

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Алейник Станислав Николаевич

Должность: Ректор

Дата подписания: 25.11.2021 08:36:50

Уникальный программный ключ:

5258223550ea9fbeb23726a1609b644b33d8986ab6255891f288f913a1351fae

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВО Белгородский государственный аграрный университет
имени В.Я. Горина

Диагностика и профилактика бешенства животных

Учебно-методическое пособие



Майский, 2018

УДК 619:616.988.21
ББК 48.73
К56

Коваленко А.М., Ткачев А.В., Ткачева О.Л. Диагностика и профилактика бешенства животных. Учебно-методическое пособие. ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2018. – 91 с.

Рецензенты: д.в.н. проф. Мерзленко Р.А. (ФГБОУ ВО БелГАУ имени В.Я.Горина)
д.в.н. проф. Сидорчук А. А. (ФГБОУ ВО МГАВМиБ)
д.в.н. проф. Евглевский А. А. (ФГБОУ ВО КГСХА)

*Учебно-методическое пособие утверждено: Учебно-методическим советом
Факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ имени
В.Я. Горина. Протокол № 14 от 13.12.2018 года*

Данное учебно-методическое пособие может быть использовано специалистами гуманитарной и ветеринарной медицины, аспирантами, научными сотрудниками и студентами факультетов ветеринарной медицины, специалистами ветеринарных диагностических лабораторий и эпизоотологами. Рассмотрены особенности развития инфекционного процесса и детально изучен возбудитель бешенства и его биологические и молекулярно-генетические свойства. В пособии освещены эпизоотологические особенности бешенства.

ББК 48.73
К56

Содержание

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБДОВИРУСОВ	3
ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕШЕНСТВА	7
Клинические признаки и патологоанатомические изменения	9
Патогенез.....	12
ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ	14
Морфология и химический состав	14
Устойчивость	14
Антигенная структура.....	14
Антигенная вариабельность и родство	15
Локализация и выделение вируса.....	16
Персистенция вируса	17
Антигенная активность.....	19
Экспериментальная инфекция	19
Культивирование	20
Гемадсорбирующие свойства.....	21
ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ.....	22
Источник и пути передачи инфекции	22
Спектр патогенности в естественных условиях.....	22
Экология, география и эпизоотология	25
Эпизоотическая ситуация по бешенству в России	27
ДИАГНОСТИКА.....	36
Выделение вируса	36
Индикация и идентификация вируса.....	38
<i>Обнаружение специфических телец-включений.....</i>	<i>38</i>
ИФ	39
РДП.....	42
Биопроба	43
РСК.....	44
ИФА.....	44
РН.....	45
<i>Вариантная идентификация с помощью моноклональных антител.....</i>	<i>45</i>
Серодиагностика и ретроспективная диагностика	46
РТГА	46
Дифференциальная диагностика	47
ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА	48
Характеристика антирабических вакцин	48
Применение живых вакцин	51
Применение инактивированных вакцин	54
Генно-инженерные вакцины	57
Серологическая оценка поствакцинального иммунитета	58
Поствакцинальные осложнения.....	59
Приложение 1	60

Приложение 2	65
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	76

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБДОВИРУСОВ.

Семейство Rhabdoviridae (от греч. rhabdos – стержень, палочка) – большая группа вирусов, поражающая позвоночных и беспозвоночных животных, а также растения. Рабдовирусы позвоночных и беспозвоночных имеют пулеобразную форму, а растений – бациллоподобную. Вирионы рабдовирусов состоят из нуклеокапсида спиральной симметрии и липопротеидной оболочки, на поверхности которой имеются выступы длиной 5-10 нм и диаметром около 3 нм. Размеры вирионов (100-430)х(45-100) нм, диаметр нуклеокапсида около 50 нм, длина спирали около 700 нм. Часто встречаются укороченные вирионы – 0,1-0,5 длины нормальных. Иногда также обнаруживают необычайно длинные экземпляры. Молекулярная масса вирионов 300-1000 мД, плавучая плотность в CsCl 1,19-1,20 г/см³, в сахарозе 1,17-1,19 г/см³, коэффициент седиментации 550-1000 S. Рабдовирусы стабильны при pH 5-10, быстро инактивируются при 56°C и ультрафиолетовом облучении.

Геном представлен единой односпиральной линейной молекулой минус-РНК с молекулярной массой 3,5-4,6 мД и коэффициентом седиментации 24-45 S. Вирионная РНК рабдовирусов не обладает инфекционностью. В вирионах рабдовирусов обнаружено 5 полипептидов, 3 из которых (L, NS, N) связаны с нуклеокапсидом, а 2 (G, M) входят в состав липопротеидной оболочки. Белок G гликозилирован, образует на поверхности вириона выступы и индуцирует синтез вируснейтрализующих антител. В вирионах содержится 65-75% белка, 15-25% липидов, 3% углеводов и 1-2% РНК.

Рабдовирусы размножаются в цитоплазме. Вначале вирионная РНК транскрибируется вирионассоциированной транскриптазой с образованием нескольких информационных РНК, обеспечивающих синтез вирусоспецифических белков, а затем она реплицируется. На матрице вирионной минус-РНК синтезируется полная копия плюс-РНК, которая, в

свою очередь, служит матрицей для синтеза дочерних геномных минус-РНК. Синтезированные минус-РНК связываются с белком и образуются нуклеокапсиды. Созревание вирионов происходит почкованием нуклеокапсидов через модифицированные участки клеточной оболочки, в которой находятся вирусоспецифические белки G и M. Некоторые представители семейства размножаются в организме позвоночных и членистоногих, другие – в организме членистоногих и растений. Рабдовирусы передаются членистоногими, аэрозольно и при контакте.

Семейство *Rhabdoviridae* состоит из пяти родов: *Vesikulovirus*, *Lyssavirus*, *Ephemerovirus*, *Cytorhabdovirus*, и *Nucleorhabdovirus*.

Род *Vesikulovirus* (лат. vesicula уменьшит. от vesica – пузырь). Включает 29 представителей: вирусы везикулярного стоматита Индиана (прототипный вирус), Нью-Джерси, Алагоас, весенней виремии карпов и др. Средний размер вирионов составляет 170x70 нм, внешний диаметр нуклеокапсида 49 нм, внутренний – 29 нм, длина спирали около 1 мкм, коэффициент седиментации 625 S. Геном вируса везикулярного стоматита состоит из 11161 нуклеотида и кодирует 5 вирусных белков. Гены расположены в следующем порядке 3–N–NS–M–G–L–5. Первые 47 нуклеотидов с 3'-конца транскрибируются с образованием лидирующей РНК, которая необходима для транскрипции 5 вирусных генов. Пять моноцистронных иРНК обеспечивают синтез всех вирусных белков. Межгенные области состоят из двух нуклеотидов (между лидирующей РНК и N-геном – 3 нуклеотида) и не транскрибируются. В вирионах вируса везикулярного стоматита содержится 500-1500 молекул гликопротеина G (70-80 кД), 1500-4000 молекул матричного белка M (20-30 кД), 1000–2000 молекул нуклеопротеина N (50–62 кД), 100–300 молекул фосфопротеина NS (40–50 кД) и 20–50 молекул белка L (150 кД). Первые 2 белка входят в состав вирусной оболочки, а остальные формируют нуклеокапсид. Белки нуклеокапсида L и NS являются компонентами транскриптазы. Размножение вирусов происходит в цитоплазме и не зависит от функции клеточного ядра.

При инфицировании клеток вирусом везикулярного стоматита и другими вирусами (парамиксовирусы, ретровирусы птиц и млекопитающих, вирус простого герпеса) образуются фенотипически мешанные частицы (псевдотипы), содержащие геном вируса везикулярного стоматита и наружные белки другого вируса.

Род *Lyssavirus* (греч. *Lyssa* – бешенство). Включает 32 представителя: вирусы бешенства (прототипный вирус), Мокола, Котонкан, Дювенхейдж, Лагос, геморрагической септицемии форели, инфекционного некроза кроветворной ткани лососевых и др. Возможными представителями рода являются 44 вируса, выделенные от позвоночных и беспозвоночных животных (таб. 1).

Таблица 1. Вирусы группы бешенства, патогенные для человека и животных (по М. А. Вагабову и И. Ф. Баринскому, 1979)

Вирус	Источник выделения
Бешенство (уличный, фиксированный, дикования, летучих мышей)	Человек, плотоядные, летучие мыши.
Лагос Бат (ВЛБ, Lagos Bat)	Летучие мыши.
Мокола (ВМ. Mokola)	Человек, землеройка.
Дювенхейдж (BD, Duvenhage)	Человек, летучие мыши.
Острого энцефаломиелита (ОЭМЧ)	Человек.
Бешенствоподобный	Грызуны в Центральной Европе
Котонкан (ВК, Kotonkan)	Крупный рогатый скот, комары.
Ободьянг (ВО, Obodhiang)	Комары (<i>Mangonia uniformis</i>)
Фландрас (Flandres, Hard Park)	Комары (<i>Culex quinquetosa cialis</i>)

Средний размер вирионов составляет 180-75 нм, длина выступов около 10 нм, а длина спирали нуклеокапсида в вытянутом состоянии 4,2-4,6 мкм. Геном вируса бешенства состоит из 11932 нуклеокапсидов и кодирует 5 вирусных белков. Гены расположены в том же порядке, что и у вируса везикулярного стоматита. В вирионах вируса бешенства содержится 1600-1900 молекул белка G (65-80 кД), 1650-1700 молекул белка M (22-25 кД), 1750 молекул белка N (58-62 кД), 900-950 молекул белка NS (35-43 кД) и 17-150 молекул белка L (190 кД). На основании перекрестной РН некоторые лиссавирусы подразделены на 4 серотипа: 1-й - вирус бешенства, 2-й – Лагос, 3-й – Мокола, 4-й – вирус Дювенхейдж. Белок G индуцирует синтез

вируснейтрализующих антител и обеспечивает развитие иммунитета. Белки нуклеокапсида N и NS имеют группоспецифические антигены – детерминанты.

Лиссавирусы размножаются в организме позвоночных и членистоногих. Созревание происходит в период их отпочковывания от цитоплазматических мембран, в которые включены вирусные белки G и M.

Род *Ephemerovirus*. Включает вирус эфемерной лихорадки крупного рогатого скота, который передается кровососущими насекомыми.

Род *Cytorhabdovirus* и **род *Nukleorhabdovirus*** – рабдовирусы, поражающие многие виды растений. Размножаются в клетках членистоногих и растений.

ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕШЕНСТВА

Rabies (англ), Tollwut (нем), La Rage (франц.).

Бешенство – остропротекающая болезнь теплокровных животных, характеризующаяся поражением ЦНС. Восприимчивы домашние и дикие животные всех видов, а также человек. Клинические признаки заболевания описали Плутарх и Селкус в 100 г. н. э. Наиболее ранние ссылки на заболевание в Азии рассматриваются как одно из встречавшихся в античном Вавилоне в XXIII веке до н. э. и в последующем получившее название Hammurabi. Вопреки античной истории заболевания многие аспекты бешенства неясны до настоящего времени. Большинство теплокровных животных чувствительны к вирусу бешенства. Длительно удерживавшаяся концепция фатального исхода заболевания человека, как и животных всех видов, постепенно меняется, – имеют место фактически документированные случаи выздоровления от бешенства человека и собак после экспериментальной инфекции. Животные некоторых видов более устойчивы к бешенству, чем другие.

Болезнь регистрируется в различных странах земного шара. Не отмечено случаев проявления болезни в Австралии, Великобритании, Японии. В зависимости от резервуаров и особенностей течения распространение бешенства в мировом масштабе условно принято делить на несколько ареалов.

Полярный ареал включает арктическую территорию бывшего СССР, Гренландию, Аляску, где в 60-90% случаев носительство вируса бешенства проявляется дикованием (у песцов). Известны случаи заболевания с летальным исходом людей, контактировавших с больными песцами.

Западная, Центральная Европа, азиатская часть бывшего СССР США, Мексика входят в зону, характеризующуюся многочисленными резервуарами (куницы, лисы, волки, грызуны). Южная и Центральная

Америка рассматриваются как самостоятельный тип природной очаговости, где резервуарами являются летучие мыши. В Африканском ареале основным носителем вируса являются мангусты. В последнее десятилетие в Азии, Африке и Латинской Америке от бешенства ежегодно погибает около 20 тысяч человек, в Индии – около 30 тысяч человек. 96% укусов наносят собаки.

К 1950 г. большинство европейских стран стало свободным от бешенства собак. Затем инфекция стала распространяться с востока на запад: в период с 1960-1970 гг. волна бешенства среди лисиц охватила ФРГ, Австрию, Бельгию, Францию, Люксембург. Всего за 1972-1989 гг. зарегистрировано 300 тысяч случаев бешенства у животных. В 83% случаев болели дикие животные, в основном лисицы (74,5%). В период 1977-1990 гг. в Европе заболело 69 человек. Изучение экологии лисиц в эндемичном в отношении бешенства регионе на северо-востоке Франции показало, что величина помета лисиц зависит от количества грызунов (в основном полевок *Microtus arvalis*). Резкое увеличение популяции грызунов может быть причиной роста бешенства среди лисиц. Страны, в которых собаки продолжают быть главным источником человеческого бешенства, почти все страны Латинской Америки. Среднее годовое число сообщений о человеческом бешенстве увеличилось от 258 в 1970-1979 гг. до 293 в 1980-1989 гг. Между 1990 и 1994 гг. в трёх странах – Бразилии, Мексике и Перу – насчитывалось 65% случаев человеческого бешенства от общего количества случаев в других странах. Специфическая смертность от бешенства упала от 1,3 случая на 1 миллион населения в 1980 г. до 0,3 в 1993 г. Число случаев бешенства собак в странах Латинской Америки упало с 20518 в 1980-1982 гг. до 8069 в 1991-1993 гг. В период 1990-1993 гг. собаки были ответственны за 84,1% случаев человеческого бешенства, летучие мыши – за 7,2, кошки – за 4 и другие животные (обезьяны, волки, койоты) – за 4,7%. В ряде стран передача бешенства вампирными летучими мышами имеет большое значение для

общественного здравоохранения и экономики. С 1987 г. 73 человеческие смерти были вызваны бешенством, передаваемым вампирными летучими мышами. В Шри-Ланка отмечается высокая заболеваемость бешенством среди людей. За 1950-1975 гг. умерло 5287 человек.

Помимо собак в распространении бешенства существенную роль играют кошки. Они составляют обычно не более 5% от общего числа иммунизированных животных. К некоторым штаммам вируса бешенства кошки даже более чувствительны, чем собаки, причём они выделяют большее количество вируса. Поэтому санитарные мероприятия по борьбе с бешенства кошек заключается в полном исключении контактов их с животными – векторами инфекции – содержание в изолированных условиях и удаление бродячих кошек из инфицированных районов.

Клинические признаки и патологоанатомические изменения. У собак инкубационный период варьирует от нескольких недель до года, в среднем 2-8 недель. Его продолжительность зависит от вида, возраста, резистентности животного, количества проникшего вируса и его вирулентности, места локализации и характера раны. Чем богаче нервными окончаниями ткань в месте внедрения вируса, чем глубже рана и больше она обслонена, тем короче инкубационный период. У 70% заболевших домашних животных клинические признаки бешенства начинают проявляться между 15 и 60 днём после заражения, а у остальных – раньше или позже.

В развитии болезни различают 3 стадии: продромальную, возбуждения и параличей. Продромальная стадия (стадия предвестников) характеризуется повышением чувствительности животных к шуму, свету, прикосновениям, извращением аппетита, нарушением зрения, повышением температуры тела. Эта стадия длится от 12 часов до 3-х суток. Стадии возбуждения свойственны приступы буйства, ярости, расстройства чувствительности и сознания, оглумообразное состояние. Наблюдаются судороги, парезы жевательных мышц и мышц глотки, сужение зрачков,

учащенные позывы к мочеиспусканию. Лихорадка достигает максимума. В стадию параличей снижается и даже исчезает болевая чувствительность. Нарушается деятельность центров кровообращения и дыхания. Температура тела понижается. Течение болезни заканчивается летально. Однако при серологическом исследовании диких животных, собак, кошек и вампиров в сыворотке крови обнаруживают вируснейтрализующие антитела, что, вероятно, явилось результатом бессимптомного переболевания.

Течение бешенства за последние годы претерпело существенные изменения и проявляется без стадий, свойственных классической болезни. В последние годы стали преобладать паралитическое и атипичное проявления болезни.

У крупного рогатого скота инкубационный период продолжается от 2 недель до нескольких месяцев, чаще 3-6 недель. Клинические признаки в начале болезни неспецифичны: потеря аппетита, замедленная моторика рубца, иногда дрожание, затем паралич глотки и связанные с этим отказ от корма и обильное слюнотечение. Стадия возбуждения может отсутствовать. Она лучше выражена у животных выпасного содержания по сравнению с животными стойлового содержания.

Для буйной формы характерны возбуждение животного, затрудненное жевание и глотание, прекращение лактации. Затем возбуждение переходит в буйство, животное стремится сорваться с привязи, хрипло мычит, бросается на препятствия, оглядывается на живот, падает на землю. Наблюдаются обильное слезотечение и потоотделение, фибриллярное подёргивание отдельных групп мышц. Зрачки расширены, конъюнктивита гиперемирована, иногда возникает зуд на месте укуса и половое возбуждение. Жвачка становится вялой или совсем прекращается, часто повторяются позывы к мочеиспусканию и дефекации. Затем развиваются параличи нижней челюсти, языка, мышц конечностей. Смерть наступает на 3-6-й день.

Паралитическая стадия бешенства у крупного рогатого скота встречается наиболее часто. Начало болезни характеризуется снижением молочной продуктивности и аппетита. Наблюдается хрипкое мычание, животное отстает от стада. Развиваются атония преджелудков, слюнотечение, затрудненное дыхание, глотание, животное подолгу пережевывает корм, но не проглатывает его. Температура тела повышается до 40-41°C. Наблюдаются фибриллярное подергивание мышц, повышение потоотделения, признаки нарушения координации движения, запрокидывание головы. У некоторых животных в период вышеперечисленных признаков появляется возбуждение (в том числе половое, хрипкое мычание). Смерть наступает на 3-6-й день. В 1990-1991 гг. в Аргентине наблюдалась эпизоотия паралитического бешенства среди крупного рогатого скота и людей. В это время отмечались случаи гибели рукокрылых, гематофагов и от них выделяли вирус бешенства.

