

- приматы (воротничковый мангабей, яванский макак, львинохвостая макака, гамадрил) – класс Nematoda, роды Trichocephalus, Strongyloides.
Гельминтофауна домашних и диких птиц представлена следующими таксонами паразитов:
- семейство Куриных (куры брамы, куры бентамские, шелковые куры, фазан, павлин) – класс Nematoda (морфология выявленных копроскопически яиц характерна для яиц гельминтов рода Ascaridia, Heterakis), подотряд Strongylata, семейство Capillariidae, а также простейшие семейства Eimeriidae;
- дикая хищная птица (сова, ястреб-тетеревятник, пустельга, лунь) – класс Trematoda, подотряд Strongylata, род Capillaria;
- семейство Аисты (белый и черный аист) – класс Trematoda, подотряд Strongylata, род Eimeria;
- семейство Страусовые (африканские страусы) – род Eimeria;
- семейство Врановые (ворон) – подотряда Strongylata, род Eimeria;
- семейство Журавли (серый журавль) – рода Eimeria;
- семейство Пастушковые (каспийская султанка) – подотряд Strongylata, род Eimeria;
- семейство Скворцовые (майна) - подотряд Strongylata.

В группе копытных нематодозы установлены у 75% видов животных, трематодозы и протозоозы установлены соответственно у 5 и 66,7% видов животных.

В группе хищных нематодозы и протозоозы установлены у 57,1 и 33,3% видов животных соответственно. Трематодозы в данной группе выявлены не были.

Нематодозы в группе приматы установлены у 80% видов животных. Трематодозы и протозоозы в группе установлены не были.

В группе птицы нематодозы установлены у 72,2% видов, трематодозы и протозоозы – у 22,2 и 44,4% видов соответственно.

Цестодозы копроскопическими исследованиями установлены не были.

Таким образом, нематодозы установлены у 61,3% видов животных, трематодозы и протозоозы соответственно у 11,3 и 40,3% видов животных. При этом среди гельминтозов чаще регистрируются стронгилятозы (установлены у 37,1% видов животных), среди протозоозов – эймериидозы (установлены у 38,7% видов животных).

Видовое разнообразие хозяев паразитов, свободное перемещение обитающих в городской черте грызунов и птиц по территории зоопарков, отсутствие мероприятий по дезинвазии объектов внешней среды и др. обеспечивают условия для циркуляции и сохранения во внешней среде различных возбудителей паразитозов.

Заключение. Животные Минского зоопарка в значительной степени заражены разными видами гельминтов и простейших. Некоторые выявленные паразиты являются возбудителями зоонозов (токсокароз, стронгилятозы, фасциолез, саркоцистоз и др.). Результаты исследований свидетельствуют о необходимости расширения исследований по изучению гельминтофауны животных зоопарков, а также актуальности разработки эффективных ветеринарных мероприятий.

Литература. 1. Епифановский, Н.И. Пути развития научной работы в Ростовском-на-Дону зоопарке/ Н.И.Епифановский//Сборник научных статей. – Ростов- на-Дону, 1974.- С. 21 -26. 2. Воробьев, Г.Г Биоразнообразие - проблемы и задачи [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.zk.ru/murek/vorobev.htm>. - Дата доступа: 3.03.2011. 3. Гадаев Х.Х. Нематоды косули (*Sarcoolus sarcoolus*) в условиях Центрального Кавказа // Рос. паразитол. журн. – М., 2010. – №4 – С. 9 - 11. 4. Зоокультура: состояние и перспективы развития. Монография. / М.В. Лозовская, Г.И. Блохин, А.Р. Лозовский, А.П. Калмыков, В.В. Федорович. – Астрахань., 2006 – 318 с. 5. Котельников, Г.А. Диагностика гельминтозов животных/ Г.А. Котельников. – М.- С. 1977. - 6-30. 6. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР: нематоды и акантоцефалы/ К. М. Рыжиков [и др.]. – М.: Наука, 1979. – 272 с. 7. Постановление Министерства культуры Республики Беларусь от 30 октября 2006 г. №33 «Об утверждении правил по охране труда для зоопарков» [Электронный ресурс] - Минск, 2006. – Режим доступа: <http://www.president.gov.by>.- Дата доступа: 29.11.2009. 8. Ээри, Б. О некоторых эндопаразитах диких животных, обитающих в природе и зоопарке северо-западной Венгрии (1988-2005 гг.)/ Б. Ээри, Ф.И. Василевич// Российский паразитологический журнал. - 2009. - №2. - С. 27-29. 8.Шималов, В.Т. Гельминтофауна соневых Беларуси/ В.Т. Шималов, В.В. Шималов// Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. - 2000. - N2. - С. 123-125. 9. Enyenihi, Parasitic infections of animals in the University of Ibadan Zoo/ Enyenihi // Afr. J. med. Sci.- U. K.- 1971.- 26 p. 10. Gomez, M. S. Further report on Cryptosporidium in Barcelona zoo mammals/ M. S. Gomez, J. Torres, M. Gracenea // Parasitol Res. – 2000. – P. 318-323.

