

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ИММУНОЛОГИИ И ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ В СИСТЕМЕ
МЕР ПО БОРЬБЕ С АФРИКАНСКОЙ ЧУМОЙ СВИНЕЙ**
(обзор)

Н.Н. ВЛАСОВА

Рассмотрены основные молекулярно-биологические свойства вируса африканской чумы свиней (АЧС) и способы диагностики вызываемого им заболевания, в частности ПЦР в реальном времени и детекция антител. Неудачи в создании вакцин стимулировали развитие диагностической методологии, что помогло странам, не свободным от АЧС, полностью ликвидировать ее на своих территориях. Анализ биологических свойств вируса АЧС способствует изучению причин его высокой патогенности и дальнейшему прогрессу использования продуктов генной инженерии для создания защитных препаратов и рекомбинантной вакцины против АЧС. Предложены основные меры по борьбе с АЧС на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: африканская чума свиней, полимеразная цепная реакция, рекомбинантные вакцины, рестрикционный анализ, экспрессия рекомбинантных белков.

Keywords: African swine fever, polymerase chain reaction, recombinant vaccine, restriction analyze, recombinant proteins expression.

Африканская чума свиней (АЧС), открытая в 1911 году Р.Э. Монтегомери и первоначально названная им «восточноафриканской лихорадкой», до 1957 года оставалась эндемичной для африканского континента болезнью. В последующие годы она распространилась в Европе (Португалия, Испания, Франция, Италия), а с 1971 года — в странах Америки (Куба, Бразилия, Доминиканская Республика). В 1964 году Office International des Epizooties (Международное эпизоотическое бюро — МЭБ, Париж) создало комиссию по изучению проблем, связанных с АЧС, однако болезнь удалось ликвидировать только во Франции, Испании и на Кубе. В Италии на острове Сардиния она приобрела стационарный характер, представляя постоянную угрозу для свиноводства Европы (1). Португалия с 2001 года считается свободной от АЧС.

Африканская чума свиней — вирусная болезнь, характеризующаяся высокой контагиозностью и летальностью, со сверхострым, подострым, острым и хроническим течением (1). Скорость распространения и степень ее патогенности (смертность ~100 %) таковы, что в странах, свободных от АЧС, возбудитель болезни способен в короткие сроки (3-5 мес) привести к огромным экономическим потерям в свиноводстве или полной депопуляции свиней, что произошло в Грузии (2). Последствием задержки в постановке точного диагноза при первоначальной вспышке АЧС в этой стране стала глобальная по охвату и смертности животных эпизоотия, повлекшая за собой укоренение возбудителя африканской чумы свиней в дикой природе. Образовался стационарный очаг АЧС, представляющий угрозу для сопредельных государств (2).

Особенность АЧС заключается в том, что переболевшие свиньи пожизненно остаются вирусоносителями (3). Вирус АЧС способен размножаться в клещах и передаваться от одной особи к другой половым путем, а также трансвариально потомству (4). При этом многие виды клещей рода *Ornithodoros* живут до 10-12 лет, в отдельных случаях — до 25 лет и могут долгое время голодать, сохраняя вирус в организме (5).

Длительная персистенция вируса АЧС в дикой природе при высо-

кой плотности популяции инфицированных особей представляет опасность, поскольку может привести к межвидовому переходу или направленной мутации, которые наблюдались, например, у вирусов атипичной пневмонии и вирусной геморрагической болезни кроликов. Установлено, что у людей, контактировавших с больными АЧС свиньями, образуются вирус-специфические антитела (6). Существуют изоляты вируса, адаптированные к росту в перевиваемых линиях клеток человека и обезьян, таких как CV-1 (линия фибробластоидных клеток почки африканской зеленой мартышки), Vero (линия эпителиальных клеток почки африканской зеленой мартышки) и HeLa (линия клеток карциномы человека) (7, 8). Gil S. с соавт. (9) показали, что при репродукции вируса АЧС образуются два белка, обладающие иммуносупрессирующими свойствами. Вирус-индуцированные иммуносупрессоры потенциально опасны не только для свиней, но и для человека, тесно контактирующего с больными или инфицированными животными. По мнению некоторых исследователей, высока вероятность того, что вирус АЧС ответствен за развитие некоторых иммунодефицитов у коренного населения Африки (6). Вызывают опасения и данные о наличии общих антигенов у вирусов АЧС и иммунодефицита человека (6, 9).

