

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ АРМЕНИИ**

**САРКИСЯН ХАЧИК ВАЗГЕНОВИЧ**

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ВИРУСОВ  
ТРАНСГРАНИЧНЫХ БОЛЕЗНЕЙ (ЯЩУР И АФРИКАНСКАЯ  
ЧУМА СВИНЕЙ) В РЕСПУБЛИКЕ АРМЕНИЯ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени доктора  
ветеринарных наук по специальности 16.00.01 – «Ветеринария»**

**ЕРЕВАН – 2017**

---

**Հ Ա Յ Ա Ս Տ Ա Ն Ի Ա Չ Գ Ս Յ Ի Ն Ա Գ Ր Ա Ր Ա Յ Ի Ն Հ Ա Մ Ա Ն Ս Ա Ր Ա Ն**

**Ս Ա Ր Գ Ս Յ Ա Ն Ի Ա Չ Ի Կ Վ Ա Չ Գ Ե Ն Ի**

**«ԱՆԴՐՍԱՅ ՄԱՆԱՅԻՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒ ԹՅՈՒ ՆՆԵՐԻ (ԴԱԲԱՂ, ԻՈՉԵՐԻ  
ԱՖՐԻԿԱՆ ժԱՆՏԱԿՑ) ՎԻՐՈՒ ՄՆԵՐԻ ՏԱՐԱՏԵՍԱԿՆԵՐԻ  
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒ ԹՅՈՒ ՆՆԵՐԻ ՈՒ ՍՈՒ ՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ  
Հ Ա Յ Ա Ս Տ Ա Ն Ի Հ Ա Ն Ր Ա Դ Ե Տ ՈՒ Թ Յ ՈՒ Ն ՈՒ Մ»**

**Ժ2.00.01 – «Անասնաբուժությունը մասնագիտություն ամբ  
անասնաբուժական գիտությունը ու նրանի դոկտորի գիտական  
աստիճանի հայցման արտադրությունը ան»**

**Ս Ե Ղ Մ Ս Գ Ի Ր**

**ԵՐԵՎԱՆ – 2017**

Тема диссертации утверждена на ученом совете “Научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов” ГНКО РА

**Официальные оппоненты:**

доктор ветеринарных наук  
доктор ветеринарных наук, профессор  
доктор медицинских наук, профессор

М.А.Саргсян  
Т.К.Курашвили  
Г.Г.Мелик-Андреасян

**Ведущая организация:** Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии» г.Покров

Защита диссертации состоится 21-ого июня 2017г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании специализированного совета 022 «Ветеринария и зоотехния» ВАК РА при Национальном аграрном университете Армении по адресу: 0009, г.Ереван, ул.Теряна 74

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Национального аграрного университета Армении

Автореферат разослан 19-ого мая 2017г.

**Ученый секретарь специализированного совета,  
канд.вет. наук, доцент**



**А.М.Бадалян**

---

Ատենախոսությունը թեման հաստատվել է ՀՀ «Սննդամթերքի անվտանգության ոլորտի ռիսկերի գնահատման և վերլուծության գիտական կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի գիտական խորհրդում

**Պաշտոնական ընդդիմախոսներ`**

անասնաբուժական գիտությունների դոկտոր  
Մ.Ա.Սարգսյան

անասնաբուժական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր  
Թ.Կ.Կուրաշվիլի

բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր  
Գ.Գ.Մելիքյան

**Առաջատար կազմակերպություն`** «Անասնաբուժական վիրոսաբանության և մանրէաբանության համառոտական գիտահետազոտական ինստիտուտ» ՊԳԿ ք.Պոկրով

Պաշտպանությունը կայանալու է 2017թ. հունիսի 21-ին ժամը 14<sup>00</sup>-ին Հայաստանի ազգային ազրարային համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՅ-ի 022 «Անասնաբուժություն և անասնաբուժություն» մասնագիտական խորհրդում:

Հասցեն` 0009, ք. Երևան, Տերյան 74

Ատենախոսությունը կարելի է ծանոթանալ Հայաստանի ազգային ազրարային համալսարանի գրադարանում:  
Սեղմագիրն առաքված 2017թ. մայիսի 19-ին:

**Մասնագիտական խորհրդի գիտական  
քարտուղար, անգիտթեկնածու դոցենտ**



**Ա.Ս.Բադալյան**

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Совершенствование транспортных средств наряду с глобализацией международных торгово-экономических связей существенно

повлияло на изменение ареалов ряда экзотических болезней животных, очаги которых, в силу различных причин сохранились в развивающихся странах. Некоторые из таких болезней (ящур и АЧС) способные распространяться на большие расстояния и в течение короткого времени достигать эпизоотических пропорций, последовательно или одновременно охватывая поголовье скота в нескольких странах, определены МЭБ как трансграничные болезни животных. Последние являются не только одним из основных факторов, сдерживающих развитие животноводства в мире, но и глобальным риском для развития международной торговли продуктами животного происхождения.

Эпизоотическая ситуация по ящуре в мире, в том числе и в соседних с Арменией странах, остается напряженной, поэтому велика вероятность заноса возбудителя в нашу страну. В связи с этим, необходимо дальнейшее осуществление систематических мониторинговых исследований, в первую очередь в зонах с высокой степенью риска заноса и распространения ящура, с целью контроля иммунного фона, а также выявления возможного скрытого переболевания животных и вирусносительства среди них.

За период с 1998 по 2016 гг. в Армении были установлены пять эпизоотические вспышки ящура, вызванные вирусами типа А (1998, 2016), Азия-1 (2000), О (2002) и О (2007, НКР). Кроме того, неординарность ситуации заключалась в том, что выделенные изоляты вирусов типа О, А и Азия-1 имели значительные антигенные различия от производственных штаммов и, тем самым, применяемые средства активной профилактики оказались малоэффективными. Такое положение дел и наметило пути совершенствования технологии изготовления инактивированных вакцин из культурального вируса и полевых штаммов.

Исходя из вышеизложенного представляется актуальным пересмотр стратегии борьбы на современном этапе и активизации комплекса исследований в плане высокоспецифичных методов быстрой диагностики инфекции, оперативного слежения за ситуацией, широкого серомониторинга и анализа эффективности профилактических мероприятий.

Географическое расположение и общность границ со стационарно неблагополучными по ТБЖ государствами в течение ряда лет определяли Армению в зону повышенного эпизоотического риска. Особенно ощутимые изменения эпизоотической обстановки произошли в 2007 году, когда в страну была занесена АЧС. В течение нескольких месяцев заболевание распространилось на территорию практически всех областей страны, причиняя огромный экономический ущерб. В течение последующих лет инфекция не теряла своей эпизоотической опасности, и несмотря на все предпринимаемые меры, ее спорадические вспышки продолжали регистрироваться в различных районах. В настоящее время проблема АЧС продолжает оставаться одной из самых сложных в истории борьбы с ТБЖ в Армении. Актуальность и необходимость изучения биологических свойств для разработки методов экстренной защиты восприимчивого поголовья от этого заболевания не вызывает сомнений.

**Цели и задачи исследований.** Главной целью исследований явилось выделение и изучение биологических свойств вирусов ящура и африканской чумы свиней.

Для осуществления этой цели необходимо было решить следующие задачи:

- Изучить занос экзотических вирусов ящура и АЧС на территорию Армении.
- Провести диагностику и идентификацию эпизоотических изолятов вируса ящура и АЧС, выделенных на территории Армении и Нагорно-Карабахской Республики (НКР) в 1998-2016гг.
- Изучить иммунобиологические свойства выделенных изолятов вируса ящура (1998-2016гг.) и АЧС (2007-2011гг.) в Армении и НКР.
- Провести анализ эпизоотических данных по ящуру и АЧС в Армении.
- Провести культивирование выделенных изолятов вирусов ящура и АЧС.
- Получить и усовершенствовать технологию изготовления экспериментальной серии вакцин против ящура.
- Изучить авирулентность, безвредность и иммунологическую эффективность приготовленных вакцин из вирусов ящура.
- Изучить роль кровососущих в качестве переносчиков и резервуара вируса АЧС.
- Совершенствовать стратегию и тактику по профилактике и борьбе с ящуром и АЧС в Армении на современном этапе.

**Научная новизна.** Изучены пути заноса экзотических изолятов вирусов ящура и АЧС на территорию Армении, определены их иммунобиологические свойства, изучены культуральные свойства выделенных изолятов вируса ящура и АЧС, получены и усовершенствованы технологии изготовления экспериментальных серий вакцин против ящура, определены основные параметры инактивации вируса с использованием нового способа получения АЭЭИ, с целью изготовления безопасной противоящурной вакцины, разработана стратегия и тактика по профилактике и борьбе с ящуром и АЧС животных в Армении на современном этапе.

**Практическое значение работы.** Для практического использования подготовлены и утверждены “Инструкция по предупреждению и ликвидации ящура с/х животных”, “Инструкция по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней в Республике Армения”, технические условия по приготовлению универсальной одновалентной и поливалентной вакцин “А”, “О”, “Азия-1” и поливалентной вакцины против ящура типов “А”, “О”, “Азия-1”. Установлена первичная структура участка генома вируса ящура типов А-98, А-2016, О-2002, О-НКР-2007 и Азия-1-2000. Доказано, что эти изоляты значительно отличаются от производственных штаммов А<sub>22</sub>№550, О№194 и Азия-1 №48. Получены вакцинные штаммы вируса ящура А-98, О-2002, НКР-2007, Азия-1, 2000. Подготовлены технические условия по применению раствора 2-аминоэтил этиленмина (димер этиленмина) для инактивации вируса ящура.

**Вопросы, выносимые на защиту**

- Занос экзотических типов вируса ящура на территорию Армении и анализ эпизоотических данных
- Идентификация эпизоотических штаммов вируса ящура, выделенных на территории Армении и Нагорно-Карабахской Республики (НКР) в 1998-2007 гг.
- Изучение иммунобиологических свойств выделенных в Армении (1998-2016гг.) изолятов вируса ящура
- Культивирование изолятов ящура А-98, О-2002, О-НКР-2007, Азия-1-2000

- Получение и усовершенствование технологии изготовления экспериментальной серии вакцин против ящура
- Стратегия и тактика по профилактике и борьбе с ящуром в Армении на современном этапе
- Занос и анализ причин заноса и распространения экзотического вируса АЧС
- Выделение эпизоотического вируса АЧС и его идентификация, на территории Армении и НКР в 2007-2011гг.
- Патогенность для свиней
- Культивирование изолятов вируса АЧС выделенных в Армении
- Вирулентные свойства вируса АЧС
- Изучение роли диких кабанов и клещей в качестве резервуара и переносчиков вируса АЧС
- Профилактика АЧС

**Апробация работы** – По материалам диссертационной работы опубликовано 27 научных статей и 3 авторских свидетельства. Материалы диссертации и основные ее положения доложены и обсуждены на заседаниях ученого совета научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов (2010, 2016), заседаниях ученого совета ФГУ “Федеральный центр охраны здоровья животных” (ФГУ “ВНИИЗЖ”) (2008), региональном семинаре по разработке долгосрочной стратегии управления ящуром для Западной Евразии, Шираз, Иран, 9.11-13.11.2008г., международной конференции “Проблемы повышения производительности с/х продукции и внедрения новых технологий”, посвященной 50-летию научного центра почвоведения, агрохимии и мелиорации им.Гранта Петросяна МСХ РА, Ереван, 2008г., международной научной конференции ГАУА “Охрана и использование водных ресурсов южно-Кавказского региона”, Ереван, 2009г., международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию Всероссийского научно-исследовательского и технологического института биологической промышленности “Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов”, г.Щелково, 9-10 декабря 2009г., международной научной конференции ГАУА, посвященной 80-летию основания Государственного аграрного университета Армении, Ереван, 21-23 октября 2010г., международной научной конференции ГАУА “Современные проблемы экологического и органического сельского хозяйства”, Ереван, 9-12 ноября 2011г., на 6-ом международном научном симпозиуме, посвященной инфекционным болезням свиней, г.Барселона, Испания, 10-16 июня 2011г., международной научной конференции “Экспериментальная и клиническая медицина” 15-21 сентября 2013г., г.Харьков, Украина, научной конференции НАУА, посвященной проблемам безопасности пищевых продуктов и продовольственной обеспеченности, 16-18 октября 2014г., Ереван, на 33-ем годовом симпозиуме, организованном союзом вирусологов Америки, 20-26 июня 2014г., США, Форт Колинз, научной конференции посвященной биозащите и изучению особо опасных инфекций 7-13 февраля 2015г., Вашингтон, США

**Объем и структура диссертации** Диссертация изложена на 207 листах и включает: введение, обзор литературы, материал и методы, собственные исследования(ящур, африканская чума свиней), обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список литературы,

приложение. Работа иллюстрирована 34 таблицами, 14 рисунками и 11 фотографиями.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Вирусы.** Экспериментальную работу проводили с использованием производственных штаммов культурального вируса ящура О<sub>1</sub>, А<sub>22</sub> и Азия-1, эпизоотические изоляты вируса ящура типа А (Армения/98), О (Пан Азия-2) и Азия-1 (№48), выделенные в неблагополучных хозяйствах республики и эпизоотические изоляты вируса АЧС, генотип II.

**Подопытные животные.** В экспериментальных исследованиях использовано 62 голов КРС, под наблюдением находились свыше 100 тыс. гол. крупного рогатого скота; 65 голов свиней, 1200 голов морских свинок, 10000 голов 2-6 дневных мышат-сосунов.

**Культуры клеток.** Для изучения вируса ящура в работе использовали перевиваемые линии клеток ВНК-21/13 (почка сирийского хомячка), IBRS-2 (почка поросенка), ПСГК-30 (почка сибирского горного козерога). Первичную культуру клеток почек свиней (СП) получали из почек поросят 1-2 месячного возраста. Для изучения вируса АЧС использовали первичные культуры клеток костного мозга или лейкоциты крови свиней (КМС, ККЛ).

**Питательные среды.** Для культивирования первичной культуры клеток почек поросят использовали 0,5% раствор гидролизата лактальбумина на солевом растворе Хенкса. Перевиваемые линии клеток ВНК-21/13 и IB-RS-2 культивировали на среде Игла, клетки ПСГК-30 – на 0,5% растворе гидролизата-лактальбумина в солевом растворе Эрла с 0,25% глюкозы и 0,01% дрожжевого экстракта. Поддерживающие среды для культивирования и титрирования вируса имели тот же состав, что и среды роста, но не содержали сыворотки крупного рогатого скота. Среда покрытия состояла из 0,5% агара “Дифко” на поддерживающей среде с рН 7,6-7,8.

**Адаптация вируса к клеточным культурам.** Адаптацию вируса проводили по общепринятой методике с использованием прямых пассажей (15-20). Степень адаптации вирусов ящура и АЧС к клеточным культурам оценивали по скорости появления ЦПД (ящур) и на наличие гемадсорбции (ВАЧС), степенью их выраженности и уровню накопления вирусов.

**Культивирование вируса.** Вирусы культивировали в первичной культуре клеток поросят, в культуре костного мозга свиньи и перевиваемых линиях клеток (ВНК-21/13, IB-RS-2, ПСГК-30). С этой целью культуру заражали (1,0 мл) 10%-ной суспензией адаптированного вируса ящура и АЧС с титром инфекционности не менее 7,5-8,0 lg ЛД<sub>50</sub>. Через 24, 48, 72 часов отбирали вирусосодержащую жидкость и оставляли при -20°C в течение дня.

**Очистка вирусосодержащей суспензии.** Суспензию вируса готовили на основе 1/5 М ФБР (фосфатно-буферный раствор), рН-7,6, после чего добавляли ПЭИ или ПЭПА в конечной концентрации 0,05-1%. Растворенные соединения экстрагировали с помощью 5%-ного раствора хлороформа, смесь перемешивали до ее обесцвечивания и отстаивали для седиментации флокулированных белков в течение 24-48 часов. Надосадочную жидкость использовали в работе.

