота», утвержденными постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 25 июня 2018 г. № 60 в редакции Постановления МСХП РБ № 117 от 17 ноября 2022 г., для диагностики ГЭ КРС отбор проб мозга основывается на извлечении из черепной коробки стволовой части мозга, где при заболевании прионными инфекциями больше проявляются изменения и локализуется возбудитель.

**Запрещается убой** путем разрушения мозга только через верхнее затылочно-атлантное отверстие. Для проведения диагностических и мониторинговых исследований на ГЭ КРС важным моментом является своевременный и квалифицированный отбор проб мозга.

Применение метода быстрых способов отбора проб головного мозга крупного рогатого скота, пригодных для диагностики ГЭ КРС, диктуются необходимостью анализа большого количества образцов. Такая необходимость возникает в связи с возрастающими требованиями МЭБ по мониторингу данного заболевания, а также в случае вступления страны в ВТО и в целях получения статуса страны.

Для проведения иммунологических и гистологических исследований используют продолговатый мозг, в котором наиболее часто выявляют характерные для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота гистологические изменения, а также максимальное количество прионов (приложение, рис. 22-23)

Следует извлекать стволую часть мозга очень быстро, в крайнем случае, в течение нескольких часов после убоя животного, до наступления автолиза, поскольку автолизированный, а также замороженный-размороженный мозг таким способом извлекается плохо.

Для отбора разработаны технически несложные, безопасные для врача и высокопроизводительные (до нескольких сотен проб в день) способы.

Способы отбора проб мозга крупного рогатого скота через большое затылочное отверстие в условиях мясокомбината, санитарной бойни или ветеринарной лаборатории проводят с использованием трех видов инструментов:

- титановый пробоотборник производства фирмы «Марио» IZTL (Германия) (приложение, рис. 24);
- пластмассовый разовый шпатель-пробоотборник, входящий в комплект приспособлений для отбора проб мозга BSE Extraction Spoon, поставляемый фирмой Bio-Rad (Франция) (приложение, рис. 25);
- металлическая ложка (приложение, рис. 26).

### **Извлечение стволовой части мозга крупного рогатого скота с применением титанового пробоотборника «Mario» производства IZTL (Германия)**

Стволую часть мозга извлекают титановым пробоотборником «Mario» через большое затылочное отверстие из отрезанной по атланта-затылочному сочленению головы крупного рогатого скота. Процесс отбора проб мозга в условиях мясокомбината представлен на рис. 27-31 (приложение) и проводится в следующем порядке:

голову животного положить на анатомический стол в перевернутом положении, затылочной частью к себе;

ввести пробоотборник полуцилиндрическим выступом вверх в большое затылочное отверстие так, чтобы шейный отдел спинного мозга вошел в полость пробоотборника (приложение, рис. 27);

продвинуть пробоотборник внутрь черепа, не поворачивая на 10-12 см так, чтобы полуцилиндрический выступ скользил вдоль стволовой части мозга, перерезая нервы и кровеносные сосуды, и достиг среднего мозга (приложение, рис. 28);

поворачивая прибор влево и вправо на  $180^\circ$ , или сделав оборот на  $360^\circ$ , перерезать ножки мозжечка и нервы (приложение, рис. 29);

повернуть прибор полуцилиндрическим выступом вниз (для облегчения извлечения пробы мозга целесообразно наклонить голову большим затылочным отверстием вниз) и извлечь стволовую часть мозга (приложение, рис. 30);

переместить мозг из полости пробоотборника в емкость для проб, проверить наличие в отбираемом материале области задвижки продолговатого мозга, наиболее важной для диагностики ГЭ КРС (приложение, рис. 31).

### **Извлечение стволовой части мозга КРС с использованием пластикового шпателя BSEExtractionSpoon (Bio-Rad)**

Набор *BSE Extraction Spoon* (Bio-Rad) для отбора проб мозга состоит из пластиковых шпателя и пробирки с заворачивающейся крышкой объемом около 50 мл, двух пар анатомических перчаток, заклеиваемого пакета и этикеток для пробирки с пробой, все размещено в упаковочном пакете.

Стволовую часть мозга извлекают пластиковым шпателем *Sample Extraction Set* через большое затылочное отверстие из отрезанной по атланто-затылочному сочленению головы КРС. Процесс отбора пробы мозга в условиях мяскокомбината представлен на рис. 32-37 (приложение) и проводится в следующем порядке:

отрезанную голову животного необходимо положить на переднюю часть большим затылочным отверстием к оператору. Положение шпателя перед вводом в большое затылочное отверстие представлено на рис. 32-37 (приложение);

шпатель вставить в большое затылочное отверстие выпуклой частью вверх, так, чтобы при продвижении вглубь выступ шпателя двигался в направлении среднего мозга, перерезая краниальные нервы (приложение, рис. 32);

сочетанием движений «назад – поворот влево или вправо на  $15-20^\circ$  – вперед» сделать полный оборот, перерезая ножки мозжечка (приложение, рис. 33);

сочетанием небольших поворотов шпателя вдоль оси влево-вправо и движением назад (приложение, рис. 34) вынуть стволовую часть мозга (приложение, рис. 35);

пробирку перенести в предварительно маркированную пробирку для проб (приложение, рис. 36) и положить в заклеиваемый пакет для проб (рис. 37) и

передать в лабораторию на исследование(приложение, рис. 38-39), а шпатель и перчатки положить в упаковочный пакет и уничтожить сжиганием.

### **Извлечение проб мозга с помощью специальной лопатки( Ложки)**

Для отбора проб мозга с помощью металлической лопатки дополнительно требуются (рис. 40):

- тканевые ножницы;
- металлическая лопатка;
- шпатель с пластиковой ручкой;
- шпатель с металлической ручкой; пинцет.

Стволовую часть мозга также извлекают с использованием металлической лопатки через большое затылочное отверстие из отрезанной по атланта-затылочному сочленению головы крупного рогатого скота. Процесс отбора пробы мозга в условиях мясокомбината представлен на рис. 41-45(приложение) и проводится в следующем порядке:

отрезанную голову животного необходимо положить на переднюю часть большим затылочным отверстием к оператору (приложение, рис. 41). Положение лопатки перед вводом в большое затылочное отверстие представлено на рис. 42 (приложение):

лопатку или лопатку и шпатель вставить в большое затылочное отверстие выпуклой частью вверх, так, чтобы при продвижении вглубь выступ шпателя двигался в направлении среднего мозга, перерезая краниальные нервы (приложение, рис. 43);

сочетанием движений «назад – поворот влево или вправо на 15-20° – вперед» сделать полный оборот лопатки, перерезая ножки мозжечка (приложение, рис. 44);

сочетанием небольших поворотов лопатки и шпателя вдоль оси влево-вправо и движением назад с помощью пинцета (рис. 36) вынуть стволовую часть мозга (приложение, рис. 45);

образец мозга перенести в предварительно маркированную пробирку для проб и положить в заклеиваемый пакет для проб и передать в лабораторию на исследование, а металлический шпатель и пинцет положить в дезраствор, а перчатки – уничтожить сжиганием.

### **Транспортировка проб мозга в лабораторию**

Упакованные промаркированные пробы мозга (стволовая часть головного мозга, участок заслонки) должны быть свежими, охлажденными (в крайнем случае – замороженными), посылаются в лабораторию. Образцы упаковывают в пластиковые контейнеры с винтовыми крышками объемом  $\approx$  150-200 мл. Каждый контейнер с пробой мозга маркируют, указывая идентификационный но-

мер животного и укладывают в контейнер с хладоэлементами для транспортировки (приложение, рис. 46-51)

Продолговатый мозг хранится до 24 часов при температуре +2 - +8°C, или до 6 месяцев при температуре -18°C(± 2 °C).

К отобранному патологическому материалу добавляют сопроводительное письмо и прилагаются сопровождающие документы, а именно:

- > акты отбора (для импортированного скота);
- > протокол патологоанатомического вскрытия животного;
- > акты выбраковки скота;

Сопроводительное письмо и сопровождающие документы упаковываются отдельно, запрещается помещать сопроводительное письмо в одну емкость с патологическим материалом.

Патологический материал в лабораторию доставляется нарочным.

В случае обнаружения признаков нарушений функции центральной нервной системы у крупного рогатого скота в первую очередь проводят исследования на бешенство. После получения отрицательного результата на бешенство согласно ГОСТ 26075-2013 п.9 «Биопроба на белых мышах» проводить исследования продолговатого мозга на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота.

Примечание. При подозрении на бешенство необходимо отбирать от одного животного две пробы патматериала: головной мозг (для исследований на бешенство) и продолговатый мозг (для исследований на губкообразную энцефалопатию) и оформлять разными сопроводительными документами с обязательным указанием возраста животного и клинических признаков

## **ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЗГА КОРОВ**

### **Диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота гистологическим методом**

*Взятие образцов ткани из целого мозга.*

После извлечения головной мозг фиксируют две недели при комнатной температуре в 4-5 литрах 4% раствора формальдегида, приготовленного на 0,075 М Na-фосфатном буферном растворе, рН 7,0, при этом на 7 день фиксирующий раствор заменяют на свежий.

Для дифференциальной диагностики необходимо разрезать фиксированный головной мозг поперечно, до спинного мозга, через каждые 3-5 мм и приготовить гистологические препараты из соответствующих участков мозга, которые используются для диагностики бешенства, листериоза, злокачественной катаральной горячки и других болезней, которые необходимо дифференцировать от ГЭ КРС. При этом регистрируют все заметные изменения, которые могут иметь значение для установления дифференциального диагноза.

Если диагностическое исследование проводится только на ГЭ КРС, достаточно брать четыре участка ствола мозга, указанные на рисунке 17, которые наиболее часто поражаются при этом заболевании. Рекомендуется брать следующие участки: шейный отдел спинного мозга, продолговатый мозг на уровне задвижки, продолговатый мозг в области задних ножек мозжечка и средний мозг (область ростральных холмов). С каждой стороны разреза отрезают по одному фрагменту толщиной 3-5 мм, получая таким образом 8 фрагментов (см. рис. 55-56). Поместить кассеты с вырезанными фрагментами ткани мозга на 24 часа в фиксирующий раствор. Целесообразно проводить механическое перемешивание раствора магнитной мешалкой для ускорения проникновения формалина в образцы ткани мозга.

#### *Взятие образцов ткани из стволовой части мозга*

Из ствола мозга, фиксированного в формалине в течение 2 недель, вырезают фрагменты толщиной 3-5 мм, указанные на рисунках 52-53 (приложение) и помещают их в фиксирующий раствор для полной фиксации минимум на 24 ч.

#### *Обезвоживание образцов ткани и заливка их парафином*

Для обезвоживания используют этиловый спирт и хлороформ, которые должны быть очищены путем перегонки и абсолютизированы. Образцы ткани, предназначенные для обезвоживания, должны быть не толще 5 мм. Процесс обезвоживания проводить по схеме, указанной в таблице 5. При этом особенно важно строго соблюдать продолжительность обезвоживания в 70% этаноле. Если фиксированную в формалине ткань мозга оставить в 70%-ном спирте на более длительный период, могут возникнуть артефакты в виде вакуолей, что в дальнейшем усложнит постановку диагноза. В случае невозможности проведения процедур обезвоживания без задержек выполнения этапов, образцы ткани лучше оставить в формалине. Обезвоживание образцов ткани и их пропитывание смесью воска и парафина проводят по общепринятой последовательности

Обезвоживание образцов ткани, пропитывание воском и парафином проводят вручную или с применением автоматического оборудования (автоматический тканевой процессор модели ТРС-15 и прибор модели ТБС-88 производства фирмы "Medita", Германия).

#### *Подготовка срезов для гистологического исследования и их окрашивание*

Образец ткани, после пропитывания смесью 95% парафина и 5% воска, перекалывают в форму для заливки. На форму помещают кассету наружной поверхностью вниз, заливают блок смесью 95% парафина и 5% воска с помощью специального прибора и быстро охлаждают до  $-15^{\circ}\text{C}$ , для предотвращения кристаллизации парафина.

С парафиновых блоков получают срезы толщиной 5 мкм. Полученные срезы расправляют на поверхности воды с температурой  $40-45^{\circ}\text{C}$ , переносят на предметные стекла и фиксируют прогреванием при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 12-18 часов.

Время окрашивания гематоксилином подбирают экспериментально для достижения оптимальной интенсивности окраски.