У собак бешенство проявляется в буйной или тихой форме. При буйном бешенстве различают 3 стадии. Продромальная стадия характеризуется угнетением и длится до 3-х суток. Животное угнетено, прячется в темные углы. В иных случаях собака ласкова. К концу стадии животное лает на предметы, извращается аппетит. Иногда на месте укуса возникает сильный зуд, животное вылизывает, расчёсывает, грызет это место. Затрудняется глотание, появляется слюнотечение, хриплый лай. Животное бросается на человека, других животных, что свидетельствует о стадии возбуждения, которая продолжается 3-4 дня. Затем наступает стадия параличей, продолжающаяся 1-4 дня. Болезнь длится 8-11 дней.

Тихая форма часто проявляется у собак, покусанных инфицированными лисицами. Первые признаки болезни – затрудненное глотание, слюнотечение, затем параличи нижней челюсти, конечностей, туловища. Гибель наступает через 2-4 дня.

У овец, свиней, лошадей болезнь проявляется также в двух формах: буйной и паралитической.

Лисицы при заболевании настораживают необычным поведением, теряют чувство страха, нападают на собак, коров и людей. Больные животные быстро худеют, часто возникает зуд в области инфицирования. Возможны вялость, паралич; гидрофобии не наблюдается. Считают, что суслики являются естественным резервуаром вируса бешенства и могут служить моделью для изучения закономерностей его персистенции.

Патологоанатомические изменения, обнаруживаемые при вскрытии, неспецифичны. Обычно отмечают истощение, шерсть головы и шеи смочена слюной. В желудке иногда обнаруживают инородные предметы. У жвачных в сетке и книжке находят сухие, плотные кормовые массы. Часто тонкий кишечник воспалён, с кровоизлияниями.

Патогенез. Рецепторами вируса бешенства на мембранах нейронов служат полисиалогликозиды. Проводимость импульсов на синаптических мембранах зависит от взаимодействия отрицательно заряженной сиаловой кислоты тиогликозида и ионов Ca^{2+} . Препараты гликопротеинов выделяли из отдельных частей головного мозга здоровых и экспериментально инфицированных вирусом бешенства лисиц. В препаратах определяли отсутствие полисиалогликозидов и концентрацию сиаловой кислоты, ионов кальция, белка. Во всех проверенных частях мозга заражённых лисиц обнаружено повышенное содержание сиаловой кислоты, причём в препаратах коры головного мозга и аммонова рога в 20 раз превышала контрольные значения. Это непосредственно приводит к увеличению отрицательного заряда на синаптических мембранах и, следовательно, к более высокой проницаемости этих мембран. Существует три пути проникновения вируса от глаз до мозга: по околомоторному парасимпатическому нерву; перкорнеальный путь заражения; путь по зрительному нерву.

Механизм, посредством которого вирус достигает ЦНС, изучался рядом исследователей. При прогрессировании бешенства на хомячках было показано, что начало продвижения вируса связано с сокращением

мышечных клеток около места инокуляции с инфицированием миоцитов и последующим выходом вируса в экстрацеллюлярное пространство. Вирус бешенства может распространяться в ЦНС также за счёт цереброспинальной жидкости.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

Морфология и химический состав. Установлен генетический полиморфизм гена нуклеопротеида бешенства. Все 69 изолятов вируса бешенства из различных частей мира принадлежат к серотипу 1, причём идентифицировано по крайней мере 12 филогенетических линий в соответствии с географической локализацией хозяина. Селекция, возможно, связана со специфичностью хозяина, ограничивает изменения аминокислотных последовательностей и антигенный дрейф. Морфологические особенности вируса бешенства схематично представлены на Рис. 1.

Устойчивость. Низкие температуры консервируют вирус. Температура 23°C инактивирует его через 28-53 дня, 50°C – через 1 час, 60°C – за 5-10 минут, 70°C – мгновенно. Высушивание без вакуума инактивирует вирус в течение 10-14 дней. В гниющем материале он гибнет через 15 дней. Ультрафиолетовые лучи убивают за 5-10 минут. Дезинфицирующие вещества (растворы формальдегида, гидроксида натрия, хлорной извести) действуют на вирус бешенства губительно. Вирус устойчив к рН 5-10 при 4°C.

Антигенная структура. Нуклеокапсид вируса бешенства представляет собой спиральные тела, состоящие из белков N, NS и L, составляющих 96% его массы, белок N-вирионной РНК, защищающей её от действия РНК-азы; высокомолекулярный белок L и небольшой белок NS не связаны с нуклеокапсидом и содержатся в вирионе в незначительном количестве. Внутренним белком вирусной оболочки является негликозилированный мембранный или матриксный (М) белок. Кроме белка М у вируса бешенства в состав внутреннего слоя оболочки входит белок А или клеточный актин с молекулярной массой. 43 кД, содержание которого достигает 1-5% массы вирионных белков. До недавнего времени считалось, что все штаммы вируса имеют одинаковый антигенный состав. Однако с помощью моноклональных

антител удаётся легко различать фиксированные и дикие его штаммы как по нуклеокапсидным, так и по гликопротеиновым антигенам. В вирионах вируса бешенства обнаружено 5 белков. Гликопротеин G способен индуцировать образование вируснейтрализующих антител и защищать животных от заражения. Нуклеокапсидный антиген индуцирует образование комплементсвязывающих преципитирующих антител.

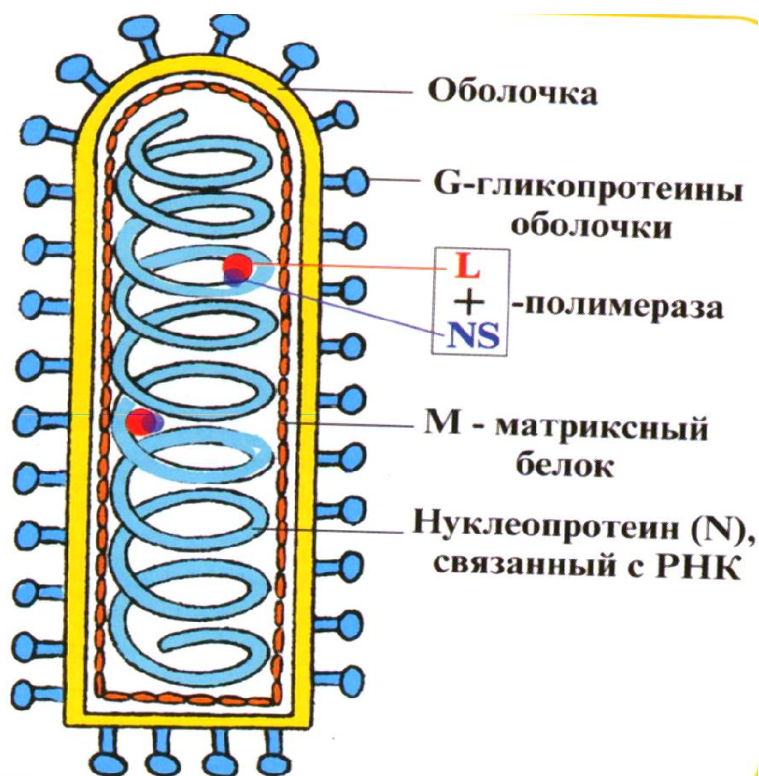


Рис. 1. Схема строения вируса бешенства

Антигенная вариабельность и родство. Ранее все штаммы вируса бешенства рассматривались как единые в антигенном отношении. Однако благодаря гибридной технологии появилась возможность получения моноклональных антител к отдельной антигенной детерминанте. Моноклональные антитела позволили выявить тонкие антигенные связи и различия между штаммами вирусов группы бешенства. В настоящее время считают, что вирус бешенства имеет 4 серотипа, что, видимо, обусловлено различием в составе мембранных белков. Учитывая это, была предложена следующая классификация вируса: вирус 1-го серотипа; прототип этого вируса – шт. CVS и сходные с ним полевые и лабораторные штаммы, выделенные в различных частях света; вирус 2-го серотипа; прототип его –

шт. Lagos Vat, выделенный из костного мозга летучей мыши в Нигерии; вирус 3-го серотипа; прототип его – шт. Мокола, выделенный от землеройки и человека; вирус 4-го серотипа – шт. Obodhiang, выделен от лошадей, комаров и москитов в Нигерии и ещё не классифицирован.

Все варианты вируса бешенства в иммунобиологическом отношении родственны. Нуклеопротеидные антигены различных вирусов бешенства имеют группоспецифическое родство с другими рабдовирусами. Моноклональные антитела к различным штаммам вирусами бешенства открыли новую страницу в изучении тонкой антигенной структуры лиссавирусов, представили дополнительные возможности для решения теоретических и прикладных задач рабиологии (3). Показана перекрёстная защита мышей против широкого спектра изолятов вируса бешенства. При этом мышей вакцинировали рекомбинатной вакциной (на основе вируса вакцины) экспрессирующей гликопротеин G, нуклеопротеин N или оба (N+G) лабораторного шт. CVS, или полученной на диплоидных клетках вакциной (HDCV), и определяли устойчивость мышей к 17 штаммам вируса бешенства, представляющих весь спектр известных вариантов возбудителя. В итоге сделан вывод, что любой штамм вируса бешенства или его гликопротеин могут быть использованы для вакцинации во всем мире.

Локализация и выделение вируса. Многочисленные исследования патогенеза бешенства позволили условно разделить острую рабическую инфекцию на III основных фазы: I – экстраневральная фаза, без видимого размножения вируса в месте инокуляции; II – интраневральное, центростремительное распространение инфекции и III – диссеминация вируса по всему организму, сопровождаемая появлением симптомов болезни и, как правило, гибелью животного. Распространение вируса бешенства по нервным путям впервые доказано Пастером и Ру. Вирус проникает в организм со слюной в местах укуса и непродолжительное время сохраняется в месте внедрения (до двух недель), а затем по центростремительным нервам продвигается к спинному и головному мозгу. Из мозга по центробежным

нервам он попадает в слюнные железы, где репродуцируется в нервных узлах и после дегенерации нервных клеток выходит в протоки желез, инфицируя слюну. Из мозга вирус также нейрогенным путём попадает в слюну, роговицу, надпочечники. Выделение вируса со слюной начинается за 10 дней до проявления клинических признаков, поэтому французский регламент предусматривает пятнадцатидневный срок наблюдения за покусавшим животным. У бешеной лисицы накапливается в слюнных железах столько вируса, что можно заразить 67 миллионов лисиц. Доказано нахождение вируса во всех внутренних органах и крови, кроме сальника, селезёнки и желчного пузыря. Из ЦНС по нервным путям вирус попадает во внутренние органы, а затем в кровь. Таким образом, происходит стадия генерализации инфекционного процесса.

Персистенция вируса. За последние годы описаны казуистические случаи неоднократного выделения вируса бешенства из слюны здоровых собак на протяжении почти двух лет после их инфицирования. Аналогичная картина наблюдалась и у некоторых экспериментально заражённых кошек. В 1981 г. представлены результаты четырёхлетнего изучения бешенства мангустов, выловленных в ряде районов Гренады. С помощью ИФ вирус бешенства обнаружен в срезах мозга 100 (2,1%) из 4754 обследованных мангустов. Среди 1675 обследованных животных обнаружены вируснейтрализующие антитела в пробах 498 сывороток (30%). При сопоставлении результатов обнаружения бешенства и соответствующих антител установлено, что число больных животных в течение 1971-1974 гг. ежегодно снижалось (с 3,5 до 0,6%), количество мангустов с определяемыми антителами увеличилось с 20,8 до 43,2%. Антитела к бешенству, как отмечено, в опытах с отловленными в природе мангустами (20 особей), циркулировали в крови ещё 35 месяцев. У животных с наиболее высокими титрами антител (1:1400) отмечена и наибольшая скорость их снижения (3).

Одно из свойств вируса бешенства – способность к персистенции *in vivo* и *in vitro*. Хроническая инфекция клеток Нер-2/2 и ВНК-21/13

фиксированным вирусом бешенства сопровождается определенными изменениями клеточного метаболизма. Антиген вируса бешенства образуется в цитоплазме клеток независимо от включений. Персистенцию вируса бешенства удаётся наблюдать при хронической инфекции в клеточных культурах, причём по морфологии и скорости размножения клеток хронически инфицированные культуры не отличались от незаражённых. Вирусный антиген передавался при делении клеток. После того, как была показана возможность образования дефектных интерферирующих частиц вирус бешенства при первичной инфекции *in vivo*, дефектные интерферирующие частицы были выделены и охарактеризованы при хронической инфекции вируса бешенства клеток ВНК. Генерация дефектных интерферирующих частиц в нейронах ЦНС может не только определять окончательный исход инфекции, но и объяснять её латентный характер. В настоящее время данные о роли интерферона и дефектных интерферирующих частиц в механизме хронической инфекции вируса бешенства в клеточных культурах противоречивы. Показано, что *ts*-мутанты, представляющие собой условно дефектные вирусы, могут интерферировать с размножением вируса дикого типа. Вопрос о роли *ts*-мутантов при хронической инфекции вируса бешенства изучен недостаточно. Современные представления о мутации этого вируса подтверждаются рядом примеров. Так, с помощью моноклональных антител из популяции вирулентного вируса бешенства удавалось селекционировать варианты с изменённым поверхностным гликопротеином и признаками аттенуации для ЦНС. Мутант вируса бешенства, имеющий 2 аминокислотные замены (лейцин-132 на фенилаланин; аргинин-333 на глутамин), утратил нейровирулентность для взрослых мышей (7).

Вирулентность шт. ERA и CVS вируса бешенства для мышей зависела от наличия аргинина или лизина в положении 333 вирусного гликопротеина. Замена аргинина в положении 333 на лейцин, изолейцин, метионин, цистин

или серин полностью лишала вирулентности. Такие варианты характеризовались минимальным количеством точечных мутаций.

Антигенная активность. Животные, иммунизированные против бешенства, продуцируют вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие и литические (разрушающие клетки, зараженные вирусом в присутствии комплемента) антитела, а также антигемагглютинины. Поверхностный гликопротеин G оболочки вируса бешенства – единственный белок, отвечающий за индукцию вируснейтрализующих антител и формирование протективного иммунитета, защищая лабораторных животных от латентной инфекции. В отличие от цельных вирионов субвирусный препарат не обладает гемагглютинирующей активностью. Нуклеокапсидный антиген вызывает образование комплементсвязывающих и преципитирующих антител. Он является группоспецифическим антигеном для всех лиссавирусов. Препараты очищенного нуклеокапсида из клеток ВНК-21, заражённых шт. FLURI-HEP и ERA, индуцируют только комплементсвязывающие антитела. Иммуны антитела сыворотки крови в присутствии комплемента лизируют зараженные культуры клеток (7). Между титрами комплементсвязывающих и вируснейтрализующих антител никакой корреляции не обнаружено. Эти антитела появляются независимо друг от друга и индуцируются, по-видимому, разными антигенами. Накопление комплементсвязывающих антител характеризует ответ на вакцинацию, но этому не обязательно сопутствует накопление вируснейтрализующих антител.

Экспериментальная инфекция. Легко воспроизводится на теплокровных всех видов, однако в условиях лаборатории – чаще всего на мышах и сравнительно редко (требуются особые условия) на собаках. Показана различная чувствительность мышей к экспериментальному бешенству в зависимости от патогенных свойств вируса, пола, возраста и способа инфицирования. Показано, что патогенность v. fixe бешенства для взрослых мышей зависит от антигенных детерминант поверхностных

гликопротеинов вируса. Изменение патогенности коррелирует с замещением аргинина в позиции 333 молекулы гликопротеина другой аминокислотой. Последнее время появились сообщения о возможности выздоровления больных бешенством животных в естественных и экспериментальных условиях.

Культивирование. Помимо интрацеребральных пассажей на кроликах и белых мышах вирус бешенства (шт. Fluri-NEP и Lep) успешно репродуцируется в культуре фибробластов куриных эмбрионов. Установлена его способность образовывать бляшки в клетках ВНК-21/13, взвешенных в агарозе. Вирус бешенства также образует бляшки в культуре CER, отличающейся высокой чувствительностью к лиссавирусам. Показана высокая чувствительность к вирусу бешенства (шт. TC-80 и CVS) и высокий уровень накопления антигенов в заражённых перевиваемых культурах - почки сайгака и почки эмбриона африканской козы (1). Получен мелкобляшечный мутант вируса бешенства, который отличается способностью продуцировать дефектные неинтерферирующие частицы. Полагают, что в основе появления их лежит дефицит белка G. Показана также возможность культивирования вируса бешенства в культурах клеток слюнной железы и почки собаки, жировой ткани летучей мыши, почек поросенка, кролика, сирийского хомяка, эмбрионов овцы, человека и японских перепелок. Вирус бешенства адаптирован и к перевиваемым линиям клеток (ВНК-21/13, эндотелия кролика, диплоидной линии клеток лёгких эмбриона человека – HDC S, известной под названием Wi-38). Показана возможность его репродукции в перевиваемых линиях клеток пойкилотермных позвоночных, в частности, в клетках рыбы, змеи, черепахи и ящерицы. Наиболее перспективна перевиваемая линия клеток ВНК-21/13, использование которой позволяет накапливать вирус в больших количествах. Не все штаммы с одинаковой легкостью поддаются адаптации к культуре клеток. При адаптации вируса бешенства к культурам клеток прибегают к различным приемам. Интенсивность размножения вируса в культуре клеток

можно постоянно контролировать методом иммунофлюоресценции. К вирусу бешенства после предварительной адаптации восприимчивы и куриные эмбрионы. Для культивирования штаммов уличного вируса бешенства обычно используют однодневные куриные эмбрионы.

Гемагглютинирующие свойства. Обусловлены наличием у вируса гемагглютинирующих антигенов, находящегося на поверхности вириона в выступах его оболочки. Было показано, что выращенный в культуре клеток и концентрированный вирус бешенства вызывает феномен гемагглютинации. Между инфекционной и гемагглютинирующей активностью существует линейная зависимость, поэтому титрование вируса по инфекционности может быть заменено тестом определения гемагглютинирующей активности.