**Концентрирование вирусов ящура и АЧС.** Концентрирование антигена осуществляли сорбцией на ГОА (гидрат окиси алюминия), бентоните и полиэтиленгликолем (ПЭГ). Концентрирование сорбцией проводили путем

добавления соответствующего количества сорбента (рН 7,4-7,8), смесь тщательно перемешивали и отстаивали в течение 12-28 часов. Надосадочную жидкость удаляли после центрифугирования или отстоя. При оценке адсорбционных свойств сорбентов по отношению к вирусам ящура и АЧС в 10% суспензию добавляли испытуемый сорбент до нужной концентрации. Спустя определенное время брали надосадочную жидкость и в ней определяли титр инфекционности для культуры клеток.

**Инактивация вируса ящура.** Инактивацию проводили с использованием АЭЭИ. Инактивант вносили в суспензию в концентрации 0,05% и проводили инактивацию при температуре 26-27°C в течение 24 часов. Остаток инактиванта нейтрализовали 2%-ным раствором тиосульфата натрия из расчета 15 мл на литр суспензии (рН 7,4-7,5).

Определение вирусосодержащих антигенов и титры противовирусных антител проводили с использованием реакции связывания комплемента (РСК), реакции нейтрализации (РН), реакции гемадсорбции, метода флюоресцирующих антител (МФА), иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Лучшим, хотя и дорогостоящим методом обнаружения вируса ящура в патологическом материале является биопроба на крупном рогатом скоте. 10%-ную суспензию полученного материала (типа А, О, Азия-1) вводили телятам в возрасте 3 месяцев и старше, по 0,1 мл в слизистую оболочку языка в нескольких точках. Появление афта на месте введения материала с последующим подтверждением специфичности материала в РСК свидетельствует о наличии вируса ящура. Чаще всего для постановки биопроб использовали мышат-сосунов 2-3 дневного возраста и морских свинок весом не менее 500г. Высококочувствительным методом выделения вируса является инокуляция культур клеток. В этих целях чаще всего использовали однослойную культуру первично трипсинированных клеток СП и перевиваемые культуры клеток ВНК-21 и ПСГК-30.

**Изготовление сорбированных вакцин.** Для составления объединенной серии вакцин к инактивированному полуфабрикату, содержащему 30% сорбента-адьюванта ГОА с 3% концентрацией  $Al_2O_3$  добавляли в качестве дополнительного адьюванта 10% растворы сапонина или нуклеината натрия до конечной концентрации 0,5%.

**Оценка токсичности адьювантов.** С целью изучения острой токсичности определяли максимально переносимую дозу (МПД), при которой не наблюдается гибель животных; летальную дозу (ЛД<sub>100</sub>), которая вызывает гибель всех подопытных животных; токсическую дозу (ЛД<sub>50</sub>), вызывающую гибель 50% животных.

**Адьювантные свойства препаратов** изучили исходя из иммуногенной активности вакцин путем выявления 50%-ной иммунизирующей дозы (ИМД<sub>50</sub>) на морских свинках, а также по состоянию гуморального иммунитета – путем определения титра вируснейтрализующих антител с помощью РН и ИФА.

**Контроль иммуногенности вакцин.** При определении иммуногенности вакцин руководствовались ТУ “Вакцина против ящура, сорбированная, моно- и поливалентная”. Кроме того, определение иммуногенности на морских свинках проводили новым разработанным “сейс”-методом.

**Проверка вакцины на безвредность.** За вакцинированными животными вели наблюдение в течение 10 дней. Вакцину считали безвредной, если все животные в

течение указанного времени оставались клинически здоровыми и на месте введения вакцины не было воспалительной реакции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3. ЯЩУР

#### 3.1. Занос экзотических типов вируса ящура на территорию Армении и анализ эпизоотических данных

Ящур эндемичен или периодически возникает в соседних странах Азии, что создает постоянную угрозу заноса инфекции в Армению. Так, например, зарегистрированные в нашей стране в 1998, 2000, 2001, 2002, 2007 (НКР) и 2016 гг. вспышки ящура стали следствием заноса инфекции из Ирана и Турции.

Самую тяжелую для нашей республики эпизоотию вызвал занос из Турции вируса А № 1707 (Армения/98). В силу различных причин эпизоотия А-98 возникла в разных областях, а затем быстро распространилась по всей республике, нанеся колоссальный ущерб сельскому хозяйству. Быстрому распространению эпизоотии способствовала чрезвычайная восприимчивость крупного рогатого скота к вирусу А № 1707 (Армения/98) и высокая его контагиозность.

Значительно меньше по экономическому ущербу и последствиям была эпизоотия, вызванная вирусом типа О, который был занесен в Армению в конце августа 2001г. Источником вируса являлся больной турецкий скот, выпасавшийся за инженерными сооружениями погранвойск, где находился крупный и мелкий рогатый скот Ширакской области. Ящуром заболел в основном, крупный и мелкий рогатый скот. Свиньи заболели в меньшем количестве случаев. За период 1998-2002 годы ящур был зарегистрирован в Ширакском марзе (Табл1.)

Таблица 1

Доля неблагополучных пунктов по ящуру за 1998-2007 гг.

Тип вируса	Годы	Наименование марзов и районов	Общее кол-во населенных пунктов	Число неблагополучных пунктов	Доля неблагополучия (Н), %
А	1998	Амасия	26	7	26,9
		Ахурян	36	11	30,5
Азия-1	2000	Амасия	26	19	73,0
О	2002	Ашощк	25	17	76,0
О	2007	Нагорно-Карабахская Республика	35	13	37,1

К этому времени была информация МЭБ, что циркулируемый в Турции вирус имеет антигенные различия с вирусом А<sub>22</sub>. Выделенный изолят был определен как новый вариант и получил название “Армения/98”.

Согласно данным МЭБ, в октябре-ноябре 1999г. в Иране и Турции широкое распространение получил вирус ящура типа Азия-1. Это обстоятельство значительно затруднило ситуацию, т.к. последний случай ящура, вызванный вирусом ящура типа Азия-1, был зарегистрирован в 1984г., а начиная с 1999г. животные против данного типа не прививались. За период с 1998 по 2007гг. в Армении зарегистрировано несколько эпизоотических вспышек ящура, вызванных вирусом типов А (1998), Азия-1 (2000), О (2002) и О (2007 НКР).

В отношении типа А было установлено, что однократная прививка коммерческой вакциной, изготовленной на основе производственного штамма А<sub>22</sub>, не обеспечивала защиту животных. Купировать развитие инфекции в 1998г. удалось только путем двухкратных, с интервалом 7-10 дней, прививок бивалентной вакциной А О, а в дальнейшем – полученной на основе полевого штамма А №1707 (Армения/98). Проведенные мероприятия позволили предотвратить занос экзотического штамма вируса в глубь территории республики.

Вспышки ящура типа Азия-1 на первоначальном этапе в районах Ширакской зоны нанесли значительный экономический ущерб. Однако, в дальнейшем, широкомасштабное применение вакцины из штамма А-48, позволили ликвидировать ящур в первичных очагах. Заболевание в стране не регистрируется с 2002 года.

Наиболее распространенным, по всем показателям эпизоотического процесса, оказался вирус ящура типа О. За период 1998-2007гг. количество неблагополучных пунктов и заболевших восприимчивых животных ящуром типа О значительно превышало таковые при ящуре типов А и Азия-1.

Противоэпизоотическая эффективность применяемых вакцин из производственного штамма О<sub>194</sub> на однократно привитом поголовье была низкой, хотя по иммуногенной активности вакцины в прививном объеме содержали более 7 ИМД<sub>50</sub>. Это обстоятельство требовало изменить направление исследований в плане замены производственного штамма. Во ВНИИЗЖ была получена поливалентная вакцина А, О, Азия-1, где уже использовались новые штаммы.

Таким образом, основными причинами широкого распространения ящура явились не полное антигенное соответствие циркулирующего вируса и производственного вакцинного штамма, скрытие первичных очагов инфекции и неполный охват прививками поголовья КРС.

### **3.2 Идентификация эпизоотических штаммов вируса ящура, выделенных на территории Армении и Нагорно-Карабахской Республики в 1998-2007 гг.**

За период с 1998 по 2007 год включительно в лабораторию диагностики “НЦЖВ” ГНКО на исследование поступило 305 образцов вирусного материала из различных областей республики. Было проведено изучение типовой и вариантной принадлежности вируса ящура в РСК. При определении типовой принадлежности вируса получены следующие результаты: к типу О отнесено 98 штаммов, к типу А – 111, к типу Азия-1 – 69 штаммов. Из 305 проб вирусного материала у 27 (8,9%) типовая принадлежность не была определена. Эти образцы в культуре ткани и на мышатах-сосунах не обладали инфекционными свойствами. Подвергшиеся исследованию образцы вируса имели различное происхождение. От крупного рогатого скота было исследовано 272 пробы, от овец – 6 и от свиней – 27 проб. В таблице 1 приведены результаты определения типовой принадлежности эпизоотических штаммов вируса ящура, выделенных от различных видов животных (1998-2007гг.).

Из данных, таблицы 2 видно, что из 272 образцов вирусного материала, отобранного от КРС, к типу О относили 34,9%, к типу А – 36,8%, а к типу Азия-1 – 25,4% проб. Тип не был определен в 8 пробах патологического материала, что составляет 2,94% от числа всех исследованных проб. Из 6 образцов материала, полученных от овец, к вирусу типа О была отнесена 1 проба, к типу А – 1 проба и в 4-х пробах (66,7%) определить тип вируса ящура не удалось. Из 27 проб вирусного

материала, полученных от свиней, в 2-х пробах (7,4%) был установлен тип О, в 10 – тип А (37,04%) и в 15 пробах (55.6%) тип вируса не был установлен.

Таблица 2

**Результаты определения типовой принадлежности эпизоотических штаммов вируса ящура, выделенных от различных видов животных (1998-2007гг.)**

Вид животных	Исследовано проб вируса	Типы вируса ящура			Не типировано
		О	А	Азия-1	
КРС	272	95 (34,9%)	100 (36,8%)	69 (25,4%)	8 (2.94%)
Овцы	6	1 (16,7%)	1 (16,7%)	-	4 (66,7%)
Свиньи	27	2 (7,4%)	10 (37,04%)	-	15 (55,6%)
Итого:	305	98 (32,1%)	111 (36,4%)	69 (22,6%)	27 (8.9%)

**3.3. Изучение иммунобиологических свойств выделенных в Армении (1998-2016 гг.) изолятов вируса ящура**

*3.3.1. Изучение иммунобиологических свойств штамма вируса ящура типа А – “Армения/98”*

В 1998 году в Республике Армения были отмечены очаги заболевания ящуром типа А крупного рогатого скота, иммунизированного бивалентной вакциной А<sub>22</sub>О<sub>1</sub>, в состав которой входил антиген из производственного штамма А<sub>22</sub> №550. Полевой материал в виде эпителия афт крупного рогатого скота, полученного из хозяйства Амасийского района, поступил в НЦЖВ для проведения лабораторной диагностики и идентификации выделенного возбудителя. Лабораторными исследованиями материала в РСК с использованием диагностических сывороток типа А было установлено, что исследуемый материал отрицательно реагировал с сывороткой А<sub>22</sub> №550 и давал положительную реакцию в цельном виде и в разведении 1:2 с сывороткой А<sub>5</sub> Вестервальд. Методом прямого секвенирования в ПЦР было проведено сравнительное изучение полученных изолятов, производственных штаммов и полевых изолятов. Сравнительный анализ двух изолятов, выделенных в 1998 году в Армении, и эпизоотических изолятов, выделенных в последние годы в Турции и Иране (А-Иран-96, А-Турция-98), показал, что оба изолята идентичны между собой и отличаются от изолятов А-Турция-98, А-Турция-97 и А-Иран-96 по трем, четырем и семи нуклеотидным последовательностям, соответственно. Полученные результаты послужили основанием для более детального изучения иммунобиологических свойств выделенного возбудителя, получившего название штамм вируса ящура А №1707 “Армения/98”. Вирус был освежен путем однократного пассирования на крупном рогатом скоте, после чего адаптирован к первично-трипсинизированной культуре клеток СП и перевиваемым линиям клеток ВНК-21, ПСГК-30 и ИВ-RS-2. Адаптацию вируса проводили по общепринятой методике путем проведения последовательных пассажей. Результаты адаптации представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Биологические свойства ящура штамма А №1707 “Армения/98”**

Система репродукции	Время наступления	Количество адаптационных	Характеристика адаптированного материала
---------------------	-------------------	--------------------------	--

вируса	ЦПД, час	пассажей	Активность в РСК	Титр инфекционности ТЦД <sub>50</sub> /мл
СП	24	3	Цельн.	10 <sup>6,0</sup> -10 <sup>7,0</sup>
ПСГК-30	21	4	1:2-1:4	10 <sup>6,6</sup> -10 <sup>7,2</sup>
IB-RS-2	20-22	4	1:4	10 <sup>7,0</sup> -10 <sup>7,2</sup>
ВНК-21	20-24	4	1:4-1:8	10 <sup>7,6</sup> -10 <sup>8,0</sup>

Приведенные данные свидетельствуют о высоком накоплении штамма “Армения/98” вируса ящура в указанных культурах клеток. Наиболее высокий урожай вируса был в культуре клеток ВНК-21.

Для изучения антигенного родства штамма А №1707 “Армения/98” с производственным и некоторыми эталонными эпизоотическими штаммами вируса ящура в РСК была получена гипериммунная сыворотка морских свинок. В качестве антигена, используемого при постановке реакции, применяли очищенный, концентрированный в 100 раз, инактивированный вирус, репродуцированный в культуре перевиваемых клеток ПСГК-30.

Постановку реакции и определение антигенного родства штаммов (r<sub>1</sub>, r<sub>2</sub> и R) проводили в соответствии с методическими указаниями по выделению и идентификации штаммов вируса ящура. Результаты этих исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4

**Антигенный спектр вируса ящура штамма А №1707 “Армения/98” по данным РСК (n=3)**

Сравниваемые штаммы	Показатели		
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	R %
А №1707 и А <sub>22</sub> №550	< 0,02	0,34	8
А №1707 и А <sub>5</sub> Вестервальд	< 0,02	0,34	8
А №1707 и А-Иран-87	< 0,02	0,26	7
А №1707 и А-Турция-97	1,0	0,46	68
А №1707 и А-Иран-96	1,0	0,26	51

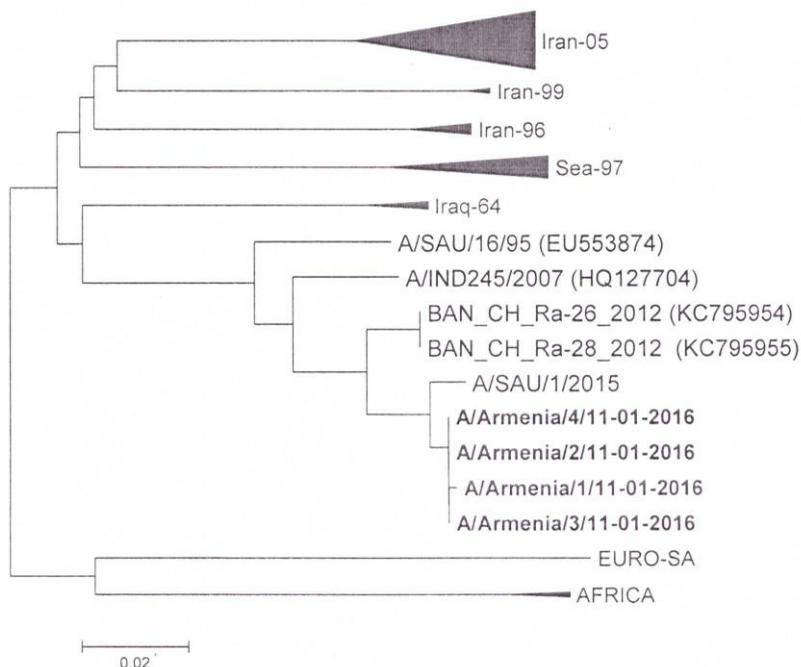
Как свидетельствуют данные, представленные в таблице 4, штамм вируса ящура А №1707 “Армения/98” значительно отличается по антигенным свойствам от производственного штамма А<sub>22</sub> №550, эталонного штамма А<sub>5</sub> Вестервальд и эпизоотического штамма, выделенного в Иране в 1987 году. Меньшие антигенные отличия были с вирусами, выделенными на территории Турции (1997г.) и Ирана (1996г.).