Решение вопроса об искоренении АЧС должно основываться на детальном изучении функциональной организации генома этого вируса и особенностей его репликации. По данным J. Rodriguez (10), при репродукции высоковирулентного изолята E70 в альвеолярных макрофагах свиньи синтезируется 57 кислых и 43 основных вирус-специфических белка. Геном вируса АЧС кодирует 26 белков с трансмембранными доменами (11). Мажорные структурные белки представлены p72, p30, pp220 и pp62 (12).

Геномы вирусов герпеса или осповакцины кодируют белки, позволяющие эффективно уклоняться от контроля со стороны иммунной системы макроорганизма. Геном вируса АЧС тоже включает группу генов, с продуктами которых непосредственно связывают функцию ускользания от иммунного ответа (13). Вирус АЧС имеет ген A238L, который кодирует белки, обладающие иммуносупрессивными свойствами и участвующие в подавлении иммунного ответа макроорганизма (9), а также ген фактора апоптоза, вызывающего запрограммированную гибель клетки (14).

Распознавание и декодирование вновь синтезируемых белков в эукариотических клетках осуществляет убиквитин-конъюгирующая система. Поскольку решающая стадия в процессе утилизации белков — это присоединение убиквитина к тому белку, который необходимо элиминировать, убиквитин-связывающие белки вируса АЧС, блокируя активность убиквитина и исключая его участие в распознавании антигена, нарушают начальные стадии иммунного ответа (15).

Кроме того, вирус АЧС подавляет синтез β -интерферона и интерлейкина-8, а также усиливает выработку противовоспалительных цитокинов и трансформирующего ростового фактора (16). Разрушение макрофагов вызывает высвобождение цитокинов и фактора некроза опухолей (TNF- α), индуцирующих апоптоз сначала Т-клеток, что приводит к угнетению клеточного иммунитета, а затем и В-клеток (17). TNF- α увеличивает проницаемость сосудов, усиливает коагуляцию и, как следствие, образование тромбов (18).

Интересно, что антитела к p72 (вирусный белок, участвующий в прикреплении вируса к клетке) не только не сдерживают репликацию вируса в организме хозяина, но и способствуют развитию инфекционного процесса: у макрофагов, активированных антителами к p72, повышается

степень инфицированности вследствие дополнительного специфического связывания этих антител с вирусными частицами через их поверхностные антигены (19, 20).

Данные о развитии устойчивости к АЧС, полученные во Всероссийском НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии (1, 21), позволили сделать вывод, что основным звеном в формировании протективного иммунного ответа у свиней служит клеточный иммунитет, опосредованный цитотоксическими лимфоцитами, которые прерывают репродукцию вируса в инфицированных клетках, поражая последние.

Механизм популяционной комплементации различных дефектов вирусных компонентов у природных изолятов вируса АЧС обеспечивает его высокую выживаемость в природе. Функциональные особенности структуры, высокая генетическая изменчивость и вариабельность биологических свойств позволяют вирусу избегать воздействия эфффекторов иммунного ответа макроорганизма (22).

Существование высоко- и низкопатогенных вариантов снижает вирулентность природных популяций вируса АЧС, а наличие низкочувствительных к вирусу особей обуславливает персистенцию в условиях, когда животные служат естественными природными резервуарами для инфекции (1, 23). Генетическая гетерогенность природных популяций — неотъемлемое свойство вируса АЧС, поскольку его ферменты активны только под контролем промоторов этого вируса, а значит, он должен обладать способностью к репродукции в организме как чувствительных животных, так и животных-переносчиков (24). Встречаются изоляты, которые нуждаются в клеще-переносчике, и изоляты, передающиеся только посредством контакта между животными. А. Greig (5) и S. Kleiboeker (24) показали, что у клещей репликация вируса АЧС происходит в основном в эпителиальных клетках средней кишки. При исследовании самок клещей, инфицированных изолятом Malawi Lil-20/1, трансвариальную передачу вируса не обнаружили.

Популяция вируса АЧС и макроорганизм хозяина на африканском континенте представляют собой совместно эволюционирующую биологическую систему. У бородавочников и кистеухих свиней за долгое время выработались механизмы, препятствующие развитию острой формы АЧС. В результате такой совместной эволюции возникли апатогенные и высокопатогенные варианты вируса. Появление домашних свиней европейских пород в Африке в начале XX века привело к преобладанию высоковирулентных изолятов вируса АЧС (21).

