

попадании возбудителей в плод происходят необратимые органические изменения органах и тканях плода. Введение в этот период Ронколейкина уже не оказывает существенного эффекта, ввиду развития органических изменений и может лишь приостановит патологический процесс, что и отражается в рождении слабых поросят.

Заключение. Приведенные исследования подтверждают обоснованность применения ронколейкина для профилактики герпесвирусной инфекции у свиноматок, независимо от стадии проявления инфекции и наличия дисфункции иммунной системы.

1. Наиболее оптимальным является введение Ронколейкина свиноматкам в послеплодный период. В это время в организме функция иммунной системы полностью восстанавливается после иммуносупрессии, вызванной беременностью, иммунокорректирующий эффект препарата максимальный.
2. Применение Ронколейкина свиноматкам в подсосный период способствует получению в последующий опорос более крупноплодных поросят, однако эффект напрямую зависит от естественной резистентности и иммунного статуса конкретной свиноматки.
3. Для создания терапевтического эффекта доза препарата для супоросных свиноматок должна быть выше, чем для других хозяйственных групп.
4. При соблюдении условий содержания и кормления, формальном функционировании иммунной системы, отсутствии латентно протекающих инфекций препарат оказывает положительный эффект у свиноматок всех хозяйственных и половозрастных групп.
5. Независимо от физиологического состояния свиноматок, при введении Ронколейкина в терапевтической дозе, во всем случаях отмечается положительная реакция со стороны иммунной системы, особенно в течении 14-21 дня после введения. Дозы меньше рекомендуемой терапевтической, влияют на иммунный статус, но не достоверно.

Литература. 1. Авдеева Ж.И. Цитокины как иммунобиологические препараты // Биопрепараты. 2004. - № 4 (16). - С. 2-6. 2. П.Белкова, А.Н. Применение ронколейкина в свиноводстве / А.Н.Белкова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2006. - №10. - С.54-57. 3. Золотарева, Н.А. Иммунодефициты: профилактика и борьба с ними / Н.А.Золотарева // Ветеринарная патология. 2003. - №2. — С. 55-56. 4. Кашуба, Э.А. Влияние герпетических инфекций на течение беременности / Э.В. Кашуба [и др.] // Материалы международного Евро-Азиатского конгресса по инфекционным болезням «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Витебск, 2008. - С. 144-145. 5. Островский, М.В. Возможность иммунопротекции в свиноводстве / Рынок АПК. - 2007. - № 11 (49). - С. 81. 6. Островский, М.В. Ронколейкин: методические рекомендации для ветеринарных врачей / М.В.Островский, А.Н.Моисеев, Е.Д.Сахарова. - Санкт-Петербург: из-во "Альтер Эго", 2009. - 28 с. 7. Островский, М.В. Ронколейкин® - современный подход к лечению заболеваний животных / М.В. Островский // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции. - Саратов, 2007. - С. 271-275. 8. Федоров, Ю.Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов / Ю.Н.Федоров // Ветеринария. 2005. №2.-С. 3-6. 9. Almeida A., Legrand N., Papiemik M. et al. Homeostasis of peripheral CD 4+ T-cells: IL-2R alpha and IL-2shape a population of regulatory cells that controls CD 4+ T-cell numbers // J.Immunol. 2002. - Vol. 169. - P. 4850-4860. 10. Carol, B. DNA array analysis of interleukin-2 regulated immediately genes / B. Carol, A.S. Kendall // Med. Immunol. - 2002. - Vol.1. - P. 1-14 11. Rebecca, J. D. Innate Immunity to Herpes Simplex Virus Type 2 / J. D. Rebecca, A.M. Morrison // Viral Immunology. 2003. - № 16(4). - P. 475-490.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.37-084

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА И БЕЛКОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Красочко П.П.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Приведены данные о структуре генома и дана характеристика белков вируса диареи крупного рогатого скота. Детализировано описаны функции вирусных белков и проанализированы их иммуногенные свойства. Установлено, что геном вируса представлен одноцепочечной линейной положительной нитью РНК длиной 12,5 тыс. пар нуклеотидов, который кодирует белки N^{pro}, C, E^{ms}, E1, E2, p7, NS2-3, (NS2), (NS3), NS4A, NS4B, NS5A, и NS5B.

Genome structure and protein characteristic of Bovine viral diarrhea virus are shown. Detailed functions of virus protein are described and analyzed their immunogenic properties. Viral genome presented by single stranded positive RNA (12,5 kbp), which codes proteins N^{pro}, C, E^{ms}, E1, E2, p7, NS2-3, (NS2), (NS3), NS4A, NS4B, NS5A, and NS5B.