Исходя из полученных результатов исследований, можно констатировать, что выделенный в 1998 году на территории Армении штамм вируса А №1707 “Армения/98” по антигенному спектру является оригинальным, в таксономическом отношении новым, ранее неизвестным вариантом вируса ящура типа А.

В декабре 2015г. в хозяйствах с.Аразап Армавирского марза РА среди КРС и свиней были отмечены очаги заболевания ящуром, которые были иммунизированы сорбированной моно- и поливалентной вакциной против ящура типов А-Иран-2005, О-Паназия-2, Азия-1-Грузия 2001, изготовитель ФГУ “ВНИИЗЖ”, г.Владимир(2015)

Для проведения лабораторной диагностики и идентификации выделенного возбудителя полевой материал в виде эпителия афт поступил в НЦОАРБПП и был

исследован методами ОТ-ПЦР, ИФА, РСК, в результате чего был обнаружен геном и антиген вируса ящура типа А. В январе 2016 года патологический материал нами был доставлен в Региональную справочную лабораторию МЭБ по ящуру “ВНИИЗЖ” г.Владимир, для более детального изучения биологических свойств выделенного возбудителя. По результатам нуклеотидного секвенирования с последующим филогенетическим анализом было установлено, что изоляты A/Armenia/1/11-01-2016, A/Armenia/2/11-01-2016, A/Armenia/3/11-01-2016, A/Armenia/4/11-01-2016 принадлежат к генетической линии А/Г- VII и генетически очень близки с изолятами, выделенными в Турции и Иране. На рис.1 представлена дендрограмма, отражающая положение эпизоотических изолятов штаммов вируса ящура A/Armenia/1, 2, 3, 4/11-01-2016 на филогенетическом древе.



**Рис.1.** Положение изолятов вируса ящура типа А, выделенных в Армении в 2015г. на филогенетическом древе.

### 3.3.2. Изучение иммунобиологических свойств штамма вируса ящура типа А №1920/Армения/2002

В августе 2002 года в НЦЖВ поступил патматериал в виде афт от КРС, отобранный из Ашотского района Ширакской области РА. Из афт были приготовлены 10-33% суспензии, которые были исследованы в РСК, ИФА и ПЦР с последующим нуклеотидным секвенированием. Для изучения адаптационных свойств изолята и получения гипериммунной сыворотки на морских свинках был получен культуральный вирус в первичных и перевиваемых культурах клеток СП, ПСГК-30, ИВ-RS-2 на уровне 3-го пассажа. Культуральные суспензии вируса также

были исследованы на КС-активность и специфичность в РСК. Методами лабораторной диагностики РСК, ИФА, ПЦР было установлено, что вспышка ящура в Ширакской области вызвана вирусом ящура типа О.

В дальнейшем этот штамм был адаптирован к различным линиям культур клеток: первично трипсинированной – СП и перевиваемым ПСГК-30 и IB-RS-2. Результаты этих исследований представлены в таблице 5.

Таблица 5

**Биологические свойства вируса ящура эпизоотического штамма О №1920/Армения/2002**

Система репродукции вируса ящура	Время наступления ЦПД, час	Уровень пассажа	Характеристика адаптированного вируса	
			Активность в РСК	Титр инфекционности ТЦД <sub>50</sub> /мл
СП	18	3	1:2	10 <sup>-6,83</sup>
ПСГК-30	18	3	1:4	10 <sup>-7,55</sup>
IBRS-2	18	3	1:4	10 <sup>-6,5</sup>

Приведенные данные свидетельствуют о хорошей адаптационной активности вируса ящура типа О штамм №1920/Армения/2002 к использованным клеточным культурам.

На штамм №1920/Армения/2002 была получена гипериммунная противоящурная диагностическая сыворотка и концентрированные культуральные антигены.

Было изучено антигенное родство полученного вируса с производственными штаммами вируса ящура и некоторыми эпизоотическими штаммами типа О, а также генетическое взаимоотношение с другими штаммами этого типа. Показано, что изолят О №1920/Армения/2002 в РСК отличается от производственных штаммов О №194, О №1618 и О №1736/Грузия/2000. Результаты этих исследований приведены в таблице 6.

Таблица 6

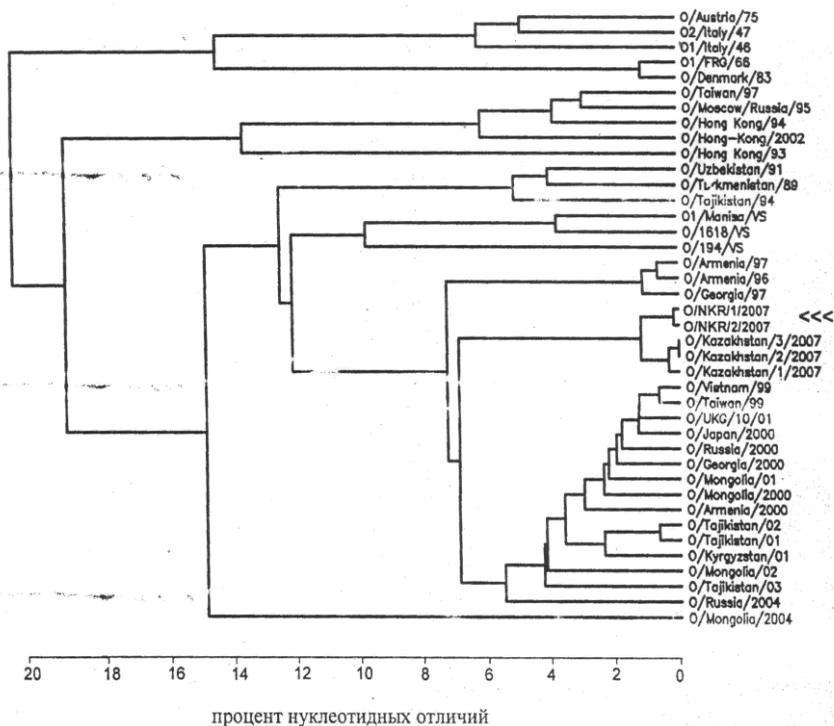
**Антигенный спектр вируса ящура О №1920/Армения/2002 по данным РСК**

Сравниваемые штаммы	Показатели		
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	R%
О-№194	0,02	0,65	11
О-№1618	0,02	0,56	11
О-№1736 Грузия 2000	0,02	>1,0	14

Полученный штамм депонирован в коллекции микроорганизмов НИЦЖВ МСХ РА г. Ереван и в ФГУ ВНИИЗЖ г.Владимир, под регистрационным наименованием Штамм вируса ящура серологического типа О №1920/Армения/2002.

Аналогичные результаты получены при исследовании двух проб афтозного материала крупного рогатого скота, отобранного на летнем пастбище “Кашатаг” НКР (экспертиза № 2041 от. 31.07.2007г.). В РСК и РИ идентифицирован антиген вируса ящура типа О и методом ОТ-ПЦР амплифицировали ДНК гена VP<sub>1</sub> изучаемых штаммов вируса ящура. На рис.2 представлена дендрограмма, отражающая

положение эпизоотических изолятов O/NKR/1/2007 и O/NKR/2/2007 на филогенетическом древе вируса ящура типа О.

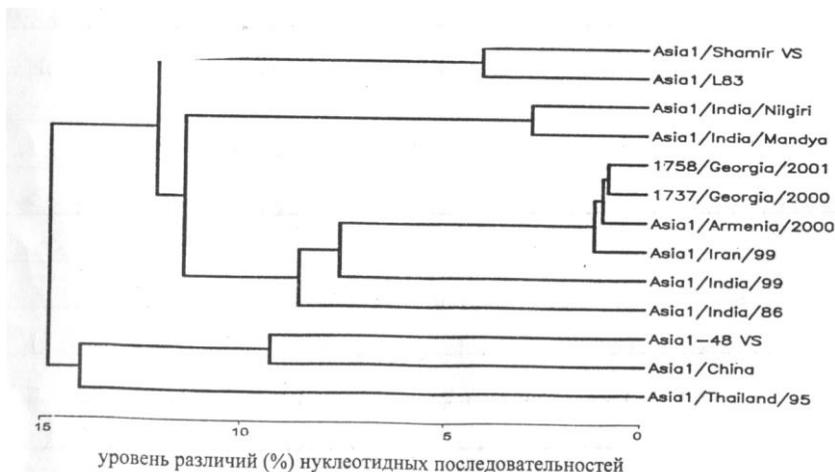


**Рис.2.** Дендрограмма, отражающая положение эпизоотических изолятов O/NKR/1/2007 и O/NKR/2/2007 на филогенетическом древе вируса ящура типа О.

### 3.3.3. Изучение иммунобиологических свойств эпизоотического штамма вируса ящура типа Азия-1 №1933 Армения/2000, выделенного в Армении

Проведено изучение иммунобиологических свойств штамма вируса ящура типа Азия-1 №1933 Армения/2000, в сравнении с производственным штаммом Азия-1 №48, применяемым в качестве вакцинного в РФ и Закавказье. Изучаемые возбудители №1933 и №48 были адаптированы к первичным и перевиваемым культурам клеток СП, ПСГК-30, IBRS-2. С этой целью было сделано по 3-5 пассажей в указанных культурах клеток. Инфекционная активность культурального вируса была в пределах 6,5-7,5 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл. В дальнейшем на этих клеточных культурах были получены концентрированные очищенные антигены этого штамма инактивированные димером этиленмина. Комплемент связывающий титр инактивированных антигенов вируса ящура составил 1:32-1:48. На данные антигены были получены штаммоспецифические противоящурные сыворотки на морских свинках титр которых в РСК составил 1:40 и выше.

Методом ОТ-ПЦП амплифицировали ДНК гена VP<sub>1</sub> изучаемых штаммов вируса ящура (Рис.3).



**Рис.3.** Дендрограмма, отражающая филогенетические взаимоотношения эпизоотических изолятов и вакцинных штаммов вируса ящура типа Азия-1, VS – вакцинный штамм.

Определение двустороннего антигенного родства изученных эпизоотических штаммов вируса ящура проводили в РСК по 100%-му гемолизу с вычислением значения “R” по Архети и Хорсфалу и в РН в культуре клеток СП (таблица 7).

Таблица 7

**Антигенный спектр штаммов ВЯ Азия-1 по данным РСК и РН**

Сравниваемые штаммы типа Азия-1	РСК			РН		
	Показатели					
	$r_1$	$r_2$	R%	$r_1$	$r_2$	R%
№48 и №1933	1,0	0,14	37	0,72	0,5	60
№48 и №1737	1,0	0,11	33	0,74	0,43	56
№48 и №1758	1,0	0,12	35	0,7	0,46	57

Как видно из таблицы 7, антигенные свойства изучаемых эпизоотических штаммов вируса ящура типа Азия-1 по данным РСК несколько разнятся с результатами РН. Несовпадение данных РСК и РН объясняется тем, что в этих реакциях участвуют антитела разных классов. Тем не менее, изоляты ВЯ 2000-2001гг. имеют отличия от производственного штамма Азия-1 №48. Наибольший процент различий представлял возбудитель №1737 Грузия/2000.

### 3.4. Культивирование изолятов ящура А-98, О-2002, О-НКР-2007, Азия-1-2000

Изучение адаптационной способности вирусов ящура типов А, О, Азия-1 выделенных из афтозных материалов к культурам клеток СП, ПСГК-30, ВНК-21 проводили последовательным прямым пассированием, в течение 5 пассажей. Было установлено, что вирус ящура типов А, О, Азия-1, выделенный из афт больных ящуром животных легко адаптируется как к первичной (СП), так и к перевиваемым (ПСГК-30, ВНК-21) культурам клеток методом прямых пассажей. Уже с первого

пассажа (100% случаев) вирус размножается с проявлением четкого, характерного для вируса ящура цитопатического эффекта (ЦПД), поражающего 90-100% клеток монослоя к 18-36 часам культивирования, накапливаясь в высоких титрах (до  $5,5 \cdot 10^7$  ТЦД<sub>50</sub>/мл). Причем накопление КС-антигена, а так же вируса в перевиваемой линии клеток ПСГК-30 и ВНК-21 было всегда несколько выше (на  $0,3-0,5 \lg$  ТЦД<sub>50</sub>/мл), чем в первичной культуре СП. Однако, на первом пассаже в культуре клеток ПСГК-30 отмечены некоторые отличия в адаптационной способности вируса, зависящие от его типовой принадлежности. Так, вирус ящура типа О размножается в ней без предварительной адаптации. Для полной же адаптации вируса ящура типов А и Азия-1 к перевиваемой линии клеток ПСГК-30 и ВНК-21 необходимо проведение не менее 3-4 последовательных прямых пассажей, в результате чего инфекционная активность вируса повышается в среднем на  $1,0 \lg$  ТЦД<sub>50</sub>/мл. Инфекционная и КС-активности вируса ящура типа Азия-1 в этих культурах была значительно выше чем в первичной культуре клеток СП, в которой титр вируса с пассажами снижается до  $4,8 \pm 0,12 \lg$  ТЦД<sub>50</sub>/мл, а КС-антиген обнаруживается только в неразведенном вирусосодержащем материале. Для вируса ящура типа Азия-1 характерно формирование в клетках ПСГК-30 однородных бляшек более крупных размеров (до  $2,0 \pm 0,04$  мм), чем у других типов данного вируса. Высокая чувствительность клеток ПСГК-30 к вирусу ящура типа Азия-1 указывает на возможность использования ее в качестве индикаторной системы для выделения и идентификации вируса в очагах инфекции.

Таким образом, перевиваемая линия клеток ПСГК-30 по чувствительности к адаптированному в ней вирусу ящура трех типов не ниже первичной культуры клеток СП, перевиваемой культуры клеток ВНК-21, и значительно превосходит отмеченных культур по накоплению КС-антигена, поэтому дальнейшие исследования проводили только на перевиваемых культурах клеток ПСГК-30.

Повышение цитопатической активности вируса ящура трех типов в процессе адаптации в культурах клеток ПСГК-30 подтверждается бляшкообразующей способностью вируса в данной культуре. Все три типа вируса ящура с первого пассажа в культуре клеток ПСГК-30 формируют четкие, крупные бляшки с ровными краями. В основном все вирусные популяции афтозных материалов были крупнобляшечными, в то время как в первичной культуре СП преобладали мелкие бляшки.

### **3.5. Получение и усовершенствование технологии изготовления экспериментальной серии вакцин против ящура**

При изготовлении противоящурных вакцин использовали различные методы инактивации вируса. Термин “инактивация” в этом аспекте означает утрату вирусом способности к репродукции при сохранении иммуногенных и антигенных свойств. Формальдегид, который многие годы использовался в качестве инактиванта вируса ящура, уже не применяется, так как имеет ряд недостатков. В настоящее время наиболее широкое использование для инактивации вируса ящура нашли производные азиридина и, в частности, аминоэтилэтиленимин (АЭЭИ) и аминометилэтиленимин (АМЭИ). Инактивацию проводили по методике И.А. Улупова, В.В. Михалишина и др. (1998). Определение влияния АЭЭИ на иммуногенность вируса как в процессе инактивации, так и в процессе хранения, проведено путем увеличения концентрации инактиванта и температуры хранения вакцины. Вирулоцидность, стабильность, минимальное повреждение 146 S частиц

основного иммуногенного компонента вируса указывает на то, что АЭЭИ имеет ряд преимуществ перед другими азиридинами.

Учитывая, что выделенные изоляты (А, О, Азия-1) в значительной степени отличались от вакцинных штаммов вируса ящура А<sub>22</sub>-№550, О<sub>1</sub>-№194 и Азия-1 №48, нами была проведена экспериментальная работа по замене производственных штаммов вируса и изготовление на их основе противоящурной вакцины.