Как показали исследования, проведенные в Португалии, именно с клещами связана продолжительная персистенция вируса в популяции домашних свиней. В провинции Алентехо (Alentejo), где в 1999 году произошла вспышка, из клещей *Ornithodoros erraticus* было выделено 6 гемадсорбирующих и 4 негемадсорбирующих изолята вируса АЧС. Гемадсорбирующие изоляты вызывали острую форму АЧС, а свиньи, инфицированные негемадсорбирующими изолятами, оказались полностью устойчивыми при контрольном заражении патогенным португальским изолятом (1). Установлено, что в крови свиней вирус АЧС представлен в основном высокопатогенными вариантами, обладающими гемадсорбирующими свойствами, в то время как из клещей удавалось после 1-2-го пассажа биологического материала (10 % суспензия гомогената) выделить низковирулентные варианты, лишенные гемадсорбирующих свойств (25, 26).

Такой полиморфизм — облигатное условие жизнеспособности популяции вируса АЧС. При репродукции низковирулентных форм в орга-

низме переносчика образуются необходимые для ее осуществления вирус-индуцированные ферменты, что обеспечивает воспроизведение высоковирулентных компонентов, не способных размножаться в клещах без вируса-помощника. Компоненты популяции природных изолятов вируса АЧС гетерогенны не только по степени патогенности и способности к репродукции в гетерологичных системах (7), но и по серотиповой принадлежности некоторых вариантов (27).

Опыт Испании и Франции по искоренению АЧС подтвердил необходимость разработки специфичных и высокочувствительных средств диагностики и экспресс-диагностики (28). В странах, свободных от АЧС, МЭБ рекомендует следующие методы диагностики: выделение вируса в культурах клеток лейкоцитов или костного мозга свиньи; выявление антигена в мазках и замороженных фрагментах тканей методами прямой иммунофлуоресценции (ПИФ); обнаружение специфических антител в сыворотке крови и других тканевых жидкостях с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ ИФА — enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA); детекция вирусной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (29-31). Там, где АЧС эндемична, рекомендована комбинация ТФ ИФА с прямой и непрямой иммунофлуоресценцией (32, 33).

При первичном возникновении АЧС диагностика основана на выделении вируса в культурах клеток (например, в ККМС — культуре клеток костного мозга свиньи) и его идентификации в реакциях гемадсорбции (РГАд) или ПИФ (для негемадсорбирующих изолятов) (34, 35). ПИФ применяют для выявления специфического антигена АЧС в мазках-отпечатках из проб органов, а также в инфицированной культуре клеток, непрямую иммунофлуоресценцию (НИФ) — при хроническом и латентном течении АЧС для обнаружения антител в пробах сыворотки крови или суспензиях гомогенатов органов. Метод иммуноэлектроосмосфореза (ИЭОФ), как и НИФ, используют для выявления специфических антител в сыворотке крови у больных свиней при хроническом и латентном течении АЧС (11, 34, 35). Непрямой метод иммуноферментного анализа (ИФА) также служит для обнаружения специфических антител в сыворотке крови (10, 32). Самый простой в техническом отношении и вместе с тем чувствительный метод — ТФ ИФА (36). Максимальная диагностическая эффективность (100 %) была достигнута С. Gallardo с соавт. (37) при использовании рекомбинантного вирусного белка рр62, экспрессируемого в клетках насекомых.

В Испании при искоренении АЧС первоначально проводили скрининг всех сывороток с помощью иммуноферментного анализа (28, 38) и последующую проверку положительных образцов вестерн-блоттингом с переносом на нитроцеллюлозные полоски вирус-индуцированных полипептидов, анализируя область белков с молекулярной массой от 23 до 35 кДа.

Проводя эксперименты, испанские ученые столкнулись с проблемой ложноположительных и ложноотрицательных результатов в ELISA. Было установлено, что ложноположительные результаты регистрируются при неправильном хранении сывороток, а ложноотрицательные — из-за отсутствия антител на анализируемые в ELISA вирусные эпитопы (28, 29). Ошибки с выявлением антигена после 10-х сут совпадают с пиком титра специфических антител к вирусу АЧС. Ранее С. Sanchez-Botija с соавт. (30) показали, что иммунные комплексы маскируют наличие вируса при исследовании проб с помощью ПИФ.