Гемадсорбирующие свойства. Впервые гемадсорбирующие свойства вируса бешенства (шт. Мочалин), выращенного в культуре первичных клеток почки сирийского хомячка, описаны в 1967 г. Феномен воспроизводился с эритроцитами гуся, курицы, сирийского хомячка, морской свинки и обезьяны при температуре 4°C. Специфичность реакции была подтверждена с помощью иммунной сыворотки; после 3-4-кратного отмывания гемадсорбция не разрушалась и не воспроизводилась с другими штаммами вируса бешенства (Внуково, Тенчу).

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Источник и пути передачи инфекции. Источник инфекции – больные животные. Для штаммов вируса бешенства, поддерживаемых в организме собак и волков, характерна высокая тропность к ЦНС и низкая к висцеральным органам, поэтому вирус, выделяемый со слюной, может отсутствовать в крови, моче, молоке больного животного. Естественное распространение бешенства среди собак почти полностью зависит от классической цепи передачи укус–рана. Почти все случаи передачи бешенства собак и волков человеку и сельскохозяйственным животным также объясняются попаданием вирусосодержащей слюны в раны, нанесённые при укусах, однако возможно заражение при ослюнении поражённой кожи. Алиментарный и аэрогенный пути заражения в принципе возможны, но они не играют существенной роли. Доказана возможность трансплацентарной передачи вируса в естественных условиях путём выявления вируса в органах плода крупного рогатого скота. В настоящее время доказана роль летучих мышей различных видов в распространении вируса бешенства. Лисицы (*Vulpes wipera*) являются вектором бешенства в Европе и Северной Америке, обуславливая 60-85% заболеваний. Необычная их роль в современной эпизоотологии бешенства объясняется непомерным увеличением популяции, чрезвычайной восприимчивостью к вирусу бешенства, а также возможностью перорального заражения.

Спектр патогенности в естественных условиях. Очень широк. Эпизоотические штаммы вируса бешенства различают по вирулентности и другим свойствам. Описанные варианты разделяют на 5 групп. К 1-ой группе относятся так называемые усиленные штаммы, характеризующиеся высокой вирулентностью, коротким инкубационным периодом болезни (1-2 дня) и постоянным образованием телец Бабеша-Негри (7).

Во 2-ю группу входят следующие варианты: а) вирус, выделенный от собак (Улу-Фато). Подобные ему штаммы встречаются в различных районах

Африки. Характерный признак - внезапное изменение поведения и развитие параличей; б) вирус, выделенный от больного крупного рогатого скота в Кадей-росе. Клинически болезнь напоминала чуму, но затем развились параличи. Установлено, что этот вирус передается летучими мышами; в) вирус, выделенный от погибших людей во время эпидемии бешенства на острове Троица в 1929 г. Одновременно болели и крупный рогатый скот, лошади, мулы, ослы. Возбудитель передавался через укусы летучих мышей-вампиров.

К 3-й группе отнесены штаммы, выделенные от песцов и собак при заболевании, именуемом дикованием, встречающемся в северных районах России и Канады. Симптомы дикования несколько отличаются от течения истинного бешенства. Почти никогда не болеет человек.

В 4-ю группу включен вирус, выделенный в США в 1940 г. Личем и Джонсоном из мозга умершей девочки по имени Флури (шт. Флури, неадаптированный). Вирус вызывает у собак, кошек, морских свинок, мышей болезнь, проявляющуюся параличами. Болезнь очень сходна с заболеванием, вызываемым фиксированным вирусом. Кролики малочувствительны. В мозге больных животных данный штамм не индуцирует образования телец Бабеша-Негри.

В 5-ю группу объединены вирусы, выделенные от людей. Сюда отнесён вирус, изолированный в 1929 г. Корчнером, вирус Кобояси и герпесоподобный вирус ДК. От диких грызунов выделено много полевых штаммов, подобных вирусу бешенства и родственных с ним в антигенном отношении. В 1967 г. в Суринаме (Южная Америка) из мозга павших телят, заражённых в естественных условиях, изолированы 2 полевых штамма бешенства (Д-292 и Д-298), подобных штамму-фикс Пастера.

Следует отметить, что если бешенство – в основном летальная инфекция, то при инфицировании вирусами Мокола, Лагос Бат, Ободьянг и Котонкан случаи гибели при экспериментальном заражении относительно редки (7). Вирусы Котонкан и Ободьянг патогенны только при

интрацеребральном заражении мышей-сосунов и патогенны для собак и обезьян при заражении в мозг или внутримышечно. Вирусы Лагос Бат и Мокола апатогенны для мышей при экстраневральном заражении и не вызывают образования телец Бабеша-Негри. Вирус острого энцефалита человека формировал включения в нейронах мозга животных и эктодермальных клетках хорион-алантоисной оболочки заражённых куриных эмбрионов, но они отличались по структуре от телец Бабеша-Негри: имели отчётливую однослойную оболочку, представляли собой РНК-содержащие плотные образования размером 2-4 мкм и выявлялись как в цитоплазме, так и в ядре клеток. Однозначных представлений о рецепторах, обуславливающих проникновение вируса бешенства в ЦНС, не существует. Предполагается роль ацетилхолиновых рецепторов, холинэргических рецепторов мускаринового типа, а также проникновение через тройничные и другие нити. Авирулентные варианты теряют способность проникать в парасимпатические нервные нити, но сохраняют способность к пенетрации в волокна тройничного нерва.

Спектр патогенности вируса бешенства тесно связан с его экологией, которая имеет свои особенности. Так, имеются две формы эпизоотии бешенства: городская и лесная. При второй форме возбудитель циркулирует среди диких плотоядных по типу природно-очаговой инфекции. С 60-х гг. бешенство диких плотоядных снова стало преобладающим. Основным резервуаром и источником инфекции оказались рыжие лисицы, тогда как остальные дикие животные играют второстепенную роль. Чрезмерному увеличению численности лисиц способствовало истребление их естественных врагов – волков, рысей, медведей, орлов и других хищников. Установлено, что средняя плотность популяции лисиц 5 голов и более на 250 га обеспечивает высокий уровень поддержания и распространения эпизоотии. Бешенство среди лисиц появляется, прежде всего, на территориях с массовым распространением грызунов – основного источника корма для

них. Крупный рогатый скот заражается исключительно на пастбищах, входящих в ареалы заражённых лисиц.

При лесном бешенстве большое количество лисиц (40-80%) переживает инфекцию за счёт "нелетального" бешенства. Болезнь у них часто протекает хронически и латентно, обеспечивая персистенцию вируса в естественных условиях. Наоборот, бешенство собак в городских эпизоотиях, как правило, заканчивается их гибелью, поэтому механизм поддержания вируса иной, он сводится к коротким циклам репродукции в организме и быстрой передаче восприимчивому организму.

Экология, география и эпизоотология. Хотя эпизоотии бешенства поддерживаются в настоящий период, главным образом, дикими животными, человеку угрожают, прежде всего, собаки и кошки. Численность домашних и диких млекопитающих – потенциальных резервуаров и переносчиков бешенства не поддаётся в большинстве стран полному учёту.

Возбудителя бешенства многократно продолжают выделять от грызунов – белок, сурков, крыс, зайцев, ондатр, хомяков, мышей. Известны также ограниченные эпизоотии бешенства, в которых грызуны доминировали. Однако роль этих животных в экологии бешенства окончательно не установлена, а исследования по некоторым регионам указывают на неучастие грызунов в циркуляции вируса. В Америке природные очаги бешенства продолжают поддерживаться двумя группами летучих мышей (кровососущими и насекомоядными) и плотоядными (7).

В Европе в период 1970-1980 гг. не оправдались прогнозы, высказанные на VIII конгрессе сравнительной патологии в г. Бейруте в 1966 г. относительно того, что бешенство на этом континенте является уходящей болезнью. Бешенство в Европе продолжает распространяться с большой интенсивностью. За исключением Великобритании, Норвегии и Швеции случаи бешенства продолжают регистрироваться во всех странах континента. Польша относится к числу стран Европы, где бешенство регистрируется в дикой фауне и среди домашних животных. В Италии

бешенство было широко распространено в первой половине нашего столетия (главным образом среди собак и кошек). Случаи бешенства диких животных (лисиц) отмечали в 1961-1963 гг. в провинции Мессина и в 1968-1969 гг. в провинции Палермо. В феврале 1977 г. бешенство вновь возникло среди диких животных в провинции Больцано, куда оно проникло из Австрии через перевал Криммель. В этом районе за небольшой период было установлено 78 случаев бешенства диких животных, в основном лисиц. Появлению бешенства в Дании предшествовало резкое нарастание напряженности ситуации в ФРГ (Шлезвиг-Гольштейн). В XIX в. на северо-востоке Швейцарии бешенство распространялось крысами. В 1967-1968 гг. распространение бешенства почти точно повторило географию этой болезни 1803-1834 гг., что свидетельствует об известном постоянстве распространения болезни в стране. Весной 1967 г. первый случай бешенства был зарегистрирован в кантоне Шиафуза на границе с ФРГ. Затем очаги болезни возникли в кантоне Цюрих. Фронт эпизоотии распространялся со скоростью 25-35 км в год. С 1974 г. бешенство снова начало продвигаться вглубь страны.

В Белоруссии установлена положительная связь между размещением лесных площадей и вспышками бешенства. На Северном Кавказе в условиях горно-лесистой местности Кабардино-Балкарии имеются природные очаги бешенства, в которых основным резервуаром являются лисицы, в степной зоне, где численность лисиц значительно меньше, реже регистрируется и инфекция. Периодичность эпизоотии – характерная особенность бешенства. Сезонные подъёмы заболеваемости бешенства среди животных тесно связаны с географией региона и биологическими циклами активности животных.

Требования Международного эпизоотического бюро отражают подходы к диагностике, профилактике и ликвидации бешенства в мире и Российской Федерации (приложение 1).

Эпизоотическая ситуация по бешенству в России. За последние пять лет эпизоотическая ситуация по бешенству в России осложнилась. За это время резко активизировались природные очаги этой болезни, увеличилось число случаев заболевания среди диких, домашних плотоядных (только собаки, кошки не учитывались) и сельскохозяйственных животных (рис. 1).

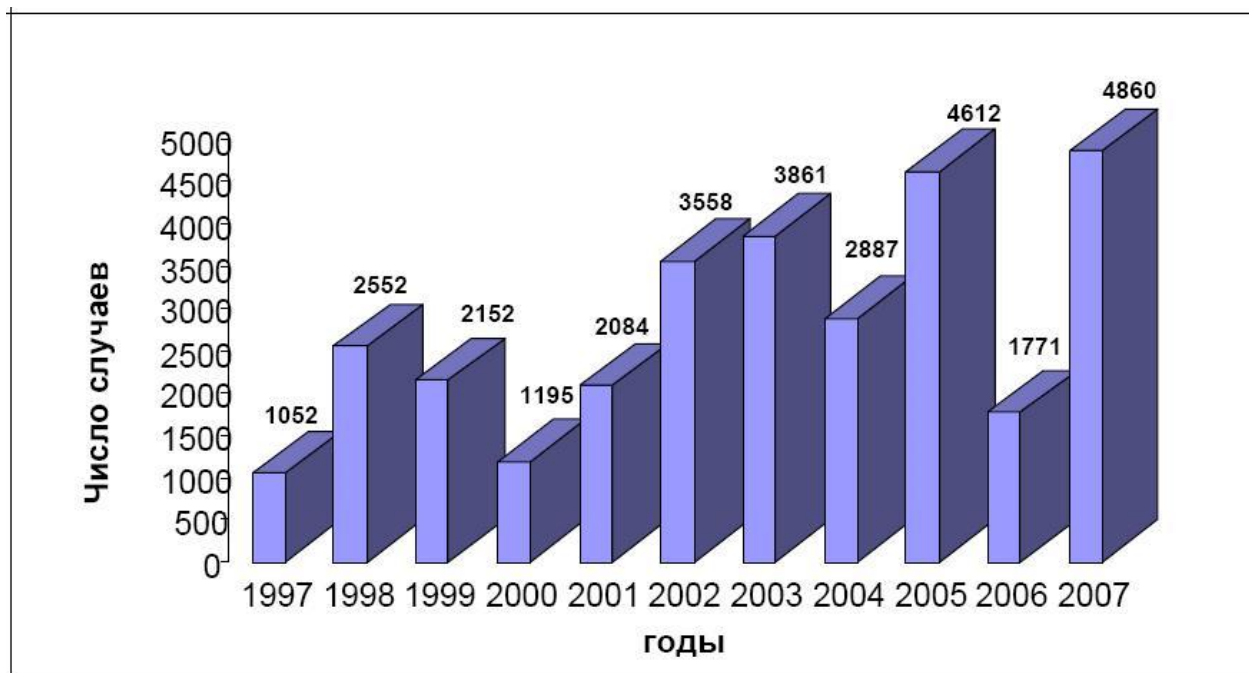


Рис. 2. Динамика заболеваемости бешенством в период с 1997 г. по 2007 г.

По рис. 1 видно, что начиная с 2000 г. число случаев бешенства в России практически неуклонно увеличивалось. Так, если в 2002 г. в Российской Федерации было зарегистрировано 3558 случаев бешенства, то в 2003 г. – 3861, что на 8,6% больше, чем в 2002 г. В 2004 г. эпизоотическая ситуация несколько улучшилась (особенно на западе Европейской части России) – зарегистрировано 2887 случаев бешенства (76,2% по отношению к 2003 г.). В 2005 г. опять существенно ухудшилась эпизоотическая ситуация – было зарегистрировано 4612 случаев бешенства животных, что на 60,7% больше, чем в 2004 г. В 2006 г. отмечено снижение числа случаев бешенства (1771) с последующим резким их нарастанием в 2007 г. (4860). По-видимому, это связано с цикличностью эпизоотического процесса при бешенстве и вымиранием части популяции векторов этого заболевания в природе.

Видовая структура при заболевании бешенством животных в России представлена на Рис. 3.

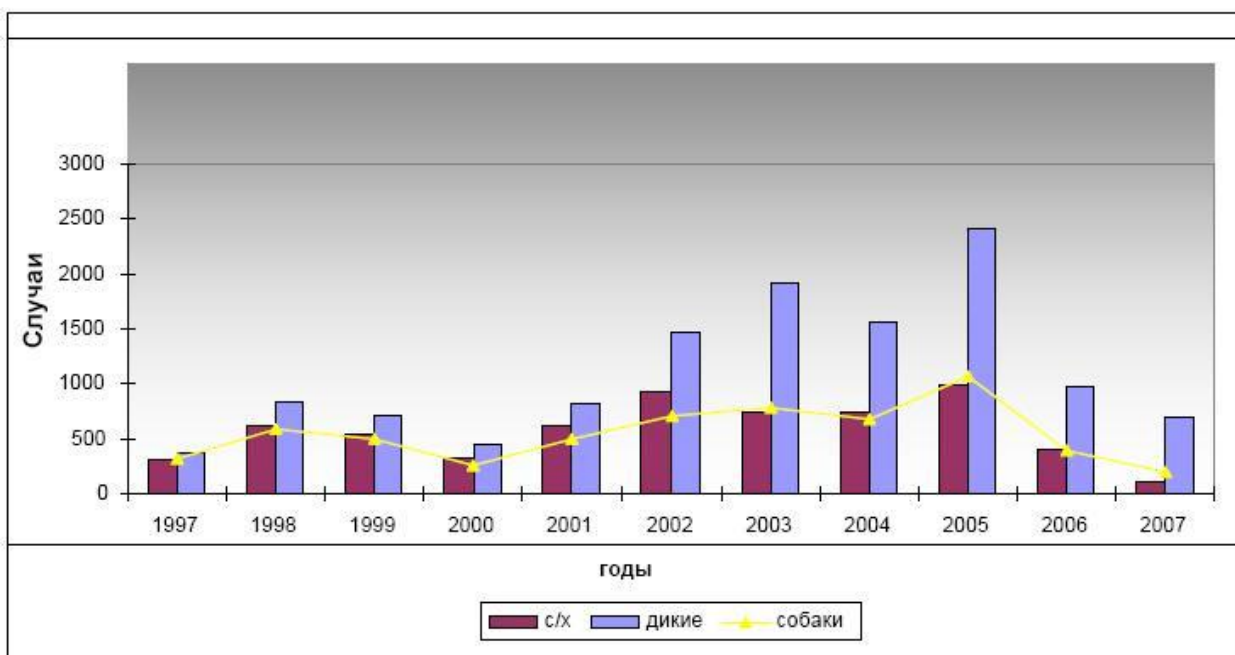


Рис. 3. Видовая структура заболеваемости бешенством в период с 1997 г. по 2007 г.

Из анализа графика на рис. 4, можно сделать вывод, что наибольшее число случаев бешенства в России регистрируют среди диких животных, за которыми следуют сельскохозяйственные животные и собаки. Однако необходимо учитывать и тот факт, что наряду с увеличением случаев бешенства наблюдается параллельный рост диагностических исследований (рис. 3 и 4).