Для изготовления вакцины использовали эпизоотические штаммы вируса ящура (А-Армения/98, О-2002, Азия-1-2000), прошедшие не более 10 пассажей в культуре клеток с инфекционным титром не ниже чем 10<sup>7.5</sup> ЛД<sub>50</sub>/мл и обладающие комплементсвязывающими свойствами в РСК. В качестве инактиваторов вируса ящура использовали АЭЭИ, а в качестве сорбентов коллоидные растворы ГОА, Саригюхского бентонита, аэросила марки А-300 или аэрогель. Контроль полноты инактивации проводили на мышатах-сосунах. Для составления вакцины использовали инактивированный культуральный вирус.

### *3.5.1. Изучение авирулентности, безвредности и иммунологической эффективности приготовленных вакцин из вирусов ящура штамма Армения/98*

Из вируса штамма Армения/98, адаптированного к суспензионной культуре клеток ВНК-21, приготовили ГОА-сапонин вакцину, содержащую 2,88мкг/мл 146+75 S компонентов вируса ящура. В качестве референс-вакцины была изготовлена ГОА-сапонин вакцина из вируса ящура А<sub>22</sub> №550, содержащая 5,0мкг/мл 146+75 S компонентов.

В опыте находились 19 бычков кавказской бурой породы массой 300-350 кг. Животных разделили на три подопытные группы и одна группа (2гол.) служила контролем. На животных первой группы (5гол.) проверяли вакцину на авирулентность и безвредность. Проверку авирулентности проводили путем введения средней пробы вакцины в подслизистую языка методом тонелирования в 20 точек по 0,1 мл. Наблюдение за привитыми животными проводили в течение 10 дней.

С целью проверки безвредности вакцину вводили подкожно в область средней трети шеи в дозе 10мл. У животных в течение 5 дней измеряли температуру тела и наблюдали за местной реакцией. Температура тела у животных через 12 часов повысилась до 40,2-40,5<sup>0</sup>С и удерживалась на этом уровне одни сутки. На месте введения были отмечены незначительные инфильтраты, которые рассасывались на 3-4 день. Проверенная вакцина была авирулентна и безвредна.

Вторую группуживотных (6гол.) вакцинировали вакциной из вируса Армения/98, разведенной в 7 раз безадьювантным буферным раствором. Прививная доза вакцины содержала 0,82 мкг 146+75 S компонентов вируса в 2 мл.

Иммуногенный статус животных оценивали, исследуя сыворотки крови, полученные перед вакцинацией и через 20 дней после вакцинации в реакции нейтрализации на монослое первично-трипсинозированных клеток СП (таблица 8).

*Таблица 8*

### **Вируснейтрализующая активность сывороток крови бычков до и после вакцинации ГОА-сапонин вакциной из вируса ящура Армения/98**

№ бычков	Титры ВНА, log <sub>2</sub>	
	Против 56 ТЦД <sub>50</sub> вируса ящура Армения/98	Против 75 ТЦД <sub>50</sub> вируса ящура А <sub>22</sub> №550

	до вакцинации	на 20-й день после вакцинации	до вакцинации	на 20-й день после вакцинации
1	0	1,25	0	1,75
2	0	0,75	0	Ц
3	0	0,75	0	0,25
4	0	2,25	0	1,50
5	0	0,75	0	Ц
6	0	2,75	0	1,00
Средние значения титров		1,42±0,357	0	0,75±0,382

Данные приведенные в таблице 8 показывают, что сыворотка крови животных второй группы до вакцинации не содержала антител против вируса ящура Армения/98 и А<sub>22</sub> №550. К 20-му дню после введения вакцины, содержащей 0,82 мкг 146+75 S компонентов вируса штамма Армения/98, появились вируснейтрализующие антитела (ВНА) в титре 1,42±0,357 log<sub>2</sub>, т.е. 0,1-0,6 мл сыворотки нейтрализовали 56 ТЦД<sub>50</sub> гомологичного вируса. Титр ВНА против гетерологичного вируса был 0,75±0,382 log<sub>2</sub>, т.е. 0,3-0,8 мл сыворотки нейтрализовали 75 ТЦД<sub>50</sub> вируса ящура А<sub>22</sub> №550.

Третью группу (6 гол.) животных вакцинировали референс-вакциной в дозе 2мл, содержащей 10,0мкг 146+75 S компонентов вируса ящура А<sub>22</sub> №550(таблица 9).

Таблица 9

**Вируснейтрализующая активность сывороток крови бычков до и после вакцинации ГОА-сапонин вакциной из вируса ящура А<sub>22</sub> №550**

№ бычков	Титры ВНА, log <sub>2</sub>			
	Против 56 ТЦД <sub>50</sub> вируса ящура Армения/98		Против 75 ТЦД <sub>50</sub> вируса ящура А <sub>22</sub> №550	
	до вакцинации	на 20-й день после вакцинации	до вакцинации	на 20-й день после вакцинации
1	0	1,00	0	5,75
2	0	0,75	0	6,00
3	0	0,25	0	6,50
4	0	0,5	0	5,50
5	0	1,00	0	5,75
6	0	Ц	0	6,25
Средние значения титров		0,58±0,22	0	5,96±0,15

Через 20 дней после вакцинации, третья группа бычков, имела титр ВНА в сыворотке крови 5,96±0,15 log<sub>2</sub> против гомологичного вируса. Против вируса ящура Армения/98 средний титр ВНА составил 0,58±0,22 log<sub>2</sub>.

Следовательно, для нейтрализации 75 ТЦД<sub>50</sub> гомологичного вируса было достаточно 0,01-0,02мл сыворотки А<sub>22</sub>№550, тогда как для нейтрализации 56 ТЦД<sub>50</sub> гетерологичного вируса Армения/98 требовалось 0,42-1,2 мл сыворотки. Это указывает о значительных антигенных различиях между вирусом ящура А<sub>22</sub> №550 и Армения/98.

Вакцинированных бычков обеих групп через 24 дня после вакцинации заразили афтозным вирусом ящура штамма Армения/98 под слизистую языка в две точки в дозе 4,8 Ig ИД<sub>50</sub> в объеме 0,2 мл. Рабочую дозу вируса определяли титрованием на контрольных животных по методу Гендерсона. После вакцинации вели ежедневный клинический осмотр животных.

Результаты контрольного заражения животных второй и третьей групп вирусом ящура Армения/98 показали одинаковую напряженность иммунитета против вируса штамма Армения/98, так как в обеих группах было по одному бычку с генерализацией ящура и все животные имели первичные афты. Титры ВНА в сыворотке крови бычков, привитых вакциной из вируса А<sub>22</sub> №550, превосходили титры ВНА у бычков, привитых вакциной из вируса Армения/98. Однако, титры ВНА сывороток крови против вируса штамма Армения/98 отличались от титров против вируса А<sub>22</sub> №550 всего в 1,8 раз. Следовательно, можно предполагать, что профилактическая иммунизация крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма А<sub>22</sub> будет недостаточно эффективна в отношении вируса Армения/98, особенно в отдаленные сроки после прививки. Таким образом, получен производственный штамм нового варианта ящура типа А – Армения/98. Экспериментальная противоящурная вакцина приготовленная на основе вируса ящура штамм Армения/98 при испытании на крупном рогатом скоте показала достаточно высокую иммуногенность против гомологичного штамма вируса ящура.

*3.5.2. Эффективность противоящурной вакцины из штамма О №1920 “Армения” 2002 против эпизоотического штамма О №2041-2007, выделенного в Нагорно-Карабахской Республике*

Путем многократных пассажей (20) на чувствительных культурах клеток в МСХ НЦЖВ получен производственный штамм вируса ящура О №1920 “Армения” 2002. На основе этого штамма была приготовлена вакцина против ящура типа О. Во время эпизоотии в НКР в 2007 году был выделен новый изолят, получивший в дальнейшем название штамм вируса ящура типа О №2041 НКР 2007, который был аналогичен штамму О №1920 “Армения” 2002

На основе инактивированного антигена культурального вируса ящура (КВЯ) типа О №1920 “Армения” 2002 были приготовлены сорбированная и эмульсионная вакцины. Приготовленные вакцины проверяли аналогично выше описанному на авирулентность и безвредность. По результатам проверки эти вакцины оказались авирулентными и безвредными.

Сорбированной вакциной привили 10 голов КРС массой 300-400 кг (таблица 10), а эмульсионной – три подсывинка массой около 40 кг (таблица 11). Прививная доза сорбированной вакцины, равная 2,0 мл, содержала 8 мкг иммуногенных компонентов вируса ящура, 43% трехпроцентного ГОА и 1,5 мг сапонина. Активность вакцины определяли SES-методом, вакцину развели в 7 раз безадьювантным буферным раствором и полученным разведением привили подкожно 10 голов КРС. Каждое животное получило 1,14 мкг иммуногенных (146 S и 75 S) компонентов вируса в 2 мл.

*Таблица 10*

**Испытание ГОА-сапонин вакцин из КВЯ типа О №1920 “Армения-2002” на КРС**

№ животн.	Результаты контрольного заражения		Титр ВНА log <sub>2</sub> в сыворотке крови против					
	наличие		Штамма О №1920			Штамма О №2041		
	первичных афт	генерализация	0ДПВ	10ДПВ	21ДПВ	0ДПВ	10ДПВ	21ДПВ
1	+	-	0	1,50	2,50	0	2,00	1,00
2	+	+	0	0,75	1,25	0	0,75	0,50
3	+	-	0	1,75	3,75	0	1,50	1,50
4	-	+	0	0,75	1,50	0	0,25	0,75
5	+	+	0	0,50	2,25	0	1,25	0,5
6	-	-	0	2,25	2,75	0	2,75	2,50
7	+	-	0	2,25	2,75	0	1,50	0,75
8	-	+	0	1,25	0,00	0	1,00	0,50
9	-	-	0	3,00	1,75	0	2,25	1,50
10	-	-	0	1,25	1,50	0	1,75	1,75
Среднее значение титров				1,52±0,2	2,00±0,33	-	1,5±0,50	1,12±0,21
				p<0,05	p<0,05		p<0,025	p<0,05

*Примечание:* контрольные животные (2 головы) заболели генерализованной формой ящура.

Контрольное заражение КРС проводили на 21 ДПВ введением под слизистую языка суспензии афтозного вируса типа О №2041 “НКР” в дозе 10000 ИД<sub>50</sub> в объеме 0,2 мл. Через 7 дней наблюдения провели клинический осмотр животных. Сыворотку крови КРС исследовали против 2-х штаммов вируса ящура типов О №1920 “Армения” 2002 и О №2041 “НКР”. Данные таблицы 10 показывают, что на 10 ДПВ в сыворотках крови КРС появились ВНА в разных титрах: 1,52±0,2 log<sub>2</sub> против вируса ящура штамма О №1920 и 1,50±0,50 log<sub>2</sub> против вируса типа О №2041. На 21 ДПВ уровень ВНА к вирусу типа О №1920 составлял 2,00±0,33 log<sub>2</sub> (увеличение в 1,3 раз). Прививная доза вакцины содержала 8,9 ПД<sub>50</sub> для КРС, что свидетельствует о высокой активности вакцины против заражения вирусом ящура типа О №2041 “НКР”.

Данные приведенные в таблице 11 показывают сравнимый уровень ВН - антител к двум различным штаммам вируса ящура типа О. На 10 и 17 сутки после прививки они накапливались титрах 3,92±0,46 и 5,92±0,17 (к штамму О №1920) и 3,25±0,25 и 6,75±0,14(к штамму О №2041).

Таблица 11

**Вируснейтрализующая активность сыворотки крови подвинков до и после вакцинации эмульсионной вакциной из вируса ящура типа О №1920 “Армения-2002”**

№ п/п	Титр ВНА log <sub>2</sub> в сыворотке крови против КВЯ					
	О №1920			О №2041		
	0 ДПВ	10 ДПВ	17 ДПВ	0 ДПВ	10 ДПВ	17 ДПВ

1	0	4,25	6,25	0	3,50	6,75
2	0	4,50	5,75	0	2,75	6,50
3	0	3,00	5,75	0	3,50	7,00
Среднее значение титров		3,92±0,46	5,92±0,17	-	3,25±0,25	6,75±0,14
		p<0,025	p<0,001	-	p<0,001	p<0,001

### 3.5.3. Изучение иммуногенной активности эмульсионной и сорбированной противоящурной вакцин из штамма Азия-1 №1933/Армения/2000 на крупном рогатом скоте и свиньях

Целью данных исследований было изучение возможности защиты животных вакциной из штамма культурального вируса ящура Азия-1 №1933/Армения/2000 против вирусного вируса ящура Азия-1 №1737 Грузия/2000. В работе использовали культуральный ВЯ типа Азия-1 №1933/Армения/2000, выращенный в суспензии клеток ВНК-21. Инактивацию вируса проводили аминоэтил этиленимином в концентрации 0,05% в течение 12 часов при 37°C. Количество иммуногенных компонентов определяли иммунохимическим методом. Полноту инактивации вирусного сырья аминоэтил этиленимином контролировали на первично трипсинизированной культуре клеток СП. Авирулентность и безвредность готовой вакцины определяли на КРС. С этой целью каждому из пяти неиммунных животных вводили по 2 мл вакцины (в 20 точек слизистой оболочки языка по 0,1 мл). Сорбированную вакцину контролировали на безвредность на 5 головах КРС. Вакцину вводили подкожно по 10 мл каждому животному. При контроле на безвредность эмульсионной вакцины на свиньях ее вводили 5 животным внутримышечно по 5 мл. Иммуногенность вакцин проверяли, на животных, которых прививали согласно инструкции по их применению.

Контрольное заражение 10 животных, иммунизированных сорбированной и эмульсионной вакцинами (по 5 голов каждой), и двух контрольных проводили на 20 день после вакцинации путем введения в слизистую языка суспензии афтозного вируса ящура КРС.

Иммунизацию подсвинков массой 30-40 кг, полученных из благополучных по ящуру хозяйств, проводили путем внутримышечного введения вакцины в дозе 2 мл. Контрольное заражение 15 вакцинированных и двух контрольных животных осуществляли через 26 дней после вакцинации (ДПВ) путем интрадермоингаляльного введения вируса ящура Азия-1 №1737/Грузия/2000, адаптированного к свиньям, в дозе 10<sup>4</sup> ИД<sub>50</sub>. Вакцину вводили подсвинкам в объеме 0,2 мл.

Иммуногенную активность вакцин из инактивированного вируса ящура рассчитывали путем определения 50% иммунизирующей дозы. Уровень гуморального иммунитета оценивали по количеству ВНА в сыворотках крови, определенному в реакции нейтрализации. Через 7 дней наблюдения опыт завершили осмотром зараженных животных.

Для иммунизации КРС и подсвинков против ящура применяли моновалентную эмульсионную вакцину с содержанием иммуногенных компонентов – 4,72 мкг/мл и масляного адьюванта ISA-70. Соотношение водной фазы антигена и масляного адьюванта составляло 50:50. Контрольное заражение пяти голов КРС, привитых моновалентной вакциной из КВЯ Азия-1 №1933/Армения/2000, и одного контрольного бычка проводили на 20 ДПВ

вирусом ящура штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000. Сыворотки крови животных, полученные на 7 и 20 ДПВ, исследовали на наличие ВНА против гомологичного вируса ящура штамма Азия-1 №1933/Армения/2000 и гетерологичного штамма - Азия-1 №1737/Грузия/2000.

Таблица 12

**Испытание эмульсионной вакцины изготовленной из вируса ящура Азия-1 №1933/Армения/2000 на КРС (n=5)**

Валентность опытной вакцины	Кол-во иммуногенных компонентов в дозе 2 мл (мкг)	Кол-во защищенных животных от контрольного заражения	Титр ВНА $\log_2$ в сыворотке крови против КВЯ штамм			
			Азия-1 №1933/Армения/2000		Азия-1 №1737/Грузия/2000	
			7ДПВ	20ДПВ	7ДПВ	20ДПВ
Азия-1	9,44	1	3,85±0,45 p<0,005	6,60±0,47 p<0,001	2,60±0,20 p<0,001	3,80±0,53 p<0,005
Контроль вируса	Контрольные животные заболели генерализованной формой ящура					

Данные, представленные в таблице 12, показывают, что вакцина из КВЯ Азия-1 №1933/Армения/2000 на 20 ДПВ индуцировала в у КРС образование ВНА, в титре 6,60±0,47  $\log_2$  против гомологичного вируса. С 7 по 20 ДПВ титр ВНА против этого штамма возрос в 1,7 раз. Титр ВНА на 20 ДПВ против гетерологического штамма вируса ящура Азия-1 №1737/Грузия/2000 составил 3,80±0,53  $\log_2$ . С 7 по 20Д ПВ титр ВНА против этого штамма вируса увеличился в 1,4 раз. От контрольного заражения гетерологичным афтозным вирусом ящура Азия-1 №1737/Грузия/2000 было защищено одно (20%) животное из 5 вакцинированных. Остальные привитые животные, а так же контрольное, заболели генерализованной формой ящура с образованием первичных афт. Количество ВНА против вируса ящура штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000 на 20 ДПВ было в 1,7 раз меньше, чем против вируса гомологичного штамма Азия-1 №1933/Армения/2000.