#### *Анализ полученных препаратов*

Окрашенные препараты исследуют с использованием светового микроскопа при 100-400 кратном увеличении. Первыми исследуют срезы, полученные из области задвижки, поскольку в этой области ткань мозга поражается в максимальной степени. Вакуолизацию перикарионов нервных клеток при ГЭ КРС, по сравнению со скрепи овец, наблюдают значительно реже. Чаше наблюдают вакуолизацию отростков нейронов (нейропилей), области локализации которых указаны стрелками на схеме сечения мозга в области задвижки (рис. 57). Если вакуолизация отростков и перикарионов в этой области не обнаружена, исследуют срезы из других областей, указанных на рис. 58.

При ГЭ КРС большое диагностическое значение придается губкообразным изменениям, связанным с гибелью нейронов, поскольку потеря нервных клеток является основным признаком ГЭ КРС, по меньшей мере, в вестибулярном ядерном комплексе.

При гистологическом анализе срезов мозга животных, больных ГЭ КРС, обычно не наблюдают воспалительной реакции и миграции клеток крови в ткань мозга – признаков, характерных для инфекционных болезней. Перипикулярный и периваскулярный отеки при правильном взятии и фиксации проб должны отсутствовать.

При гистопатологической диагностике ГЭ КРС учитывают следующие особенности:

— рассеянная вакуолизация в белом веществе не является признаком ГЭ КРС;

— необходимо различать губкообразные изменения и вакуолизацию при ГЭ КРС от тех, которые могут возникать при подготовке образцов (артефактов). Обычно они отличаются по форме и локализации;

— вакуолизация перикарионов нервных клеток в области красных ядер среднего мозга обычно встречается у здорового КРС и, при отсутствии вакуолей в других областях стволовой части мозга, не является признаком ГЭ КРС;

— атрофия и некроз нейронов характерны для терминальной фазы ГЭ КРС, однако не являются специфическими признаками этой болезни и учитываются только при наличии вакуолизации нейропилей и/или перикарионов нервных клеток.

**Диагноз ГЭ КРС считают положительным** при наличии характерной вакуолизации в сером веществе (губкообразные изменения). Вакуолизацию перикарионов и отростков нервных клеток наблюдают обычно с двусторонним симметричным расположением относительно оси продолговатого мозга. Наличие других форм дегенерации нейронов – атрофии и некроза, также подтверждает диагноз, если при этом имеются вакуоли. Церебральный амилоидоз имеет место при ГЭ КРС, но лишь в виде редких очаговых отложений в небольшом числе случаев.

При обнаружении вакуолизации в области задвижки необходимо подвергнуть гистологическому исследованию другие отделы мозга животного для того, чтобы поставить более точный диагноз. При этом важно изучить топографическое распределение повреждений. Для подтверждения двустороннего симметричного расположения пораженных участков мозга необходим его полный поперечный разрез.

*Диагноз ГЭ КРС считают отрицательным, если* в результате гистологического анализа не обнаружена вакуолизация в частях мозга, указанных на рис. 17.

*Диагноз ГЭ КРС считают сомнительным, если:*

а) наблюдают присутствие в сером веществе нейропиля единичных вакуолей нехарактерной формы;

б) в случае механического повреждения, замораживания или автолиза ткани отделов головного мозга, необходимых для анализа.

К сомнительным случаям следует также отнести отсутствие вакуолизации в частях мозга, у животных, подозреваемых по клиническим признакам. В этих случаях, для постановки окончательного диагноза, следует использовать иммунологические методы выявления PrP<sup>BSE</sup> в тех же фрагментах мозга.

### **Диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота электронно-микроскопическим методом**

Среди основных этапов пробоподготовки материала для электронной микроскопии следует выделить следующие:

- 1) фиксация (захват объекта на нужной стадии в его нативном состоянии);
- 2) дегидратация (замещение воды органическими растворителями – этиловым спиртом, ацетоном);
- 3) заключение в смолу (пропитка материала специальными смолами для придания ему твердости и облегчения последующей нарезки срезов);
- 4) получение ультратонких срезов;
- 5) окрашивание ультратонких срезов и просмотр образцов с помощью электронной микроскопии.

Наиболее важным этапом является фиксация исследуемого материала для сохранения его нативной структуры, т.е. максимально близком прижизненному. Чаще всего глутаровый альдегид (рабочие концентрации от 2 до 5%), приготовленный на 0,1М фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (рН 7,3-7,4) или на 0,1М какодилатном буфере (рН 7,3-7,4). Показано, что наиболее оптимальной концентрацией глутаральдегида является 2,5%.

Оптимальное время, необходимое для фиксации, варьирует с момента, прошедшего после взятия ткани, и до попадания ее в фиксатор, размера кусочка, концентрации фиксатора и применяемого буферного раствора.

Наилучшие результаты демонстрирует следующий способ фиксации почечной ткани: 2,5% раствор глутарового альдегида в 0,1М фосфатно-солевом буфере (рН 7,3-7,4). Инкубация в холодильнике не менее 2 и не более 4 часов и отмывка в фосфатном буфере 2-3 раза по 10 минут.

Для ультраструктурных исследований фиксированные глутаральдегидом образцы ткани далее постфиксируют в 1% растворе тетраоксида осмия ( $\text{OsO}_4$ ), что позволяет стабилизировать большую часть клеточных фосфолипидов.

Дальнейшая обработка сводится к дегидратации и пропитке ткани заливочным материалом для получения ультратонких срезов. Образцы ткани проводят через батарею спиртов возрастающей концентрации, от 30% до 100% этилового спирта, по 5-10 минут в каждом растворе. После 100%-ного этанола образец переносят в чистый ацетон, а после ацетона материал на несколько часов помещают в смесь смол (эта процедура повторяется несколько раз). Затем смесь заменяется чистой смолой. Образец помещается в специальные формы и заливается чистой смолой. Все пропитки проводятся на шейкере при непрерывном перемешивании. Затем образцы переносят в свежую порцию чистой смолы при помощи препаровальной иглы, раскладывают по пластиковым формам и помещают в термостат для полимеризации при  $60^\circ\text{C}$  в течение 2-х суток.

После получения ультратонких срезов их иммобилизируют на сеточки, которые затем окрашивали в растворах уранилацетата и цитрата свинца (по Рейнольдсу) для усиления контраста. Методика окраски: 1) окраска уранилацетатом (3 мин.); 2) промывка дистиллированной водой (30 секунд под струей дистиллированной воды); 3) окраска цитратом свинца (4 мин.); 4) отмывка под струей дистиллированной воды. Окрашивание проводят на каплях раствора красителя, помещая сеточки на капли срезами вниз. Для предотвращения выпадения свинца окраску осуществляют на капле цитрата свинца, которую помещают на пленку парафильма под чашку Петри и обкладывают гранулами  $\text{NaOH}$ .

Материал для проведения электронной микроскопии следует транспортировать в 2,5% растворе глутарового альдегида, приготовленного на 0,1М фосфатного буфера (рН 7,3) в закрытой емкости. Доставку материала необходимо осуществлять в течение 1-1,5 ч. Фиксация и заливка материала должна включать 3 этапа.

#### 1 этап: собственно фиксация и дегидратация

1) Фиксация в глутаровом альдегиде: 2,5% раствор глутарового альдегида в фосфатном буфере. Инкубация в холодильнике не менее 2 и не более 4 часов.

2) Отмывка в фосфатном буфере 2-3 раза по 10 минут.

3) Постфиксация 1% раствором тетраоксида осмия в течение 1 часа в холодильнике (2% раствор и фосфатный буфер в соотношении 1:1).

4) Отмывка в фосфатном буфере 2-3 раза по 10 минут.

5) Дегидратация в спиртах возрастающей концентрации:

30% – 10 минут, 50% – 10 минут, 70% – оставить на сутки.

#### 2 этап: дегидратация и предварительная заливка

6) Дегидратация в спиртах:

96% – 10 минут, абсолютный спирт I – 10 минут (перед заливкой – поместить на фильтровальную бумагу), абсолютный спирт II – 10 минут.

7) Предварительная заливка

Ацетон – 10 мин. (2 раза). Заливка ацетоном и смесью смол в соотношении 1:1 на ночь при комнатной температуре (не менее 12 часов).

Смесь смол: смолы марки Spurr или аналоги, обладающие более низкой вязкостью по сравнению с другими смолами.

### 3 этап: собственно заливка материала

8) Заливка материала в порцию чистой смеси смол и инкубация не менее 4 часов на шейкере. Заливка в другую порцию чистой смеси в специальные формы.

9) Инкубация в термостате при 60 °С в течение 12 часов. После полимеризации смол извлекают полученные блоки из заливочных форм для дальнейшего приготовления ультратонких срезов.

**Учет результатов исследования.** При электронной микроскопии определяют специфические ультраструктурные изменения (спонгиоз, астроцитоз, потерю нейронов). Спонгиозные изменения наиболее часто выявляются в центральном сером веществе среднего мозга. Они характеризуются образованием электронно-прозрачных мембранно-связанных вакуолей внутри нейронов и их отростков, наличием множественных вакуолей различной величины, содержащих фрагменты структурно-модифицированных мембран, а также мембранно-связанных включений, состоящих из трубочек диаметром 10 нм. В ряде случаев выявляются характерные тубуловезикулярные структуры (диаметром 10-25 нм), являющиеся характерным ультраструктурным признаком репликации патологического агента.

## **Диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота иммуногистохимическим методом**

### ***Подготовка срезов для иммуногистохимического окрашивания***

Срезы толщиной 5-7 мкм получают с использованием микротомы (модели Microm HM 335E), расправляют на поверхности воды при температуре 40-45 °С и переносят на предметные стекла, предварительно обработанные 0,1% водным раствором поли-L-лизина или раствором аминоалкилтриэтоксисилана (Silane-prep slides, SIGMA, 1998, P-0425). После инкубации при 37 °С в течение 16-18 часов препараты депарафинизируют способом, представленным в таблице 5 (приложение). (Процедура проводилась с использованием процессора для окрашивания гистологических препаратов DRS-601).

### ***Иммуногистохимическое окрашивание***

Иммуногистохимическое окрашивание препаратов мозга, полученных от подозреваемых в заболевании ГЭ КРС животных, проводят с одновременной обработкой положительного и отрицательного контрольных препаратов ткани мозга КРС, полученных, соответственно, от больного ГЭ\* и здорового животных.

С целью уменьшения расхода реагентов все инкубации проводят в тонком слое жидкости между предметными стеклами, собранными в пакет и фиксированными зажимом. Этапы иммуногистохимического окрашивания описаны ниже.

### *Определение оптимального разведения сыворотки*

Для проведения реакции используют антисыворотки, полученные на иммуногенные препараты, приготовленные на основе синтетических пептидов, включающих антигенные детерминанты PrP. Антисыворотки получают посредством иммунизации лабораторных животных (кроликов) водно-масляными эмульсиями, приготовленными на основе полного или неполного адьюванта Фрейнда и водных растворов свободных пептидов-фрагментов PrP. Антипептидную активность полученных сывороток предварительно определяют методом ИФА и в дальнейшем используют в иммуногистохимическом методе только те из них, которые имеют активность  $10^4$  и выше.

Пригодными для диагностики ГЭ КРС иммуногистохимическим методом считают только те сыворотки, которые взаимодействуют со скоплениями PrP<sup>BSE</sup> в нейронах, их отростках или между глиальными клетками в разведении не менее 1:500, при условии, что заметный фон в BSE-негативных препаратах имеет место в разведении, не превышающем 1:200.

Рабочим разведением считают такое, которое обеспечивает высокую интенсивность окрашивания PrP<sup>BSE</sup> в BSE-позитивных препаратах и отсутствие фона в BSE-негативных препаратах и составляет от 1:500 до 1:2000.

### *Обработка препаратов протеиназой К и перекисью водорода*

С целью уменьшения фона содержащийся в нейронах нормальный клеточный прионный белок (PrPC) удаляют обработкой протеиназой К, при этом он гидролизует, а патогенная изоформа прионного белка (PrP<sup>BSE</sup>) остается, поскольку она устойчива к протеиназе К. Для этого сразу после отмывания препаратов, фиксированных на предметных стеклах, от парафина, их помещают в раствор фосфатно-солевого буферного раствора (ФБС) и проводят термическую обработку в воде. Затем обрабатывают фиксированные на стеклах препараты раствором протеиназы К на ФБС и промывают буфером дважды. Для удаления эндогенных пероксидаз срезы обрабатывают перекисью водорода.

### *Реакция с PrP-специфичными антисыворотками*

Для блокирования неспецифически связывающих участков используют раствор бычьего сывороточного альбумина или нормальной лошадиной сыворотки, приготовленных на буфере. Блокирующий раствор наносят на препараты и затем промывают. Раствор PrP-специфичной сыворотки на ФБС в рабочем разведении наносят на препараты и инкубируют во влажной камере, затем дважды промывают.