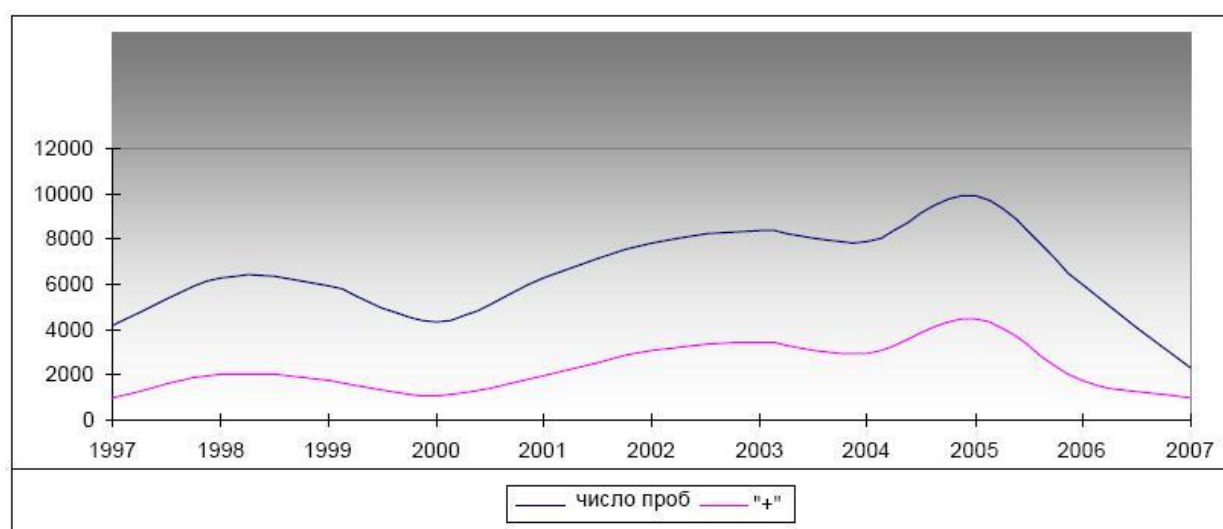


Рис. 4. Количество диагностических исследований на бешенство и положительных результатов этих исследований

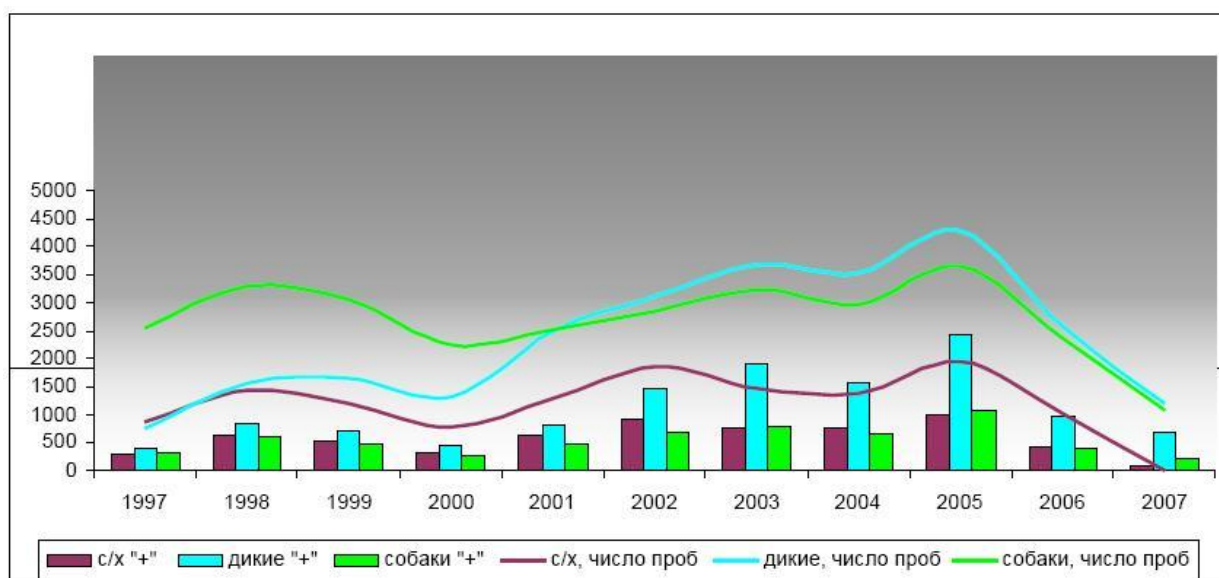


Рис. 5. Количество диагностических исследований на бешенство и положительных результатов этих исследований по трём группам животных

Однако, в некоторых субъектах России проводится явное недостаточно диагностических исследований на бешенство (менее десяти исследований в год по области/республике) для того, чтобы судить об истинной эпизоотической ситуации. В 2006 г. в эту группу вошли 34 субъекта РФ. К их числу относятся и достаточно крупные территориально-административные образования: Приморский и Хабаровский края, Республика Карелия, Архангельская область и т. д.

С одной стороны, анализируя видовой состав диких животных, имевших положительные случаи бешенства, необходимо отметить превалирование лисьего бешенства, однако, ввиду смещения выборки, нельзя рассматривать модель только «лисьего» бешенства, т. к. недостаточно популяционных данных по численности и пробоотбору среди других диких плотоядных (рис. 6).

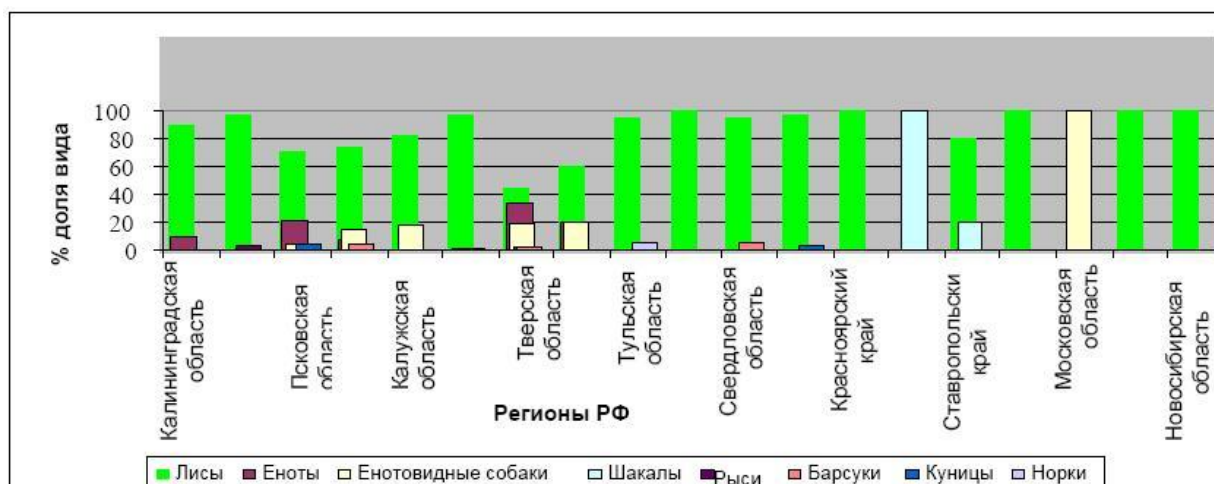


Рис. 6. Видовой состав положительных случаев бешенства среди диких животных

Популяция лис в среднем составляет 20% (в некоторых регионах и менее) от общего количества диких плотоядных, участвующих в эпизоотическом процессе бешенства. Следовательно, лисы не будут являться целевой репрезентативной популяцией при исследовании на бешенство, даже по одному фактору – популяционная репрезентативность. Из этого можно сделать вывод, что в современной диагностике бешенства у диких животных наблюдается смещение по пробоотбору.

С другой стороны, при оценке роли диких животных мы рассмотрим эпидемический процесс бешенства по отношению к целевой популяции людей, данные по которой наиболее полные и достоверные. Исходя из представленных на рис. 6 данных видно, что случаев укусов, ослюнений и оцарапываний людей домашними животными в несколько раз больше, чем дикими. Очевидно также, что уровень контактов населения с домашними животными выше, чем с дикими. Подобная ситуация складывается как в городах, так и в сельской местности, и причина смерти людей от бешенства зачастую связана именно с домашними плотоядными. Кроме того, смертность людей превалирует у городского населения, уровень контактов с дикими плотоядными животными которого ниже, чем у сельских жителей. Выявлена также географическая приуроченность летальных случаев от бешенства – максимум приходится на центральный федеральный округ, где наблюдается высокая урбанизация, что подтверждает гипотезу о

превалировании риска заражения бешенством от домашних плотоядных в большей степени, чем от диких.

Кроме того, корреляционный анализ по 80 регионам РФ выявил прямую зависимость между случаями укусов людей домашними плотоядными и плотностью населения (коэффициент корреляции составил 0,95). Подобная зависимость в отношении диких животных не выявлена. Это подтверждает тот факт, что люди чаще контактируют с домашними плотоядными, чем с дикими.

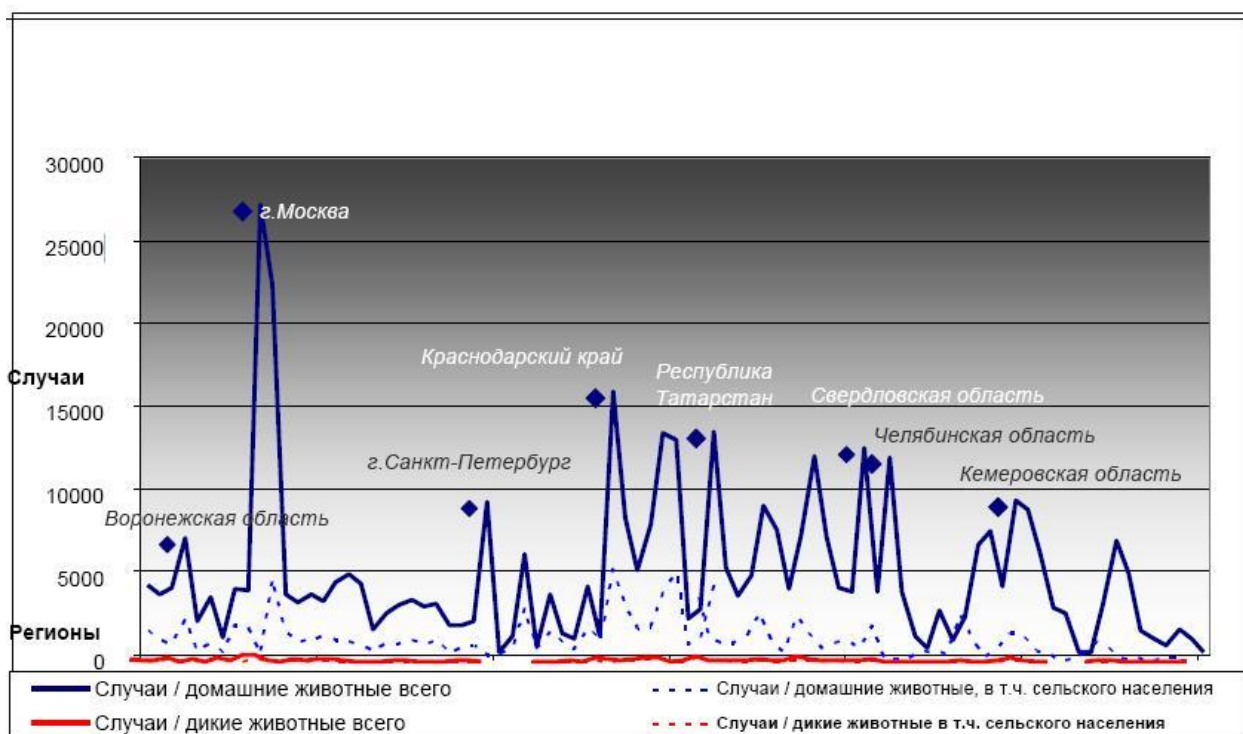


Рис. 7. Случаи заражения людей животным в 2007 г. (по данным Роспотребнадзора)

Пространственное отображение случаев бешенства животных, зарегистрированных на территории России в 2006 году, представлено на картосхемах (рис. 8-11).

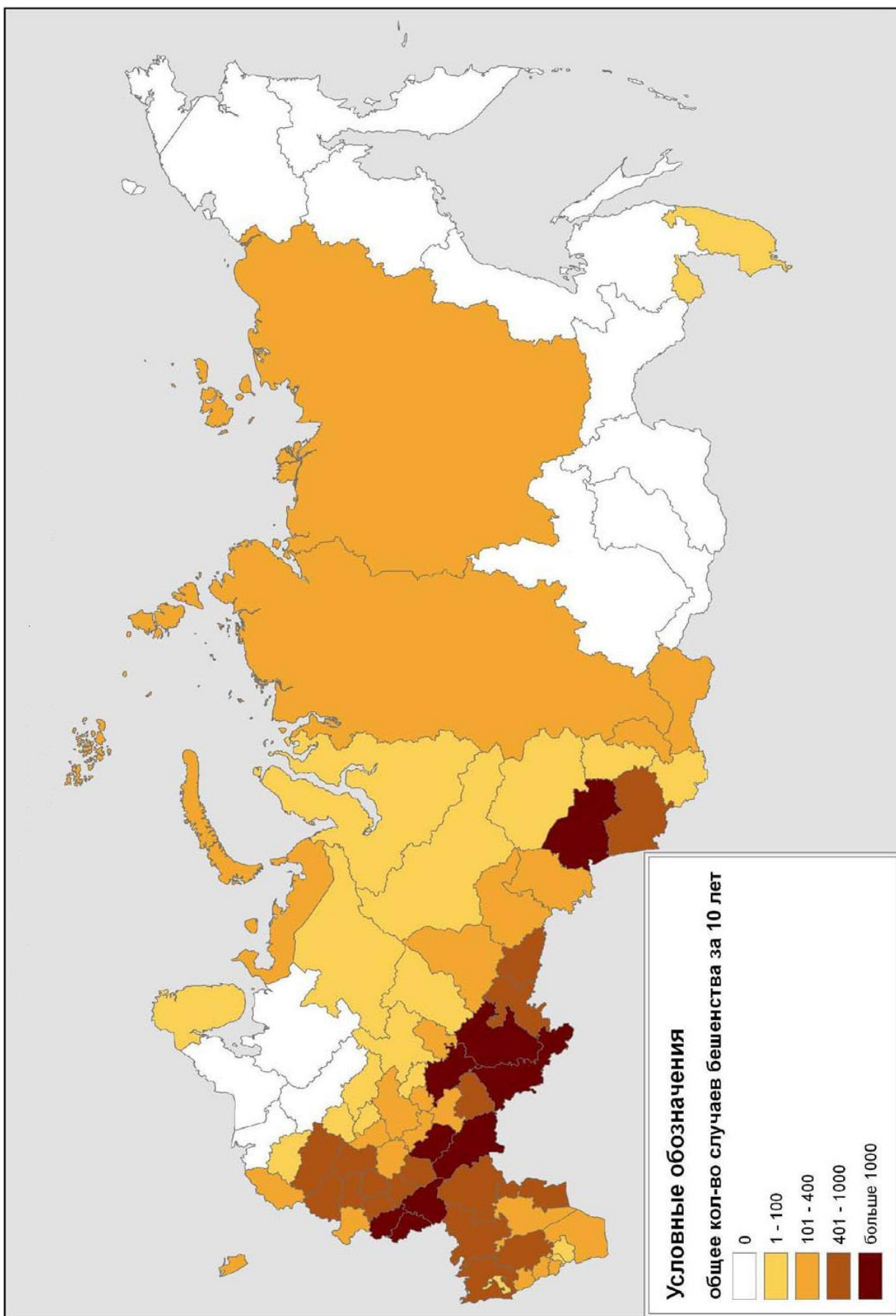


Рис. 8. Случаи бешенства в РФ за 1997-2007 гг.

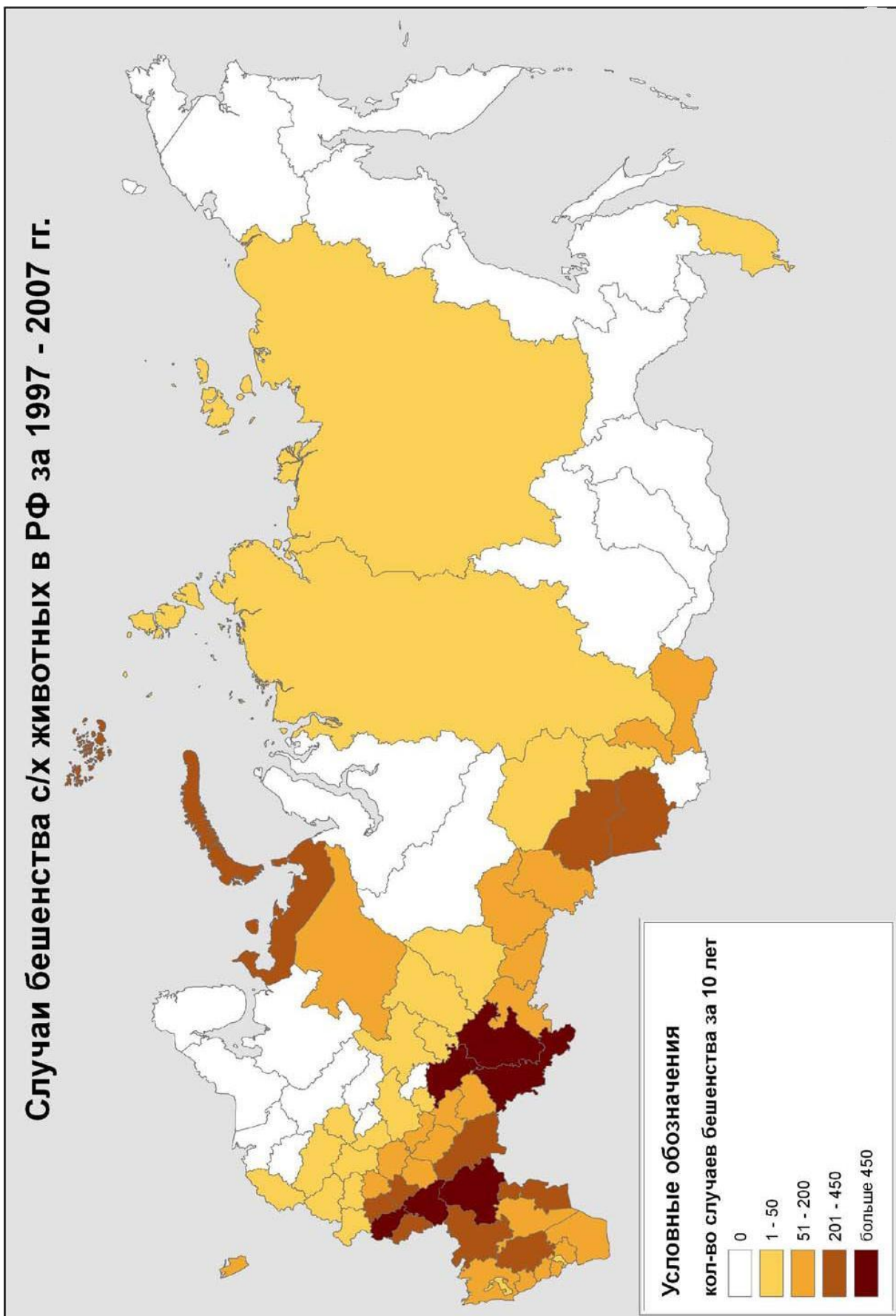


Рис. 9. Заболевания сельскохозяйственных животных бешенством в 1997-2007 гг.