В таблице 13 представлены результаты иммунизации 15 голов подсвинков вакциной из КВЯ Азия-1/Армения/1933 в цельном виде и в разведениях (1:5 и 1:25). Контрольное заражение осуществляли вирусом ящура штамм Азия-1 №1737/Грузия/2000. На 26 ДПВ у привитых цельной вакциной животных титр ВНА в сыворотке крови против гомологичного штамма вируса ящура Азия-1 №1933/Армения/2000 составлял 6,30±0,34 $\log_2$ , против гетерологичного штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000 – 6,0±0,58  $\log_2$ . Из 5 подсвинков, привитых вакциной в разведении 1:5 один заболел ящуром после контрольного заражения. Вакцина в разведении 1:25 с содержанием иммуногенных компонентов 0,38 мкг в прививной дозе, при уровне ВНА 3,62±0,46  $\log_2$ , защищала всех животных от заражения афтозным вирусом.

Таблица 13

**Иммуногенная активность эмульсионной вакцины из вируса ящура Азия-1 №1933/Армения/2000 на свиньях (n=5)**

Разведение вакцины	Кол-во иммуногенных компонентов в	Кол-во защищенных животных от контрольного	Титр ВНА $\log_2$ в сыворотке крови животных на 26 ДПВ против КВЯ
--------------------	-----------------------------------	--	---

	дозе 2 мл (мкг)	заражения	Азия-1/ Армения/ 1933- 2000	Азия-1 №1737/Грузия/ 2000
1:25	0,38	5	3,62±0,46 p<0,001	Не исслед.
1:5	1,9	4	5,70±0,48 p<0,001	4,9±0,32 p<0,001
Цельн.	9,44	5	6,30±0,34 p<0,001	6,0±0,58 p<0,001
Контроль вируса	контрольные животные заболели генерализованной формой ящура			

Сравнивая количество ВНА, индуцированное вакциной в цельном виде и в разведении 1:5 против гомологичного (6,30±0,34 и 5,70±0,48 log<sub>2</sub>) и гетерологичного (6,0±0,58 и 4,9±0,32 log<sub>2</sub>) штаммов, можно сделать заключение о незначительных отличиях этих штаммов. Титры ВНА против вируса ящура штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000 в 0,95 раз меньше, чем против вируса ящура Азия-1/Армения/1933-2000. Испытанная вакцина имела высокую активность и содержала в прививном объеме 40ПД<sub>50</sub>.

В таблице 14 представлены результаты испытания сорбированной вакцины из КВЯ Азия-1 №1933/Армения/2000 на КРС против гомологичного и гетерологичного штамма вируса ящура типа Азия-1. Крупный рогатый скот иммунизировали сорбированной вакциной в разведении 1:20.

Контрольное заражение проводили на 19 день после вакцинации афтозным вирусом ящура Азия-1 №1933/Армения/2000. Сыворотки крови, полученные на 19 день после вакцинации, исследовали в РН против гомологичного штамма ВЯ Азия-1 №1933/Армения/2000 и гетерологичного штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000.

Таблица 14

**Изучение гуморального иммунитета у КРС, привитого сорбированной вакциной из вируса ящура Азия-1 №1933/Армения/2000 (n=5)**

Кол-во иммуногенных компонентов в дозе 2 мл, мкг	Результаты контрольного заражения		Титр ВНА log <sub>2</sub> в сыворотке крови животных на 19 ДПВ	
	Наличие первичных афт	Наличие генерализации	Азия-1 №1933/Армения/2000	Азия-1 №1737Грузия/2000
1,3	5	1	3,10±0,17 p<0,001	2,3±0,24 p<0,001
Контроль вируса	Контрольные животные заболели ящуром с генерализацией процесса			

Титр ВНА, на 19 ДПВ против гомологичного штамма, составил 3,10±0,17 log<sub>2</sub>, против гетерологичного штамма Азия-1 №1737/Грузия/2000 – 2,3±0,24 log<sub>2</sub>. Несмотря на низкий титр ВНА против вируса гомологичного штамма, вакцина в разведении 1:20 защитила при контрольном заражении гомологичным штаммом вируса ящура 4 животных из 5 вакцинированных.

**3.6. Стратегия и тактика по профилактике и борьбе с ящуром в Армении на современном этапе.**

В период с 1999 по 2012 гг. со стороны НЦОАРБПП при активном участии

ветеринарных служб, при финансовой поддержке ФАО/МЭБ/ЕК было обеспечено функционирование противоящурной буферной зоны в Армении. Были проведены ежегодные поставки по 250 000 доз бивалентной “А, О” и трехвалентной “А, О, Азия-1” вакцин, контроль за иммунным фоном, осуществление серомониторинга, обучение местных ветеринарных специалистов. Все это в определенной мере позволило обеспечить благополучие данного региона по ящуру.

В республике проводятся соответствующие эпизоотические мероприятия. Осуществляется взаимодействие с международными организациями (МЭБ/ФАО/ЕС) по гармонизации действий ветеринарных служб государств по обеспечению функционирования противоящурной буферной зоны страны.

Разработана и утверждена решением Совета глав правительств СНГ Программа совместных действий государств-участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром в государствах для выполнения на период до 2020 года. Объединение и координация совместных действий государств-участников СНГ способствует предупреждению заноса и распространения ящура на территории Армении, минимизации экономического ущерба при возможном возникновении вспышек ящура, обеспечивает повышение продуктивности животноводства и рентабельности отрасли.

## **4. АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ**

### **4.1. Занос и анализ причин заноса и распространения экзотического вируса АЧС**

После подтверждения АЧС на территории Грузии в 2007 году, нами был проведен сбор информации на предмет особенностей содержания и кормления свиней в хозяйствах, расположенных на территории приграничных районов с Грузией. Характеристика развития эпизоотического процесса АЧС на территории Грузии и оценка угрозы ее трансграничного распространения были выполнены посредством анализа эпизоотических данных за апрель-июнь 2007 года. На основании полученных результатов был проведен анализ риска заноса АЧС на территорию Армении.

С целью раннего выявления АЧС на территории Армении, в период с 1-го июля по 30-е сентября 2007 года было проведено активное отслеживание развития эпизоотической ситуации на территории приграничных с Грузией областей Армении. Сбор анамнестических и эпизоотических данных был выполнен посредством опроса владельцев свиней, практикующих ветеринаров и специалистов Государственной службы безопасности пищевых продуктов МСХ Армении. Выявление заболевания проводилось на основании результатов клинического осмотра подозреваемых в заболевании свиней и вскрытия павших животных. Предварительная диагностика АЧС была выполнена в лаборатории НЦЖВ. С сентября до конца 2007 года активное отслеживание АЧС проводилось во всех областях Армении. Тестирование образцов патологического материала было выполнено в лаборатории НЦЖВ. На основании полученных данных была выяснена характеристика причинно-следственных связей, лежащих в основе генерализации эпизоотического процесса. С помощью ретроспективного и оперативного анализа были определены фазы эволюции заболевания, характер его текущего проявления и тенденции дальнейшего развития. В качестве дополнительного материала использовались данные ГСБПП МСХ РА, Центра по

оказанию услуг в области ветеринарной санитарии, безопасности пищевых продуктов и фитосанитарии, департамента животноводства и зоотехнии МСХ РА и Национальной статистической службы Армении.

С целью выявления степени вовлечённости диких кабанов и клещей в эпизоотический процесс АЧС на территории лесогорной зоны был организован отстрел диких кабанов и сбор клещей в пораженных хозяйствах. Посредством сравнительного анализа была определена фактическая степень вовлечения диких кабанов и клещей (*Argasidae* и *Ixodidae*) в эпизоотический процесс АЧС на территории Армении. Работа была выполнена в рамках национального проекта Сельскохозяйственной и Продовольственной Организации ФАО TCP/ARM/3102 при техническом содействии регионального проекта ЕК № 4/2008/156035/1. В качестве дополнительного материала использовались данные Министерства охраны природы Республики Армения, научного центра зоологии и гидроэкологии (НЦЗГЭ) и Армянского представительства Всемирного фонда дикой природы (ВФДП).

Тип содержания свиней позволяет заключить, что занос вируса АЧС в поголовье домашних свиней Ноемберянского района мог произойти как естественным (в результате их прямого или непрямого контакта с инфицированными животными из Грузии), так и механическим (посредством биотических, абиотических и антропогенных элементов) путем. В качестве биотических элементов, нами рассматривались бродячие и дикие животные (в т.ч. дикие кабаны), а также хищные птицы (вороны, сороки, грачи), большое скопление которых отмечалось в окрестностях Барекамавана и Коти за несколько дней до падежа свиней. Из числа антропогенных факторов следует особо отметить низкий уровень организации ветеринарно-санитарного контроля и дезинфекции на КПП въезда на территорию Армении, а также бесконтрольную розничную торговлю сырьем и продуктами животного происхождения, на сельских рынках по обе стороны армяно-грузинской границы в период с мая по июнь 2007 года. По нашему мнению, одной из основных причин межрайонного распространения АЧС на территории Армении являлась низкая интенсивность противоэпизоотических мероприятий в ее первичных очагах. Так, например, в Бердаване насчитывалось около 1.4 тыс. домашних свиней, однако после получения результатов предварительного диагноза, было уничтожено всего 4 гол. При повторных вспышках заболевания уничтожались только больные или подозреваемые в инфицировании животные (169 голов), а основное поголовье (1216 голов) было уничтожено только к концу месяца. Концентрация такого количества восприимчивых животных со сходными показателями резистентности являлась идеальной средой для культивации возбудителя инфекции и его выброса во внешнюю среду. Следующей причиной мы считаем отсутствие надлежащего оповещения населения о заносе АЧС и ее опасности. Нежелание сотрудников ГСБПП предоставлять информацию относительно причин массового уничтожения свиней в Бердаване вызвало панику среди населения близлежащих общин, в результате которой начался беспорядочный убой свиней, который, как предполагается, сопровождался масштабной контаминацией внешней среды вирусом. Вынос АЧС за пределы Тавуша был обусловлен как многочисленными нарушениями карантинно-ограничительных требований со стороны населения, так и неудовлетворительным уровнем организации ветеринарного надзора в Ноемберянском и Иджеванском районах

О вспышках АЧС на территории Армении ГСБПП оповестила МЭБ только

после того как массовый падеж домашних свиней был зарегистрирован в более чем 30-и сельских и городских общинах Тавуша и Лори. В сентябре заболевание распространилось на территории предгорной и равнинной зон страны. После заноса инфекции в Араратскую долину был зафиксирован незначительный рост ее инцидентности (0,3%), однако повышения напряженности эпизоотического процесса до конца года не наблюдалось.

Согласно данным МЭБ, в течение 2007 года от ГСБПП поступила информация о 14-и вспышках АЧС на территории двух областей Армении. В то же время к середине сентября миссией ЕС/ФАО/МЭБ было установлено 17 вспышек заболевания, а в конце месяца их количество возросло до 24-х. К концу 2007 года на территории Армении насчитывалось 45 очагов инфекции на территории 8-и областей (Тавуша, Лори, Гегаркуника, Арагацотна, Котайка, Арарата, Армавира и Еревана). Многочисленные вспышки заболевания были зарегистрированы и в Арцахе, где до конца 2007г. года пало и было вынуждено уничтожено около 9 тыс. домашних свиней. Отсутствие сведений о реальном развитии эпизоотической ситуации по АЧС в 2007 году сотрудники ГСБПП объясняли угрозой экономических потерь из-за введения торговыми партнерами ограничительных санкций на экспорт продуктов животного происхождения.

Всего в 2007 году АЧС была зарегистрирована в 9-и областях Армении, в 8-и из которых ее проявление характеризовалось массовостью поражения домашних свиней. Характер развития эпизоотического процесса был обусловлен как высокой вирулентностью возбудителя АЧС, так и многофакторностью механизмов его передачи восприимчивым животным. По состоянию на декабрь 2007 года на борьбу с заболеванием было затрачено 36млн. армянских драмов (около 117 тыс. долларов), однако локализовать заболевание не удавалось. При анализе актов о проведении противозооотических мероприятий, установлено, что почти все выделенные средства были израсходованы на организацию захоронения павших и вынужденно уничтоженных свиней и первичную дезинфекцию помещений. В условиях масштабного распространения инфекции такие меры борьбы с АЧС являлись слабо эффективными. На это указывает сложная эпизоотическая ситуация по АЧС в некоторых регионах страны в последующие годы.

#### **4.2. Выделение эпизоотического вируса АЧС на территории Армении и НКР в 2007-2011гг и его идентификация**

Современная концепция контроля ТБЖ основана на совершенствовании механизмов их раннего выявления, которые помогают ветеринарным специалистам выйти на принципиально новый уровень компетентности при принятии оперативных решений по организации противозооотических мероприятий. Необходимо отметить, что по состоянию на 2007 года бюджет ветеринарных служб Армении не позволял проводить отслеживание и выявление болезней животных в соответствии с требованиями МЭБ, а выбор метода для их лабораторной диагностики в подавляющем большинстве случаев был обусловлен его стоимостью и доступностью реагентов для его проведения. К моменту поступления первого оповещения о падеже домашних свиней в Ноемберянском районе, РЦВД не располагал соответствующими реагентами (праймеры для ПЦР, тест-системы для ИФА, ФИТЦ для РПИФ) для диагностики АЧС. Поэтому предварительная диагностика заболевания имела ключевое значение для принятия оперативных

решений по организации противоэпизоотических мероприятий в Ноемберянском районе. Из доступных на тот момент методов, рекомендуемых для лабораторной диагностики АЧС, мы выбрали РГАД. Выбор был обусловлен высокой чувствительностью и специфичностью данной реакции, которая, несмотря на продолжительность постановки, рекомендовалась МЭБ в качестве одного из основных справочных методов лабораторной диагностики АЧС.

При лабораторном исследовании патологического материала, отобранного из трупов двух павших в Бердаване свиней, адсорбция эритроцитов на поверхности отдельных клеток первичных культур лейкоцитов и макрофагов костного мозга свиней-доноров наблюдалась уже через несколько часов после ее инокуляции суспензиями органов подозреваемых в заболевании свиней. Болезнь была вызвана гемадсорбирующим вирусом АЧС, вызывающим через несколько суток отчетливые цитопатические изменения в инфицированных клетках. В нашей ситуации преимущество РГАД заключалось также в том, что она позволяла не только диагностировать АЧС, но и дифференцировать ее от КЧС, которая считалась одной из эндемичных болезней свиней на территории Армении. Дифференциация была основана на визуальном различии цитопатогенной картины при микроскопическом исследовании, так как в отличие от вируса АЧС, возбудитель КЧС в первичных культурах клеток лейкоцитов свиней (ККЛ) и костного мозга свиней (ККМС) цитолитических и гемадсорбирующих свойств не проявляет. В течение второй половины июля 2007 года при помощи РГАД нами был исследован патологический материал, отобранный у 35 павших, больных и подозреваемых в заболевании домашних свиней в различных общинах Тавуша, Лори и Ноемберянского района. При исследовании трупов павших свиней во всех случаях была отмечена разлитая гиперемия кожи подгрудка, брюха и внутренней поверхности бедер, а также цианоз кожи края ушных раковин и наружных слизистых оболочек (анального отверстия и влагалища). При вскрытии трупов, было отмечено скопление оранжево-красного экссудата в плевральной и перитонеальной полостях, кровенаполнение паренхиматозных органов и многочисленные точечно-полосчатые геморрагии на слизистой оболочке кишечника (тонкий и толстый отделы). Наиболее характерные изменения были в лимфоидных органах (селезенке и лимфатических узлах), которые были увеличены, имели вишнево-черный цвет и находились в состоянии геморрагического воспаления. В двух случаях, были отмечены кровоизлияния в почках и сердечных мышцах, а также очаги ателектаза, чередующиеся с участками эмфиземы в легких. При тестировании патологического материала в РГАД, вирус АЧС был обнаружен в пробах павших, больных, а также содержащихся совместно с ними свиньями у которых отсутствовали клинические признаки болезни.