Для быстрого выявления вируса при острой и подострой формах заболевания могут быть использованы методы детекции вируса ДНК-гибридизацией и ПЦР (39). Первый вариант ПЦР-диагностики для выяв-

ления ДНК вируса АЧС предложен Y. Steiger и M. Ackermann в 1992 году и представляет собой более чувствительный гнездовой вариант ПЦР, чем иммуноблоттинг и гибридизация (40). M. Aguero с соавт. (41) разработали однораундовую ПЦР с последующей рестрикцией BsmAI для подтверждения специфичности реакции. D. King с соавт. (42) предложили метод ПЦР в реальном времени и применили его для детекции гена мажорного структурного белка р72 вируса АЧС. Однако прижизненная диагностика методами ПЦР возможна только при наличии выраженной вирусемии. Конкурентный вариант ТФ ИФА, разработанный M. Vidal с соавт. (31), обладает высокой чувствительностью и позволяет выявлять наличие антител даже в образцах с низким титром специфических антител, которые при использовании ПЦР были отнесены в разряд сомнительных. Применение рекомбинантных белков и моноклональных антител в диагностических тест-системах позволяет повысить не только чувствительность, но и экспрессность ИФА (38, 43, 44).

В Российской Федерации постановку диагноза на АЧС при первичном возникновении в новом очаге проводят на основании положительных результатов в ПЦР и НИФ, подтвержденных выделением вируса в культуре ККМС. Разработан комплекс серологических и молекулярно-биологических методов для идентификации изолятов (27, 34). Дифференциация штаммов с использованием рестрикционного анализа позволяет ориентировочно определить типовую принадлежность того или иного варианта вируса, что намного ускоряет последующее точное серотипирование (45).

В. Балышевым с соавт. (27) было доказано, что вирус АЧС имеет более 8 серотипов. Установленная ими серотипоспецифичность иммунного ответа позволила разработать основные подходы к созданию аттенуированных комплексных вакцин против АЧС. Работы испанских исследователей по вакцинации свиней аттенуированными клонами подтвердили выводы российских ученых о возможности создания средств специфической профилактики при АЧС (26). Поскольку за рубежом не принята серотиповая классификация штаммов вируса АЧС, в опытах по вакцинации описано формирование протективного иммунитета лишь в отношении вирулентного изолята, из которого был получен авирулентный клон (26).

В Испании проводятся исследования по созданию рекомбинантных антигенов вируса АЧС. Первой была работа J. Freije (44), который экспрессировал полноразмерный белок р72 в клетках *E. coli*. С. Alcaraz с соавт. (46) использовал для диагностики АЧС методом вестерн-блоттинга рекомбинантный белок р54, экспрессированный в клетках *E. coli*. Следующим этапом в создании рекомбинантных белков вируса АЧС стали эксперименты J. Oviedo с соавт. (47), D. Perez-Filgueira с соавт. (48), M. Barderas с соавт. (49). Хотя данные J. Neilan с соавт. (50) показали недостаточность совместного введения р30, р54 и р72 для создания протективного иммунного ответа, в более ранней работе M. Barderas с соавт. (51) установили, что защита против АЧС может быть достигнута с помощью химерного протеина р54/30 (E75 CV₁-4). Для 5-кратной иммунизации свиней использовали химерный белок р54/30 в дозе 100 мкг/гол. После пятой инъекции титры антител составляли 1:200. При заражении свиней E75 внутримышечно в дозе 500 ЛД₁₀₀ невакцинированные животные пали на 6-е сут с характерными клиническими признаками АЧС (51), а у свиней, иммунизированных химерным белком р54/30, титры вируса в крови были в 50-100 раз ниже, чем в контрольной группе. Животные оставались клинически здоровыми в течение 55 сут, после чего были убиты, а пробы их крови, селезенки, почек и лимфатических узлов исследовали с помощью

ПЦР. Во всех образцах ДНК вируса АЧС не обнаружили (51). Защитный иммунный ответ также был достигнут при сочетанной иммунизации рекомбинантными белками р54 и р30 (52). Различие данных, полученных J. Neilan с соавт. (50) и M. Barderas с соавт. (51), объясняется образованием в первом случае антител к р72. Как уже отмечалось, если макрофаги несут антитела к вирусу АЧС, то они успешнее захватывают его, тем самым способствуя размножению и распространению вируса в организме, то есть повышению его инвазивности, что позволяет репликации вируса опережать развитие иммунного ответа.