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА И БЕЛКОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Красочко П.П.

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

В статье приведены материалы по анализу генома и функциям белков ротавируса крупного рогатого скота. Показано, что вирус состоит из двухцепочечной РНК, длиной 18 555 нуклеотидов. РНК состоит из 11 сегментов, которые заключены в трехслойный капсид без оболочки. Каждый сегмент РНК – это ген, который кодирует один белок, исключение составляют гены 9 и 11, которые кодируют по 2 протеина.

The article presents the material in genome analysis and functions of the proteins of rotavirus in cattle. It is shown that the virus is a double-stranded RNA consists of long 18 555 nucleotides. RNA is consist of 11 segments, which are made in three-layered capsid with no envelope. Each segment of RNA - a gene that encodes a protein with the exception of 9 and 11 genes, which encode 2 protein.

Введение. Ротавирусная инфекция телят – остропотекающая контагиозная болезнь новорожденных телят, характеризующаяся поражением желудочно-кишечного тракта. Болезнь широко распространена по всему миру и регистрируется везде, где проводились соответствующие исследования. Диарейный синдром – основное клиническое проявление болезни. Вирус размножается в апикальной части ворсинок тонкого отдела кишечника, что приводит к преждевременному слущиванию энтероцитов. Регенерация происходит за счет незрелых эпителиоцитов, что сопровождается нарушением пищеварения после окончания инфекционного процесса. Заболеваемость составляет 90%, а смертность – 5-25%. При этом, если отсутствует осложнение *E. coli*, то диарея проходит через 2-3-дня.

Возбудитель ротавирусной инфекции относится к роду Rotavirus, семейства Reoviridae. Данный род включает 5 видов: А, В, С, D и Е. Наиболее изученные представители рода А, т.к. наиболее часто их выделяют при ротавирусной инфекции крупного рогатого скота, а также других видов животных и человека. Внутри ротавирусов А выделяют несколько серотипов. Их классификация основана на реакции специфических антител с поверхностными белками VP4 и VP7. Для белка VP7 выделяют G-серотипы (от англ. «Glycoprotein»), для VP4 – P-серотипы (от англ. «Protease sensitive») - чувствительны к протеазе). В связи со сложностью серотипизации ротавируса по протеину VP4 в настоящее время используют молекулярно-генетические методы, при этом говорят о Р-генотипе и его номер заключают в квадратные кавычки. Зачастую Р-генотипы хорошо коррелируют с известными Р-серотипами. В настоящее время к ротавирусам крупного рогатого скота группы А относят 6 Р-типов (Р6[1], Р7[5], Р8[11], Р11[14], Р[17] и Р[21]) и 8 G-типов (G1, G3, G5, G6, G7, G8, G10 и G15).

Материалы и методы. Анализ последовательностей белков и генов депонированных к настоящему времени штаммов ротавируса проводили с использованием международных баз данных при помощи компьютерных программ AlleleID v.6.0, Vector NTI Suite.