В течение августа 2007 года мы продолжали проводить диагностику АЧС на основании результатов клинического осмотра патологоанатомического вскрытия и РГАД. При клиническом осмотре, характерный при АЧС симптомокомплекс на различных стадиях развития был отмечен у 12-и из 26 обследованных животных. Поражения кожных покровов были выражены у 12-и свиней (геморрагический диатез кожи боковой поверхности брюха и внутренней поверхности бедер). В 11-и случаях был отмечен выраженный цианоз кожи ушных раковин (у животных со светлой окраской), а в 4-х – экзантема кожи стопы между копытцевой каймой и пальцами. На фоне указанных признаков, у двух животных наблюдался паралич задних конечностей, а у 5-и – хромота. В 9-и из 12-и случаев был отмечен гнойный

конъюнктивит, в 6-и случаях – истечение гнойного секрета из носовых отверстий, и у 2-х слёзные истечения с примесью крови из глаз. У всех больных свиней были зафиксированы гипертермия (41-42°С), аритмия (пульс 110-130 ударов в минуту), тахипноэ (30-40 движений в минуту) и сухой кашель. При обследовании 14-и подозреваемых в заболевании животных, у 8-и температура тела была в пределах физиологической нормы (39-40°С), наблюдалось общее угнетение и вялость. У двух свиней гипертермия сопровождалась возбуждением, напряженным состоянием и резкой реакцией на звуки.

В течение указанного периода нами были изучены некоторые биологические свойства вируса АЧС, в частности репродуктивная активность в первичных культурах клеток ККЛ и ККМС, которые получали от свиней-доноров. При изучении биологических свойств возбудителя, мы использовали эпизоотический вирус, выделенный из патологического материала, отобранного у свиней с клиническими признаками АЧС в Тавуше и Лори. Путем последовательных пассажей вируса на первичных культурах клеток ККЛ и ККМС выделены и изучены штаммы “Тавуш 2007” и “Лори 2007”, которые были депонированы в банке патогенных микроорганизмов НЦЖВ.

Несмотря на результаты эпизоотологических исследований и предварительной диагностики, МЭБ было оповещено о неблагополучии Армении по АЧС только в конце августа 2007 года. Согласно ГСБПП, это промедление было обусловлено техническими трудностями, с которыми столкнулись армянские ветеринарные службы при выполнении процедур, установленных МЭБ для пересылки проб патологического материала в справочную лабораторию для подтверждения предварительного диагноза на АЧС. В то же время в августе предварительный диагноз на АЧС, поставленный в НЦЖВ был подтвержден в во ВНИИВВиМ (г.Покров) с использованием методов РПИФ, ПЦР и РГАД. Выделенный вирус по результатам генотипирования был отнесен ко II генотипу, а по результатам РЗГА к 8 серотипу. После подтверждения во ВНИИВВиМ предварительного диагноза на АЧС, ГСБПП официально оповестила МЭБ о неблагополучии двух областей Армении по АЧС. Во второй половине октября образцы проб биоматериала были направлены при посредничестве ФАО в институт Фридриха Леффлера FLI (Реймс, Германия) для постановки окончательного диагноза на АЧС. Институт FLI подтвердил диагноз на АЧС методом ПЦР.

Результаты диагностических исследований на АЧС в НЦЖВ и ВНИИВВиМ приведены в таблице 15.

Таблица 15

**Результаты диагностики АЧС в Армении,  
проведенной в НЦЖВ и ВНИИВВиМ**

Место обследования		Исследовано НЦЖВ					Исследовано ВНИИВВиМ				
Область	Община	Сви-ней	Ос-мотр	Вскры-тие	Проб	РГАД	Проб	РПИФ	РГАД	ПЦР	
Ереванская	Кентрон	1	+	-	1	-	-	-	-	-	
Ереванская	Эребуни	1	+	-	1	-	-	-	-	-	
Ереванская	Ачапняк	1	+	+	1	+	-	-	-	-	

Ереванская	Малатия	1	+	+	1	+	-	-	-	-
Котайкская	Мехрадзор	1	+	+	1	+	-	-	-	-
Котайкская	Алапарс	1	+	-	1	-	-	-	-	-
Котайкская	Ахавнадзор	1	+	+	1	+	-	-	-	-
Котайкская	Ехвард	3	+	+	3	+	-	-	-	-
Аракатская	Аребабуйр	1	+	-	1	-	-	-	-	-
Аракатская	Бурастан	1	+	-	1	-	-	-	-	-
Гегаркуникская	Дзорованк	1	+	+	1	+	-	-	-	-
Гегаркуникская	Лчашен	4	+	+	4	+	2	+	+	+
Лорийская	Ехегнут	2	+	+	2	+	2	+	+	+
Тавушская	Дилижан	4	+	+	4	+	2	+	+	+
<b>Всего</b>		<b>23</b>	<b>23</b>	<b>18</b>	<b>23</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

Приведенные данные указывают, что вспышки АЧС на территории Армении были вызваны вирулентным гемадсорбирующим вирусом, относящимся к II-му генотипу, который был аналогичен возбудителю болезни, выделенному в Грузии и Абхазии.

#### 4.3. Патогенность для свиней

Вирус АЧС высокопатогенен для европейских домашних пород свиней и дикого европейского кабана. В работе использовали вирус АЧС, генотип II, вызвавший заболевание в Грузии, а затем и в соседних странах, в том числе и в Армении. Определение инфекционного титра АЧС проводили методом гемадсорбции. Доза вируса АЧС, используемая в опытах на свиньях составляла  $10^4$  гемадсорбирующих единиц (ГАЕ<sub>50</sub>/мл).

Патологоанатомические исследования проводили путем вскрытия павших и эвтаназированных животных. В инфицированных органах титр вируса в крови составлял 7,0-7,25 IgГАЕ<sub>50</sub>см<sup>3</sup>. Максимальные титры (8,0 IgГАЕ<sub>50</sub>см<sup>3</sup>) наблюдали в тканях, содержащих большое количество ретикулоэндотелиальных клеточных элементов – селезенке, костном мозге, печени, что согласуется с выделением в этих тканях значительных поражений. В наблюдаемом нами варианте острой формы АЧС неоднократно наблюдали геморрагии в мышечной ткани, чаще в мышцах конечностей. Также были обнаружены геморрагии в суставах.

Первичным местом локализации вируса являются миндалины. Присутствие вируса в лейкоцитах, начиная с 1-го дня инфекции, свидетельствует о том, что возбудитель заносится в другие ткани лейкоцитами. Появление вируса в селезенке и костном мозге через 2 дня и быстрое повышение титра вируса в этих тканях дают основание полагать, что они являются местом вторичного размножения возбудителя. Экспериментальная АЧС имела некоторые отличия от естественной формы заболевания, которая характеризовалась более быстрым возникновением ранних клинических проявлений болезни. Патологоанатомические исследования выявили более выраженные геморрагии во внутренних органах, а также ранее неописанные при АЧС гемартрозы.

#### 4.4. Культивирование изолятов вируса АЧС выделенных в Армении

Нами было проведено сравнительное изучение репродукции изолятов вируса АЧС, выделенных в 2007г. в Тавушской и Лорийской областях, методом

титрования в первичных культурах клеток костного мозга свиней (ККМС), и лейкоцитов крови свиней (ККЛ).

В исследованиях были использованы вирулентные эпизоотические изоляты “Тавуш 2007” и “Лори 2007”. Изоляты вируса получены от больных 4-месячных подсвинок путём последовательных пассажей на культуре клеток ККМС. Результаты титрования изолятов вируса АЧС “Тавуш 2007” и “Лори 2007” при последовательных пассажах в первичных культурах клеток представлены в таблицах 16 и 17.

Результаты исследований, представленные в таблице 16, показывают, что при заражении монослоя клеток наибольшую репродукцию вируса наблюдали в ККМС ( $5,75 \pm 0,1 \lg \lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$ ), в лейкоцитарных культурах ( $5,25 \pm 0,2 \lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$ ) в 8-м пассаже через 48 часов инкубации.

Таблица 16

**Репродукция эпизоотического изолята вируса АЧС “Тавуш 2007” в первичных культурах клеток ККМС и ККЛ**

Уровень пассажа вируса	Титры вируса АЧС при пассировании в культурах клеток ( $\lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$ )					
	Костный мозг (ККМС)			Лейкоциты		
	24ч	48ч	72ч	24ч	48ч	72ч
4	3,25±0,1	3,5±0,1	3,5±0,2	3,0±0,1	3,0±0,1	3,0±0,1
5	3,25±0,1	3,75±0,1	3,75±0,1	3,0±0,1	3,25±0,1	3,0±0,1
6	3,75±0,1	4,5±0,1	4,5±0,1	3,0±0,1	3,5±0,1	3,5±0,1
7	4,5±0,2	5,0±0,1	4,75±0,1	3,5±0,1	4,0±0,1	3,5±0,1
8	5,5±0,1	5,75±0,1	5,5±0,1	4,5±0,2	5,25±0,2	5,0±0,2
9	5,25±0,1	5,5±0,2	5,5±0,1	4,5±0,1	5,25±0,1	5,0±0,2
10	5,0±0,1	5,23±0,1	5,33±0,2	4,5±0,2	5,0±0,1	5,0±0,1

Как видно из данных таблицы 17 вирус АЧС штамма “Лори 2007” накапливался несколько выше в первичной культуре ККМС. Наибольшие его титры были зарегистрированы в 7-м пассаже в данных клетках ( $5,75 \pm 0,1 \lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$ ) через 48 часов инкубации. Соответственно на первичной культуре клеток лейкоцитов титры вируса были ниже и не превышали  $5,0 \pm 0,1 \lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$

Таблица 17

**Репродукция вирулентного изолята “Лори 2007” вируса АЧС в первичных культурах клеток ККМС и ККЛ**

Уровень пассажа вируса	Титры вируса АЧС в культурах клеток КМС и ЛС ( $\lg \text{ГAE}_{50} \text{ см}^3$ )					
	ККМС			ККЛ (лейкоцитарных)		
	24ч	48ч	72ч	24ч	48ч	72ч
4	3,5±0,1	4,0±0,1	3,7±0,1	3,0±0,2	3,55±0,1	3,25±0,1

5	3,75±0,1	4,5±0,1	4,0±0,2	3,5±0,1	4,0±0,1	3,5±0,1
6	4,0±0,2	4,85±0,2	4,5±0,1	4,0±0,1	4,25±0,2	4,01±0,1
7	5,5±0,1	5,75±0,1	5,25±0,2	4,5±0,1	5,0±0,1	4,25±0,1
8	5,25±0,2	5,5±0,1	5,0±0,2	4,75±0,1	5,0±0,2	4,5±0,2
9	5,0±0,2	5,5±0,1	5,0±0,1	4,5±0,2	4,75±0,1	4,5±0,2
10	5,0±0,1	5,25±0,1	5,0±0,1	4,55±0,2	4,75±0,1	4,25±0,1

Таким образом, при репродукции вируса в различных культурах было отмечено, что наибольшее накопление вируса АЧС (вирулентный штамм) было зарегистрировано в 7-ом и 8-ом пассажах в ККМС через 48 часов инкубации.

Культура клеток ККМС наиболее чувствительна к различным штаммам вируса АЧС, в связи с чем, проверку специфической активности штаммов вируса АЧС можно проводить в данной культуре клеток без использования свиней, так как разница между результатами титрования вируса АЧС в первичных культурах и в организмах свиней незначительна, что делает титрование дешевле и проще.

#### 4.5. Вирулентные свойства вируса АЧС

Вирулентные свойства вируса изучали с целью доказательства типовой принадлежности изолятов, выделенных из Лорийского и Тавушского районов.

При экспериментальном изучении вариантов вируса, выделенных из изолятов, было установлено, что все антигенные варианты оказались родственными вирулентному штамму вируса II-го генотипа.

Активность эпизоотического штамма вируса АЧС определяли титрованием на культурах клеток путём десятикратных разведений вируса в дозах 0,1 мл. В качестве контроля использовали сыворотку крови здоровых свиней.

Результаты исследований представлены в таблице 18.

Таблица 18

#### Вирулентные свойства культурального вируса АЧС (“Тавуш” и “Лори”)

Вирус	Кол-во животных	Культуральный вирус		Титры вируса у павших животных (lg ГАЕ <sub>50</sub> см <sup>3</sup> )	Максимальная гипертермия после заражения °С
		Титр вируса lgГАЕ <sub>50</sub> см <sup>3</sup>	Доза заражения (ГАЕ <sub>50</sub> )		
“Тавуш”	4	4,0±0,1	10 <sup>-1</sup>	7,5±0,15	41,0
	2	4,0±0,1	10 <sup>-2</sup>	7,0±0,2	41,2
	3	4,0±0,1	10 <sup>-3</sup>	7,75±0,1	41,2
“Лори”	4	5,0±0,1	10 <sup>-1</sup>	7,75±0,1	41,4
	2	5,0±0,1	10 <sup>-2</sup>	8,0±0,2	41,6
	3	5,0±0,1	10 <sup>-3</sup>	8,5±0,1	41,4
Контроль	2	-	-	н/и	-

Изученные изоляты показали, что вирус сохранял свои вирулентные свойства на различных уровнях пассажей в ККМС и в различных разведениях, вызывая заболевание на 3-4 сутки при в/м заражении и гибель всех животных на 5-10 сутки после заражения.

На основании результатов исследований, проведенных со штаммами Тавуш и Лори, были определены референс-штаммы вируса АЧС II-го генотипа, из них были изготовлены матриксные серии вируса в виде лиофилизированной крови и

суспензии селезенки зараженных свиней с активностью  $10^{7.5}$  ГАЕ<sub>50</sub>/мл. Этот материал для дальнейшей работы передали в музей штаммов научного центра в качестве референс-штамма II-го генотипа.

#### **4.6. Изучение роли диких кабанов и клещей в качестве резервуара и переносчиков вируса АЧС**

В качестве предпосылок для возникновения аутохтонного цикла АЧС на территории Армении рассматривались эндемичность клещей *Ornithodoros*, а также вовлечение в эпизоотический процесс диких кабанов. На территории Армении массовый падеж диких кабанов от заболевания в естественных условиях был зарегистрирован ВФДП еще в марте 2008 года, однако, каких-либо данных, подтверждающих серопозитивность среди их поголовья, в нашем распоряжении не имелось. Поскольку к моменту рассматриваемого периода исследований в направлении выявления инфицированности клещей *Ornithodoros* вирусом АЧС в РА также не было проведено, то мы решили выяснить степень вовлечения обоих резервуарных видов в эпизоотическую цепь АЧС. В Армении первые случаи АЧС среди диких кабанов были зафиксированы на территории Шикаохского заповедника, расположенного в Капанском районе Сюникской области. По информации армянского представительства ВФДП, гибель отдельных особей от неизвестного заболевания отмечалась еще с февраля 2008 года. Перед гибелью у кабанов наблюдались симптомы недомогания, сходные с теми, которые были отмечены у кабанов, павших от АЧС в Ереванском зоопарке в июле 2007 года. Одним из предполагаемых механизмов заноса АЧС в популяцию диких кабанов на территории Армении считается их прямой или непрямой контакт с инфицированными особями, мигрировавшими с территории Грузии или ЮФО РФ в январе 2008 года. Так как при острой форме заболевания дикие кабаны перемещаться на большие расстояния не могут, то переносчиками могли являться только особи, у которых оно протекало в субклинической форме или была в инкубационном периоде. По нашему мнению, наиболее вероятным является прямой или непрямой контакт диких кабанов Шикаохского заповедника с инфицированными сородичами, мигрировавшими с территории лесогорной зоны Армении (Тавуш, Лори, Арарат) или Арцаха (Мартакерт, Аскеран, Гадрут). Вспышке АЧС среди поголовья диких кабанов Шикаохского заповедника предшествовало заражение их поголовья на территории северо-восточных районов Армении или Арцаха.