С учетом серотиповой принадлежности изолятов в результате направленных исследований может быть разработана высокоэффективная генно-инженерная вакцина как к одному, так и к нескольким серотипам. Причем использование такой вакцины не вызовет спонтанной реверсии патогенных свойств, поскольку для ее получения в качестве вектора будет использоваться гетерологичный вирус. Применение рекомбинантной вакцины в дикой природе позволит достичь невосприимчивости популяций кабанов к определенным изолятам вируса АЧС и предотвратит возможность его персистенции.

В настоящее время для Российской Федерации нельзя исключать вероятность возникновения новых вспышек АЧС в разных регионах. Стратегия борьбы с распространением вируса должна основываться на комплексе мероприятий. Они включают постоянный контроль заболеваемости и возможных путей распространения вируса в дикой природе; совершенствование противозооотических мер по упреждению распространения вируса, оперативной локализации и ликвидации вероятных эпизоотических вспышек болезни; разработку лабораторных методов экспресс-диагностики на АЧС, в частности создание тест-систем, позволяющих получать предварительный ответ в течение 5-7 мин; организацию мест подкормки кабанов для предотвращения разноса возбудителя при их миграции в поисках пищи; создание в радиусе 200 км от очагов зон, свободных от чувствительных животных; разработку системы приемов по снижению численности популяций клещей и грызунов (например, создание вирусного вектора, вызывающего гибель клещей); создание средства поголовной вакцинации свиней для формирования у них устойчивости к АЧС.

Таким образом, эпизоотии африканской чумы свиней (АЧС) представляют экономическую угрозу для свиноводства. Вирус АЧС обладает высокой рекомбинационной активностью, способностью к иммуносупрессии организма-хозяина и потенциально опасен для человека. Стратегия борьбы с распространением вируса АЧС должна основываться на комплексе мероприятий по индикации и диагностике патогена, а также по предотвращению его распространения, в том числе посредством вакцинации поголовья. С учетом рассмотренных генетических и биологических особенностей вируса АЧС наиболее перспективной считается разработка генно-инженерной вакцины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулов И., Макаров В. Проблемы современной эволюции африканской чумы свиней. Вестник сельскохозяйственной науки, 1990, 12: 122-128.
2. Rowlands R., Michaud V., Heath L., Hutchings G., Oura C., Voslou W., Dwarka R., Onashvili T., Albina E., Dixon L.K. African swine fever virus isolate. Georgia, 2007. ProMed Network, 2008 [cited 2008 Jan 27]. <http://www.promedmail.org/archive no. 20080129.0370>.
3. Сюрин В. Африканская чума свиней. В сб.: Лабораторная диагностика вирусных болезней животных. М., 1972: 12-46.