Введение. Вирусная диарея крупного рогатого скота или болезнь слизистых крупного рогатого скота распространена по всему миру, в том числе и в Республике Беларусь. Экономическая значимость вирусной диареи связана с гибелью плода при внутриутробном инфицировании на ранних стадиях беременности или рождении ослабленных, нередко нежизнеспособных телят, при заражении плодов на более поздних стадиях. Кроме того, при заражении плода до наступления его иммунологической компетентности (80-120 день) животное после рождения остается пожизненным вирусоносителем с отсутствием специфических антител, т.е. резервуаром инфекции.

В настоящее время бурное развитие молекулярно-генетических методов позволяет создавать принципиально новые средства не только диагностики, но и профилактики болезней. Новые методы диагностики позволяют значительно сократить время на постановку диагноза и повысить его достоверность, а средства профилактики снизить риск осложнений и повысить эффективность вакцинации. Однако, разработка данных методов невозможна без глубокого анализа генома, структур, им кодируемых, и их функций.

Вирус диареи (BVDV) относится к семейству Flaviviridae, роду Pestivirus. К этому же семейству относятся вирусы классической чумы свиней и пограничной болезни овец [1], которые схожи в организации генома. Выделяют 2 типа BVDV – тип 1 (BVDV-1) и тип 2 (BVDV-2), которые различны в антигенном отношении и могут быть дифференцированы с использованием моноклональных антител против главных гликопротеинов E2 и E^{RNS}

или с помощью генетического анализа [2, 3]. Также оба типа вируса разделяют на цитопатогенные и нецитопатогенные штаммы, что обусловлено наличием изменений в культуре клеток при культивации вирусов.

Материалы и методы. Анализ генома вируса проводили на основании данных, представленных в международном банке нуклеотидных последовательностей (GenBank) и литературных данных на базе штаммов вируса: Oregon C 24V, ILLNC, ZM-95, SH-28 и NADL

Результаты исследований. Геном вируса вирусной диареи представлен одноцепочечной линейной положительной нитью РНК длиной 12,5 тыс. пар нуклеотидов (п.н.). Он имеет одну трансляционную рамку (ORF), которая кодирует один полипротеин. В полипротеине выделяют 13 белков, которые в ходе процессинга полипротеина выщепляются из него с помощью клеточных и не клеточных пептидаз. Вирусные белки в структуре полипротеина расположены следующим образом (от N-конца к С-концу): N^{pro}, С, E^{rns}, E1, E2, p7, NS2-3, (NS2), (NS3), NS4A, NS4B, NS5A, and NS5B (рис. 1). Структурные функции выполняют белки С, E^{rns}, E1, E2, остальные относят к неструктурным. Основные функции белков и их положение в геноме представлены в таблице 1.