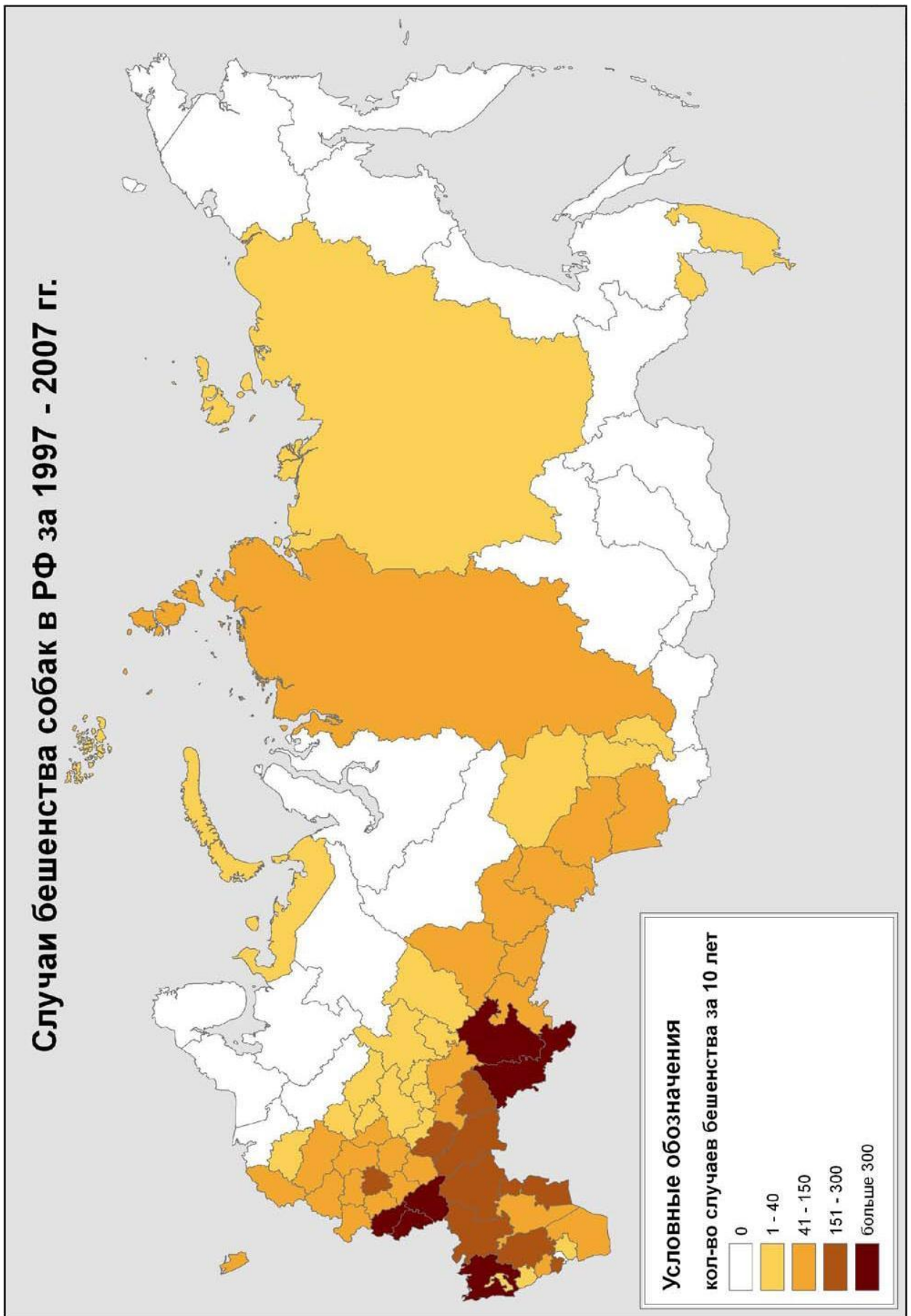


Рис. 10. Заболевания бешенством собак в 1997-2007 гг.

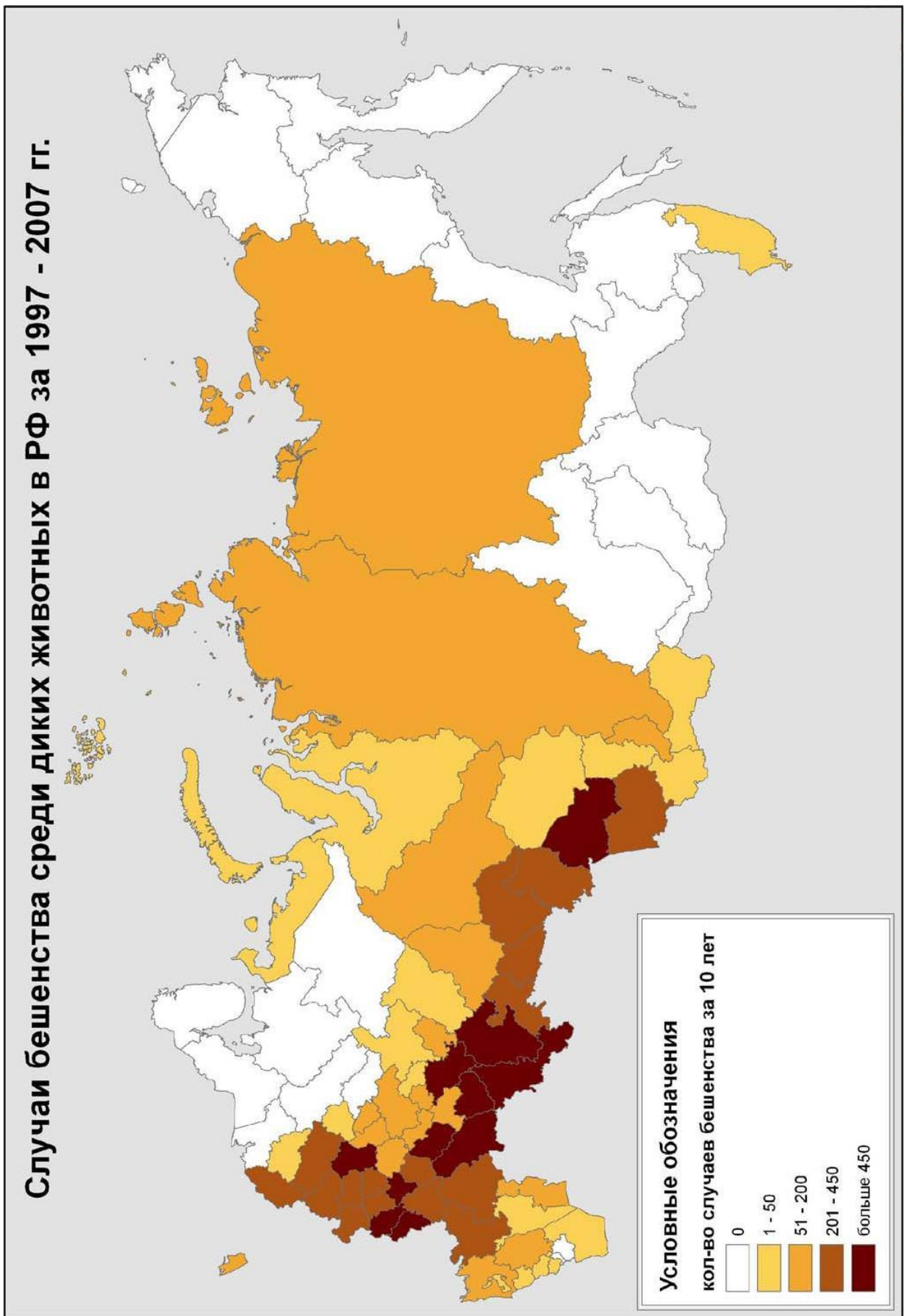


Рис. 11. Заболевания диких животных в 1997-2007 гг.

ДИАГНОСТИКА

Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, симптомов болезни, патологоанатомических изменений (они имеют меньшее значение) и, главным образом, результатов лабораторных исследований. Лабораторная диагностика заключается в исследовании головного мозга животных с целью выявления вирусного антигена в реакции диффузной преципитации (РДП), методом иммунофлюоресценции (ИФ), обнаружении телец Бабеша-Негри и биопrobe на белых мышах.

В Российской Федерации в настоящее время организовано производство наборов для диагностики бешенства в ИФ и РДП в ВНИТИБП (11) и КазНИВИ (12).

Выделение вируса. В лабораторию для исследования направляют свежие трупы мелких животных, от крупных животных – голову или головной мозг (рис. 12 и рис. 13). В некоторых случаях допускается консервирование головного мозга в 50%-ном глицерине. Труп или голова должны быть тщательно упакованы в полиэтиленовый мешок, мозг – в банку с притертой стеклянной или резиновой пробкой, залитой парафином. Материал упаковывается во влагонепроницаемую тару. Для вирусологических исследований пригоден только не консервированный мозг. Необходимо помнить, что вскрытие трупа, извлечение мозга и другие операции с патологическим материалом следует проводить в условиях стерильности и строгого соблюдения мер личной профилактики: прочно фиксируют голову животного, защищают руки двумя парами перчаток (хирургические и анатомические), для защиты глаз надевают очки, а на нос и рот – шестислойную марлевую повязку.

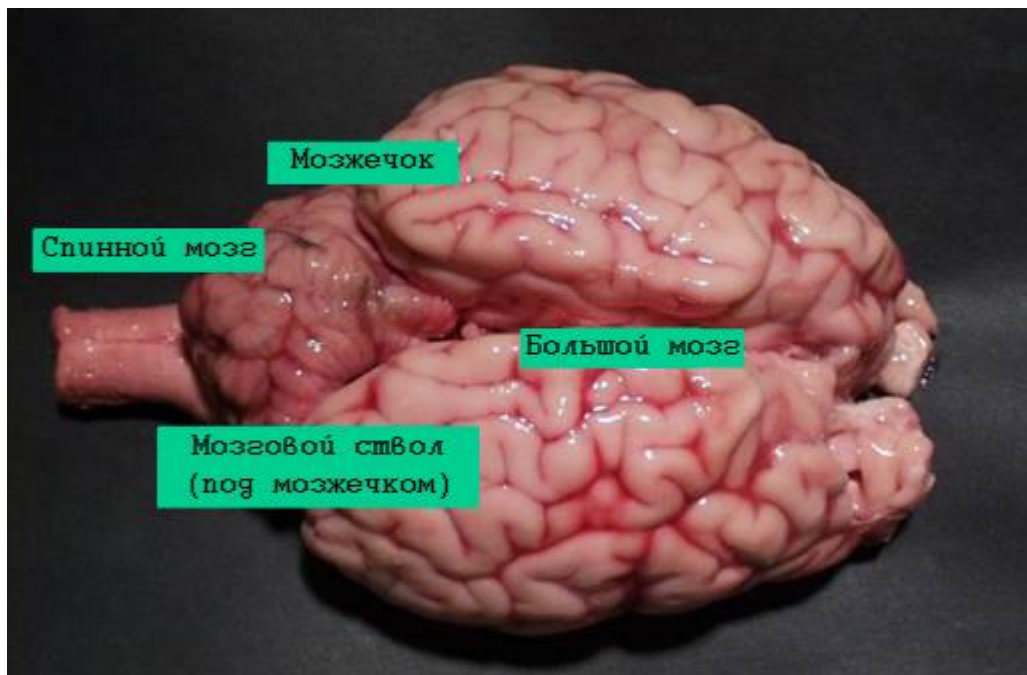


Рис. 12. Головной мозг при бешенстве с дорсальной поверхности

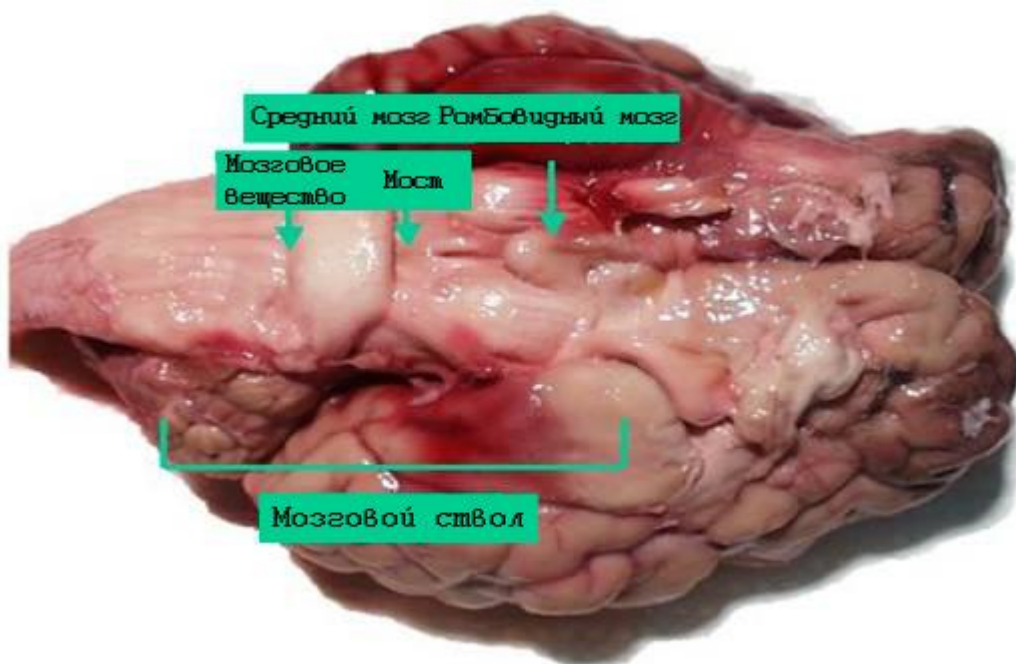


Рис. 13. Головной мозг при бешенстве с вентральной поверхности

Лабораторные исследования материала на бешенство проводят вне всякой очереди; результаты немедленно сообщают врачу хозяйства и главному врачу района (города).

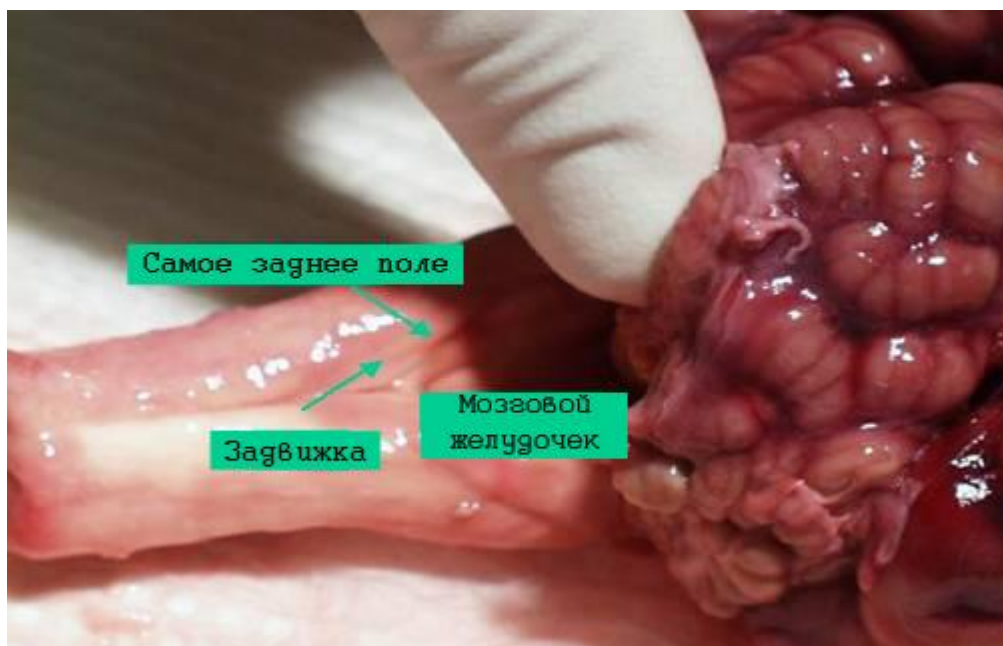


Рис. 14. Дорсальная сторона головного мозга при бешенстве (IV желудочек)

Индикация и идентификация вируса. Порядок проведения исследований: из каждого отдела головного мозга левой и правой сторон (аммонова рога, мозжечка, коры полушарий и продолговатого) готовят по 4 мазка-отпечатки для ИФ и обнаружения телец Бабеша-Негри; с мозговой тканью ставят РДП; при отрицательных результатах ставят биопробу.

Обнаружение специфических телец-включений. Мазки-отпечатки окрашивают по Селлерсу, Муромцеву или другими методами. После окрашивания препараты просматривают в световом микроскопе с иммерсионной системой. Положительным результатом считают наличие специфических телец Бабеша-Негри (при окраске по Селлерсу – чётко очерченные овальные или продолговатые гранулярные образования розово-красного цвета в протоплазме, при окраске по Муромцеву – светло-фиолетовые с тёмно-синими включениями тельца Бабеша-Негри, чаще расположенными вне нервных клеток). Наиболее характерная особенность телец Бабеша-Негри – их внутренняя структура, позволяющая абсолютно точно дифференцировать их. Внутри видны маленькие зернышки – базофильные зернистости тёмно-голубого, даже чёрного цвета величиной 0,2-0,5 мкм (рис. 15).

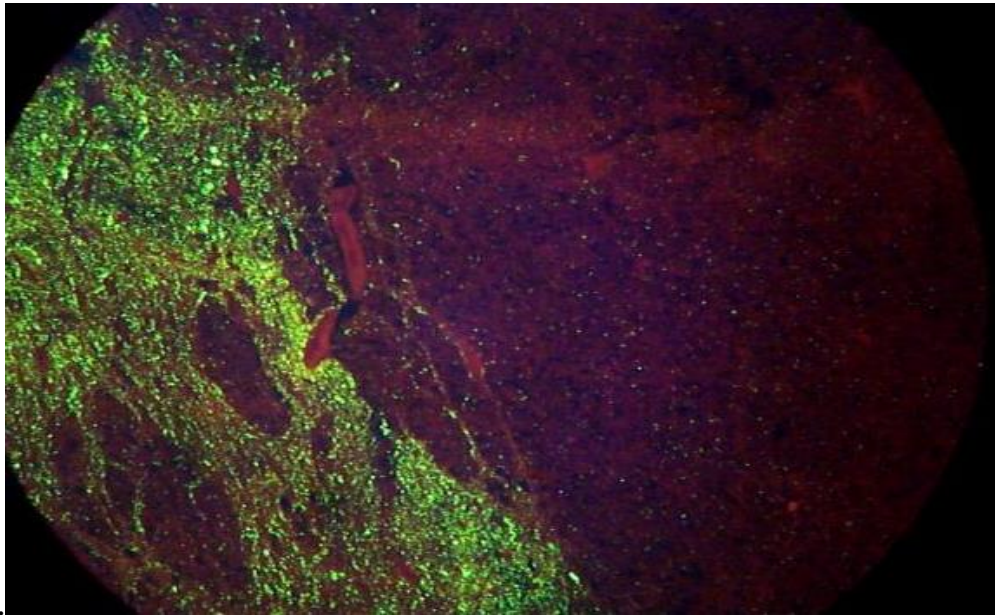


Рис. 15. Мазок-отпечаток головного мозга при бешенстве (люминесцентная микроскопия)

Диагностическая ценность обнаружения телец-включений для доказательства заражения вирусом бешенства общепризнанна. Однако и у здоровых животных, в особенности у кошек и белых мышей, имеются образования, присутствие которых может вызвать диагностические затруднения. В отдельных случаях в мозге кошки можно с уверенностью дифференцировать подобные включения от телец Бабеша-Негри, и здесь рекомендуется воспользоваться методами идентификации, в особенности ИФ. Равным образом и у собак, погибших в результате отравления змеиным ядом или поражения электрическим током, можно найти тельца-включения, напоминающие тельца Бабеша-Негри. Тельца Бабеша-Негри выявляют лишь в 65-85% случаев бешенства, поэтому отсутствие их не является отрицательным ответом, и материал исследуется в других тестах (ИФ, РДП, биопроба).