4. Wilkinson P. The persistence of African swine fever virus in Africa and Mediterranean. *Prevent. Vet. Med.*, 1984, 2: 71-82.
5. Greig A. The localization of African swine fever virus in the tick *Ornithodoros moubata porcicus*. *Archiv Gesetlich Virusforschen*, 1972, 39(1-3): 240-247.
6. Arnouz F. AIDS and African swine fever. *Lancet*, 1983, 8341(2): 110-115.
7. Ortin J., Vinuela E. Requirement of cell nucleic for African swine fever virus replication in Vero cells. *Journal of Virology*, 1977, 21(3): 90902-90905.
8. Pan I., Shimizu M., Hess W. Replication of African swine fever virus in cell cultures. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, 41(9): 1357-1367.
9. Gil S., Spanlguolo M., Canals A., Sepulveda N., Oliveira J., Aleixo A., Allan G., Leitaó A., Martins C.L. Expression at mRNA levels of cytokine and A238L gene in porcine blood-derived macrophages infected in vitro with African swine fever virus isolates of different virulence. *Arch. Virol.*, 2003, 184: 2077-2097.
10. Rodriguez J., Salas M., Santaren J. African swine fever virus-induced polypeptides in porcine alveolar macrophages and in Vero cells: two-dimensional gel analysis. *Proteomics*, 2001, 1(11): 1447-1456.
11. Pan I., De Boer C., Hess W. African swine fever: application of immunoelectrophoresis for the detection of antibody. *Can. J. Comp. Med.*, 1972, 36: 309-316.
12. Колонцов А. Локализация мажорных полипептидов вируса АЧС и вирусассоциированных ферментов в структуре вирионов. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 1995, 3: 34-38.
13. Enjuanes L., Casal I., Sauz A., Barreno B.G., Vinuela E. Strategy of African swine fever virus to avoid the immune response. *Immunology*, 1982, 163(1): 111-126.
14. Carrascosa A., Bustos M., Nogal M., Gonzalez de Buitrago G., Revilla Y. Apoptosis induced in an early step of African swine fever virus entry into Vero cells does not require virus replication. *Virology*, 2002, 294(2): 372-382.
15. Hingamp P., Arnold J., Mayer R., Dixon L.K. A ubiquitin conjugating enzyme encoded by African swine fever virus. *European Molecular Biology Organization (EMBO) Journal*, 1992, 11(1): 361-366.
16. Whittall J., Parkhouse R. Changes in swine macrophage phenotype after infection with African swine fever virus: cytokine production and responsiveness to interferon-gamma and lipopolysaccharide. *Immunology*, 1997, 91(3): 444-449.
17. Ramiro-Ibanez F., Ortega A., Brun A., Escribano J.M., Alonso C. Apoptosis: a mechanism of cell killing and lymphoid organ impairment during acute African swine fever virus infection. *J. Gen. Virol.*, 1996, 77(9): 2209-2219.
18. Gomez del Moral M., Ortuno E., Fernandez-Zapatero P., Alonso F., Alonso C., Ezquerro A., Dominguez J. African swine fever virus infection induces tumor necrosis factor alpha production: implications in pathogenesis. *J. Virol.*, 1999, 73(3): 2173-2180.
19. Gomez-Puertas P., Escribano J. Blocking antibodies inhibit complete African swine fever virus neutralization. *Virus Res.*, 1997, 49(2): 115-122.
20. Gomez-Puertas P., Rodriguez F., Oviedo J.M., Ramiro-Ibanez F., Ruiz-Gonzalvo F., Alonso C., Escribano J.M. Neutralizing antibodies to different proteins of African swine fever virus inhibit both virus attachment and internalization. *J. Virol.*, 1996, 70(8): 5689-5694.
21. Колонцов А. Вирус африканской чумы свиней: достижения последнего десятилетия 20-го века. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 2001, 2: 3-8.
22. Цилинский Я., Гушин Б., Клименко С., Карпова Е., Гушина Е. Генетические взаимодействия в популяции вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей. В сб.: *Молекулярные механизмы генетических процессов*. М., 1972: 243-249.
23. Pan I., Wyhard T., Hess W. Antigenic variation of African swine fever virus clones. *Federation proceedings*, 1984, 43(7): 1939-1945.
24. Kleiboecker S., Scoles G. Pathogenesis of African swine fever virus in *Ornithodoros* ticks. *Anim. Health Res. Rev.*, 2001, 2: 121-128.
25. Dixon L., Wilkinson P. Genetic diversity of African swine fever isolates from soft ticks (*Ornithodoros moubata*) inhabiting warthog burrows in Zambia. *J. Gen. Virol.*, 1988, 69: 2981-2993.
26. Leitaó A., Cartaxeiro C., Coelho R., Cruz B., Parkhouse R.M., Portugal F., Vigario J.D., Martins C.L. The non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective antiviral immune response. *J. Gen. Virol.*, 2001, 82: 513-523.
27. Балышев В., Книзе В., Цыбанов С., Селянинов Ю. География АЧС и типовая гетерогенность возбудителя болезни. Тез. докл. конф. «Проблемы инфекционных и инвазионных болезней в животноводстве на современном этапе». М., 1999: 92-94.
28. Béch-Nielsen S., Arias M., Panadero J., Escribano J.M., Teje-