Анализируя вероятность заноса АЧС в поголовье диких кабанов на территории Сюника посредством инфицированных кабанов, мигрировавших из Тавуша, Лори или Арцаха, следует учитывать биоэкологические особенности данного вида.

Следующим из наиболее вероятных механизмов заражения АЧС кабанов в Шикаохском заповеднике рассматривается их контакт с инфицированными домашними свиньями. На территории южных районов Сюника в теплое время года также практикуется выпас свиней на прилежащих к населенным пунктам территориях, где практически невозможно контролировать их контакты с представителями местной фауны. В таких условиях не исключается, что передача вируса вполне могла произойти посредством их прямого или непрямого контакта с дикими кабанями.

Анализ имеющихся данных показал, что средняя плотность поголовья диких кабанов в пределах их фактического ареала обитания составляет 0,6 особей на гектар, что, с учетом экспертных оценок, не может быть достаточным для функционирования механизма внутрисемейной передачи вируса АЧС и формирования цикла его эпизоотичной персистенции в поголовье. С другой стороны, в определенных условиях уровень инфицированности диких кабанов может находиться в прямой зависимости от типа содержания домашних свиней в неблагополучных по АЧС районах. В данном контексте риск формирования аутохтонного цикла заболевания на отдельных участках лесогорной зоны, представляла присущая диким кабанам приуроченность к биогеоэкологическим условиям биотопов расположенных вдоль неблагополучных общин.

Мы сопоставили данные пространственного распределения неблагополучных по АЧС пунктов в лесогорной зоне с имеющимися данными о районах, где в 2008 году был возобновлен выпас свиней на территории близлежащих к общинам биотопов. Выяснилось, что во втором полугодии 2008 года домашние свиньи выпасались в 3-х районах Тавушской (Ноемберянском, Иджеванском и Бердском), в 3-х районах Лорийской (Туманянском, Гугарском и Таширском), в одном районе Вайоц Дзорской (Ехегнадзорском) и в 2-х районах Сюникской (Горисском и Капанском) областей. Так как за исключением Таширского и Горисского, все указанные районы к моменту рассматриваемого периода считались неблагополучными по АЧС, то риск контакта инфицированных свиней с дикими кабанам (и наоборот) на отдельных участках лесогорной зоны оценивался нами как стабильно высокий.

Выяснилось, что в 2008 году отдельные особи, а иногда и группы диких кабанов подкармливались в подлесках и кустарниковых рощах, прилежащих к отдельным населенным пунктам Туманянского (6 общин), Бердского (5 общин), Иджеванского (1 община), Ехегнадзорского (6 общин), Горисского (2 общины) и Капанского (4 общины) районов. Биоэкологические и этиологические особенности поведения диких кабанов при кормежке, позволяют предположить, что вблизи общин отдельные их особи могли иметь различные контакты с домашними свиньями, во время которых вполне мог произойти как прямой, так и посредственный обмен инфекциями и инвазиями. Степень интенсивности таких контактов обусловлена плотностью поголовья кабанов в фактическом ареале и приуроченностью отдельных особей (или групп) к биотопам на территории неблагополучных к заболеванию общин.

Для определения фактической степени вовлечения диких кабанов в эпизоотический процесс АЧС на территории Армении, в течение второго полугодия 2009 года нами был организован отстрел 8 диких кабанов в лесогорной зоне и их исследование на наличие вируса АЧС. Результаты исследования приведены в таблице 19.

Как видно из таблицы, вирус АЧС был обнаружен у одного из 8 отстрелянных кабанов. Все отстреленные кабаны (5 самок и 3 самца) были особями в возрасте от 2-х до 3-х лет и весом от 55 до 70 кг. Согласно анамнестическим данным, перед отстрелом каких-либо признаков заболевания у животных не наблюдалось.

Таблица 19

**Результаты мониторинга АЧС среди диких кабанов в лесогорной зоне Армении**

Место	Выявлено характерных признаков и поражений при помощи
-------	---

(область) отстрела и к-во жив-х		Клинические признаки		Результаты пат.вскрытия		Результаты РПИФ		Результаты ИФА	
Области	Кол-во	Положительный	Отрицательный	Положительный	Отрицательный	Положительный	Отрицательный	Положительный	Отрицательный
Тавуш	2	0	2	0	2	0	2	0	2
Лори	2	0	2	0	2	0	2	0	2
Вайоц Дзор	2	0	2	0	2	0	2	0	2
Сюник	2	0	2	1	1	1	1	1	1
<b>Всего</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>7</b>

При патвскрытии 8-ми кабанов каких-либо характерных для АЧС поражений во внутренних органах у них не отмечалось. В одном лишь случае были зафиксированы незначительные инфильтрации висцеральных лимфатических узлов, а также небольшие воспалительные фокусы в легких. При лабораторном тестировании патологического материала были получены положительные результаты на АЧС. При постановке РПИФ в цитоплазме клеток обнаруживалось специфическое флуоресцентное свечение, а при ИФА – характерное коричневое окрашивание субстрата в лунках со специфическими сывороткой и антигеном. Полученные результаты свидетельствуют о возможности циркуляции среди поголовья диких кабанов, приуроченного к территории отдельных общин Сюникской области Армении к 2010 году слабопатогенного вируса АЧС.

По нашему мнению, такое течение АЧС среди диких кабанов в лесогорной зоне Армении связано со снижением вирулентности ее вируса. Явление могло быть обусловлено как эндогенными (модификацией возбудителя в результате естественного пассажирования), так и экзогенными (сочетанное влияние различных неблагоприятных условий внешней среды) факторами. На основании вышеизложенного, можно сделать заключение, что эволюция вируса АЧС в сторону снижения его патогенности в поголовье диких кабанов может существенно осложнить эпизоотическую ситуацию по с борьбе с этой болезнью на территории Армении. Данное явление может способствовать формированию стационарных очагов заболевания на территории лесогорной зоны, и повышенного риска передачи возбудителя в поголовье домашних свиней.

Для выявления степени вовлечения клещей в эпизоотический процесс АЧС, на территории лесогорной зоны нами был проведен мониторинг инвазированности свиноводческих помещений ППХ, в которых заболевание было зарегистрировано в 2007-2008 годах. В течение второго полугодия 2009 года было обследовано 103 ППХ. Почти во всех обследованных ППХ была зафиксирована низкая инвазированность помещений клещами (в среднем 1-2 особи на м<sup>2</sup>), с преимущественной их локализацией в трещинах стен и деревянных покрытий. Все собранные клещи были исследованы на наличие вируса АЧС при помощи РПИФ, ИФА и ПЦР, однако ни в одном случае положительных результатов получено не было. Клещи принадлежали к семейству *Ixodidae*. К 2010 году риск формирования продолжал оставаться стабильно высоким, однако вовлечение потенциальных переносчиков в эпизоотическую цепь к 2010 году носило теоретический характер.

#### 4.7. Профилактика АЧС

Древнее изречение о том, что профилактика лучше лечения особенно справедливо в случае АЧС и прочих ТЗЖ. Риск-анализ при АЧС должен оценивать: степень риска проникновения заболевания; вероятные механизмы проникновения АЧС и слабые места в этом отношении; потенциальную серьезность последствий в случае проникновения болезни в страну. Все это служит основой для разработки и осуществления подкрепленной надлежащими ресурсами профилактической стратегии на случай АЧС.

Самый важный ресурс при профилактике АЧС – это осведомленный владелец или менеджер животных. Между владельцами скота и ветеринарными специалистами должен быть установлен канал связи, по которому можно будет оповещать о высокой смертности среди свиней или любых других проблемах, выходящих за рамки повседневного опыта владельцев. Местные власти и сельскохозяйственный персонал должны быть осведомлены об АЧС и в случае необходимости играть роль посредников. Наличие большого поголовья бесконтрольных или мало контролируемых свиней создает риск быстрого распространения АЧС. Однако следует признать, что традиционные способы содержания свиней во многих странах не изменятся завтра, и что постоянное стойловое содержание свиней означает для владельцев принятие на себя таких обязательств по кормлению, которые они не способны выполнить. До тех пор, пока не будут предложены альтернативные корма, многие свиноводы будут считать стойловое содержание животных экономически не эффективным. В лучшем случае можно надеяться на то, что за короткий срок осведомленные свиноводы осознают опасность утилизации трупов, и останков павших свиней на свалках, равно как и опасность свободного выпаса свиней. Должна быть принята национальная политика совершенствования методов ведения свиноводства, включающая наличие доступных источников корма и ветеринарного обслуживания животных.

#### ВЫВОДЫ

1. С помощью ПЦР и нуклеотидного секвенирования изучен антигенный спектр вирусов ящура А-98 (Армения), А-2016, О №1920 (Армения 2002), О №2041 НКР-2007 и Азия №1933 (Армения 2000) в сравнении с другими штаммами. Сравнительный анализ показал, что эти изоляты значительно отличаются от производственных штаммов А<sub>22</sub> №550, О №194, Азия1 №48 и депонированы в “НЦОАРБПП” ГНКО
2. Определены оптимальные условия выращивания вируса ящура типов О, А и Азия-1 в монослойной культуре клеток ПСГК-30 и ВНК-21 при культивировании, обеспечивающие максимальное накопление вируса ящура до 7.6-7.9 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл и КС-антигена до 1:2-1:4 в 0,4 мл.
3. На примере вирусов ящура, адаптированного к организму 2-3 дневных крольчат и к суспензионной культуре клеток ВНК-21, показана вирулицидная активность олигомера 2-аминоэтил этиленмина (димера этиленмина, АЭЭИ)
4. Экспериментальная противоящурная вакцина из штамма Армения/98 при испытании на крупном рогатом скоте показала достаточно высокую иммуногенность против гомологичного вируса, не уступающую вакцине из штамма А<sub>22</sub> №550.

5. Показана возможность применения сорбированных и эмульсионных экспериментальных вакцин из культурального вируса ящура типа О №1920/Армения/2002, прививная доза которой содержала 8,9 ПД<sub>50</sub> КРС, что свидетельствует о высокой активности вакцины против заражения вирусом ящура типа О №2041 НКР.
6. Эмульсионная и сорбированная вакцины из КВЯ Азия-1/Армения 1933-2000, при использовании ее для иммунизации КРС и свиней индуцировала высокий титр ВНА против штамма вируса ящура Азия-1 № 1737/Грузия/2000 ( $6,0 \pm 0,58 \log_2$ ) и защищала животных от контрольного заражения штаммом вируса ящура Азия №1737/Грузия/2000.
7. При генотипировании с использованием штамм-специфичных ПЦР-праймеров было установлено, что вспышки АЧС в Армении были вызваны вирулентным вирусом П-го генотипа, аналогичному выделенному на территории Грузии в 2007 году.
8. На первичных культурах клеток ККЛ и ККМС получены изоляты вируса АЧС “Тавуш 2007” и “Лори 2007”, которые были депонированы в банке патогенных микроорганизмов “НЦОАРБПП” ГНКО.
9. Наибольшую репродукцию изолятов вируса АЧС, доставленных из Тавушской и Лорийской областей при заражении монослоя клеток наблюдали в ККМС ( $5,75 \pm 0,2 \lg \Gamma \text{AE}_{50} \text{см}^3$ ) в 7-ом и 8-ом пассажах через 48 часов инкубации.
10. Среди домашних свиней и диких кабанов на территории Армении заболевание протекает в острой или подострой формах, которое не всегда сопровождаются типичными для АЧС клиническими признаками и посмертными изменениями, что иногда не позволяет своевременно диагностировать заболевание и принимать меры по ликвидации очага инфекции.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Для практического использования подготовлены и утверждены :

1. Инструкция по предупреждению и ликвидации ящура с/х животных (приказ № 419-У, 16.07.2013);
2. Инструкция по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней в Республике Армения (приказ № 423-У, 16.07.2013);
3. ТУ РА 03506324.3427-2003 по приготовлению универсальной одновалентной и поливалентной вакцин “А”, “О”, “Азия-1”
4. ТУ РА 03506324.3425-2003 по приготовлению поливалентной вакцины против ящура типов “А”, “О”, “Азия-1”
5. ТУ РА 39064849.4704-2006 по применению раствора 2-аминоэтил этиленмина (димер этиленмина) для инактивации вируса ящура.
6. Установлена первичная структура участка генома вируса ящура типов А-98, А-2016, О-2002, О-НКР-2007 и Азия-1-2000 и доказано, что эти изоляты значительно отличаются от производственных штаммов А22.№550, О№194 и Азия-1 №48.

### **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**

1. Саркисян Х.В. Культивирование изолятов вируса африканской чумы свиней в первичных культурах клеток // Известия аграрной науки . -2009, Т. 7, №1. - С. 81-82

2. Саркисян Х.В. Результаты изучения антигенного родства эпизоотического штамма вируса ящура типа О, выделенного в НКР //Материалы научной конференции “Охрана и использование водных ресурсов Южно-Кавказского региона”. – ГАУА. Ереван, 2009. – С. 184-186
3. Саркисян Х.В. Выделение и идентификация вируса африканской чумы свиней в Армении //Ветеринарная медицина 92. – Харьков, 2009.- С. 429-431
4. Саркисян Х.В., Григорян Г.В., Чумбуридзе К. Вспышка африканской чумы свиней в Грузии: ретроспективный анализ причин заноса африканской чумы свиней на территорию Республики Армения // Труды федерального центра охраны здоровья животных.-Владимир, 2009.- Т.VII.- С. 140-149
5. Саркисян Х.В. Клиническое проявление и патолого-анатомические признаки африканской чумы свиней //Известия Государственного аграрного университета Армении. -2010, №4.- С. 93-96
6. Саркисян Х.В., Григорян Г.В. Проблемы раннего выявления и отслеживания африканской чумы свиней в Республике Армения// Ветеринарная медицина 94. – Харьков, 2010.- С. 96-100
7. Саркисян Х.В. Эффективность противоящурной вакцины из штамма О №1920 Армения-2002 против эпизоотического штамма О №2041 Нагорно-Карабахская Республика-2007// Агронаука. - 2010, № 7-8. - С. 326-328
8. Саркисян Х.В. Способы получения высокоэффективных иммунных сывороток и экстренной защиты животных от ящура // Агронаука. - 2010, № 9-10. - С. 417-421
9. Саркисян Х.В. Определение степени защиты крупного рогатого скота от заражения вирусом ящура в зависимости от уровня поствакцинальных антител //Известия Государственного аграрного университета Армении. - 2011, №4.- С. 76-79
10. Каралова Е.М., Арзуманян Г.А., Восканян Г.Е., Саркисян Х.В., Захарян О.С., Аброян Л.О., Аветисян А.С., Акопян Л.А., Каралян З.А. Изменения клеточного состава периферической крови и костного мозга на терминальной стадии развития африканской чумы свиней //Ветеринарная медицина 95. – Харьков, 2011.- С. 34-35
11. Karalova E.M., Sargsyan Kh.V., Hampikian G.K., Voskanyan H.E., Abroyan L.O., Avetisyan A.S., Nakobyan L.A., Arzumanyan H.H., Zakaryan H.S., Karalyan Z.A. Phenotypic and cytologic studies of lymphoid cells and monocytes in primary culture of porcine bone marrow during infection of African swine fever virus// In Vitro Cell.Dev.Biol.-Animal. - 2011, Volume 47:3. - P. 200–204
12. Маркосян Т.А., Саркисян Х.В., Григорян Г.В., Элбакян А.Л. Эпизоотическая ситуация по африканской чуме свиней в Армении за 2007-2010гг. //Ветеринарная медицина 95. – Харьков, 2011.- С. 35-37
13. Саркисян Х.В., Хачатрян М.А., Маркосян Т.А., Григорян Г.В., Элбакян А.Л. Анализ диагностики африканской чумы свиней при эпизоотии АЧС // Ветеринарная патология. - 2011, №3(37) - С. 48-51
14. Каралова Е.М., Восканян Г.Е., Саркисян Х.В., Аброян Л.О., Аветисян А.С., Акопян Л.А., Семерджян З.Б., Захарян О.С., Арзуманян Г.А., Каралян З.А. Патология клеток лимфоидной ткани, in vitro инфицированных