ИФ. Один из основных тестов при диагностике бешенства. При высококвалифицированном выполнении получают в 99-100% совпадения с методом биопробы. Обычно в диагностической практике используют прямой метод ИФ, который проводят с применением антирабического флюоресцирующего Ig. Фиксацию препаратов в охлажденном (8-10°C) ацетоне проводят не менее четырёх часов. В качестве отрицательного

контроля используют мазки-отпечатки головного мозга здоровых белых мышей. Учитывают результаты визуально в люминесцентном микроскопе на основе оценки интенсивности свечения комплекса антиген–антитело. Антиген вируса бешенства выявляется в виде ярких жёлто-зелёных или зелёных гранул различной формы и величины в клетках (чаще вне клеток). Диагноз считают установленным, если в нескольких полях зрения обнаруживают достаточное количество (не менее 10) типичных гранул с ярким зелёным свечением или множество мельчайших точек. В контроле подобного свечения не должно быть.

Для доказательства специфичности свечения комплекса антиген–антитело используют метод подавления ИФ, который заключается в способности рабического антигена, связанного с нефлюоресцирующими антителами, вторично не вступать в соединение с флюоресцирующими специфическими антителами. Для этого на фиксированные препараты, приготовленные из исследуемого головного мозга, наносят 5%-ный антирабический нефлюоресцирующий Ig, выдерживают 30 минут при 37°C во влажной камере, промывают физраствором, а затем окрашивают флюоресцирующим антирабическим Ig общепринятым прямым методом. В обработанных таким образом препаратах флюоресценции не должно быть.

Метод ИФ даёт возможность обнаруживать вирус бешенства в клетках роговицы глаз и предварительно поставить диагноз прижизненно: во время болезни животных, а также за 1-2 дня и более до клинического её проявления. Метод может быть использован для исследования подозреваемых в заболевании бешенством животных, а также клинически здоровых собак и кошек, покусавших людей и животных. Для этого готовят отпечатки с роговицы, соблюдая все правила личной безопасности, раскрывают глазную щель животного большим и указательным пальцами и на слегка выпяченное глазное яблоко надавливают поверхностью предметного стекла, отступив 0,5 см от конца. Нужно следить, чтобы животное не моргало третьим веком, так как со стекла удаляются

эпителиальные клетки и получается некачественный мазок. С каждого глаза делают не менее 2 препаратов, содержащих по 2 отпечатка. Для контроля аналогичным образом готовят отпечатки роговицы от здоровых животных. Их можно приготовить в хозяйстве. Отпечатки высушивают на воздухе, фиксируют в ацетоне в течение 4 часов при 4°C, упаковывают и отправляют в лабораторию. Окрашивают препараты, как при ИФ, по общепринятой методике.

В препаратах, полученных от больных животных или находящихся в конце инкубационного периода болезни, в цитоплазме многих эпителиальных клеток наблюдаются разной формы ярко светящиеся гранулы разного размера – от пылевидных точек до 2 мкм и более. С целью получения достоверных результатов в каждом препарате просматривают по 50-100 клеток, а всего от животного – не менее 200-400 клеток. Результаты микроскопии считают положительными, если в отпечатках роговицы животного обнаруживают 11% и более клеток с характерными очажками свечения. Необходимо иметь в виду, что в препаратах от здоровых животных (контроль), вследствие аутофлюоресценции, могут встречаться единичные клетки с подобными по форме и свечению очажками.

Важно отметить, что ИФ даёт возможность ускорить ответ при окончательной постановке диагноза путём биопробы, поскольку диагноз при бешенстве может быть установлен только на 4-8-й день после заражения мышей исследуемым материалом, а инкубационный период заболевания мышей может достигать и 20 дней. ИФ может выявлять вирус бешенства в тканях подчелюстной слюнной железы. Из подчелюстных слюнных желез готовят препараты-мазки, беря материал не менее чем из 6 разных участков железы, так как распределение в ней вируса неравномерно. Часто, чтобы получить отпечаток, приходится делать сильный нажим, поскольку из-за обилия муцина на стекле остается мало материала.

Показана возможность идентификации вируса бешенства в коже методом ИФ. С этой целью берут пробы кожи головы, а также фолликулы

сенсорных и тактильных волос морды или латеральных сенсорных сосочков (на щеке собаки). Пробы хранят при -20 или -70°C . Из них делают криосрезы, которые обрабатывают флюоресцирующим глобулином. Результаты ИФ анализа, полученные при идентификации вируса бешенства в коже, в высокой степени коррелируют с данными, полученными при исследовании мозга того же животного. Показана близкая корреляция между обнаружением антигена вируса в пробах мозга и тканях губы методом ИФ (9, 10).

РДП. Применяют для обнаружения антигена вируса бешенства в неконсервированном головном мозге животных, павших от уличного бешенства, или мышат, используемых в биопробе. РДП ставят микрометодом на предметных стеклах, используя 1-1,5%-ный агаровый гель по общепринятой методике. Наибольший процент положительных результатов выявляют при использовании следующего трафарета: А – аммонов рог (правая сторона); В – кора головного мозга (правая сторона); С – мозжечок (правая сторона); Д – продолговатый мозг (правая сторона); +(плюс) – положительный контроль; - (минус) – отрицательный контроль; 1, 2, 3, 4 – лунки с разведением специфического иммуноглобулина 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 соответственно (рис. 16).

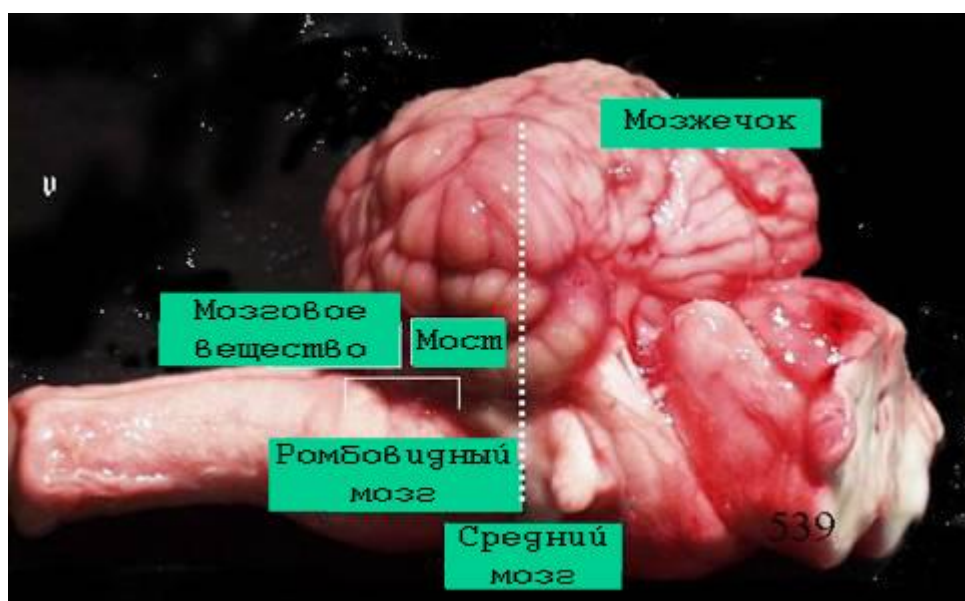


Рис. 16. Правая латеральная сторона головного и спинного мозга при бешенстве

Из каждого отдела головного мозга с помощью пинцета готовят гомогенную пастообразную массу, которую и помещают в соответствующие лунки. От мышей исследуют весь головной мозг. Из отделов головного мозга левой стороны готовят антиген аналогичным образом (на каждую экспертизу в общей сложности требуется 4 предметных стекла с агаровым гелем). Реакцию учитывают через 6, 24, 48 часов. При наличии 1 или 2-3 линий преципитации между лунками, содержащими антиген и иммуноглобулин, реакцию считают положительной.

РДП проста по выполнению и специфична, но процент выявления вирусного антигена в исследуемом материале составляет 45-70. При исследовании головного мозга мышей, полученного при положительной биопробе, РДП выявляет до 100% случаев. Отсутствие в исследуемом материале телец Бабеша-Негри, специфической флюоресценции и отрицательная РДП не дают основания исключить наличие вируса. В этом случае окончательный диагноз ставят по результатам биопробы на белых мышцах с последующей идентификацией вируса.

Биопроба. Принято считать, что биопроба является более эффективным методом, чем обнаружение телец Бабеша-Негри, ИФ и др. Однако и она в отдельных случаях оказывалась отрицательной, несмотря на подтверждение диагноза бешенства путём обнаружения телец-включений и ИФ. Процент отрицательных результатов по биопробе колебался от 1,3 до 12.

Сведения о различной эффективности биопробы могут быть объяснены рядом факторов: выбора экспериментального животного, количества их в опыте, способа заражения, способа и срока хранения материала до поступления в лабораторию. Может играть роль и явление интерференции инфекционных частиц неактивными частицами, если для инокуляции используют недостаточно разведенный материал.

В мозге и слюнных железах лисиц и скунсов, павших от бешенства, обнаружено вещество, ингибирующее инфекционность вируса, что не позволяет провести диагностику болезни у этих животных методом

внутричерепного заражения мышей. Наличие ингибирующего вещества в исследуемом материале не препятствует выявлению вирусного антигена методом ИФ; для скунсов и лисиц это самый чувствительный метод диагностики.

Из животных всех видов (кролики, морские свинки, взрослые белые мыши и хомячки), использованных для биопробы, многие отдают предпочтение мышам-сосунам, поскольку они более чувствительны к разным штаммам вируса бешенства и менее опасны в работе. Сирийские хомячки по чувствительности не уступают мышам, но они менее доступны.

РСК. Выявление специфического антигена в РСК при диагностике бешенства применяется реже, чем другие методы. Из присланного для исследования мозга готовят антиген. Для этого мозговую ткань (особенно богаты антигеном, связывающим комплемент, кусочки таламуса и стволового отдела мозга) растирают в вероналовом буфере в соотношении 1:10 и оставляют при комнатной температуре на 1 час, после чего суспензию инактивируют при 56°C в течение 5 часов. Такая обработка убивает вирус и снимает антикомплемментарность мозговой ткани, не повреждая специфический антиген. Суспензию центрифугируют 15 минут при 3500 мин⁻¹; из надосадочной жидкости, которая представляет собой материал для исследования на наличие антигена, готовят двукратно возрастающие разведения от 1:2 до 1:64 и используют для исследования в РСК.

ИФА. В ИФА специфическое окрашивание антигена в клетках мозга павших от бешенства животных выявляют как в свежевзятых, хранившихся в глицерине, а также в пробах, хранившихся без глицерина при 20°C 8-18 часов. Данный тест пригоден для рутинной диагностики бешенства у животных, для выявления антигена вируса бешенства в тканевых парафиновых срезах при фиксации препаратов 10%-ным раствором формалина с рН 5,3 и последующей обработки препаратов, заключенных в парафин, пепсином.

В отличие от РН на мышах и в культуре клеток ИФА позволяет выявить антитела у животных в течение нескольких часов, ИФА – наиболее перспективный лабораторный метод обнаружения антител и индикации самого вируса. Экспресс-методом диагностики бешенства является техника захвата и метод ИФ для выявления антигена вируса бешенства. Доказано, что метод выявления антигена вируса бешенства в парафинизированных срезах пероксидазо-антипероксидазным методом значительно превосходит метод ИФ. В 1987 г. создан набор для быстрой энзим-иммунодиагностики бешенства (RREID), приемлемый для эпидемиологических и лабораторных исследований.

РН. Используется редко. Рекомендуются модификация с разведением вируса бешенства и постоянной дозы γ -глобулина. ИН 2 указывает на антигенную специфичность выделенного вируса.

Вариантная идентификация с помощью моноклональных антител.

С помощью моноклональных антител к гликопротеинам вируса бешенства селектированы антигенные варианты, среди которых выделены фенотипически термолабильные (авирулентные) варианты. При использовании двух групп моноклональных антител показано, что штаммы дикования отличаются от шт. Fixe (Пастера), CVS, Flury NER, ERA и "утиных" штаммов по антигенным детерминантам. Изучение с помощью моноклональных антител семи штаммов, выделенных от больных бешенством людей, позволило выявить определённые отличия их от вакцинного штамма в отношении антигенных детерминант.

Общепризнано, что антигенные отличия между дикими штаммами удаётся обнаружить, используя моноклональные антитела против нуклеокапсидных антител N, которые реагируют с цитоплазматическими включениями заражённых вирусом клеток; против гликопротеинов (G антиген), которые реагируют с мембранами инфицированных клеток, лизируют эти клетки в присутствии комплемента и нейтрализуют вирус. В связи с возможной антигенной вариабельностью поверхностного

гликопротеина вируса бешенства из различных географических зон в качестве протективного антигена использовали рибонуклеопротеин, характеризующийся консервативностью антигенной структуры. Таким образом, не только G белок, но и РНП вируса бешенства обладают протективной активностью.

Серодиагностика и ретроспективная диагностика

Эти методы для бешенства нетипичны, поскольку используются только с целью проверки поствакцинального иммунитета. Для обнаружения и титрования поствакцинальных антител используют РН, которую ставят общепринятым методом. В качестве антигена используют фиксированный вирус бешенства. РН на клетках ВНК-21 была более чувствительной, чем непрямая ИФ при выявлении антител в сыворотках вакцинированных лис. Кроме того, предложены РТГА и ELISA.

РТГА. Пока ещё не нашла широкого применения в диагностической практике из-за наличия в сыворотках крови неспецифических ингибиторов, к которым вирус бешенства высокочувствителен, а главное, гемагглютинирующие антигена, не подвергавшиеся достаточной очистке, обладали низкой чувствительностью. Для приготовления гемагглютинирующего антигена вируса бешенства предложено использовать шт. Москва, выращенный в культуре клеток ВНК-21, после его обработки сапонином с последующей очисткой и концентрированием. Гемагглютинины отделяют от других компонентов вириона ультрацентрифугированием. Полученный препарат имел степень очистки 99,92%, обладал высокой гемагглютинирующей активностью (1:128), хорошо сохраняющейся в течение 1 месяца при рН 5-9.

Перед постановкой РТГА следует проводить умеренную двукратную трипсинизацию гусиных эритроцитов для их сенсibilизации. При использовании 0,25%-ной взвеси трипсинизированных эритроцитов (лучше 10^7 клеток в 1 мл) чувствительность РТГА повышается в 4 раза. Для разбавления антигена и сывороток применяют боратно-солевой раствор

(рН 9) с добавлением 0,4% бычьего сывороточного альбумина. Взвесь эритроцитов готовят в солевом растворе с кислым рН, чтобы после соединения со смесью вируса и сывороток, рН которой 9, окончательный рН установился бы в пределах 6,2. После внесения в лунки суспензии эритроцитов панель встряхивают, заклеивают прозрачной пленкой и ставят на лёд. Результаты РТГА учитывают через 40-50 минут, а с эритроцитами двухдневных цыплят или макаки-резус – через 1-1,5 часа.

Разработан радиоиммунологический анализ, основанный на способности антител связываться с меченым антигеном вируса бешенства. Меченый IgG, выделенный из антирабической гипериммунной сыворотки, можно применять для обнаружения антигена вируса бешенства твердофазным радиоиммунологический анализ. Лучшие результаты получены при использовании фосфатно-солевого раствора (рН 6,0) с ионной силой 0,01 М и меченого IgG с активностью 200-250 тыс. имп./мин.

Твёрдофазный конкурентный радиоиммунологический анализ применим для выявления антирабических антител в сыворотке и гибридных супернатантах.

Дифференциальная диагностика. Необходимо исключить болезнь Ауески, при которой больные животные неагрессивны, не бывает извращения аппетита. У собак исключают нервную форму чумы. Подозрение на бешенство может возникнуть при инфекционном энцефаломиелите лошадей. Комплекс лабораторных исследований позволяет поставить точный диагноз на бешенство. Предложен новый метод дифференциации различных штаммов вируса бешенства, основанный на рестриктазном расщеплении продуктов амплификации в ПЦР сегмента гена N.

ИММУНИТЕТ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

В настоящее время для специфической профилактики бешенства применяют инактивированные и живые вакцины. В медицине используются только инактивированные, слабо аллергенные и безаллергенные вакцины. Они, в основном, различаются по способу размножения вируса, концентрации и степени очистки вирусного антигена. В качестве адъюванта используют соли алюминия. Антирабические вакцины, полученные из нервной ткани, уступают в отношении чистоты, активности и безопасности препаратам, приготовленным на клеточных культурах.

В странах СНГ для профилактики бешенства у людей изготавливают культуральную антирабическую вакцину из шт. Внуково-32. Однако до сих пор неясно, в каком отношении находится антигенная структура гликопротеидного и нуклеокапсидного белков указанного вакцинного штамма со штаммами вируса бешенства, циркулирующими в СНГ и других регионах мира. Эта задача может быть решена с помощью моноклональных антител к различным эпитопам структурных белков вируса (3).