### *Реакция с антивидовыми биотинилированными антителами*

После промывания ФБС препараты высушивают фильтровальной бумагой. Биотинилированные антитела разводят ФБС, наносят на препараты и помещают во влажную камеру. После инкубации препараты промывают ФБС.

### *Реакция с конъюгатом авидин-пероксидаза*

После промывания ФБС препараты снова высушивают фильтровальной бумагой. Конъюгат экстравидин-пероксидаза, разведенный ФБС, наносят на

препараты и помещают во влажную камеру. После инкубации препараты дважды промывают ФБС.

#### *Окрашивание аминоэтилкарбазолом*

С этой целью готовят раствор аминоэтилкарбазола и перекиси водорода на Na-ацетатном буферном растворе. Наносят раствор на препараты и инкубируют. При проведении реакции в тех местах препарата, где локализован PrP<sup>BSE</sup> и связанные с ним комплексы, состоящие из PrP-специфичных антител, антивидовых биотинилированных антител и конъюгата авидин-пероксидаза, накапливается нерастворимый продукт окисления аминоэтилкарбазола, имеющий красную окраску. Реакцию останавливают осторожным промыванием дистиллированной водой. Затем препараты помещают в воду.

#### *Окрашивание клеточных структур гематоксилином*

Для окрашивания используют только водный раствор гематоксилина. Стекла с препаратами погружают в раствор гематоксилина Мейера и инкубируют. Затем препараты промывают водой и окрашивают.

#### *Оценка препаратов методом оптической микроскопии.*

После промывания препараты заливают глицерином с ФБС и накрывают покровным стеклом. Препараты анализируют с использованием оптического микроскопа при увеличении 40 – 400 раз.

Накопление PrP<sup>BSE</sup> происходит преимущественно в нейронах, а также в их отростках и в глии. В результате иммуногистохимического окрашивания могут наблюдаться также характерные цепочки коричневого цвета, расположенные вдоль отростков нейронов, находящихся в плоскости среза. Если отросток нейрона расположен перпендикулярно или наклонно по отношению к плоскости среза, то он окрашивается в виде круглого или овального темно-коричневого пятна.

### ***Интерпретация результатов иммуногистохимического окрашивания***

При иммуногистохимическом анализе срезов ткани мозга окрашивается только патогенная изоформа прионного белка, поскольку нормальная изоформа гидролизуетея протеиназой К.

***Диагноз на ГЭ КРС считают положительным***, если в анализируемом препарате ткани мозга КРС наблюдают характерное окрашивание скоплений PrP<sup>BSE</sup> в перикарионах и отростках нейронов и / или накопление PrP<sup>BSE</sup> в глии при условии, что в одновременно окрашенных, при одинаковых условиях обработки, контрольном BSE-позитивном препарате наблюдают аналогичное окрашивание скоплений PrP<sup>BSE</sup>, а в BSE-негативном — полное отсутствие окрашивания или слабый светло-коричневый фон (приложение, рис. 54-57).

***Диагноз на ГЭ КРС считают отрицательным***, если в анализируемом препарате ткани мозга КРС наблюдают отсутствие окрашивания или слабое

светло-коричневое окрашивание нейронов при условии, что в одновременно окрашенных при одинаковых условиях обработки контрольном BSE-позитивном препарате наблюдают характерное окрашивание скоплений PrP<sup>BSE</sup> в перикарионах и отростках нейронов и / или накопление PrP<sup>BSE</sup> в глии, а в BSE-негативном — отсутствие окрашивания или слабый светло-коричневый фон.

### **Характеристика быстрых иммунологических тестов при диагностике ГЭ КРС**

В основе теста *Prionics Check Western* лежит процедура western-блотинга для выявления протеазоустойчивой части PrPSc. PrPSc выявляется после обработки пробы протеиназой К с учетом трех характеристик: устойчивости к протеиназе К, определенного размера молекул при электрофорезе (27–30 kDa) и связывания со специфическим антителом (моноклональные антитела 6Н4). Процедура исследования заключается в следующем: кусочек мозга (около 0,5 г) гомогенизируется, разрушается протеиназой К, неразрушенная часть (если она есть) денатурируется нагреванием, подвергается электрофорезу в полиакриламидном геле, переносится на мембрану, обрабатывается антителами (вначале мышинными моноклональными, затем – антимышиными, мечеными щелочной фосфатазой), после нанесения субстрата производится учет результатов. Все исследование занимает 7-8 часов.

**Prionics Check LIA** – это хемилюминесцентный ИФА. После гомогенизации и обработки протеиназой К исследуемые пробы инкубируются сначала с антителами, мечеными ферментом. На этом этапе ни антитела, ни антиген не адсорбированы на твердой фазе. После инкубации смесь вносится в черные планшеты с иммобилизованными на них моноклональными антителами 6Н4, специфичными к PrPSc. Если исследуемая проба содержит PrPSc, комплекс PrPSc-конъюгат связывается с иммобилизованными на планшете антителами. Если исследуемая проба не содержит PrPSc, то фиксации конъюгата на планшете не происходит, и он удаляется при промывке. После промывки в планшет вносится хемилюминисцирующая субстратная смесь. В случае положительной пробы, при разложении ферментом субстрата наблюдается свечение, регистрируемое при помощи специального прибора. Весь тест может быть выполнен за 4 часа, почти все этапы теста могут быть автоматизированы, поэтому данный тест идеально подходит для лабораторий, проводящих большое количество исследований на ГЭ КРС.

**Bio-Rad Platelia тест** – это “сэндвич”-ИФА с использованием двух моноклональных антител. Подготовка пробы к исследованию включает в себя обработку протеиназой К, денатурацию и концентрацию центрифугированием. Все исследование проводится менее чем за 24 часа. Bio-Rad тест признан наиболее

чувствительным, с его помощью можно выявить животное в инкубационном периоде за 3 мес. до начала клинического проявления болезни.

В основе теста **IDEXX HerdChek BSE** лежит иммуноферментный анализ. На поверхности плашки для ИФА иммобилизован специфичный к прионному белку лиганд. Подготовка проб к исследованию включает гомогенизацию и разведение в растворяющем буфере. После внесения пробы в лунки планшета прионы прочно связываются со специфичным к ним лигандом, покрывающим лунки. После инкубации планшет промывают для удаления несвязавшегося материала, затем добавляют антитела, специфичные к прионам и конъюгированные с пероксидазой хрена. После промывания планшета от несвязавшегося конъюгата добавляют субстрат для пероксидазы. Изменение цвета лунок пропорционально количеству прионного белка, связавшегося с лигандом, иммобилизованным на стенках лунок.

Тест **InPro CDI (CDI)** - conformation-dependent immunoassay – конформационно-обусловленный иммуноанализ) имеет значительные отличия от вышеописанных тестов. После гомогенизации проба обрабатывается протеиназой К, однако в невысокой концентрации, которая не разрушает белки, а лишь способствует отделению нежелательного клеточного вещества при центрифугировании на небольших оборотах. Затем PrP<sup>Sc</sup> концентрируется ультрацентрифугированием с добавлением реактива, способствующего преципитации PrP<sup>Sc</sup>. Далее исследуемая проба делится на 2 части: одна часть не подвергается ни какой обработке (в этой части пробы содержатся антигенные детерминанты PrP<sup>c</sup>, доступные для антител, и антигенные детерминанты PrP<sup>Sc</sup>, недоступные для антител вследствие иной пространственной конфигурации PrP<sup>Sc</sup>), другая часть подвергается денатурации при высокой температуре (после денатурации для антител становятся доступными как антигенные детерминанты PrP<sup>c</sup>, так и антигенные детерминанты PrP<sup>Sc</sup>). Обе части вносятся в лунки ИФА-планшета, предварительно покрытые рекомбинантными антителами к PrP, реагирующими с аминокислотными остатками № 95 – 105. После инкубации не связавшиеся белки удаляются промыванием. На следующем этапе в лунки вносятся рекомбинантные антитела к PrP, реагирующие с аминокислотными остатками № 132 – 156, меченные европием. После инкубации несвязавшиеся антитела удаляются промыванием. Учет результатов проводится путем сравнения интенсивности излучения европия в лунках, содержащих денатурированную пробу, и в лунках, содержащих неденатурированную пробу.

Тест «**Прионикс-стрип**» основан на иммунохроматографической диагностике выявления прионов. После гомогенизации и обработки протеиназой К исследуемые пробы помещаются в лунку и далее в нее помещается иммунохроматографическая полоска, на которую нанесены моноклональные антитела к прионам ГЭ КРС. В результате перемещения по мембране исследуемого ма-

териала происходит взаимодействие прионов с антителами и происходит визуализация. Учет реакции – 10 минут.

### **Вибрационно-индуцированный конверсионный анализ (RT-QUILC тест)**

Метод основан на том, что исследуемый материал (кровь, моча, цереброспинальная жидкость и другие образцы, содержащие минимальное количество молекул приона), помещается в специальный термостатируемый плащечный ридер или флуориметр, где инкубируются в течение 20 часов с 60-секундными циклами вибрации и 60-секундными циклами спокойствия. В качестве маркера используется тиофлафин Т, способный связываться с прионным белком. Когда этот краситель добавляют к пробе, содержащей аномальный протеазорезистентный прионный белок, то он становится интегрированным в процессе полимеризации, что приводит к увеличению флуоресценции с течением времени. Путем повторяющихся циклов инкубации, ведущих к усилению аномальной деятельности PrPSc, возможна активация процессов трансформации нормальных белков, таким образом, экспериментально можно определить не только само наличие инфекционного приона, но и определить минимальные инфекционные дозы.

### ***Биопроба на лабораторных животных***

В комплексе методов посмертной диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота биологические методов диагностики основаны на заражении лабораторных животных материалом от павших животных с признаками поражения центральной нервной системы. В основном для заражения используют различных лабораторных животных - хомяков, морских свинок и белых линий мышей линии BALB/C. Животных заражают интрацеребрально суспензией предварительно прогретого до 100°C в течение 15 минут патологического материала. Мышам вводят 0,03 мл, хомякам и морским свинкам - по 0,5 мл суспензии мозга. Наблюдение за животными проводят в течение 6-24 месяцев.

У мышей болезнь развивается через 280-300 дней после внутримозгового заражения с клиническими признаками поражения мозга - дискоординацией движений, парезом конечностей, гибелью. У хомяков первые клинические признаки отмечаются через 160-200 дней и сопровождаются исхуданием, парезом конечностей, произвольным выделением мочи и кала, гибелью через 200-250 дней после заражения. У морских свинок первые клинические признаки появляются через 18-20 месяцев и сопровождаются исхуданием, дискоординацией движений, «вертячкой», парезом конечностей, гибелью.

Подтверждением положительной биопробы является:

- наличие характерной вакуолизации в сером веществе (губкообразные изменения);
- наличие других форм дегенерации нейронов - атрофии и некроза;
- выявление возбудителя ГЭ КРС одним из быстрых иммунологических тестов.

## **ТРЕБОВАНИЯ ПО МОНИТОРИНГУ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СТАТУСА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

В соответствии с Кодексом здоровья наземных животных Международного эпизоотического бюро (МЭБ 2019 года, [www: http://www.oie.int](http://www.oie.int)) в список МЭБ в категорию болезней крупного рогатого скота включены 13 болезней, в том числе – губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота.

В данном нормативном документе определены требования для получения соответствующего статуса, в том числе по надзору за ГЭ КРС путем проведения диагностических исследований.

Кодексом здоровья наземных животных определены целевые значения в баллах, начисляемых по результатам проводимых диагностических исследований, а также общее количество баллов, требуемых для определенного типа надзора.

Основными данными, учитываемыми при оценке надзора, являются: размер популяции крупного рогатого скота с возрастной стратификацией; количество крупного рогатого скота, протестированного на ГЭКРС, стратифицированного по возрасту и субпопуляциям.

В соответствии с рекомендациями Кодекса наземных животных Международного эпизоотического бюро все страны разделены по степени риска:

**контролируемый риск по ГЭ КРС;**

**незначительный риск по ГЭ КРС;**

**неопределенный риск по ГЭ КРС.**

Республика Беларусь является МЭБ страной с **неопределенным риском по ГЭ КРС.**

Для получения статуса страны с незначительным или контролируемым риском требуется проведение комплекса мероприятий, в том числе:

набрать определенное количество баллов в течение 7 последовательных лет мониторинга заболевания;

количество баллов определяется размером поголовья старше 30 месяцев (приложение, таблица 6);

Система балльной оценки основывается на лабораторном обследовании образцов продолговатого мозга крупного рогатого скота и субпопуляции (приложение, таблица 7).