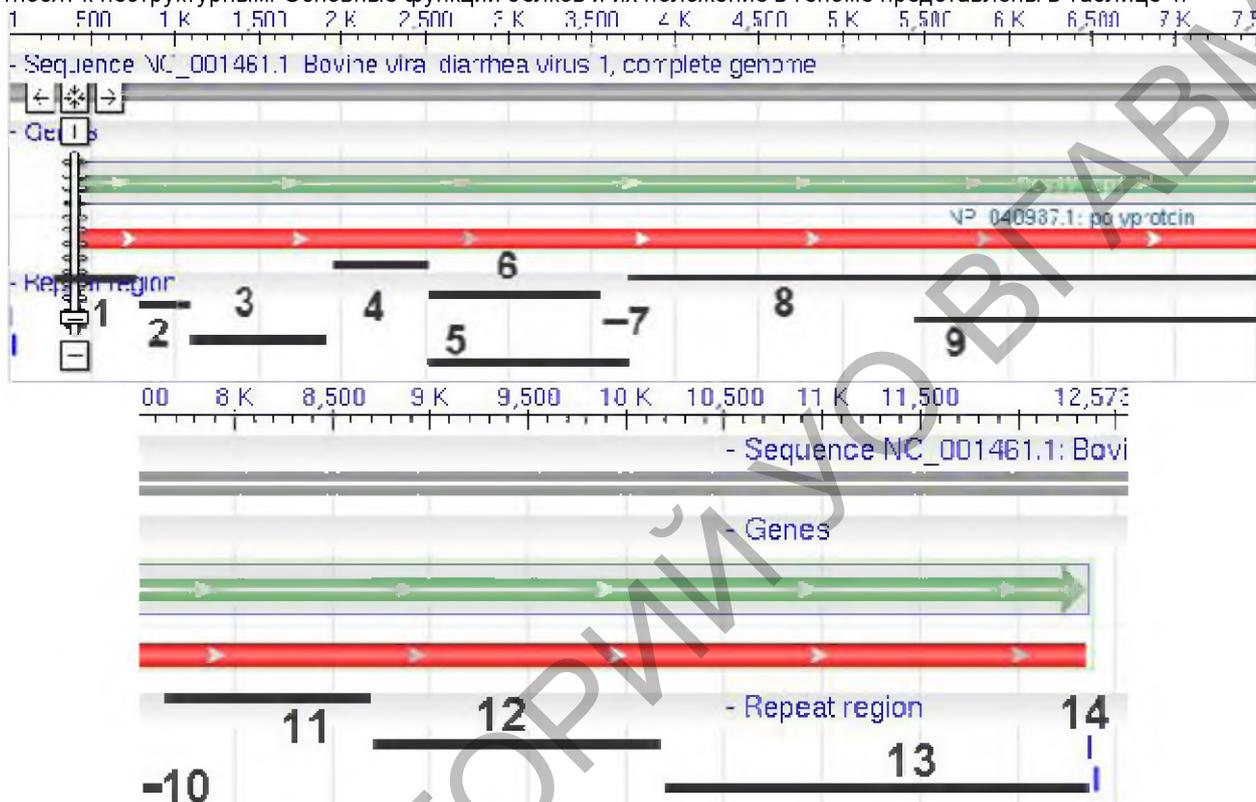


Рисунок 1 - Схематическое представление расположения участков, кодирующих белки вируса вирусной диареи

- | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|---------------------------------|
| 1 – N ^{pro} | 5 – E2 | 9 – NS3 | 13 – NS5B |
| 2 – С | 6 – p7 | 10 – NS4A | 14 – повторы 8 п.н. копий А и В |
| 3 – E ^{rns} | 7 – NS2-3 | 11 – NS4B | |
| 4 – E1 | 8 – NS2 | 12 – NS5A | |

Таблица 1 - Структура и функции белков вируса вирусной диареи КРС

	№	Позиция	Ген	Функция
PestiV1g p1	1	386-889	N-Pro	Протеиназавыщепляет себя из зарождающегося полипротеина; N-терминальная протеиназа
	2	890-1195	Протеин С	С-конец отщепляется от полипротеина не клеточной сигнальной пептидазой; структурный белок С
	3	1196-1876	E-rns- RNAse	N-конец отщепляется от полипротеина не клеточной сигнальной пептидазой; структурный белок E-rns
	4	1877-2461	Капсидный гликопротеин E1	Существует как E1-E2 гетеродимер; С-конец отщепляется от полипротеина клеточной сигнальной пептидазой; структурный белок E1
	5	2462-3793	E2*	Не существенный белок; С-терминальное окончание этого белка не была подтверждена экспериментально; N-конец и возможно С-конец этого белка отщепляются от полипротеина клеточной пептидазой; E2p7
	6	2462-3583	Капсидный гликопротеин E2	Существует в форме гомодимера; этот белок отщепляется от полипротеина клеточной сигнальной пептидазой; структурный белок E2

Продолжение таблицы 1

7	3584-3793	неструктурный белок р7	N-конец и возможно C-конец этого белка отщепляются от полипротеина клеточной пептидазой; предполагаемый белок созревания вирионов
8	3794-7471	NTPase/PHK-геликаза(NS3)	N-конец отщепляется от полипротеина клеточной пептидазой; C-конец отщепляется доменом NS3 протеиназы; неструктурный белок NS2-3; серин-протеиназа (NS3)
9	5423-7471	NTPase/PHK-геликаза	Характерен для цитопатогенных штаммов. Этот белок образуется из NS2-3 как результат различных рекомбинационных событий включающих клеточные последовательности (напр. ubiquitin) или мутации в нескольких точках в штамме Орегон. Выщеплению NS2-3 в штамме NCP7 (нецитопатогенный) содействовало взаимодействие NS2 (предполагается, что это неклассическая протеиназа) с клеточным J-доменом белка Jiv (чей фрагмент последовательности был идентифицирован в цитопатогенном штамме NADL); неструктурный белок NS3; серин-протеиназа
10	7472-7663	неструктурный белок NS4A	NS2-3/NS3 кофактор протеиназы; отщепляется от полипротеина NS2-3/NS3 протеиназой; фосфопротеин
11	7664-8704	неструктурный белок NS4B	Отщепляется от полипротеина NS2-3/NS3 протеиназой
12	8705-10192	неструктурный белок	Отщепляется от полипротеина NS2-3/NS3 протеиназой с помощью NS4A; фосфопротеин; возможно участвует в репликации PHK; NS5A
13	10193-12349	PHK-зависимая PHK-полимераза	Отщепляется от полипротеина NS2-3/NS3 протеиназой с помощью NS4A; неструктурный белок NS5B