- dor G.C., Perez-Bonilla Q., Sanchez Vizcaino J.M. Laboratory diagnosis and disease occurrence in the current African swine fever eradication program in Spain 1989-1991. *Prev. Vet. Med.*, 1993, 17: 225-234.
29. Arias M., Pastor M., Escribano J., Sanchez Vizcaino J.M. African swine fever diagnosis. Role of the new tests. Process Workshop of Coordination Agriculture Research. Lisbon, Spain, 1993: 185-189.
 30. Sanchez-Botija C., Ordas A. Laboratory manual for diagnosis on African swine fever. Madrid, Spain, 1977: 47-54.
 31. Vidal M.I., Stiene M., Henkel J., Bilitewski U., Costa J.V., Oliva A.G. A solid-phase enzyme linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies for the detection of African swine fever virus antigens and antibodies. *J. Virol. Meth.*, 1997, 66(2): 211-218.
 32. Hutchings G.H., Ferris N.P. Indirect sandwich ELISA for antigen detection of African swine fever virus: comparison of polyclonal and monoclonal antibodies. *J. Virol. Meth.*, 2006, 131: 213-217.
 33. Sanchez-Vizcaino J.M. African swine fever diagnosis. African Swine Fever. Boston, Martinus Nijhoff, USA, 1987: 63-67.
 34. Вишняков И., Митин Н., Курносов А., Балышев В., Черятников Л. Реакция гемадсорбции и задержки гемадсорбции при АЧС. Тез. докл. науч. конф. ВНИИВВиМ по вопросам ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. Покров, 1992: 57-62.
 35. Вишняков И., Карасёва Е., Яшин А., Федорошев И., Балышев В. Методы прямой и непрямой иммунофлуоресценции. Тез. докл. науч. конф. ВНИИВВиМ по вопросам ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. Покров, 1992: 65-68.
 36. Pastor M., Arias M., Alcaraz C., De Diego M., Escribano J.M. A sensitive dot immunobinding assay for serodiagnosis of African swine fever virus with application in field conditions. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992, 4(3): 254-257.
 37. Gallardo C., Blanco E., Rodriguez J.M., Carrascosa A.L., Sanchez Vizcaino J.M. Antigenic properties and diagnostic potential of African swine fever virus protein pp62 expressed in insect cells. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44(3): 950-956.
 38. Tabares E., Fernandez M., Salvador-Temprano E., Carneiro M.E., Sanchez-Botija C. A reliable enzyme linked immunosorbent assay for African swine fever using the major structural protein as antigenic reagent. *Arch. Virol.*, 1981, 70: 297-300.
 39. Caballero R. Application of pRPEL2 plasmid to detect African swine fever virus by DNA-DNA hybridization. *Arch. Virol.*, 1986, 87: 119-125.
 40. Steiger Y., Ackermann M., Mettraux C., Kihm U. Rapid and biologically safe diagnosis of African swine fever virus infection by using polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1992, 30(1): 1-8.
 41. Agüero M., Fernandez J., Romero L., Sanchez Mascaraque C., Arias M., Sanchez Vizcaino J.M. Highly sensitive PCR assay for routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41(9): 4431-4434.
 42. King D., Reid S., Hutchings G.H., Grierson S.S., Wilkinson P.J., Dixon L.K. Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J. Virol. Meth.*, 2003, 107(1): 53-61.
 43. Medin J., Gathy K., Coleman M. Expression of foreign proteins in *Trichoplusia ni* larvae. *Meth. Mol. Biol.*, 1995, 39: 265-275.
 44. Freije J., Munoz M., Vinuela E., Lain S., Lopez-Otin C. High-level expression in *Escherichia coli* of the gene coding for the major structural protein (p72) of African swine fever virus. *Gene*, 1993, 123(2): 259-262.
 45. Вишняков И., Цыбанов С., Власова Н., Пантюшенко М., Селянинов Ю., Сенечкина Е. Способ дифференциации и идентификации изолятов и штаммов вируса африканской чумы свиней. Патент на изобретение № 2121002 от 27.10.1998 Класс патента: C12Q1/68, C12N15/34, A61K39/187 Заявка № 96117060/13 от 23.08.1996 (<http://ru-patent.info/21/20-24/2121002.html>).
 46. Alcaraz C., Rodriguez F., Oviedo J., Eiras A., De Diego M., Alonso C., Escribano J.M. Highly specific confirmatory western blot test of African swine fever virus antibody detection using the recombinant virus protein p54. *J. Virol. Meth.*, 1995, 52: 111-119.
 47. Oviedo J., Rodriguez F., Gomez-Puertas P., Oviedo J., Brun A., Gomez N., Alonso C., Escribano J. High level expression of the major antigenic African swine fever virus proteins p54 and p30 in baculovirus and their potential use as diagnosis reagents. *J. Virol. Meth.*, 1997, 64: 27-35.
 48. Perez-Filgueira D., Gonzalez-Camacho F., Gallardo C., Resino-Talavan P., Blanco E., Gomez-Casado E., Alonso C., Escribano J. Optimization and validation of recombinant serological tests for African swine fever

diagnosis based on detection of the p30 protein produced in *Trichoplusia ni* larvae. J. Clin. Microbiol., 2006, 44(9): 3114-3121.