**В рамках ежегодной программы мониторинга на территории Республики Беларусь должен осуществляться мониторинг таких групп поголовья животных:**

1) крупный рогатый скот в возрасте старше 30 месяцев, имеет признаки изменений в поведении или клинические признаки ГЭ КРС (животные с клиническим подозрением) исследованию подлежат все животные указанной категории (приложение, рис. 58);

2) крупный рогатый скот в возрасте старше 30 месяцев, не ходит, лежит, не способен подняться или двигаться без помощи; крупный рогатый скот старше 30

месяцев, который отправили на вынужденный убой или у которого во время предубойного осмотра были обнаружены нетипичные признаки (ушибы, искалеченные животные или животные, подвергнутые вынужденному забою) - исследованию подлежат все животные указанной категории (приложение, рис. 59);

3) крупный рогатый скот в возрасте старше 30 месяцев, был забит на ферме (хозяйстве) не для потребления человеком, или пало во время транспортировки или на бойне (павшие животные) (приложение, рис. 60);

4) крупный рогатый скот старше 36 месяцев в случае забоя при обычных условиях для потребления человеком - исследованию подлежат все животные указанной категории (приложение, рис. 61).

## **БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИ ИЗВЛЕЧЕНИИ ПРОБ СТВОЛОВОЙ ЧАСТИ МОЗГА КРС**

Соблюдение мер безопасности является важным моментом. Оно осложняется высокой устойчивостью возбудителя, вызывающего ГЭ КРС, к физико-химическим воздействиям. Учитывая опасность попадания его орально, через конъюнктиву глаз и поврежденную кожу, основным принципом соблюдения безопасности является сведение к минимуму контакта человека с патогеном. В связи с этим каждая лаборатория должна разработать свои собственные меры безопасности, основываясь на конкретных условиях, имеющихся в той или иной лаборатории (оборудование, средства индивидуальной защиты и т. п.). Опасность воздействия возбудителя на человека возникает начиная с таких патолого-анатомических процедур, как извлечение мозга. Как на данном этапе, так и в большинстве последующих следует помнить, что ни фиксация формальдегидом, ни последующие процедуры (обезвоживание с использованием органических растворителей, гистохимическое окрашивание) не инактивирует этот возбудитель. Следовательно, как с парафиновыми блоками, так и с предметными стеклами, содержащими срезы тканей, необходимо обращаться, как с образцами, содержащими инфекционный материал. Существуют приемы, применение которых позволяет сократить риск, связанный с этими процедурами. Основным из них является использование автоматических устройств для подготовки и обработки исследуемых образцов, что позволяет уменьшить контакт персонала с возбудителем. С учетом того, что патогенный материал, кроме агента, вызывающего ГЭ КРС, может содержать и другие возбудители опасных зоонозов, необходимо при проведении работ придерживаться Санитарных норм и правил «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патологическими биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортирования», утвержденных Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 16.01.2017 г № 2.

Поскольку, согласно Санитарным нормам и правилам «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными

микроорганизмами и патологическими биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортирования, агент губкообразной энцефалопатии КРС принадлежит к III классу биологической опасности и, как было установлено в 1996 г. британскими исследователями, является причиной появления нового варианта болезни Крейтцфельдта-Якоба – прионной болезни человека, отбор проб мозга необходимо выполнять с применением защитной спецодежды: пластиковая маска, полностью закрывающая лицо от брызг, фартук, нарукавники, резиновые сапоги и перчатки, а также халат с шапочкой.

Известно, что прионы обладают свойствами, по которым они отличаются от известных вирусов: при температуре + 115 °С они погибают только через 1 час, а при + 100 °С – только через 180 минут; проявляют устойчивость к высушиванию, резистентны к действию формальдегида, глутарового альдегида, нуклеаз, фтористого углерода, ультрафиолетовых лучей, ультразвуку, ионизирующей радиации; прионы не погибают в течение 4-х месяцев и более в 20%-ном растворе формалина (из всего живого прион погибает последним); не имеют сердцевины и оболочки; не чувствительны к интерферону, и они не влияют на его образование в клетках, что, как известно, свойственно вирусам; малоустойчивы к действию концентрированных кислот и щелочей, солевых растворов и ионных соединений; не вызывают иммунного ответа и воспаления, так как не обладают свойствами антигенов; интактны к В- и Т- клеткам; не вызывают в клетках цитопатическое действие; обладают свойствами трансмиссии.

По окончании работы резиновые перчатки, бывшие в контакте с тканями животных, потенциально инфицированных возбудителем ГЭ, уничтожают сжиганием, прочую спецодежду автоклавируют при 132°С (избыточное давление 2 атм.) не менее 1 часа (маску, прорезиненные фартук и нарукавники, сапоги) обрабатывают 5% свежеприготовленным раствором хлорной извести или 2% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа и затем моют водой. Аналогично теми же растворами обрабатывают стол, на котором находились головы животных при отборе мозга и другие предметы, бывшие в контакте с биоматериалами подозреваемых на ГЭ животных.

Для обеззараживания после проведения работ по извлечению мозга одним из приспособлений (титановым пробоотборником "Magio", пластиковым шпателем, специальной ложечкой и другими инструментами) следует их погрузить в емкость с 1 или 10 Н раствором натриевой щелочи (NaOH, 40-70 г/литр) в течение 1 часа. При таких условиях происходит денатурация патогенного прионного белка – возбудителя ГЭ КРС. Затем приборы промыть от щелочи проточной водой и использовать для отбора следующей пробы.

### ***Способы дезинфекции***

Способы дезинфекции при работе с возбудителями прионных инфекций должны обеспечить полное разрушение патогенной формы прионного белка. Их выбирают в зависимости от агрегатного состояния, химической и

термической устойчивости обрабатываемого объекта. Растворы предпочтительно стерилизовать автоклавированием.

В качестве дезинфицирующих средств используют высококонцентрированный раствор натрия гидроксида (1Н или 10Н), с воздействием на возбудителя в течение 1 часа при +132 °С, что приводит к полной инаktivации инфекционного агента. Также относительно эффективен 2% натрия гипохлорит при воздействии в течение 2 часов при + 20 °С, снижающий инфекционность на 90%. Также используют и другие химические соединения (60% р-р муравьиной кислоты при комнатной температуре в течение 2 ч, фенолы (50% при комнатной температуре в течение 2 ч, 0,1% раствор хлора при комнатной температуре в течение 1 ч и др.). Ткани крупного рогатого скота, используемые при производстве фармакологических препаратов, рекомендовано обрабатывать натрия гидроксидом и выдерживать при + 136 °С в течение 30 минут, а содержащие жиры жвачных - при температуре не менее +250 °С под давлением 50 атм. в течение, как минимум, 3 часов.

Небольшие объемы высококонцентрированных растворов, содержащих прионный белок, могут быть обработаны добавлением 1/10 объема 20% раствора гипохлорита натрия с последующей инкубацией при комнатной температуре не менее 1 часа. Предметы, непроницаемые или малопроницаемые для дезинфицирующих растворов (в том числе неразмельченный патологический материал, непригодные парафиновые блоки) дезинфицируют только методом автоклавирования, при этом следует обратить особое внимание на достаточное прогревание обрабатываемого объекта.

### ***Физический метод***

Наиболее эффективным режимом является автоклавирование при избыточном давлении 2 атм., при температуре 132-134°С не менее 1 часа. С целью определения времени автоклавирования, достаточного для нагревания каких-либо крупных объектов по всему их объему, внутрь соответствующего объекта помещают термоиндикаторную бумагу или герметично закрытый флакон, содержащий смесь порошков карбамида с сухим красителем (фуксином, феноловым красным, бромтимоловым синим или генцианвиолетом). Карбамид плавится при 132 °С и перемешивается с красителем, что позволяет экспериментальным способом подобрать время автоклавирования, достаточное для прогревания всего объема обрабатываемого объекта.

### ***Химические методы***

Применяют обработку 2% раствором гипохлорита натрия или 8% раствором гидроксида натрия. В обоих случаях обработку проводят не менее 1 часа.

## **КОМПЛЕКС МЕРОПРИЯТИЙ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И БОРЬБЕ С ГУБКООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Лечение** при ГЭ КРС неэффективно, так как оно начинается при появлении клинических признаков, когда в головном мозге развились необратимые патоморфологические изменения. Прогноз при указанной болезни неблагоприятный.

**Специфическая профилактика.** При ГЭ КРС не вырабатывается ни клеточного, ни гуморального иммунитета, поэтому до сих пор не создано никакой вакцины. Проводятся исследования в этом направлении.

**Мероприятия по профилактике и ликвидации болезни в различных странах мира.**

Отсутствие способов лечения и специфической профилактики свидетельствуют в пользу общей профилактики, которая предусматривает запрещение использования для корма крупного рогатого скота мясокостной муки или отходов переработки животных.

В Англии с 1988 года запрещено скармливание крупному рогатому скоту кормов, содержащих белок жвачных, с 1990 года запрет распространен на животных всех видов, включая свиней, домашних и декоративных птиц.

Решением Совета Европы № 2000/766 EG от 4 декабря 2000 года с 1 января 2001 года в странах Европейского Союза запрещено скармливать животным, предназначенным для пищевой промышленности, переработанных животных протеинов (мясная и костная мука, кровяная мука, сухая плазма и прочие продукты крови, гидролизованные протеины, мука из рогов и копыт, мука из отходов птицы, мука из пера, рыбная мука, дикальцийфосфат, желатин и другие продукты, включая их смеси и кормовые добавки, содержащие данные ингредиенты).

Запрещены также в рамках Европейского Союза включенные в оборот, торговля, ввоз и вывоз в третьи страны (список третьих стран включает и Республику Беларусь) переработанных животных протеинов с целью скармливания животным, которые предназначены для пищевой промышленности.

Запрет не распространяется на молоко и молочную продукцию; протеиносодержащие продукты и жиры, полученные из тканей рыб и предназначенных для скармливания рыбам.

**В Республике Беларусь с 2018 г. проведение мероприятий по профилактике, диагностике и ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота регламентируется «Ветеринарно-санитарными правилами профилактики, диагностики и ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота», утвержденными постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 25 июня 2018 г. № 60 в редакции Постановления МСХП РБ № 117 от 17 ноября 2022 г. (приложение).**