Первое расщепление полипротеина в биогенезе пестивируса обусловлено аутопротеолитической активностью N^{pro}, при которой происходит раскол соединения N^{pro}/протеин С. Процессинг в местах С/Е^{ms}, Е1/Е2, и Е2/р7 скорее всего связан с клеточными сигнальными пептидазами, а между Е^{ms} и Е1 и р7 и NS2 пока не выяснен. Высвобождение неструктурных белков, расположенных ниже NS3, связано с активностью серин-протеазы, находящейся в NS3-области. Для процессинга мест соединения NS4B/NS5A и NS5A/NS5B необходим ко-фактор для NS3-протеазы, которым является NS4A.

В структуре генома имеется 5'-нетранслируемая область (5'-UTR), которая содержит участок внутренней посадки рибосомы (IRES), аналогичный таковому у ближайшего представителя рода Pestivirus – вируса классической чумы свиней. Данный участок позволяет инициировать трансляцию без сканирования большей части 5'-нетранслируемой области. Находясь в непосредственной близости к старт-кодону AUG, IRES формирует 2 взаимокплементарные области, так называемые «шпильки». Образованный шпильками «псевдоузел», напоминает аналогичную структуру у вируса классической чумы свиней и вируса гепатита С, и играет важную роль в экспрессии вирусных белков. Было установлено, что внесение мутаций препятствующих образованию шпильки 1 или 2 приводит к угнетению трансляционной активности, в то время как удаление этих мутаций восстанавливает экспрессию вирусного полипротеина [4].

Неструктурный белок NS4B принимает непосредственное участие в репликации вируса. При инфицировании клетки вирус индуцирует перестройку мембранного комплекса клетки хозяина. При этом в мембранах выявляется NS4B. Главным образом он встраивается в аппарат Гольджи и, кроме того, он выявляется в связи с неструктурными белками NS5A и NS5B (их функция связана с репликацией вирусной PHK), что повышает вероятность его участия в репликации вируса. Также было установлено, что NS4B связан с митохондриями. Это может свидетельствовать об участии этих органелл в репликации вируса или его цитопатогенности [5].

Исследования, проведенные учеными, позволили установить различия цитопатогенных и нецитопатогенных штаммов вируса на основе строения генома и его реализации в клетках. В своей работе P. Becker установил, что цитопатогенность вируса обусловлена экспрессией белка NS3. Однако, последовательность, кодирующая этот белок, имеется и в нецитопатогенных штаммах. С помощью секвенирования и генной инженерии было установлено, что в структуре генома цитопатогенных штаммов имеются вставки и делеции. Вставка, способствующая экспрессии NS3, имеет клеточное происхождение и является частью участка, кодирующего (поли)убиквитин. Все исследуемые цитопатогенные штаммы вызвали образование как NS2-3 так и NS3 белка, в то время как нецитопатогенные штаммы способствовали образованию только NS2-3.

Таким образом, изучение структуры генома вируса вирусной диареи показывает сходную организацию генома, расположение и функции белков у вирусов классической чумы свиней и пограничной болезни. Функции большинства неструктурных белков были подтверждены у вируса вирусной диареи, чему способствовала сходная генетическая структура. Также, данные исследования позволяют предположить, что иммунологически значимыми участками PHK возбудителя вирусной диареи КРС являются те, которые кодируют структурные протеины С, Е^{ms}, Е1 и Е2.