Результаты исследований. Известно, что к ротавирусной инфекции восприимчивы многие виды животных, в том числе и человек, поэтому выделяют из исследуемых организмов свойственные другим видам штаммы ротавируса. За счет рекомбинации при смешанной инфекции вирусной РНК возникают нетипичные штаммы ротавирусов, имеющие в своем составе последовательности от разных штаммов ротавирусов. Поэтому бинарная классификация ротавирусов типа А зачастую не в полной мере характеризует штамм. Для полной классификации ротавирусов типа А была предложена методика филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей всех 11 генов на основе полных и частичных последовательностей генома более 100 штаммов принадлежащих разным видам животных [3]. По данной классификации, например, характеристика штамма Cow/France/RF/1975 выглядит так: G6-P6[1]-I2-R2-C2-M2-A3-N2-T6-E2-N3. Во избежание дублирования в литературе и идентичной нумерации новых генов была создана рабочая группа по классификации ротавирусов (RCWG), которая ответственна за валидацию новых нуклеотидных последовательностей и присвоение генотипического номера.

Вирус состоит из двухцепочечной РНК, длиной 18 555 нуклеотидов. РНК состоит из 11 сегментов, которые заключены в трехслойный капсид без оболочки. Каждый сегмент РНК – это ген, который кодирует один белок, исключение составляют гены 9 и 11, которые кодируют по 2 протеина. Основные белки ротавирусов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Белки ротавирусов и их положение в геноме.

Сегмент РНК (ген)	Размер, п.н.	Белок	Молекулярный вес, кДа	Расположение	Кол-во копий в вирусной частице	Функция
1	3302	VP1	125	На вершинах ядра	<25	РНК-полимераза
2	2690	VP2	102	Формирует внутреннюю оболочку ядра	120	Стимулирует репликасу вирусной РНК
3	2591	VP3	88	На вершинах ядра	<25	Гуанилилтрансферазам РНК-кэпирующий фермент
4	2362	VP4	87	Поверхностные пики	120	Прикрепление к клетке, вирулентность
5	1611	NSP1	59	Неструктурный	0	Связывание 5'РНК
6	1356	VP6	45	Внутренний капсид	780	Структурная, видоспецифический антиген
7	1104	NSP3	37	Неструктурный	0	Увеличивает активность вирусной РНК и блокирует синтез клеточных белков
8	1059	NSP2	35	Неструктурный	0	НТРаза, связанная с упаковкой РНК
9	1062	VP7 ¹ VP7 ²	38 и 34	Поверхность	780	Структурная, антиген нейтрализации
10	751	NSP4	20	Неструктурный	0	Энтеротоксин
11	667	NSP5 NSP6	22	Неструктурный	0	Связывающий модулятор NSP2 одно- и двухцепочечной РНК

В ротавирусах различают структурные (VP1-VP7) и неструктурные белки (NSP1-NSP6). Структурные образуют внешний капсид, защищая нуклеиновую кислоту, являются видо- и типоспецифическими антигенами, а также участвуют в проникновении вируса в клетку. VP1, VP2, VP3 и сегментированная РНК формируют ядро вириона, тримеры VP6 формируют средний слой, а VP7 и VP4 – наружный слой инфекционной вирусной частицы. [1]

Белок VP1 расположен в ядре вирусной частицы и является ферментом РНК-зависимой РНК-полимеразой. В инфицированной клетке он продуцирует транскрипты мРНК для синтеза вирусных белков, а также сегменты вирусной РНК для вновь образованных вирусных частиц.