Для изготовления инактивированных вакцин вирус выращивают в культурах клеток животных разных видов. Использовали первичные культуры клеток, диплоидные клетки человека, постоянные линии клеток ВНК-21 и Vero. Последние дают более высокий выход антигена, чем диплоидные культуры клеток человека и животных. Клетки Vero можно выращивать на микроносителях, получая клеточные популяции высокой плотности. Культивирование этих клеток в ферментерах большой емкости обеспечивает возможность крупномасштабного промышленного производства вакцин, что снижает её стоимость.

Характеристика антирабических вакцин. Со времени изготовления Пастером в 1885 г. первой вакцины против бешенства историю антирабических вакцин условно можно разделить на 3 периода. Первый – до 1948 г., когда вакцины готовили из мозга взрослых животных (кролики,

овцы, козы), инфицированных фиксированным вирусом бешенства. Это вакцины типов Ферми (1908), Семпл (1911), Умедо, Дои (1916), в которых вирус бешенства частично инактивирован фенолом, и вакцины типов Хемпт (1925) и Келсер (1925), инактивированные эфиром+фенол и эфиром+хлороформ соответственно; второй период – с 1949 г. по 1955 г., когда готовили живые аттенуированные вакцины (после того, как шт. Флори вируса бешенства был адаптирован Копровским и Коксом к куриным эмбрионам); третий период – с 1956 г. живые или инактивированные вакцины готовят из штаммов вируса бешенства, адаптированных к культуре клеток (6).

Антирабическая вакцина должна быть безопасна и высокоэффективна для животных, т. е. неэнцефалогенна, содержать минимальное количество балластных белков, индуцировать в короткий срок напряженный и длительный иммунитет при малых дозировках и ограниченном количестве инъекций, обладать защитной способностью при введении животным, уже инфицированным вирусом бешенства, быть простой в изготовлении и стабильной при длительном хранении, а также быть пригодной к применению в составе ассоциированных вакцин. Хотя в настоящее время нет антирабической вакцины с такими качествами, достижения современной техники и вирусологии делают её получение вполне реальным. Требования безвредности и иммунологической эффективности должны соблюдаться при конструировании любой антирабической вакцины.

Для профилактической вакцинации животных мозговые вакцины типа Ферми, Семпла, Хемпта недостаточно эффективны. Поэтому в настоящее время используют живые аттенуированные или инактивированные культуральные антирабические вакцины и реже – вакцины из мозга мышей-сосунов. Частично очищенная методом хроматографии и инактивированная вакцина из мозга мышей-сосунов (индекс иммуногенности по методу НИИ 3,15) защищала собак от летальной дозы уличного вируса бешенства (шт. NJc-GA) через 37 месяцев после иммунизации. Средний титр

вируснейтрализующих антител в крови привитых собак через 1, 11, 24, 36 месяцев составил соответственно 1:512, 1:146, 1:19, 1:6. Через 30 дней после контрольного заражения уличным вирусом титр антител повышался до 1:217. К моменту заражения уличным вирусом титр вируснейтрализующих антител в крови собак был минимальным или не обнаруживался совсем. Однако все собаки выдерживали летальную дозу вирулентного вируса. Определяющим фактором эффективности антирабической вакцины является её способность стимулировать высокий уровень вируснейтрализующих антител в течение начального периода после иммунизации животного.

В опытах успешно применена живая антирабическая вакцина из шт. Внуково-32 (7). Более высокая иммунологическая эффективность отмечается при введении вакцины животным внутримышечно по сравнению с подкожной инокуляцией. Выраженными иммуногенными свойствами обладает живая вакцина из аттенуированного шт. ERA. Она индуцирует образование вируснейтрализующих антител в организме собак, кошек, овец, свиней, лошадей, крупного рогатого скота, высокий уровень которых удерживается в течение 2 лет и более.

Сравнительное изучение эффективности вакцины из шт. ERA и Flury НЕР показало, что однократная вакцинация крупного рогатого скота вакциной из шт. ERA более эффективна, чем двукратное введение вакцины из шт. Flury НЕР. Будучи наиболее иммуногенной по сравнению с рядом вакцин, живая вакцина из шт. ERA равна по иммуногенности или уступает инактивированной β -пропиолактоном культуральной вакцине "алурабиффа", которая приготовлена из фиксированного вируса, выращенного в культуре клеток линии NIL. В опыте на крупном рогатом скоте сравнивали иммуногенность мозговой вакцины с гидроокисью алюминия, инактивированной формальдегидом, культуральной живой вакцины из шт. ERA и культуральной вакцины "алурабиффа", которая защищала 76,9% заражённых животных. Живая вакцина из шт. ERA защищала 71,4%, а мозговая – 50% заражённых животных. Количество погибшего в результате

заражения скота соответствовало уровню вируснейтрализующих антител в крови животных до заражения. Из 19 голов, имевших титр антител 1:10 и выше, погибло 3, а из 20 голов с титром антител ниже 1:10 – 50%. Однако исследователи считают, что один уровень вируснейтрализующих антител не может быть критерием иммунитета против бешенства у крупного рогатого скота.

В последнее время опубликовано значительное число сообщений о пероральной иммунизации лисиц против бешенства. Поскольку лисицы - общепризнанный источник распространения бешенства, идея их иммунизации заманчива. Экспериментальные данные, полученные в опытах по оральной иммунизации лисиц и других животных, подтверждают перспективность этой идеи. Однако на пути к осуществлению на практике оральной иммунизации диких плотоядных стоит целый ряд трудностей биологического, технологического и практического характера. К факторам биологического характера относится, прежде всего, возможная реверсия аттенуированных штаммов вируса бешенства при естественном пути его введения (оральный путь – один из естественных путей введения вируса). Этот вопрос требует специальных глубоких исследований. Трудности технологического характера складываются из решения вопросов формы препарата (высокая стабильность действующего начала вакцины в препарате и его "привлекательность" для лисиц). И, наконец, трудности чисто практического характера, которые касаются вопроса применения вакцины. Для успешной оральной иммунизации лисиц и других животных – переносчиков бешенства необходима точная информация о местах их обитания и векторах миграции. Кроме того, необходим точный расчёт возможностей поедания приманок с вакциной птицами и животными других видов. Преодолеть эти трудности невозможно в настоящее время в большинстве стран, неблагополучных по бешенству, в т. ч. и в СНГ.

Применение живых вакцин. Живые вакцины готовят из четырёх аттенуированных штаммов – CVS, Flury, ERA и HBR, которые размножают

в культуре клеток. Чаще всего используют культуру клеток ВНК-21, в которой вакцинные вирусы накапливаются в титре 6,5-7,0 lg ТЦД₅₀/мл. Два штамма фиксированного вируса бешенства были так же адаптированы к культурам клеток Vero и ВНК-21.

Испытание живых оральных и энтеральных антирабических вакцин показало высокую эффективность и безопасность ряда аттенуированных штаммов. Даже после 20 интрацеребральных пассажей на собаках риверсий вирулентных свойств не отмечено (4). Безвредность шт. Flury-Нер/ВНК-21 подтверждена в опытах на 207 диких животных 15 видов, обитающих в Европе. Живая вакцина из шт. SAD/ВНК-21 (7,3 lg ТЦД₅₀/мл) оказалась безвредной при введении собакам, кошкам и лисицам.

Живой вакциной ERA прививали крупный рогатый скот в Южной Америке (4) при парентеральном и оральном применении. Она оказалась незаменимой для иммунизации диких животных (особенно лисиц) в естественных условиях. В 1978 г. в Швейцарии, в 1979 г. в ФРГ, затем ещё в 19 странах и различных регионах страны на площади 2277 км² было распределено более 82000 приманок (куриных голов), содержащих живой вакцинный вирус. Поствакцинальные антитела выявили примерно у 50% лисиц. В ряде районов распространение бешенства было приостановлено, а в некоторых заболевание вообще исчезло; не отмечено ни одного случая бешенства среди диких и домашних животных, который можно было бы отнести за счёт применения вакцины (2). Аналогичные данные получены при оральной иммунизации лисиц в Германии. Установлено, что 78% лисиц поедали приманки с вакциной (25 приманок на 1 км²). У 63% лисиц в крови были обнаружены вируснейтрализующие антитела к вирусу бешенства. В результате наблюдали снижение случаев бешенства или даже его ликвидацию на обширных территориях. Приманка должна содержать не менее 7 lg вакцинного вируса. Повторная вакцинация во всех неблагополучных областях страны даёт возможность ликвидировать бешенство в заражённых районах.

Для пероральной иммунизации лисиц использовали рекомбинантный вирус вакцины (WTGgR AB), несущий в своей оболочке иммуногенный гликопротеин G вируса бешенства. В качестве приманки использовали куриные головы, внутрь которых помещали капсулы, содержащие 8 Ig бляшкообразных единиц рекомбинантного вируса. Иммунизация лисиц таким способом сопровождалась образованием высокого титра вируснейтрализующих антител и обеспечивала их устойчивость к контрольному заражению в течение 18 месяцев.

Установлена полная безвредность и эффективность оральной вакцинации лисиц живой вакциной из шт. SAD B-19, адаптированного к культуре клеток ВНК-21. В течение 1986-1987 гг. в 7 областях Австрии проводилась пероральная вакцинация лисиц путём разбрасывания приманок с вирусом бешенства. В этих областях бешенство было ликвидировано, в остальных заболеваемость лисиц значительно снизилась.

С помощью моноклональных антител на вакцинный шт. SAD (ЕерН) вируса бешенства выделен мутант SAG1, в котором серии в позиции 333 заменен аргинином. Мутант оказался авирулентным для взрослых мышей, не вызывал заболевание лисиц, других плотоядных животных и диких грызунов (при введении перорально и под слизистую оболочку в дозе 10^6 бляшкообразных единиц он не вызывал гибель животных – выжило 100% лисиц). Не обнаружена его реверсия после трёх внутримозговых пассажей на новорождённых мышках. Получен также двойной мутант SAG2 с двумя мутациями в кодоне Арг333. Штамм широко применяют для пероральной полевой вакцинации лисиц. Вакцинацией уже охвачены Швейцария, Франция, Германия, Бельгия, Канада.

Проводились исследования по влиянию оральной иммунизации против бешенства на динамику популяции лисиц (ФРГ). В связи с введением оральной иммунизации лисиц во многих регионах Германии значительно уменьшилось распространение бешенства. На регулирование популяции лисиц влияют не только борьба с бешенством, но и многие другие факторы, в

частности, условия места обитания, кормовые ресурсы, степень воспроизводства, сезоны года, смертность от естественных врагов и болезней, охотничье-промысловое использование и др. При определении плотности популяции обращается внимание на точность применения методов. Рассматриваются преимущества и недостатки методов составления кадастра численности лисиц и анализа статистических данных охотничьего промысла. На основании исследований последних лет со всей настойчивостью делается вывод о необходимости продолжения оральной иммунизации лисиц. Бешенство как зооноз представляет большой риск для здоровья людей и не может быть регулятором популяции лисиц. Предстоит срочное проведение биолого-охотоведческих исследований и выдвижение новых концепций регулирования численности лисиц. В Бельгии в 1994 г. проведены две кампании по вакцинации лисиц в ограниченном регионе. Обе они оказались неспособными остановить распространение инфекции из первичных очагов. Полагают, что высокая плотность лисиц приводит к слишком медленному поеданию приманок. В Чешской Республике после иммунизации антирабической вакциной Lysvulpen из шт. SAD Bern вируснейтрализующие антитела появлялись у 90% лисиц и выявлялись в течение года. Через год выжившим лисицам был введен в жевательные мышцы уличный вирус бешенства в виде взвеси тканей слюнной железы естественно инфицированной лисицы. При этом погибла только 1 лисица из 9 заражённых, у которой не было антител, т. е. защита составляла 89%. Пероральная вакцинация лисиц вакциной фирмы "Bioveta" проводится с 1992 г. В 1989 г. заболела 1501 лисица, в 1994 г. – 221 лисица.

Применение инактивированных вакцин. К инактивированным вакцинам интерес не угас. В РФ разработана инактивированная концентрированная антирабическая вакцина из шт. Щёлково-51 (5, 6), репродуцированного культуры клеток ВНК-21, обладающая высокой иммунизирующей активностью. Помимо неё на основе культурального шт. КП-85, фиксированного вируса бешенства, адаптированного к культуре

клеток эмбрионов японских перепелов с применением отечественных и зарубежных питательных сред, была получена культуральная инактивированная концентрированная вакцина. По данным авторов, шт. КП-85 отличается высокой иммуногенностью, безвредностью, стабильностью репродукции и низкой нейровирулентностью. При введении собакам в относительно малых концентрациях и объёмах (1-2 мл) она сообщает стойкий иммунитет к уличному вирусу (более 300 дней). Для иммунизации животных против бешенства в России ежегодно применяется более 700 миллионов доз культуральных антирабических вакцин из шт. Щёлково-51, репродуцированного в роллерном монослое перевиваемых клеток ВНК-21/13 (5). Описан способ получения культуральной антирабической вакцины из шт. Внуково-32 в культуре клеток 3-4-недельных сирийских хомячков. Разработан способ изготовления инактивированной антирабической вакцины, согласно которому шт. Внуково-32 выращивают в культуре клеток, вирусосодержащую жидкость инактивируют последовательно ультрафиолетовыми лучами и формалином. Инактивированный вирус концентрируют и очищают с помощью ультрафильтрации через пористые мембраны и гельфильтрации на пористых кремнезёмах. В настоящее время отмечается тенденция отдавать предпочтение инактивированным вакцинам, обладающим большей эффективностью и лёгкостью применения. Инактивированные вакцины лучше поддаются стандартизации при контроле, минимальная антигенная доза соответствует 4,5-1 МЕ. Если их применяют с адьювантом, они создают иммунитет такой же продолжительности, как и живые вакцины. Получены вакцины с повышенной антигенностью, равной 3-5 МЕ на дозу.

Инактивированную вакцину готовят из фиксированного штамма вируса, выращенного в культуре фибробластов хомячков. Вирус инактивируют β -пропиолактоном и добавляют гидроокись алюминия и сапонин в качестве адьюванта. Живую вакцину вводят внутримышечно однократно в дозе 2 мл, инактивированную – подкожно 1-й 2-кратно в дозе 2

мл. Предложена вакцина для оральной вакцинации кошек против бешенства. Изучена эффективность культуральной антирабической вакцины на морских свинках в условиях предварительного заражения их фиксированным вирусом бешенства.

Фирма Мерье (Франция) разработала вакцину из фиксированного вируса, адаптированного вначале к диплоидным клетками человека, а затем к постоянной линии клеток эмбриона хомячка. Вирус инактивировали β -пропиолактоном. Испытание вакцины на лабораторных животных, собаках, кошках, крупном рогатом скоте, овцах, свиньях и лошадях показало, что у животных всех видов иммунизация сопровождалась прочным иммунитетом длительностью 1,5-3 года её можно использовать в комбинации с противоящурной вакциной для крупного рогатого скота и свиней, противочумной и лептоспирозной – для собак и вакциной против панлейкопении кошек. При 5°C вакцина в течение трёх лет сохраняла активность. Двукратная прививка ею крупного рогатого скота защищала животных от заражения вирулентным штаммом вируса бешенства. После однократной вакцинации этой вакциной иммунологическая память составляла не менее 16 месяцев. Устойчивость к заражению сочеталась с высокими титрами вируснейтрализующих антител. Вакцина из очищенного вируса, размноженного в клетках Vero, после двукратного применения с интервалом 12 месяцев вызывала напряженный иммунитет продолжительностью до 1,5 лет.

В Бразилии готовят инактивированную антирабическую масляно-эмульсионную вакцину из шт. PV, выращенного в монослойной культуре клеток ВНК-21 и инактивированного β -пропиолактона. Титры антител сохранялись в течение двух лет. Для изготовления инактивированной антирабической вакцины выращивают вирус в первичной культуре клеток почки собаки на микроносителе. На одной культуре получают несколько урожаев вируса при замене среды через каждые 4-5 суток. Титр инфекционности такого вируса составлял $6+1 \lg$ ИД₅₀/мл. Разработана

оптимальная схема учёта результатов при применении иммуноферментной тест-системы для определения антигенной активности культуральной антирабической вакцины.

При крупномасштабном производстве инактивированной вакцины против бешенства используют постоянную линию клеток Vero, которую размножают на микроносителе в суспензии с использованием возрастающего объема 150-500-1000 мл. При заражении вирусом используют среду без сыворотки. Помимо адьювантов при использовании инактивированных антирабических вакцин применяют иммуномодулятор – уинтерферон (адьювант-модулятор), использование его в короткий промежуток перед введением инактивированного препарата (за 2 часа перед вакцинацией) повышает защитный эффект в 20-77 раз. Разработанная и широко применяемая в СНГ вакцина Рабикан из шт. Щёлково-51 (5), которая готовится с использованием суспензионной культуры клеток ВНК-21/13 в реакторах типа КМ-2000 (16++).

В Тунисе антирабическая вакцина для людей представляет собой 5%-ную взвесь в растворе сахарозы мозговой ткани заражённых вирусом бешенства (hit.VPH) ягнят, инактивированную β -пропиолактоном и лиофилизированную. Антирабическую вакцину для ветеринарной практики готовят аналогичным образом с добавлением в качестве адьюванта гидроокиси алюминия и стабилизатора. Помимо того, получают также вакцину на клетках Vero, заражённых шт. KS2061. Вирус инактивируют β -пропиолактоном затем концентрируют центрифугированием (3500 мин^{-1}) в градиенте плотности сахарозы.

Генно-инженерные вакцины. Ещё в 1982 г. французские исследователи выделили клон, образующий вирусный белок – поверхностный гликопротеин вируса бешенства. Испытывается вакцина, разработанная Wister Just совместно с Rhone-Merieux. Она содержит рекомбинантный вирус коровьей оспы, несущий ген основного гликопротеина оболочки вируса бешенства. Помимо вышеуказанных вакцин,

с 1989 г. в Бельгии успешно применяют рекомбинантную вакцину WTGgRAB (шт. 187XP26D3) для пероральной вакцинации лисиц. Вертолетами разбрасывали приманки, содержащие 10^8 ТЦД₅₀ рекомбинантного вируса. Показателем поглощения вирусосодержащей приманки (биомаркером) являлся тетрациклин. Разработана также рекомбинантная антирабическая вакцина с использованием в качестве вектора оспы канареек. Препарат обладал таким же защитным действием, что и рекомбинантная антирабическая вакцина на основе вируса оспы, и применяется в ветеринарной практике.