Литература. 1. DONIS R.O. (1995). *Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host*. *Vet. Clin. North. Am.*, 11, 393–423. 2. PELLERIN C., VANDENHURK J., LECOMTE J. & TIJSSEN P. (1994). *Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities*. *Virology*, 203, 260–268. 3. RIDPATH J.F. BOLIN S.R. & DUBOVI E.J. (1994). *Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes*. *Virology*, 205, 66–74. 4. LorinMoes and Manfred Wirth *The internal initiation of translation in bovine viral diarrhea virus RNA depends on the presence of an RNA pseudoknot upstream of the initiation codon* *Virology Journal* 2007, 4:124. 5. Weiskircher E., Aligo J., Ning G. and Konan K.V. *Bovine viral diarrhea virus NS4B protein is an integral membrane protein associated with Golgi markers and rearranged host membranes/ Virology Journal* 6:185.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.37-084

СТЕПЕНЬ ИНФИЦИРОВАННОСТИ ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА АССОЦИАТИВНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В ХОЗЯЙСТВАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Красочко П.А., Симакова Н.М.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского»,
г. Минск, Беларусь

В статье представлены данные по распространению ассоциативных инфекций крупного рогатого скота среди поголовья хозяйств нашей страны. С этой целью пробы сывороток крови коров и телят были проверены в реакции торможения гемагглютинации и реакции непрямой гемагглютинации на наличие титров специфических антител. Результатами исследований подтвердилась высокая степень инфицированности крупного рогатого скота на территории Республики Беларусь.

Data on distribution of associative infection among a livestock population of our country are presented in the article. For this purpose the samples of blood serum of cows and calves were investigated in the reaction of hemagglutination and reaction of indirect hemagglutination on a presence of titer of specific antibodies. The results of the researches confirm a high level of infection of cattle on the territory of the Republic of Belarus.

Введение. Современное скотоводство – интенсивно и динамично развивающийся сектор сельского хозяйства республики Беларусь. Эффективное развитие отрасли невозможно без обеспечения эпизоотического благополучия скотоводческих ферм. В настоящее время потребность населения в качественном безвредном и экологически чистом продукте является основной задачей сельскохозяйственного продовольствия. Тенденция роста поголовья, его сохранность, повышение прироста массы, улучшение качества продукции ведет к увеличению предложения на рынке.

Выход продукции животного происхождения и ее качество напрямую зависит от состояния здоровья крупного рогатого скота. Недополучение мясных или молочных продуктов надлежащего качества говорит о низкой резистентности и иммунной реактивности скота. Одной из причин, снижающей иммунный статус организма животных, являются возбудители вирусных инфекций, борьба с которыми для ветеринарных специалистов является одной из важных задач.

Огромный экономический ущерб животноводству республики наносят различные заболевания, в этиологии которых играют вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парвовирусы и т.д. При этом у молодняка отмечаются пневмоэнтериты с высокой степенью отхода, а у взрослых коров – снижение оплодотворяемости, частые аборт у стельных коров, эндометриты, вагиниты, маститы у отелившихся. Это способствует недополучению мясной и молочной продукции.

Предрасполагающим фактором в активизации возбудителей вышеуказанных заболеваний может быть несбалансированность рационов, нарушение микроклимата в животноводческих помещениях и технологии выращивания животных [2]. У животных вирусы инфекционного ринотрахеита (ИРТ), парвовирусной инфекции (ПВИ) и вирусной диареи (ВД) в основном вызывают пневмоэнтериты у телят, эндометриты, вагиниты, аборт у коров очень редко встречаются виде моноинфекции, а чаще – в виде ассоций данных вирусных агентов

В этой связи важным моментом в борьбе с вирусными заболеваниями является диагностика для выяснения этиологии возникновения инфекционных заболеваний и определения этиологической структуры возбудителей [1].

Проведение диагностических мероприятий является одним из основных подходов для целенаправленного проведения комплекса мер по предотвращению инфекционных заболеваний. Вторым этапом борьбы с инфекционными заболеваниями крупного рогатого скота служит специфическая профилактика, которая направлена на создание напряженного иммунитета с целью повышения устойчивости и создания специфической невосприимчивости организма к инфекционным заболеваниям.

Цель настоящих исследований – установление степени распространения и роли вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парвовирусы в возникновении массового поражения телят пневмоэнтеритами и гинекологических заболеваний у коров в хозяйствах Беларуси.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского». Для этого было происследовано 300 проб сывороток крови от крупного рогатого скота из всех областей республики.

Кровь у крупного рогатого скота в различных хозяйствах и областях республики отбирали из яремной вены. Сыворотку крови получали после ее свертывания при температуре +37⁰С с последующим охлаждением до +4⁰С и центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 минут. В сыворотке крови определяли уровень специфических антител против возбудителей парвовирусной инфекции, инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи [3].