Белок VP2 – внутренний капсидный белок, который самособирается и формирует икосаэдрический капсид с каналами в каждой из его пяти вершин. Этот капсид формирует внутренний концентрический слой зрелой вирусной частицы. Он покрывает VP1, VP3 и нуклеиновую кислоту, тем самым образуя ядро. VP2 и белок среднего слоя VP6 остаются интактными при инфицировании клетки, чем защищают РНК от деградации и нежелательных противовирусных реакций клетки-хозяина во время всего цикла репликации вируса. Зарождающиеся транскрипты образуются в структурных пределах этой двухслойной частицы и выходят через каналы на ее вершинах. VP2 необходим для репликационной активности VP1-полимеразы. Он, вероятно, играет роль в координации упаковки и репликации генома путем контроля инициации синтеза минус-цепи РНК. Привязка к VP1-полимеразе, предположительно, VP1-РНК, который иницирует синтез минус-цепи.

VP3 является частью ядра вириона представляет фермент гуанилилтрансферазу, который катализирует посттрансляционную модификацию мРНК (образование 5'-«кэпа»). Эта модификация служит для стабилизации вирусной мРНК от разрушения деградирующими ферментами нуклеиновых кислот – нуклеазами. Также он играет важную роль в соединении процессов упаковки вирусной РНК и сборки капсида. Подтверждением этого является тот факт, что наличие мутации в этом белке (G527→D) не влияет на его функцию, но при этом образуются «пустые» вирионы.[2]

VP4 образует «шпиль» на поверхности вириона и служит для прикрепления к рецепторам чувствительных клеток, играет главную роль в проникновении вируса в клетку, определяет диапазон хозяев и вирулетность штамма. Для проявления вирулетности необходимо взаимодействие с трипсином, который расщепляет VP4 на два белка VP5* VP8*, при этом значительно возрастает инфекционность. VP5* формирует тело и нижнюю часть «шпиля». Он обуславливает высвобождение вирусной частицы из эндосомальных образований в цитоплазму клетки. VP8* находится на вершине шпиля, является вирусным гемагглютинином и главной мишенью для вируснейтрализующих антител, обеспечивает взаимодействие вириона с поверхностными рецепторами клетки.

VP6 образует среднюю часть протеиновой оболочки вириона. Несет антигенные эпитопы, которые позволяют дифференцировать ротавирусы на субгруппы по взаимодействию со специфическими моноклональными антителами. VP6 птичьих ротавирусов имеет существенные отличия от ротавирусов млекопитающих. Противовирусные антитела активно вырабатываются против VP6. Поэтому, зачастую, в качестве антигена для ИФА используется рекомбинантный VP6.

VP7 совместно с VP4 образуют внешний слой капсида вириона и активно участвуют в процессах проникновения в клетку. В процессе проникновения в клетку VP7 необходимо избавиться от свободных ионов Ca^{2+} , при этом его тримеры диссоциируют, что запускает конформационные изменения VP4, необходимые для инфицирования клетки. VP7 имеет сайты связывания для вируснейтрализующих антител. Fab-фрагменты блокируют диссоциацию тримеров VP7, тем самым предотвращая изменения VP4 и инфекционность вируса. По белку VP7 ротавирусы классифицируют на 16 G-серотипов.

Неструктурные белки отсутствуют в капсиде и образуются во время репликации в клетке, обеспечивают репродукцию вирусной РНК, синтез белков.

Белок NSP1 играет важную роль в репликации вируса. Основные функции – это блокирование апоптоза и механизмов врожденной иммунной защиты клеток. При вирусной инфекции в клетках вырабатывается интерферон-регулирующий фактор 3 (IFN3), который дает сигнал для синтеза интерферонов I типа (α и β). Выработанные интерфероны индуцируют синтез вируснейтрализующих белков в окружающих клетках, тем самым ограничивая распространение вируса. Для предотвращения противовирусных ответов NSP1 деградирует интерферон-регулирующие факторы. Кроме защиты репликации вируса от иммунной системы необходимо поддерживать клетку в живом состоянии. Одним из механизмов защиты клеток для ограничения распространения вирусов является апоптоз. NSP1 активирует PI3K (фосфотидилинозитол-3 киназа) и NF- κ B (фактор ядра κ B) тем самым блокируя клеточные механизмы апоптоза.