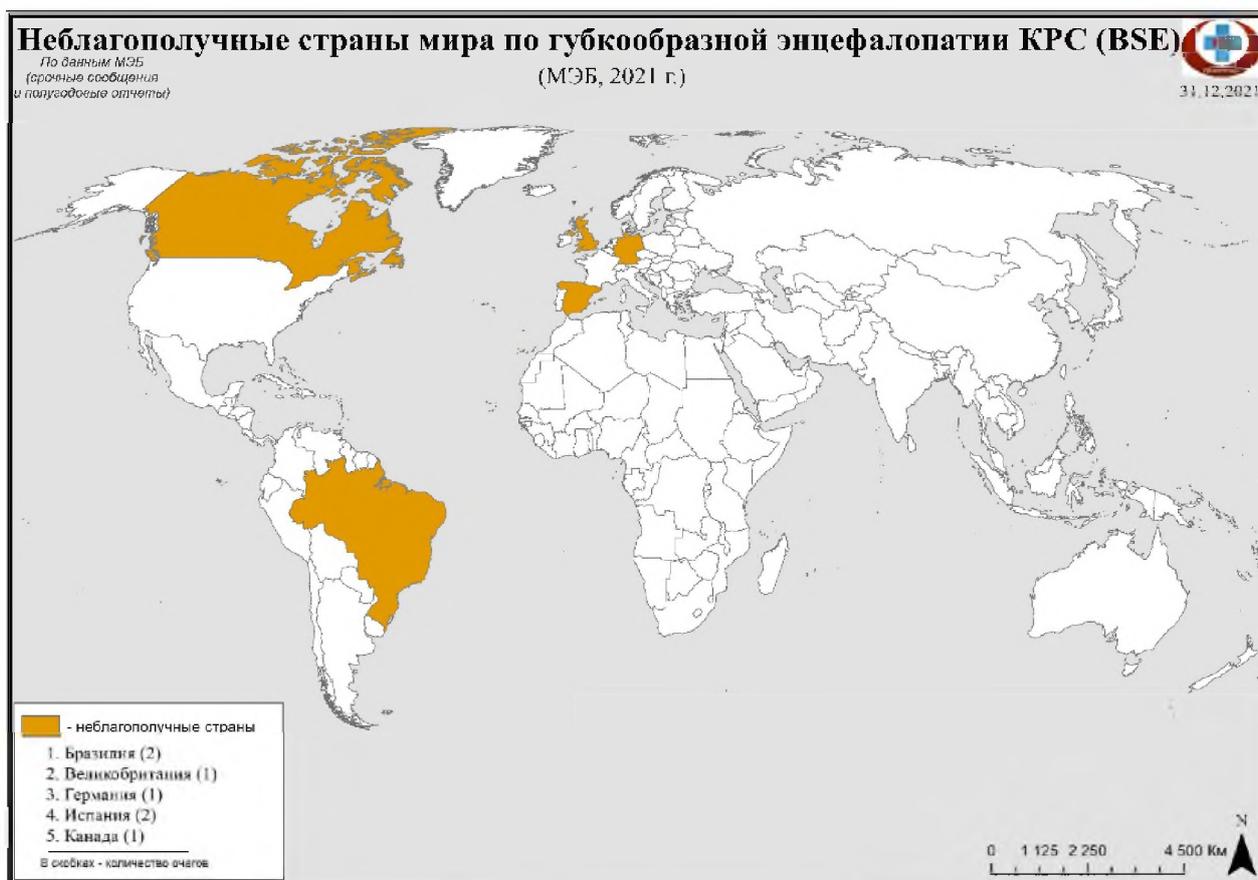
## Список использованной литературы

1. Глобальные проблемы бешенства : монография / А. Н. Чернов [и др.] ; ред. А. Н. Чернов. – Краснодар : КубГАУ, 2020. – 665 с.
2. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: бактериальные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 700 с.
3. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.
4. Иммуноблотинг при диагностике губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота : учебное пособие для студентов факультета ветеринарной медицины, преподавателей, врачей и слушателей ФПК / П. А. Красочко, [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2005. – 25 с.
5. Инструкция по мерам профилактики и борьбы с губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота / П. А. Красочко [и др.]. – Минск, 2001. – С. 61–65.
6. Инструкция по диагностике губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота / П. А. Красочко [и др.]. – Минск, 2001. – С. 65–96.
7. Асташонок, А. Н. Инфекционные  $\beta$ -амилоиды: характеристика патологических белковых наноструктур, выделенных из ткани головного мозга в эксперименте *in vivo* / А. Н. Асташонок, Н. Н. Полещук // Новости медико-биологических наук. – 2021. – № 4. – С. 173–179.
8. Инфекционные спонгиозоформные церебральные амилоидозы: патоморфология, выделение и идентификация  $\beta$ -амилоидов с использованием электронного и атомно-силового анализа / С. А. Гузов [и др.] // Сборник материалов IV съезда патологоанатомов Республики Беларусь с международным участием, 24–25 марта 2022 г., Минск. – Минск, 2022. – С. 81–84.
9. Инфекционная патология животных / А. Я. Самуйленко [и др.] ; ред. А. Я. Самуйленко. – Москва : ВНИИТИБП, 2010. – Т. III : Прионы и прионные болезни. – 128 с.
10. Кодекс здоровья наземных животных. Т. I : Общие положения // МЭБ [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа : [https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/oie/oie\\_terrestrial\\_code\\_g\\_t1.pdf](https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/oie/oie_terrestrial_code_g_t1.pdf). – Дата доступа : 22.05.2023.
11. Кодекс здоровья наземных животных МЭБ. Т. II : Рекомендации по

- болезням списка МЭБ и другим важным для международной торговли болезням // МЭБ [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа : [https://web.oie.int/rr-europe/eng/eng/Code/Ru\\_csat-vol2\\_2019.pdf](https://web.oie.int/rr-europe/eng/eng/Code/Ru_csat-vol2_2019.pdf). – Дата доступа : 22.05.2023.
12. Ковалев Н. А. Вирусы и прионы в патологии животных и человека / Н. А. Ковалев, П. А. Красочко. – Минск : Беларуская навука, 2012. – 426 с.
  13. Красочко, П. А. Состояние диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота / П. А. Красочко, Н. Н. Полещук, С. В. Бойчук // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария. – 2005. – № 2. – С. 14–19.
  14. Методические рекомендации по диагностике прионных инфекций крупного рогатого скота и овец методом биопробы на животных / Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского, Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии ; сост.: П. А. Красочко [и др.]. – Минск, 2008. – 21 с.
  15. Новые и возвращающиеся болезни животных / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 400 с.
  16. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учебно-методическое пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.
  17. Патоморфологическая диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота в Республике Беларусь / П. А. Красочко [и др.] // Материалы Первого Международного ветеринарного конгресса, Алматы, 10–11 октября 2002 г. – Алматы, 2002. – С. 146–147.
  18. Прионные болезни человека и животных (классификация, патогенез, клиника, диагностика) / Н. Н. Полещук [и др.] // БелНИИЭМ – практическому здравоохранению. – 2001. – Т. 7, № 2. – С. 4–17.
  19. Современные методы дезинфекции в условиях промышленного животноводства в странах Евразийского экономического сообщества / П. А. Красочко [и др.]. – Краснодар, КубГАУ, 2020. – 139 с.
  20. Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. В. Максимович [и др.] ; под ред. В. В. Максимовича. – 2 изд., перераб. и доп. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 824 с.
  21. Annual incidence rate of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in OIE Member Countries that have reported cases, excluding the United Kingdom [Electronic resource]. – Mode of access : [http://www.oie.int/eng/info/en\\_esbincidence.htm](http://www.oie.int/eng/info/en_esbincidence.htm). – Date of access : 22.05.2023.
  22. Arrow, M. Bovine spongiform encephalopathy (BSE). Suspect cases - carcass disposal / M. Arrow // State Vet. J. – 1995. – Vol. 5, № 2. – P. 3–4.
  23. Bovine spongiform encephalopathy / J. S. Gilmour [et al.] // Vet. Rec. – 1988. – Vol. 122. – P. 142–143.

24. Bradley, R. Encephalopatia Spongiforma Bovina (ESB): epidemiologie si cercetare / R. Bradley // Proc. 6th Nation. Congr. Vet. Med., Sinaia, 25-28 oct. 1994. – Sinaia, 1994.
25. BSE monitoring in the Republic of Belarus / P. A. Krasochko [et al.] // Animal Prion Diseases: The Americas Conf. Ames, Iowa, October 14–16, 2004. – Iowa, 2004. – P. 25.
26. Final Report of the Scientific Steering Committee on the assessment of the Geographical BSE-Risk (GBR) of Belarus [Electronic resource]. – 2003. – Mode of access : [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html). – Date of access : 22.05.2023.
27. Hoinville, L. J. Clinical signs of reported cases of BSE and their analysis to aid in diagnosis / L. J. Hoinville // Cattle practice. – 1991. – Vol. 1. – P. 59–61.
28. Pattison, I. H. Origins of BSE / I. H. Pattison // Vet. Rec. – 1991. – Vol. 128, № 11. – P. 262–263. Paul, W. E. Fundamental Immunology / W. E. Paul. – New York, 1999.
29. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018 [Electronic resource]. – Mode of access : <https://www.oie.int/?id=75>. – Date of access : 22.05.2023.

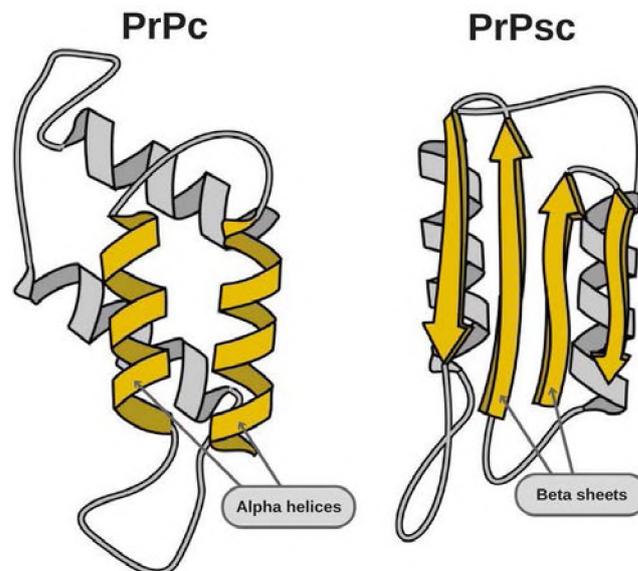
## ПРИЛОЖЕНИЯ



**Рисунок 1 – Эпизоотическая ситуация по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота в мире в 2021 году**  
([https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/bse\\_2021.pdf](https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/bse_2021.pdf))



**Рисунок 2 – Стенли Бен Прюзинер**  
(<https://ru.wikipedia.org/wiki/Прюзинер>)



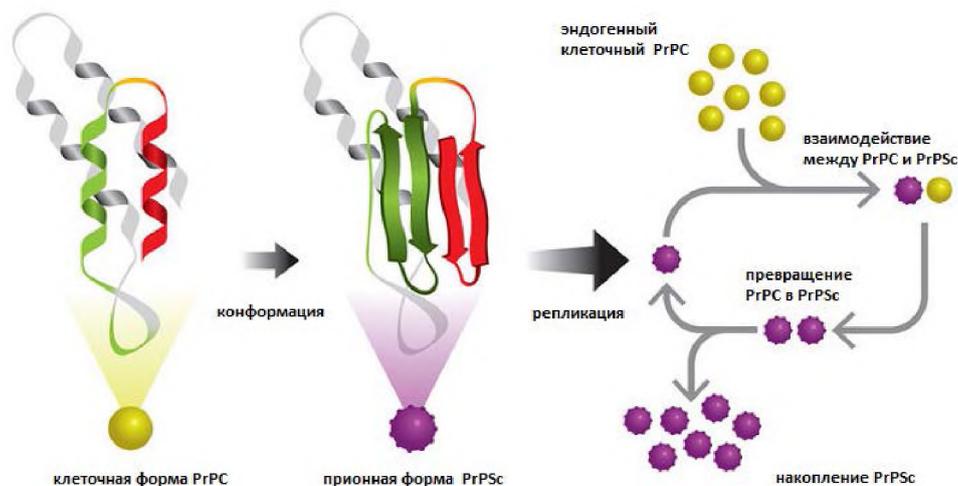
**Рисунок 3 – Схематическое изображение нормальных и патологических прионов: А – нормальный прион PrP<sup>c</sup>, Б – патологический прион PrP<sup>Sc</sup>**  
 ([https://present5.com/presentation/3/45534893\\_315140517.pdf-img/45534893\\_315140517.pdf-18.jpg](https://present5.com/presentation/3/45534893_315140517.pdf-img/45534893_315140517.pdf-18.jpg))

**Таблица 1. Инфицированность органов и тканей больных губкообразной энцефалопатией коров**

Степень инфицированности	Органы и ткани
Высокая	Головной и спинной мозг (кроме коры головного мозга и спинномозговой жидкости), глазные яблоки
Средняя	Селезенка, миндалины, подвздошная кишка тонкого отдела и средняя часть толстого отдела кишечника, надпочечники, кора головного мозга, шишковидная железа (эпифиз), плацента, периферическая часть толстой кишки
Низкая	Периферические нервы, гипофиз, слизистая оболочка носа, тимус, цереброспинальная жидкость, костный мозг, печень, легкие, поджелудочная железа, надпочечники, моча, фекалии
Инфицированность не выявлена	Скелетные мышцы, сердце, молочные железы, почки, щитовидная железа, слюнные железы, половые органы, хрящевая и соединительные ткани, кожа, кость, волосы, а также кровь, молоко, молозиво, слюна, желчь

**Таблица 2. Содержание приона в органах и тканях при скрепи овец и ГЭ КРС (lg мышечных интрацеребральных ЛД<sub>50/г</sub> или /мл ткани)**

Степень инфицированности	Категории	Ткани	Скрепи овец	ГЭ КРС
Высокая	I	Головной мозг	5.6	5.3
		Спинной мозг	5.4	< 2.0
Средняя	II	Подвздошная кишка	4.7	< 2.0
		Ободочная кишка	4.5	< 2.0
		(проксимальная часть)	4.5	< 2.0
		Селезенка	4.2	< 2.0
		Миндалины Лимфоузлы	4.2	< 2.0
Низкая	III	Седалищный нерв	3.1	< 2.0
		Ободочная кишка (дистальная часть)	< 2.7	< 2.0
		Тимус	2.2	< ??
		Костный мозг	< 2.0	< 2.0
		Печень	< 2.0	< 2.0
		Легкие	< 2.0	< 2.0
		Поджелудочная железа	< 2.1	< 2.0
Инфицированность не выявлена	IV	Кровяной сгусток	< 1.0	< 1.0
		Сердечная мышца	< 2.0	< 2.0
		Почки	< 2.0	< 2.0
		Молочная железа	< 2.0	< 2.0
		Молоко	-	??
		Сыворотка	-	< 1.0
		Скелетные мышцы	< 2.0	< 2.0
		Тестикулы	< 2.0	< 2.0