- вирусом африканской чумы свиней// Вопросы вирусологии. – 2011. – Т.56, № 1. – С. 33-37
15. Саркисян Х.В., Восканян Г.Е., Элбакян А.Л., Григорян С.Л. Иммуногенность противоящурной поливалентной вакцины //Известия Национального аграрного университета Армении. -2012, №4. - С. 72-74
  16. Саркисян Х.В., Маркосян Т.А., Харатян С.А., Элбакян А.Л., Хачатрян М.А., Григорян Г.В. Результаты мониторинга африканской чумы свиней в свиноводческих хозяйствах и дикой фауне Армении //Ветеринарная медицина 96. – Харьков, 2012.- С. 48-49
  17. Саркисян Х.В. Изучение вирулентных свойств полевого изолята африканской чумы свиней “Шикаох-2009” // Ветеринарная патология. - 2012, №3(41) - С. 64-68
  18. Акопян Ж.И., Саркисян Х.В., Маркосян Т.А., Газарянц М.Г. Иммуностимулирующие свойства Са-модифицированной РНК при ряде вирусных болезней сельскохозяйственных животных // Ветеринарная патология. - 2012, №3(41) - С. 107-110
  19. Karalyan Z., Zakaryan H., Arzumanyan H., Sargsyan K., Voskanyan H., Nakobyan L., Abroyan L., Avetisyan A., Karalova E. Pathology of porcine peripheral white blood cells during infection with African swine fever virus // BMC Veterinary Research. – 2012 8:18
  20. Каралова Е. М., Арзуманян Г. А., Закарян О. С., Восканян Г. Е., Саркисян Х. В., Каралян З.А. Динамика изменений популяционного состава лейкоцитов периферической крови при экспериментально вызванной африканской чуме свиней // Вопросы вирусологии. – 2012. – Т.57, № 4. – С. 27-30
  21. Karalyan Z., Zakaryan H., Sargsyan K., Voskanyan H., Arzumanyan H., Avagyan H., Karalova E. Interferon status and white blood cells during infection with African swine fever virus in vivo //Veterinary Immunology and Immunopathology.-2012.- vol.145.-№1-2.-P.551-555
  22. Саркисян Х.В. Адаптация вируса ящура типа О НКР-2007 №2041 к перевиваемым клеточным культурам//Ветеринарная медицина 97. – Харьков, 2013.- С. 39-40
  23. Саркисян Х.В. Эпизоотические штаммы ящура в Армении //Известия Национального аграрного университета Армении. -2013, №4. - С. 70-73
  24. Sargsyan Kh., Mkrtychyan H., Elbakyan H. Biological qualities of field isolate of foot-and-mouth disease discovered in Nagorno Karabakh Republic// Bulletin of National Agrarian University of Armenia. - 2014, №4(48). - P.53-65
  25. ԽԱՐԿՅԱՆ Խ.Վ., ՄԿՐՏՅԱՆ Հ.Ա., ՈՍԿԱՆՅԱՆ Գ.Ե., ՍԱՐԿՅԱՆ Մ.Գ. Դաբադի ոչ կառուցվածքային սպիտակուլների շնորհիվ առաջանալիս ընդհանուր առմամբ ընդհանրացված ընկերությունները //Ագրոնոմիկական հանրագիտություն. - 2015, №1-2.-Էջ 45-49
  26. Саркисян Х.В., Газарянц М.Г., Маркосян Т.А., Мкртчян О.А., Мкртчян З.С., Погосян Л.Г., Рухикян Л.А., Акопян Ж.И. Са-модифицированная двуспиральная РНК в качестве превентивного средства при заболевании ящуром //Ветеринарная патология. - 2015, №1(51). - С.19-23

27. Хартян С.А., Элбакян А.Л., Мкртчян О.А., Маркосян Т.А., Саркисян Х.В. Результаты серомониторинговых исследований по ящуру в Армении// Ветеринарная патология. - 2015, №1(51). - С.23-28

### **ԱՐՏՈՆԱԳՐԵՐ**

1. №1122 - «Վիրուսային և մանրէաբանական ծագում ունեցող հիվանդությունների կանխարգելման պատվաստանյութ» Հայտ №P20010134. – 09.07.2002
2. №1871 A2- «Այլու մինի հիդրօքսիդի դոնորդի ստացման եղանակ (տարբերակներ)» Հայտ №AM20060045. - 15.12.2006
3. №1906 A2- «Հակադաբադային պատվաստանյութ» Հայտ №AM20060044. – 15. 03.2007

**Սարգսյան Խաչիկ Վազգենի  
ԱՆԴՐՍԱՐՄԱՆՍԻՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ (ԴԱԲԱՂ, ԽՈՂԵՐԻ  
ԱՖՐԻԿԱՆ ԺԱՆՏԱԿՆԵՐ) ՎԻՐՈՒՄՆԵՐԻ ՏԱՐԱՏԵՍԱԿՆԵՐԻ  
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ  
ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ՈՒՄ  
ԱՓՈՓԱԳԻՐ**

Միջազգային առևտրատնտեսական կապերի ընդլայնումը շոշափելի հետք է թողել կենդանիների միջադրասիմանային հիվանդությունների զարգացման վրա, որոնց օջախները տարբեր պատճառներով պահպանվել են նաև մեր տարածաշրջանում: Այդպիսի հիվանդություններից մի քանիսը (դաբադ, խոզերի աֆրիկյան ժանտախտ և այլն) ունակ են տարածվել ու մեծ տարածությունների վրա և կարճ

Ժամանակահատվածում քննարկելու համար արակի  
կարգավիճակ:

ՀՀ-ում 1998-2016 թվականների ընթացքում արձանագրվել  
են դաբաղի հիևգ համար արակային բռնկումներ՝ Ա (1998, 2016),  
Ասիա-1 (2000) և Օ(2002, 2007Լ ՂՀ): Իրավիճակի  
յուրաքանչյուր թուևը պայմանավորված է եղել նրանով, որ  
անջատված Ա, Օ, Ասիա-1 տեսակների վիրուսները ունեցել են  
շոշափելի հակածնային առանձնահատկություններ  
արտարական տեսակների նկատմամբ, որի պատճառով ակտիվ  
կանխարգելման նպատակով կիրառված միջոցները  
հանդիսացել են քիչ արդյունավետ: Համար արակային  
իրավիճակի առանձնահատուկ փոփոխություններ է  
արձանագրվել 2007 թվականին, երբ ՀՀ է ներթափանցել ԽԱԺ  
հիվանդությունը, պատճառելով տեսական առեւելի  
վնասներ: Այդ վարակներից զգայունակ կենդանիների  
հրատապ պաշտպանության միջոցների և մեթոդների մշակման  
գործընթացը առանձնակի կարևոր է և կասկածի տեղիք չի  
տալ իս:

Հետազոտության գլխավոր նպատակն է հանդիսացել  
դաբաղի և ԽԱԺ-ի վիրուսների անջատումը և դրանց  
կենսաբանական հատկությունները ուսումնասիրումը: Այդ  
կապակցությամբ մեր կողմից հետազոտություններ են  
իրականացվել ուսումնասիրելու դաբաղի և ԽԱԺ-ի էկզոտիկ  
վիրուսների ներթափանցման ուղիները ՀՀ, որոշելու նրանց  
իմունակենսաբանական հատկությունները, բազմացման  
տարբերակաները, կատարելու հակադաբաղային  
պատվաստանյութերի փորձնական խմբաբանակների  
պատրաստման և տեսնունոգիաների կատարելագործման  
աշխատանքներ: Արտարություն ժամանակ անվտանգ  
հակադաբաղային պատվաստանյութ ստանալու նպատակով  
վիրուսի վարակունակությունը չեզոքացնելու համար  
օգտագործվել է ամինաէթիլ էթիլ ենիմինը: Մշակվել է ներկա  
պայմաններում դաբաղի և ԽԱԺ-ի դեմ պաշտարի և  
կանխարգելման մարտավարություն և ռազմավարություն:

Պոլիմերազաշղթայական ռեակցիայի (ՊՇՌ) օգնությամբ  
պարզվել է, որ վերջին տարիներին առանձնացված դաբաղի  
վիրուսները շոշափելի տարբերվում են արտարական Ա<sub>22</sub>№550,  
Օ №194 և Ասիա-1 №48 տեսակներից և ներկայումս պահպանվում  
են «ՍԱՌՌԳՎԳԿ» ՊՈԱԿ-ի վիրուսների թանգարանում:  
Առանձնացված վիրուսների աճեցումը կատարվել է  
հաջորդական վերացանքսերի միջոցով խոզի երիկամի  
առաջնային (СՄ), վերահյուսվող (IB-RS-2), սիբիրյան քարայծի  
(ՄՄԿ-30) և սիրիական համատերի երիկամի (ВНԿ-21) բջջային  
կուլտուրաների վրա: Հետազոտության արդյունքում  
բացահայտվել է, որ հիվանդ կենդանիների բշտերից  
անջատված Ա, Օ, Ասիա-1 տեսակի վիրուսները հեշտությամբ  
հարմարվում են վերընշված բջջային կուլտուրաների վրա և  
18-36 ժամ հետո վիրուսը բազմանում է առաջացնելով

արտահայտված բջջաախտաբանական երևույթներ (ТЛД50/մլ ) 5,5-7,0 Ig տիտրով: ПСГК-30 և ВHK-21 վերահյուսվող բջջային կուլտուրաների վրա վիրուսի քանակը միջտ 0.3-0.5 Ig-ով բարձր է, քան СП կուլտուրայի վրա աճեցնելու դեպքում:

Դաբադի Ա-98, Օ (2002) և Ասիա-1(2000) վիրուսի տեսակներից պատրաստված փորձնական պատվաստանյութերը ԽԵԿ-ի և խոզերի վրա փորձարկելու ժամանակ բավականին բարձր իմունաճնուկություն են ցուցաբերել նույն տեսակի վիրուսների նկատմամբ և իմունացման ժամանակ առաջացրել են բարձր չափաբանակներով վիրուս չեզոքացնող հակամարմիններ ու կենդանիները դիմակայել են ստուգիչ վարակումներին:

ՊՇՌ-ի միջոցով բացահայտվել է, որ Հայաստանում ԽԱԺ-ի բռնկումները պայմանավորված են եղել ախտածին վիրուսի II գենետիկական տեսակով, որն անջատվել էր նաև Վրաստանում: Խոզերի ոսկրածուծի (KKMC), Լեյկոցիտների և Լիմֆոցիտների առաջնային բջջային կուլտուրաների վրա աճեցվել են  Տավուշ 2007  և  Լոռի 2007  աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի տարատեսակները, որոնք նույնպես պահվում են «ՍԱՌԳՎԳԿ» ՊՈԱԿ-ի վիրուսների թանգարանում:

Լոռու և Տավուշի մարզերից բերված վիրուսները առավել բարձր աճեցվածք են դրսևորել KKMC բջջային կուլտուրայի վրա, 7-րդ և 8-րդ վերացանքներում 48 ժամ հետո, ունենալով բջջային կուլտուրայի վարակիչ չափաբաժին (KKI/Д50/մլ ) 5,75±0,2 Ig տիտր:

Վայրի խոզերի և տզերի ներգրավվածության աստիճանը ԽԱԺ-ի տարածման գործընթացում բացահայտելու նպատակով, անտառային գոտում կատարվել է վայրի խոզերի որս և վարակված տնտեսություններից տզերի հավաքագրում: Պարզվել է, որ ՀՀ-ում ընտանի և վայրի խոզերի մոտ ԽԱԺ-ը ընթանում է սուր կամ ենթասուր ձևերով և ոչ միջտ է ուղորդվում հիվանդությանը բնորոշ կլինիկական նշաններով ու ախտաբանաանատոմիական փոփոխություններով, որն երբեմն թույլ չի տալիս ժամանակին ախտորոշել հիվանդությունը և մեծանշան ձեռնարկել վերացնելու վարակի առաջնային օջախ:

**SARGSYAN KHACHIK VAZGEN**



**THE INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL PROPERTIL  
STRAINS OF THE TRANSBOUNDARY DISEASES (FOOT-AND-MOUTH  
DISEASE, AFRICAN SWINE FEVER) VIRUSES IN THE REPUBLIC OF  
ARMENIA**

**SUMMARY**

Globalization of the trade and economic relations had a significant impact on the change of areolas of a number of transboundary diseases, which foci, based on several reasons, continue to exist in our region as well. Some of such diseases (FMD, ASF) are capable of spreading for long distances and becoming epizootic within a short period of time.

From 1998 to 2016, five epizootic outbreaks of FMD caused by A (1998, 2016), Asia-1 (2000), O (2002, 2007 NKR) viruses were reported in Armenia. Very uncommon in that situation were the significant antigenic differences of the emitted isolates of viruses of type O, A and Asia-1 from production strains and, thereby, the applied means of active prophylaxis were ineffective. Especially notable changes of the epizootic situation occurred in 2007 when ASF was introduced into the country, causing a huge economic damage. The relevance and need for studying the biological properties for the development of emergency protection methods against this disease for the susceptible livestock are beyond doubts.

The main goal of the research was the isolation and study of the biological properties of the FMD and ASF virus strains. In this regard we studied routes of the FMD exotic virus strains entry to the territory of Armenia, to define the immunobiological properties of the emitted isolates, their reproduction means, as well as to perform the production of experimental series of vaccines against FMD and implement technology improvement activities. For the purpose of a safe FMD vaccine production, the aminoethyl ethyleneimine (AEEI) preparation was used to neutralize the virus infectivity. The strategy and tactics of FMD prophylaxis and control in Armenia at the present stage have been developed.

With the use of PCR, we determined that the isolates of recent years considerably differ from production strains of A<sub>22</sub>N<sup>o</sup>550, O No. 194 and Asia-1 No. 48 and are currently deposited in the museum of viruses of the "SCRAAFSA" SNGO. Cultivation of the emitted isolates was carried out by consecutive direct passages on the PK, SMGK-30, IB-RS-2 and BHK-21 cell cultures. The results showed that the virus of types A, O, Asia-1, allocated from aphtha of the infected animals, also easily adapts to the abovementioned cell cultures and 18-36 hours later the virus multiplies, causing aclearcytopathic effect in high titres (to 5,5-7,0 lg. TCD<sub>50</sub>/ml). The accumulation of the virus in the intertwined SMGK-30 and the BHK-21 cell cultures was always slightly higher by 0,3-0,5 lg, as compared with the culturing on the PK culture.

The experimental FMD vaccine from the Armenia/98, O (2002) and Asia-1 (2000) virus types when tested on the cattle and pigs showed a rather high immunity against the same strain, as well as induced a high caption of Virus-Neutralizing Antibodies (VNA) and the animals were protected from the control infection.

With the use of PCR, it was determined that the ASF outbreaks in Armenia were caused by the virulent strain of its II genotype which is similar to one allocated from Georgia. Isolates of ASFV "Tavush 2007" and "Lori of 2007", deposited in the museum of viruses of the "SCRAAFSA" SNGO, were received on primary cell cultures of leykocids (CCL )and bone marrow (CCBM). The greatest reproduction of the ASF virus isolates delivered from the Tavush and Lori regions at infection of a monolayer of cells was observed in CCBM ( $5,75 \pm 0,2$  lg KKID50/ml) in the 7th and 8th passages, in 48 hours of incubation.

For the investigation of the role of wild boars and ticks in the ASF epidemic in the forestry areas, hunting of wild boars, as well as collection of entomological samples from the ASF infected communities were organized.

It is also established that among domestic pigs and wild boars in the territory of Armenia ASF proceeds in acute or subacute forms which aren't always followed by clinical signs and postmortem changes, typical for illness, thus hindering the timely diagnosis of the disease and the implementation of the outbreak elimination measures.