NSP2 участвует в репликации генома вируса и упаковке капсида. Играет решающую роль, совместно с NSP5, в формировании вироплазм, которые представляют собой большие включения в цитоплазме, где происходит репликация РНК и сборка промежуточных продуктов репликации. Проявляет свойства НТФазы, РНК-трифосфотазы, обладает АТФ-независимой спираль-расплетательной активностью, которая может подготавливать и организовывать +-нить РНК для упаковки и репликации путем удаления интерферирующих вторичных структур. В отличие от типичных геликаз, NSP2 необходим дивалентный катион или источник нуклеотидной энергии для дестабилизации спирали [4].

NSP3 участвует в ингибировании синтеза протеинов хозяина. Его функция аналогична и конкурирует с клеточным поли(А)-связывающим белком PABPC1. Взаимодействуя с эукариотическим фактором инициации трансляции eIF4G в том же месте, который использует PABPC1, NSP3 заменяет его, ингибируя трансляцию клеточных поли(А)-мРНК[4].

NSP4 является энтеротоксином и участвует в морфогенезе вириона. Функционирует как рецептор для незрелой двухоболочной вирусной частицы при почковании в просвет эндоплазматического ретикула. NSP4 вызывает С-зависимое фосфолипазное увеличение концентрации кальция в слизистых клетках кишечника. Это ведет к нарушению цитоскелета и увеличивает внеклеточную проницаемость. При этом увеличивается секреция хлорид-ионов по кальций-ионзависимому пути, что проявляется диареей. Также возможно, что NSP4 выходит из энтероцитов в растворимой форме в просвет кишечника и взаимодействует с соседними эпителиальными клетками [5].

NSP5 участвует в репликации вирусного генома. Проявляет АТФазную и аутокиназную активность.

Заключение. Приведенные данные характеризуют ротавирус крупного скота. Показано, что вирус состоит из двухцепочечной РНК, длиной 18 555 нуклеотидов. РНК состоит из 11 сегментов, которые заключены в

трехслойный капсид без оболочки. Каждый сегмент РНК – это ген, который кодирует один белок, исключение составляют гены 9 и 11, которые кодируют по 2 протеина.

Литература. 1. *Rotavirus Replication: Plus-Sense Templates for Double-Stranded RNA Synthesis Are Made in Viroplasm/Lynn S. Silvestri, Zenobia F. Taraporewala// J Virol. 2004 July; 78(14): 7763–7774.* 2. *Genome Heterogeneity of SA11 Rotavirus Due to Reassortment with "O" Agent /Cattle Small, Mario Barro, Thomas L. Brown, and John T. Patton //Virology. 2007 March 15; 359(2): 415–424.* 3. *Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments /JelleMatthijnssens, Max Clarlet, MustafizurRahman, HoussamAttoul, KrisztlánBányai, Mary K. Estes, Jon R. Gentsch, MlrenIturriza-Gómara, Carl Klrkwood, Vito Martella, Peter P.C. Mertens, Osamu Nakagomi, John T. Patton, Franco M. Ruggeri, Linda J. Saif, Norma Santos, Andrej Steyer, Koki Taniguchi, Ulrich Desselberger, Marc Van Ranst //Arch Virol. 2008; 153(8): 1621–1629.* 4. *Expression of two bovine rotavirus non-structural proteins (NSP2, NSP3) in the baculovirus system and production of monoclonal antibodies directed against the expressed proteins / Aponte C., Mattlon N.M., Estes M.K., Charpilienne A., Cohen J. // Arch. Virol. 133:85-95(1993).* 5. *Bovine rotavirus RF gene 10 encoding NSP4 / Charpilienne A., Enouf V., Cohen J. //EMBL/GenBank/DBJ databasesMAY-2002*

УДК 619:615.373.

ОСВЕТЛЕНИЕ И СТЕРИЛИЗУЮЩАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Медведев А.П., Даровских С.В., Жаков В.М., Даровских И.А., Огурцова К.А.

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

Показана возможность осветления сыворотки против сальмонеллеза животных путем сепарации. Фильтрация сыворотки с применением бактериальных фильтров обеспечивает ее стерильность.