**Рисунок 4 – Схема превращения нормальных прионов в патологические (<https://laesus-de-liro.livejournal.com/tag>)**



**Рисунок 5 - Облизывание носа**  
(<http://khvastovichi-vet.ru/pamyatki-dlya-naseleniya/gubkoobraznaya-enczefalopatiya-krupnogo-rogatogo-skota.html>)



**Рисунок 6 - Повышенная рефлекторная возбудимость**  
(<http://khvastovichi-vet.ru/pamyatki-dlya-naseleniya/gubkoobraznaya-enczefalopatiya-krupnogo-rogatogo-skota.html>)



**Рисунки 7, 8 - Нарушение координации движений**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)



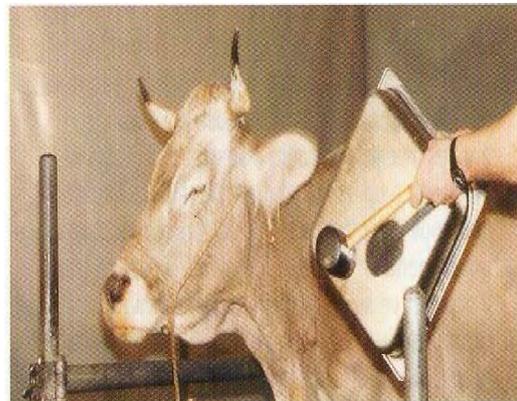
**Рисунки 9, 10 - Ассиметричная постановка конечностей**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)



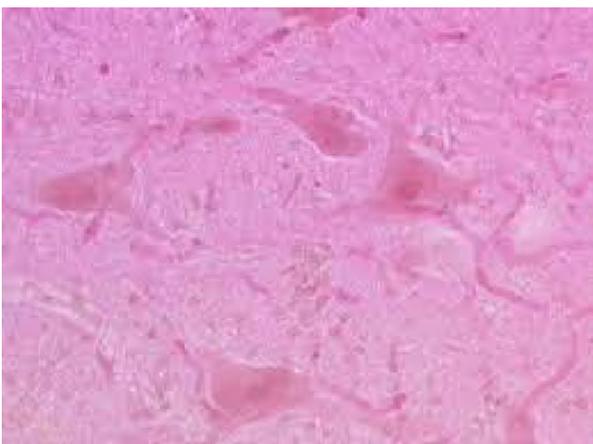
**Рисунок 11 - Парез задних конечностей**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)



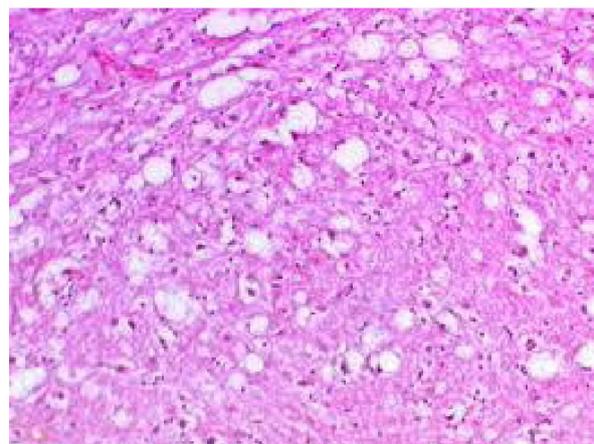
**Рисунок 12 - Паралич задних конечностей**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)



**Рисунки 13 - 14 – Нарушение чувствительности при прикосновении**  
([https://vet.khabkrai.ru/Important/394?media=print&version=special&special\\_toggle\\_sidebar](https://vet.khabkrai.ru/Important/394?media=print&version=special&special_toggle_sidebar))



**Рисунок 15 - Амилоидные бляшки при ГЭ КРС**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)

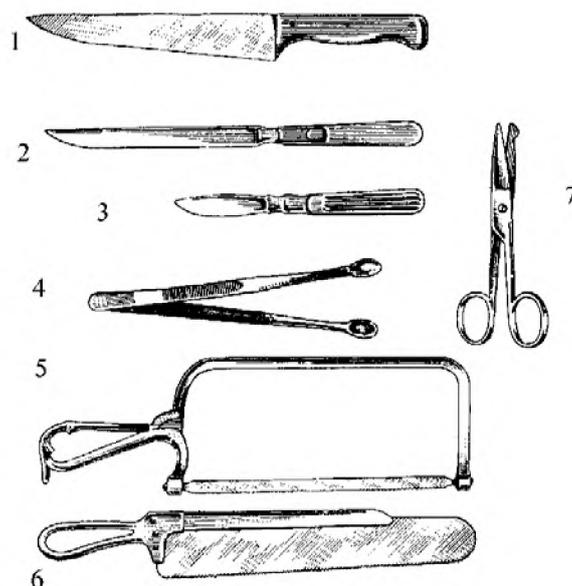


**Рисунок 16 - Вакуолизация нейронов и серого мозгового вещества – спонгиоз**  
(<https://studfile.net/preview/5709987/page:6/>)

**Таблица 3. Методы, рекомендуемые МЭБ для диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота**

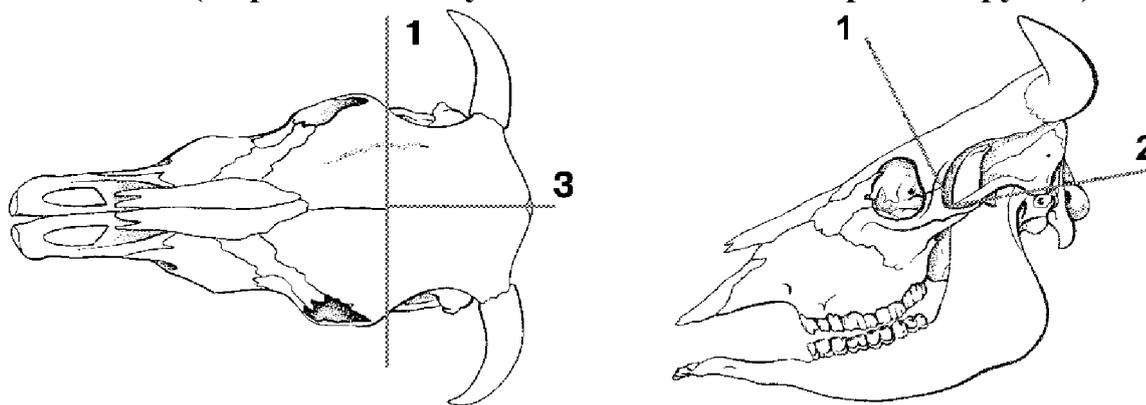
Метод	Популяция					
	Популяция, свободная от инфекции	Отсутствие инфицированности животного перед перемещением	Вклад в мероприятия по оздоровлению	Подтверждение клинических случаев	Эпизоотический надзор за распространением инфекции	Иммунный статус индивидуальных животных или популяции после вакцинации
<b>Идентификация возбудителя</b>						
Иммуногистохимия	–	–	++	+++	++	–
Иммуноблоттинг	–	–	++	+++	++	–
Быстрые скрининг-тесты	–	–	+++	+	+++	–

+++ - рекомендуемый метод; ++ - подходящий метод; + - метод может быть использован в некоторых случаях, но стоимость, надежность и другие факторы серьезно ограничивают его применение, н/и - не используется для этой цели;



**Рисунок 17 - Инструменты, применяемые для вскрытия черепной коробки:**  
**1 - нож большой с деревянной ручкой, 2 - нож ампутационный, 3 - скальпель Вирхова, 4 - пинцет Шора, 5 - пила лучковая, 6 - пила листовая, 7 - ножницы пуговчатые**

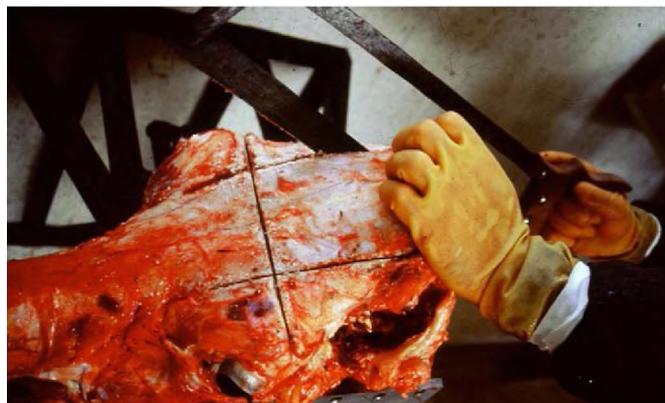
([https://veterinary.academic.ru/1959/вскрытие трупов](https://veterinary.academic.ru/1959/вскрытие_трупов))



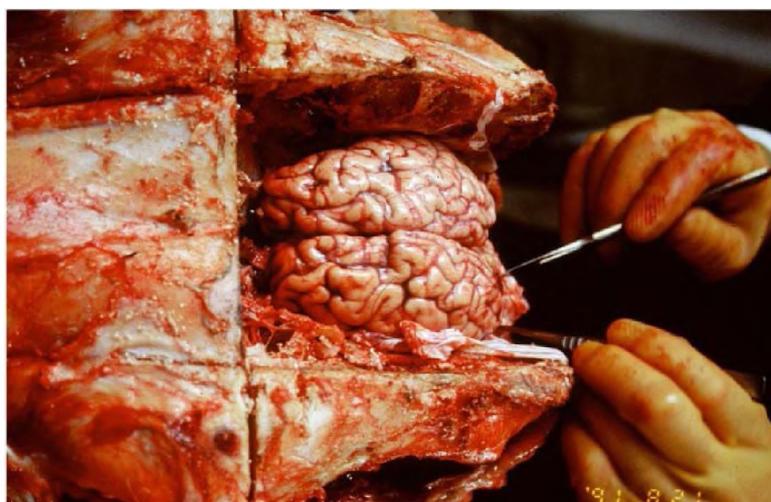
**Рисунок 18 – Схема распилов черепа КРС для извлечения головного мозга. 1, 2, 3 — места распилов черепа**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 19 – Зажимание головы коровы в тисках**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 20 - Поперечные и продольные разрезы черепа**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)

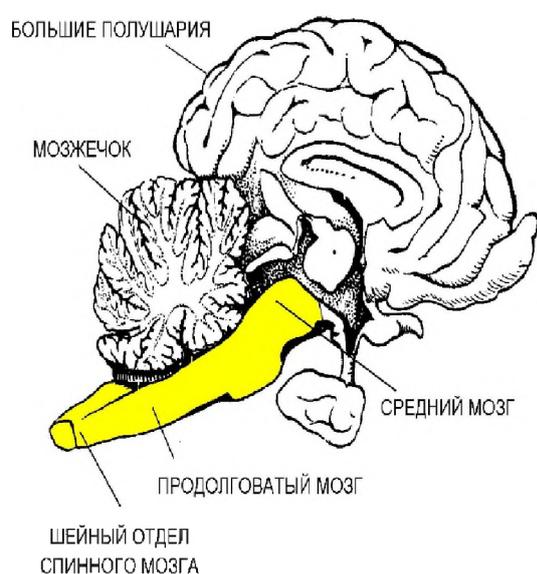


**Рисунок 21 - Извлечение мозга коровы целиком**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)

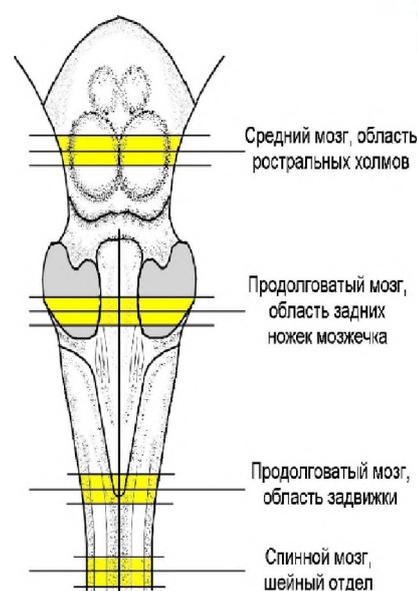


**Таблица 4. Пропись изготовления 4% формалина**

<b>1.</b> Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат <i>допустима замена на безводный <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4</math> 3,5 г, или дигидрат <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math> – 4,5 г);</i>	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	4,0 г
<b>2.</b> Двухзамещенный фосфат натрия, безводный <i>допустима замена на: <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math>– 8,15 г, или <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math>– 12,3 г, или <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}</math>– 16,4 г);</i>	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	6,5 г
<b>3.</b> Формалин (40% раствор формальдегида)	40% НСНО	100 мл;
<b>4.</b> Дистиллированная вода		900 мл.