49. Barderas M., Wigdorovitz A., Merelo F., Beitia F., Alonso C., Borca M.V., Escribano J.M. Serodiagnosis of African swine fever using the recombinant protein p30 expressed in insect larvae. J. Virol. Meth., 2000, 89: 129-136.
50. Neilan J., Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Kutish G.F., Rock D.L. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. Virology, 2004, 319: 337-342.
51. Barderas M., Rodriguez F., Gomez-Puertas P., Aviles M., Beitia F., Alonso C., Escribano J.M. Antigenic and immunogenic properties of a chimera of two immunodominant African swine fever virus proteins. Arch. Virol., 2001, 146(9): 1681-1691.
52. Gomez-Puertas P., Rodriguez F., Oviedo J.M., Brun A., Alonso C., Escribano J.M. The African swine fever virus protein p54 and p30 are involved in two distinct step of virus attachment and both contribute to the antibody mediated protective immune response. Virology, 1998, 243: 461-471.

ГНУ Всероссийский НИИ ветеринарной
вирусологии и микробиологии

Россельхозакадемии,

601120 Владимирская обл., Петушинский р-н, г. Покров,

e-mail: vianany@yandex.ru

Поступила в редакцию

11 апреля 2011 года

PROSPECTS OF MOLECULAR IMMUNOLOGY AND GENETIC ENGINEERING IN CONTROL OF AFRICAN SWINE FEVER

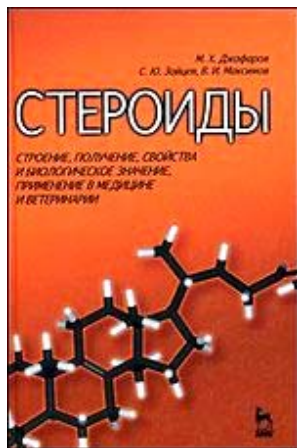
(review)

N.N. Vlasova

S u m m a r y

The basic molecular and biological properties of the African swine fever (ASF) virus and the methods used to diagnose the disease it causes are considered, particularly, a real time PCR and detection of antibodies. The failure to create a vaccine stimulated the development of a diagnostic methodology which has helped the countries not free from ASF to eliminate it completely on their territories. Analysis of the biological properties of the ASF virus promotes the study of the causes of its high pathogenicity and further progress in genetic engineering with the aim to create protective agents and a recombinant vaccine against ASF. The main measures are suggested to combat the ASF in the Russian Federation.

Вниманию читателей! Вышла в свет книга: М.Х. Джафаров, С.Ю. Зайцев, В.И. Максимов. Стероиды. Строение, получение, свойства и биологическое значение, применение в медицине и ветеринарии. СПб: изд-во «Лань», 2011, 288 с.



Учебное пособие освещает систематизированную совокупность современных знаний по биохимии и физиологии стероидов человека, животных и растений. Даны общая характеристика, классификация и номенклатура стероидов; приведены исторические сведения по открытию и исследованию важнейших их представителей. Рассмотрены биосинтез, метаболизм, значение и распространение в природе стероидов, сапогенинов и алкалоидов, желчных кислот, кардиотоников и вистаероидов, холестановых, кортикоидных, женских и мужских половых гормонов. Подробно обсуждается механизм биосинтеза холестерина и приведены примеры химических способов его синтеза. Изложены современные представления о механизме действия стероидных гормонов. Приведены методы выделения, очистки и идентификации стероидных веществ. Рассмотрено практическое применение стероидов в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве.

Пособие предназначено для студентов высших учебных заведений специальностей «Ветеринария», «Зоотехния» (специализации — ветеринарная биохимия, ветеринарная биофизика и другие биологические специализации), аспирантов и начинающих научных работников, слушателей ФПК, преподавателей высших учебных заведений; оно может быть полезным также для студентов вузов физкультуры и спорта и медицинских вузов.

Заказ и приобретение: mxh123@mail.ru