It has been shown the method for clarifying the immune serum against salmonellosis. The serum filtration through bacterial filters results in its sterility.

Введение. Лечебно-профилактические сыворотки и выделяемые из них иммуноглобулины применяют с целью экстренной профилактики многих болезней и лечения человека и животных. Например, в практике здравоохранения немаловажное значение имеет сыворотка против дифтерии, столбняка, ботулизма и другие. В ветеринарии для профилактики инфекций и лечения животных используют гипериммунные сыворотки против рожи, эшерихиоза, лептоспироза, сальмонеллеза и других болезней.

Лечебно-профилактические сыворотки содержат готовые антитела, поэтому пассивный иммунитет у людей и животных наступает практически незамедлительно при их введении. Ценность сывороток заключается еще и в том, что сывороточные белки пополняют организм энергетическими и пластическими веществами, оказывают неспецифическое действие на организм, повышают его тонус и способствуют выздоровлению больного.

УП «Витебская биофабрика» для нужд животноводства выпускает сыворотку против рожи, эшерихиоза, пастереллеза и сальмонеллеза.

Поливалентную антитоксическую сыворотку против сальмонеллеза телят, поросят и птиц изготавливают в сывороточном цехе фабрики из крови волов-производителей, гипериммунизируемых антигеном, в состав которого входят сальмонеллы, чаще всего поражающие животных различных видов в хозяйствах страны. У производителей берут кровь, сепарированием отделяют эритроциты, дефибринируют плазму, получают сыворотку. С целью осветления сыворотки ее отстаивают и подвергают фильтрованию через многорамные фильтры с пластинами марки «Ф», а с целью стерилизующей фильтрации пропускают через пластины «СФ». В силу того, что сыворотка термолабильна единственным пока еще промышленным способом ее стерилизации является фильтрация.

Существующая технология осветления сыворотки имеет ряд недостатков. Основными из них являются следующие: значительная продолжительность отстоя (2 месяца), потери сыворотки при отстое и при фильтрации через многорамные фильтры с пластинами «Ф», трудоемкость подготовительных операций, связанная с монтажом и демонтажом 79-рамных фильтров, относительно невысокая производительность фильтрования, значительные материальные затраты при использовании фильтрующих пластин одноразового действия.

Поэтому целью нашей работы явилась апробация возможности осветления сыворотки с применением сепараторов и последующей стерилизации ее с помощью бактериальных фильтров.

Материалы и методы. В опытной работе использованы поливалентная антитоксическая сыворотка против сальмонеллеза телят, поросят и птиц, пластинчатый теплообменник, емкости – отстойники, сепаратор-осветлитель ОЦМ-10, сепаратор-разделитель ОСТ -3, ФЭК-56Н, SM-фильтры фирмы «Миллипор», питательные среды (МПБ, МПА, МППБ, Сабуро), белые мышки, морские свинки.

Предварительно нами был проанализирован литературный материал относительно физических свойств дисперсных фаз сыворотки. Известно, что неосветленная сыворотка, как гетерогенная жидкая система является эмульсией. Неосветленная сыворотка содержит балластные белки в количестве 0,6-1%, выпадающие в осадок в течение 2-х месячного отстоя. В сыворотке во взвешенном состоянии в виде тонкодисперсной фазы находится жировая фракция в количестве 0,34-0,4%, а также микроорганизмы. Целью осветления являлась удаление из сыворотки балластных белков, жировой фракции, микроорганизмов.

Плотность сыворотки – 1,024 г/см³, плотность балластных белков – 1,28 г/см³, плотность липидной фракции – 0,9 г/см³, вязкость сыворотки – 1,55 – 1,57 Пз, плотность бактерий – 1,01-1,4 г/см³, размеры микроорганизмов – 0,5-5 мкм.

Эти данные относительно физических свойств дисперсных фаз сыворотки свидетельствуют о принципиальной возможности осветления ее методом сепарации.