**Рисунок 22 - Схема отделов головного мозга крупного рогатого скота. Серым цветом выделена стволовая часть мозга, которую необходимо отбирать для диагностических исследований**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 23 - Отделы стволовой части (выделены серым цветом), в которых находят изменения (при проведении диагностических исследований), характерные для ГЭ КРС. Наиболее характерные изменения наблюдают в области задвижки (obex) продолговатого мозга**  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 24 - Титановый пробоотборник «Марио» производства фирмы IZTL, Германия (<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)**



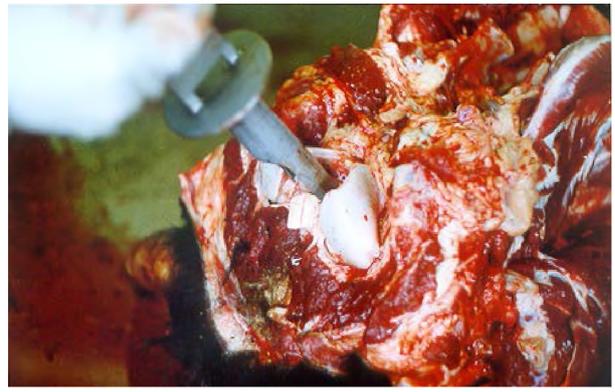
**Рисунок 25 - Пластмассовый разовый шпатель-пробоотборник - Bio-Rad, IDEXX, Prionix (<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)**



**Рисунок 26 - Металлические ложки (<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)**



**Рисунок 27 - Начало введения  
пробоотборника**



**Рисунок 28 – Введение  
пробоотборника на 10-12 см**



**Рисунок 29 – Поворот  
пробоотборника на 90-180°**



**Рисунок 30 - Поворот  
пробоотборника на 180°и  
извлечение мозга**



**Рисунок 31 - Извлечение мозга и перенос в транспортную тару.  
(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)**



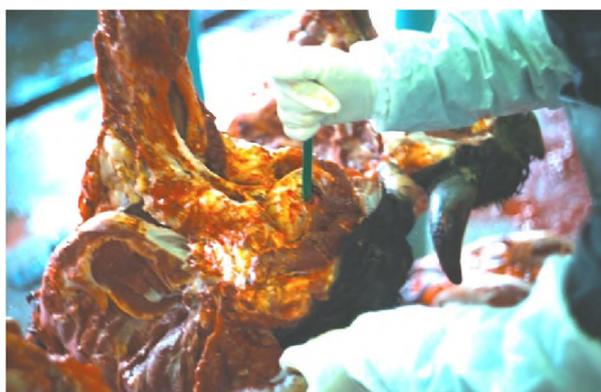
**Рисунок 32 – Подготовка головы для введения шпателя**



**Рисунок 33 – Введение шпателя в большое затылочное отверстие**



**Рисунок 34 – Продвижение шпателя вглубь до среднего мозга**



**Рисунок 35 – Поворот шпателя «назад – поворот влево или вправо на 15-20° – вперед»**



**Рисунок 36 – Поворот шпателя на 180°**



**Рисунок 37 – Извлечение мозга**



**Рисунок 38 – Перенос мозга в транспортную тару (пакет)**

(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 39 – Отобранный мозг в пакете для транспортировки**



**Рисунок 40 - Набор инструментов для отбора мозга с помощью лопатки**



**Рисунок 41 - Подготовка головы для взятия мозга**

**Рисунок 42 – Заведение лопатки в затылочное отверстие**



**Рисунок 43 - Введение шпателя и лопатки в затылочное отверстие**



**Рисунок 44 - Извлечение мозга с помощью лопатки и пинцета**

(<https://works.doklad.ru/view/IMo9C-TEN3U/all.html>)



**Рисунок 45 – Отобранные образцы продолговатого мозга должны быть целыми, без повреждений**



**Рисунки 46, 47 - Пластиковые контейнеры для транспортировки и хранения проб мозга**

(<https://medcatalog.by/category/konteyneri-dlya-biomaterialov>)



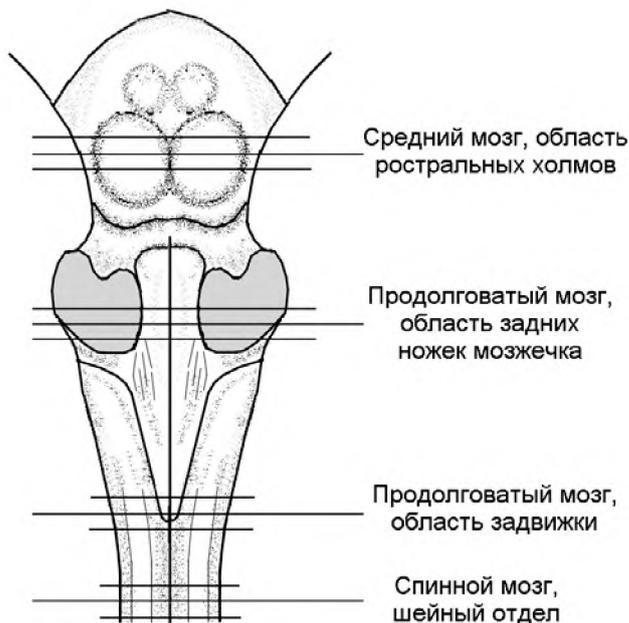
**Рисунок 48 - Подготовка и маркировка проб мозга для транспортировки**



**Рисунок 49 - Помещение проб мозга в термоконтейнер или сумку-холодильник**

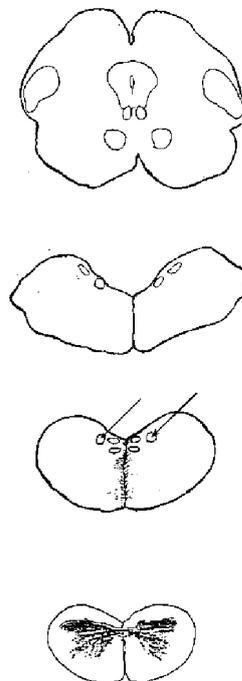


**Рисунок 50- 51 - Термоконтeйнер и термосумка для транспортировки проб мозга в лабораторию**  
 (<https://www.sunmed.ru/catalog/medicinskie-termosumki-termokontejnery-biomaterial/>)



**Рисунок 52 - Схема разрезов мозга КРС при взятии ткани для гистологического и иммуногистохимического анализа**

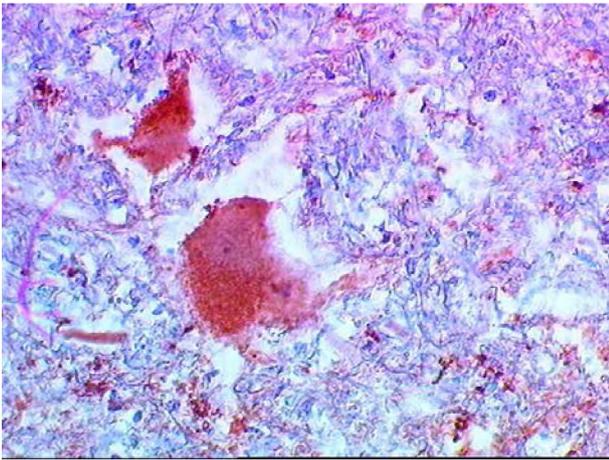
(<https://www.sunmed.ru/catalog/medicinskie-termosumki-termokontejnery-biomaterial/>)



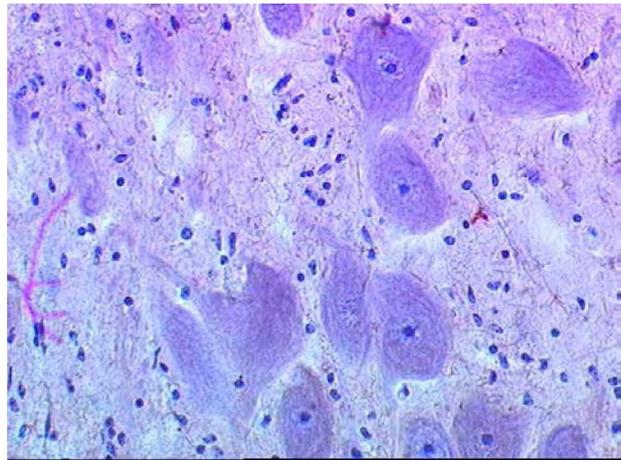
**Рисунок 53 - Схемы сечений мозга в местах разрезов, отмечены участки с наибольшим поражением и накоплением PrP<sup>BSE</sup>**

**Таблица 5. Способ депарафинизации препаратов**

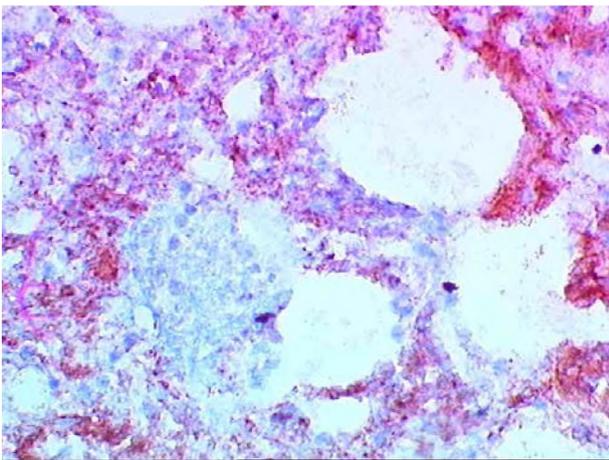
1.	Ксилол	2 x 3 мин.
2.	Абсолютный этанол	2 x 2 мин.
3.	70% этанол	1 мин.
4.	Вода	2 мин.



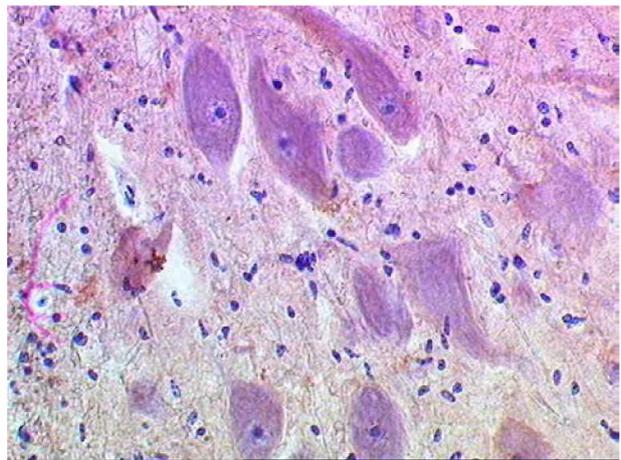
**Рисунок 54 - Интенсивное окрашивание перикарионов и скоплений PrP<sup>BSE</sup> в глии при использовании PrP-специфичной сыворотки RS 316/4 в 300-кратном разведении (по С.С. Рыбакову, 2010)**



**Рисунок 55 - Окрашенный BSE-негативный препарат. Объектив x20 (по С.С. Рыбакову, 2010)**



**Рисунок 56 - BSE-положительный препарат, участок мозга, в котором губкообразные изменения выражены в очень большой степени, белые пятна – полости, в которых ранее находились нейроны, окрашивание с использованием анти-сыворотки, наблюдается окрашивание крупных скоплений PrP<sup>BSE</sup> в глии. Объектив x20 (по С.С. Рыбакову, 2010)**



**Рисунок 57 - BSE-негативный препарат, окрашенный с использованием сыворотки RS 316/4 в идентичных с BSE-положительным препаратом условиях, наблюдается слабый фон. Объектив x20. (по С.С. Рыбакову, 2010)**

**Таблица 6. Целевые значения (баллы) для получения статуса страны по ГЭ КРС**

Размер популяции КРС в возрасте от 24 мес. и старше	Надзор Типа А, баллы	Надзор Типа В, баллы
>1,000,000	300 000	150 000
1,000,000	238 400	119 200
900,001-1,000,000	214 600	107300
800,001-900,000	190 700	95 350
700,001-800,000	166 900	83 450
600,001-700,000	143 000	71 500
500,001-600,000	119 200	59 600
400,001-500,000	95 400	47 700
300,001-400,000	71 500	35 750
200,001-300,000	47 700	23 850
100,001-200,000	22 100	11 500

**Таблица 7. Значения в баллах, начисленных за исследования проб**

	ПОДНАДЗОРНАЯ СУБПОПУЛЯЦИЯ			
	Плановый убой	Павшие животные	Срочный убой	Клинические признаки
	Баллы	Баллы	Баллы	Баллы
≥1 и <2 лет	0,01	0,2	0,4	нет
≥2 и <4 лет	0,1	0,2	0,4	260
≥4 и <7 лет	0,2	0,9	1,6	750
≥7 и <9 лет	0,1	0,4	0,7	220
≥9 лет	0	0,1	0,2	45



**Рисунок 58 – Животные с клиническим проявлением ГЭ КРС - животное не различает препятствий (<https://studfile.net/preview/5709987>)**



**Рисунок 59 - Крупный рогатый скот в возрасте старше 30 месяцев, не ходит, лежит, не способен подняться (<https://studfile.net/preview/5709987>)**



**Рисунок 60 - Павшее в условиях животноводческой фермы животное (<https://studfile.net/preview/5709987>)**



**Рисунок 61 - Убитые клинически здоровые животные на мясо, предназначенное для питания людей**

## Образец сопроводительного документа

Реквизиты, название учреждения, направляющего патологический материал или исследовательский материал

### Сопроводительный документ биологического материала

№ \_\_\_\_\_

Учреждение, куда направляется материал: \_\_\_\_\_

(название, адрес, контактная информация)

Направляется на исследование: \_\_\_\_\_

(количество проб и название исследовательского материала, вид животных, вид исследования)

Место отбора образцов: \_\_\_\_\_

(название, адрес, контактная информация)

### Информация о животном, от которого был осуществлен отбор образцов

№ п/п	Название области, района, хозяйства (владельца)	Идентификационный №, кличка животного	Возраст животного, месяца	КРС в возрасте старше 36 месяцев в случае забоя при обычных условиях (группа 1)	КРС в возрасте старше 30 месяцев, погиб или был забит на ферме (хозяйстве), во время транспортировки или на бойне (погибшие животные) (группа 2)	КРС в возрасте старше 30 месяцев, который отправили на вынужденный убой или у которого во время предубойного осмотра были обнаружены нетипичные признаки (ушибы, искалеченные животные или животные подвергнуты вынужденному забою) (группа 3)	КРС в возрасте старше 30 месяцев, имеет признаки изменений в поведении или клинические признаки ГЭ КРС (животные с клиническим подозрением) (группа 4)

**Примечание:** При отборе материала от местного скота и импортируемого поголовья и его приплода обязательно прилагаются сопровождающие документы (нужное подчеркнуть):

- акты отбора;
- протокол патологоанатомического вскрытия животных;
- акты выбраковки;
- результаты лабораторных исследований.

\_\_\_\_\_  
(ФИО и должность лица, направляющего материал для исследования)

\_\_\_\_\_  
(подпись)

Контактная информация лица, направляющего материал для исследования: \_\_\_\_\_

**Выписка из «Ветеринарно-санитарных правил профилактики, диагностики и ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота», утвержденных постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 25 июня 2018 г. № 60 в редакции Постановления МСХП РБ № 117 от 17 ноября 2022 г.**

**Для профилактики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота** необходимо выполнение следующих мероприятий:

- В целях предотвращения заноса возбудителя губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота на территорию Республики Беларусь запрещается использовать для кормления крупного рогатого скота корма животного происхождения (мясокостную муку, белковые брикеты и корма, содержащие мясокостную муку или белковые брикеты), за исключением молока.

- В целях профилактики и своевременной диагностики губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота на территории Республики Беларусь специалисты в области ветеринарии, включенные в структуру государственной ветеринарной службы Республики Беларусь, проводят информирование о мерах профилактики и клинических симптомах губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота работников организаций и физических лиц, осуществляющих содержание крупного рогатого скота, деятельность по переработке мяса специалистов в области ветеринарии.

- Специалисты в области ветеринарии и работники, отвечающие за уход за животными, должны быть обучены распознаванию клинических симптомов, характерных для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота. Крупный рогатый скот с повышенным риском заболевания (животные старше 30 месяцев) или с признаками угнетения должны осматриваться чаще других животных.

**Диагностика губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота:**

- Предварительный диагноз «губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота» ставят на основании клинических симптомов и результатов лабораторных исследований (испытаний).

- Губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота необходимо дифференцировать от бешенства, листериоза, болезни Ауески, нервной формы инфекционного ринотрахеита, злокачественной катаральной горячки, а также отравлений фосфорорганическими, хлорорганическими, ртуторганическими соединениями, фосфидом цинка, мышьяком, поваренной солью. Основными отличительными признаками от губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота являются короткий латентный период (от 5 до 15 дней), острое или подострое течение, повышение температуры тела, отказ от корма и другие симптомы, присущие указанной болезни.

**При подозрении на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота** необходимо осуществить следующие ограничительные мероприятия:

- изолировать больной и подозрительный по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупный рогатый скот;
- запретить посещение помещений для содержания животных посторонними лицами, кроме персонала, обслуживающего крупный рогатый скот, и специалистов в области ветеринарии;

- прекратить убой и реализацию животных и продуктов их убоя.

- При выявлении в организациях, осуществляющих убой животных и переработку мяса, подозрительных по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота животных, их помещают в отдельный загон.

- Убой подозрительного по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота производится на ветеринарно-санитарном убойном пункте.

- Патологический материал направляют для проведения лабораторных исследований (испытаний) в ветеринарную лабораторию.

- Туши подозрительного по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота и туши животных, поступивших на убой из неблагополучных пунктов, а также туши животных, от которых в плановом порядке отобраны и направлены пробы для проведения диагностических исследований, биркуют и направляют в отдельную санитарную камеру до получения результатов лабораторных исследований (испытаний).

До получения результатов исследования не допускается реализация или переработка туш от исследованных животных. Все части тела животного, исследуемого на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота, включая шкуру, должны оставаться под контролем государственной ветеринарной службы до тех пор, пока не будет получен отрицательный результат, за исключением тех, которые направляются на уничтожение.»

- Туши убитых животных, находившихся в контакте с тушами, полученными от больных животных, направляют на уничтожение в порядке, определенном соответствующими нормативными документами (Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758).

- Партия крови от одновременного убоя здоровых и подозрительных по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, а также животных, поступивших из неблагополучного по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункта, подлежит утилизации в установленном порядке.

**Окончательный диагноз на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота** устанавливают по результатам лабораторных исследований (испытаний) проб биологического материала.

- Для лабораторных исследований (испытаний) направляют головной мозг крупного рогатого скота.

- Биологический материал направляется экстренно в ветеринарную лабораторию (не позже 6–8 часов после убоя).

Биологический материал, полученный от подозрительного по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, доставляют нарочным с сопроводительным письмом.

Прием биологического материала, полученного от подозрительного по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, проводят в отдельном помещении.

-Пробы биологического материала, полученного от подозрительного по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, исследуют на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота в областных ветеринарных лабораториях или государственном учреждении «Белорусский государственный ветеринарный центр».

- План проведения лабораторных исследований (испытаний) на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота на территории Республики Беларусь разрабатывается государственным учреждением «Белорусский государственный ветеринарный центр».

**При разработке плана проведения лабораторных исследований (испытаний) на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота на территории Республики Беларусь выделяют четыре группы крупного рогатого скота:**

- крупный рогатый скот старше 30 месяцев с клиническими симптомами, характерными для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота;
- крупный рогатый скот старше 30 месяцев, не способный подняться и передвигаться, и крупный рогатый скот старше 30 месяцев, подвергнутый вынужденному (срочному убою);
- туши павшего крупного рогатого скота в возрасте старше 30 месяцев;
- крупный рогатый скот старше 36 месяцев, поступающий на убой в плановом порядке.

Также учитываются данные о:

- структуре поголовья крупного рогатого скота;
- количестве крупного рогатого скота, поступившего на убой в разрезе групп, указанных в абзацах втором – пятом части второй настоящего пункта.

- Специалисты в области ветеринарии и работники, отвечающие за уход за животными, осуществляют обследование клинического состояния животных.

Обследованию подвергают крупный рогатый скот, у которого наблюдаются такие изменения поведения, как повышенная возбудимость, постоянное лягание при дойке, перемена иерархического места в стаде, нерешительность при проходе через ворота, двери и ограждения, а также тот, у которого наблюдаются нервные симптомы при отсутствии признаков заразного заболевания.

Следует учитывать, что у животных могут наблюдаться только отдельные из клинических симптомов, характерных для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота с различной степенью выраженности.

Животных с клиническими симптомами, характерными для губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота, признают потенциально зараженными губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота и проводят за ними наблюдение, после их падежа или убоя отбирают патологический материал и направляют в областную ветеринарную лабораторию или государственное учреждение «Белорусский государственный ветеринарный центр» для проведения лабораторных исследований (испытаний) на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота.

### **Ликвидация губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота**

- При подтверждении диагноза на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота устанавливается карантин в порядке, установленном Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758.

- На основании результатов окончательного диагноза на губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота определяются очаг губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота и неблагополучный по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункт.

- Ограничительными мероприятиями при установлении карантина по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота является запрет на:

- вход в неблагополучный по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункт посторонних лиц, въезд на его территорию постороннего транспорта;
- перегруппировку крупного рогатого скота;
- вывоз из организации (в том числе организации, осуществляющей убой животных и переработку мяса) крупного рогатого скота и продуктов его убоя.

- Мероприятия по ликвидации губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота проводят в очаге заразной болезни и неблагополучном по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункте.

- Туши больных губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота направляются на уничтожение в порядке, определенном Ветеринарно-санитарными правилами захоронения и уничтожения трупов животных, продуктов животного происхождения, не соответствующих требованиям ветеринарно-санитарных правил.

- В эпизоотическом очаге и неблагополучном по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункте проводится изъятие всего крупного рогатого скота, подозреваемого по заболеванию губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота и полученной из него продукции, в установленном порядке, утвержденном постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758.

- Изъятый крупный рогатый скот подвергают убою бескровным методом.

- Туши убитых животных, находившихся в контакте с больными животными, подвергают уничтожению в соответствующем порядке.

- Уничтожение туш убитых и павших животных проводят методом сжигания. При отсутствии возможности сжигания трупов крупного рогатого скота без вывоза за пределы неблагополучного по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункта они могут быть захоронены в соответствии с законодательством Республики Беларусь.

- Весь крупный рогатый скот, который в первые 12 месяцев своей жизни выращивался вместе с животным, больным губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота в течение первых 12 месяцев его жизни, и который, согласно заключениям эпизоотического расследования, потреблял те же потенциально контаминированные корма для животных в течение того же периода, идентифицируют несмываемым клеймом, их перемещения осуществляются только по согласованию с главным государственным ветеринарным врачом района – главным государственным ветеринарным инспектором района или его заместителем, и их подвергают уничтожению после убоя или падежа.

Если эпизоотическое расследование не позволяет установить конкретные факты, указанные в части первой настоящего пункта – уничтожению после убоя или падежа подвергают весь крупный рогатый скот, который был рожден в течение 12 месяцев, предшествовавших и последовавших за рождением больного животного в том стаде, где родилось это больное животное.

- В стадах, в которых выявлены животные, устанавливается карантин и проводятся ограничительные мероприятия.

- Дезинфекцию в эпизоотическом очаге и неблагополучном по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункте проводят в соответствии с Ветеринарно-санитарными правилами проведения ветеринарной дезинфекции, утвержденными постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758.

- Участок грунта, загрязненный кровью, выкапывают на глубину не менее 30–40 см, упаковывают в целлофановый мешок и направляют на уничтожение.

- Решение о снятии карантина с неблагополучного по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункта принимают после убоя, падежа и уничтожения всего крупного рогатого скота, меченного клеймом в неблагополучном по губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота пункте, в порядке, установленном Положением о порядке установления, снятия карантина, определения буферной (защитной) зоны, проведения иных ограничительных мероприятий.

Учебное издание

**Красочко** Петр Альбинович,  
**Прудников** Виктор Сергеевич,  
**Красочко** Ирина Александровна и др.

**ЭПИЗООТОЛОГИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ.  
ГУБКООБРАЗНАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ  
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск П. А. Красочко  
Технический редактор Е. А. Алисейко  
Компьютерный набор П. А. Красочко  
Компьютерная верстка Е. В. Морозова  
Корректор Т. А. Никитенко

Подписано в печать 27.10.2023. Формат 60×84 1/16.  
Бумага офсетная. Ризография.  
Усл. печ. л. 4,0. Уч.-изд. л. 3,0. Тираж 100 экз. Заказ 2414.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»  
государственная академия ветеринарной медицины».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.  
ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.  
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.  
Тел.: (0212) 48-17-82.  
E-mail: rio@vsavm.by  
<http://www.vsavm.by>