Серологическая оценка поствакцинального иммунитета. Механизм поствакцинального иммунитета окончательно не расшифрован. Имеет значение наличие специфических вируснейтрализующих антител в крови и особенно в ликворе. Установлено, что сами клетки головного мозга устойчивы к вирусу. Для выяснения роли поствакцинальных антител у крупного рогатого скота, привитого живой культуральной и мозговой фенолвакциной, использовали РН на мышах и РДП. Титры антител после культуральной вакцины варьировали от 1:10 до 1:40, на 60-й день – от 1:20 до 1:30, к 180-му дню – до 149, на 360-й день – 1:59 против 35 ЛД₅₀ вируса. Динамика поствакцинальных антител в РДП на фенолвакцину показала, что наибольшие титры выявляются в период с 30 по 180-й день; на 270 и 360-й дни после вакцинации антител в РДП уже не обнаруживали. На культуральную вакцину у аналогичной группы крупного рогатого скота антитела в РН были выявлены в период с 10-го по 360-й день, максимальный титр их отмечался с 30-го по 180-й день.

Результаты титрования сывороток в РН показали большую иммуногенность культуральной вакцины. Средний титр вируснейтрализующих антител в крови привитых собак через 1, 11, 24, 36 месяцев составлял 1:512, 1:146, 1:19, 1:6 соответственно.

У ревакцинированных коров вируснейтрализующие антитела появлялись через 4-8 дней после прививки, у иммунизированных впервые –

через 18 дней (титр 1:10-125 и более). У овец, привитых инактивированной культуральной вакциной ВНИТИБП (5), вируснейтрализующие антитела обнаруживали в РН через 225 дней после первой иммунизации. Активность сывороток, выраженная в международных единицах, варьировала от 0,21 до 2.

Инактивированная вакцина из мозга мышей-сосунов защищала собак от летальной дозы уличного вируса бешенства через 37 месяцев после иммунизации. При этом средние титры вируснейтрализующих антител через 1 и 36 месяцев составляли 1:512 и 1:16 соответственно, а к моменту заражения титры антител были минимальными или не обнаруживались совсем. Однако все собаки выдержали летальную дозу вируса. Считают, что определяющим фактором эффективности антирабической вакцины является её способность стимулировать высокий уровень вируснейтрализующих антител в начальный период после иммунизации животного.

Следует учитывать, что для оценки эффективности вакцинации против бешенства, как правило, используется РН вируса на мышцах или в культуре клеток. Процедура эта достаточно трудоёмкая и длительная. Предложен ELISA для выявления сывороточных антител в крови привитых животных. В качестве антигена используют оболочечный IgG вируса бешенства.

Поствакцинальные осложнения. Данный вопрос получил широкое освещение в работах по бешенству. Значительно большую частоту осложнений при введении вакцины типа Ферми объясняют наличием в препарате не только мозговой ткани, но и незначительного количества живого фиксированного вируса.

Требования по профилактике и ликвидации бешенства среди животных отражены в СанПин «Профилактике и борьбе с заразными болезнями, общими для человека и животных», утверждённые Департаментом ветеринарии от 18 июня 1996 г. (приложение 2).

Требования МЭБ (2002)
ГЛАВА 2.2.5.

БЕШЕНСТВО

Статья 2.2.5.1.

Согласно настоящему *Кодексу инкубационный период* бешенства определен в шесть месяцев, а *период заразности* бешенства у домашних плотоядных начинается за 15 дней до появления первых клинических симптомов и оканчивается с гибелью животного.

Статья 2.2.5.2.

Страна, благополучная по бешенству

Страна может быть признана благополучной по бешенству в том случае, когда

1. болезнь принята к обязательному декларированию;
2. непрерывно действует эффективная система наблюдения за болезнью;
3. принят и действует всеохватывающий регламентационный порядок по предупреждению и борьбе с бешенством, включая и эффективные процедуры импорта;
4. не зарегистрировано ни одного подтвержденного случая инфицирования человека или животного рабическим вирусом местного происхождения за последние два года; однако, выделение в такой стране лиссавируса европейских летучих мышей (ЕВЫ или EBL2) не влияет на статус благополучия;
5. не зарегистрировано ни одного *случая* бешенства у плотоядных, находящихся за пределами *карантинной станции*, за последние шесть месяцев.

Статья 2.2.5.3.

При импортировании из страны, благополучной по бешенству, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении домашних млекопитающих и диких млекопитающих, выращенных в закрытых вольерах,

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

1. в день отправки не имели клинических признаков бешенства;
2. не покидали благополучную по бешенству страну с рождения или в течение шести месяцев, предшествовавших их отправке, или же, были импортированы в соответствии с положениями Ст. 2.2.5.5., 2.2.5.6. или 2.2.5.7.

Статья 2.2.5.4.

При импортировании из страны, благополучной по бешенству, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении диких млекопитающих, которые не выращивались в закрытых вольерах,

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

1. в день отправки не имели клинических признаков бешенства;
2. были отловлены в стране, благополучной по бешенству на достаточном отдалении от зараженной страны. Расстояние должно быть определено с учетом вида экспортируемого животного и вида резервуара вируса в данной зараженной стране.

Статья 2.2.5.5.

При импортировании из страны, признанной зараженной бешенством, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

В ОТНОШЕНИИ СОБАК И КОШЕК

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

3. в течение 48 часов, предшествовавших отправке, не показывали клинических признаков бешенства, И

4. были вакцинированы против бешенства:

а) не позже шести месяцев и не ранее, чем за год до момента отправки в случае, когда прививка является первичной и была проведена животным в возрасте не менее трех месяцев;

б) максимум за год до отправки в случае с повторной прививкой;

в) с использованием инактивированной вакцины;

3. были помечены несмываемой маркировкой (в том числе с помощью электронной метки) перед вакцинацией (номер маркировки должен быть указан в сертификате);

4. подверглись не ранее 24 месяцев и не позже 3 месяцев до отправки тесту нейтрализации антител, при этом в их сыворотке содержалось не менее 0,5 иммунных единиц/мл.

ИЛИ

5. если они не были вакцинированы против бешенства, или не отвечают всем условиям, указанным в пунктах 1, 2, 3 и 4 - *импортирующая страна* может потребовать их помещения на *карантинную станцию*, расположенную на ее территории, в соответствии с требованиями своей ветеринарно-санитарной регламентации.

Статья 2.2.5.6.

При импортировании из страны, зараженной бешенством, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении домашних: жвачных, непарнокопытных и свиней

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

1. в день отправки не имели клинических признаков бешенства;
2. в течение шести месяцев, предшествовавших их отправке, не покидали *хозяйства*, в котором случаи бешенства не регистрировались в течение минимум двенадцати месяцев до их отправки.

Статья 2.2.5.7.

При импортировании из страны, зараженной бешенством, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении лабораторных грызунов и кроликов, а также зайцев и диких млекопитающих, выращенных в закрытых вольерах (за исключением приматов, кроме человека),

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

1. в день отправки не имели клинических признаков бешенства;
2. с рождения или в течение двенадцати месяцев, предшествовавших их отправке, не покидали хозяйства, в котором случаи бешенства не регистрировались в течение минимум двенадцати месяцев до их отправки.

Статья 2.2.5.8.

При импортировании из страны, зараженной бешенством, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении диких млекопитающих, не принадлежащих к приматам и плотоядным, которые не выращивались в закрытых вольерах,

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что животные:

3. в день отправки не имели клинических признаков бешенства;
4. в течение шести месяцев, предшествовавших их отправке, содержались на *карантинной станции*.

Статья 2.2.5.9.

При импортировании из страны, зараженной бешенством, *Ветеринарные администрации* должны требовать -

в отношении замороженного семени собак

- представления *международного ветеринарного сертификата*, удостоверяющего, что доноры, давшие семя, не имели клинических признаков бешенства в течение 15 дней, последовавших за сбором семени.

**ПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ПРОФИЛАКТИКА И БОРЬБА С ЗАРАЗНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ,
ОБЩИМИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

(Утверждено Начальник Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства и
В.М. продовольствия Российской Федерации - Главный государственный ветеринарный
инспектор Российской Федерации В.М Авилов 18 июня 1996 г.)

(БЕШЕНСТВО)

Санитарные правила

СП. 3.1. 096-96

Ветеринарные правила

ВП. 13.3. 1103-96

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.
2. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.
3. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О БЕШЕНСТВЕ.
4. ПРОФИЛАКТИКА БЕШЕНСТВА ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА.
5. МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ ЖИВОТНЫХ БЕШЕНСТВОМ.
6. ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ.

1. Область применения

1.1. Настоящие Правила обязательны для выполнения на всей территории Российской Федерации государственными органами, предприятиями и иными хозяйственными субъектами, учреждениями, организациями, общественными объединениями, независимо от их подчинения и форм собственности, должностными лицами и гражданами.

2. Нормативные ссылки

1. Закон РСФСР "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".
2. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан.
3. Закон Российской Федерации "О ветеринарии".
4. Санитарные правила по профилактике и борьбе с заразными болезнями, общими для человека и животных. Общие положения.
5. Постановление Совета Министров РСФСР "Об упорядочении содержания собак и кошек в городах и других населенных пунктах РСФСР".
6. Правила ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов.
7. Инструкция "Проведение ветеринарной дезинфекции объектов животноводства".

3. Общие сведения о бешенстве

3.1. Бешенство - острая вирусная болезнь животных и человека, характеризующаяся признаками полиоэнцефаломиелита и абсолютной летальностью.

Возбудитель болезни относится к семейству рабдовирусов. Резервуаром и главными источниками возбудителя бешенства являются дикие хищники, собаки и кошки. С учетом характера резервуара возбудителя различают эпизоотии городского и природного типов. При эпизоотиях городского типа основными распространителями болезни являются бродячие и безнадзорные собаки, а при эпизоотиях

природного типа - дикие хищники (лисица, енотовидная собака, песец, волк, корсак, шакал). На территориях с повышенной плотностью их

популяций формируются стойкие природные очаги болезни. Заражение человека и животных происходит при непосредственном контакте с источниками возбудителя бешенства в результате укуса или ослюнения поврежденных кожных покровов или наружных слизистых оболочек.

3.2. При организации мероприятий по профилактике и борьбе с бешенством следует различать эпизоотический очаг, неблагополучный пункт и угрожаемую зону.

Эпизоотические очаги бешенства - квартиры, жилые дома, личные подворья граждан, животноводческие помещения, скотобазы, летние лагеря, участки пастбищ, лесных массивов и другие объекты, где обнаружены больные бешенством животные.

Неблагополучный пункт - населенный пункт или часть крупного населенного пункта, отдельная животноводческая ферма, фермерское хозяйство, пастбище, лесной массив, на территории которых выявлен эпизоотический очаг бешенства.

В угрожаемую зону входят населенные пункты, животноводческие хозяйства, пастбища, охотничьи угодья и другие территории, где существует угроза заноса бешенства или активизации природных очагов болезни.

Эпидемическим очагом называют эпизоотический очаг, в котором возникли заболевания людей.

4. Профилактика бешенства животных и человека

4.1. Руководители животноводческих хозяйств, предприятий, учреждений, организаций и

граждане-владельцы животных обязаны:

- соблюдать установленные местной администрацией правила содержания собак, кошек, пушных зверей и хищных животных;

- доставлять принадлежащих им собак и кошек в сроки, устанавливаемые местной администрацией по представлению главного

государственного ветеринарного инспектора района (города), в ветеринарные лечебно-профилактические учреждения для осмотра, диагностических исследований и предохранительных прививок антирабической вакцины;

- регистрировать принадлежащих им собак в порядке, устанавливаемом местной администрацией;

- не допускать собак, не привитых против бешенства, в личные подворья, на фермы, в стада, отары и табуны;

- принимать меры к недопущению диких животных к стадам, отарам, табунам, животноводческим помещениям; с этой целью выпасать сельскохозяйственных животных и содержать их на фермах, откормочных площадках, в летних лагерях под постоянной охраной с использованием вакцинированных против бешенства собак;

- немедленно сообщать ветеринарному специалисту, обслуживающему хозяйство (населенный пункт), о подозрении на заболевание животных бешенством и случаях укуса сельскохозяйственных и

домашних животных дикими хищниками, собаками или кошками, принимать необходимые меры к надежной изоляции подозрительных по заболеванию или укушенных животных.

4.2. Покусавшие людей или животных собаки, кошки и другие животные (кроме явно больных бешенством) подлежат немедленной доставке владельцем или специальной бригадой по отлову безнадзорных собак и кошек в ближайшее ветеринарное лечебное учреждение для осмотра и карантинирования под наблюдением специалистов в течение 10 дней.

4.3. В отдельных случаях, по разрешению ветеринарного лечебного учреждения, животное, покусавшее людей или животных, может быть оставлено у владельца, выдавшего письменное обязательство содержать это животное в изолированном помещении в течение 10 дней и представлять его для осмотра в сроки, указанные ветеринарным врачом, осуществляющим наблюдение.

4.4. Результаты наблюдения за карантинированным животным регистрируют в специальном журнале и в письменном виде сообщают учреждению, где прививают пострадавшего человека, и в центр санэпиднадзора по месту жительства пострадавшего.

4.5. По окончании срока карантинирования клинически здоровые животные после предварительной вакцинации могут быть возвращены владельцам - при условии их изолированного содержания в течение 30 дней. Животных, заболевших бешенством, уничтожают.

4.6. Порядок содержания, регистрации и учета собак и кошек в населенных пунктах определяет местная администрация. Специалисты ветеринарной и санитарно-эпидемиологической служб контролируют соблюдение этого порядка.

4.7. Правила содержания обязательно предусматривают, что служебные собаки вне территории хозяйств (предприятий, учреждений), которым они принадлежат, должны находиться на поводке. Без поводка и намордника разрешается содержать собак при стадах, отарах, табунах сельскохозяйственных животных, во время натаски и на охоте, на учебно-дрессировочных площадках, при оперативном использовании собак специальными организациями.

4.8. Собаки, находящиеся на улицах и в иных общественных местах без сопровождающего лица, и безнадзорные кошки подлежат отлову.

4.9. Порядок отлова этих животных, их содержания и использования устанавливает местная администрация.

4.10. Органы коммунального хозяйства, жилищно-эксплуатационные организации, администрация рынков, мясо- и молокоперерабатывающих предприятий, магазинов, столовых, ресторанов, коменданты

общежитий, домовладельцы обязаны содержать в надлежащем санитарном состоянии территории предприятий, рынки, свалки, площадки для мусора и других отходов, не допускать скопление безнадзорных собак и кошек в таких местах, принимать меры, исключающие возможность

проникновения собак и кошек в подвалы, на чердаки и в другие нежилые помещения.

4.11. Продажа, покупка и вывоз собак за пределы области (края, республики) разрешается при наличии ветеринарного свидетельства с отметкой о вакцинации собаки против бешенства.

4.12. В целях своевременного выявления и профилактики распространения бешенства диких животных сотрудники органов лесного хозяйства, охраны природы, охотничьего хозяйства, заповедников и заказников обязаны:

- немедленно сообщать специалистам ветеринарной службы о случаях заболевания или необычном поведении диких животных (отсутствие страха перед человеком, не спровоцированное нападение

- на людей или животных);

- направлять в ветеринарные лаборатории для исследования на бешенство трупы диких хищников (лисиц, енотовидных собак, песцов, волков, корсаков, шакалов), обнаруженные в охотничьих угодьях, на территориях заповедников, заказников, в зеленых зонах крупных населенных пунктов;

- регулировать численность диких хищных животных, проводить отстрел бродячих собак и кошек, браконьерствующих в охотничьих угодьях;

- при проверке путевок и охотничьих билетов у охотников охотничья инспекция охраны природы и егерская служба обязаны проверять регистрационные удостоверения собак, свидетельствующие о прививке против бешенства; не вакцинированных собак к охоте не допускают.

4.13. Во всех населенных пунктах Российской Федерации все собаки, независимо от их принадлежности, а в необходимых случаях и кошки подлежат обязательной профилактической иммунизации против бешенства с использованием принятых в практику антирабических вакцин в порядке и в сроки, предусмотренные наставлениями по их применению. К акту о проведении вакцинации обязательно прилагают опись иммунизированных

собак с указанием адресов их владельцев. В регистрационных удостоверениях собак делают отметки о проведенных прививках.

4.14. В зонах стационарного неблагополучия по бешенству диких хищников проводят плановую профилактическую вакцинацию сельскохозяйственных животных (прежде всего - крупного рогатого скота), подвергающихся риску заражения. При наличии хозяйственных возможностей регулярно повторяют кампании оральной иммунизации диких хищников против бешенства.

5. Мероприятия при заболевании животных бешенством

5.1. Диагноз "бешенство" ставят на основании комплекса эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований.

5.2. Для исследования на бешенство в лабораторию направляют свежий труп или голову мелких животных, а от крупных - голову или головной мозг.

5.3. Лабораторные исследования на бешенство проводят немедленно. О результатах исследования сообщают ветеринарному учреждению или ветеринарному специалисту, направившему биоматериал в лабораторию, и главному государственному ветеринарному инспектору района (города).

5.4. Главный государственный ветеринарный инспектор района (города) при получении информации о выявлении случая бешенства у животных обязан:

- немедленно сообщить о заболевании животных территориальному центру госсанэпиднадзора, главным государственным ветеринарным инспекторам соседних районов и вышестоящему ветеринарному органу;
- совместно с представителем службы госсанэпиднадзора выехать на место, провести

эпизоотолого-эпидемиологическое обследование эпизоотического очага и неблагополучного пункта, определить границы угрожаемой зоны и разработать план мероприятий по ликвидации эпизоотического очага и предупреждению новых случаев болезни;

- оформить материалы по установлению карантина и внести их для утверждения в органы местной администрации.

5.5. По условиям карантина в неблагополучных по бешенству населенных пунктах не допускается проведение выставок собак и кошек, выводок и натаски собак. Прекращается торговля домашними животными, запрещается вывоз собак и кошек за пределы неблагополучного пункта и отлов (для вывоза в зоопарки, с целью расселения в других районах и т.д.) диких животных на карантинированной территории и в угрожаемой зоне.

5.6. Специалисты ветеринарной и санитарно-эпидемиологической служб организуют в неблагополучных по бешенству пунктах следующие мероприятия:

- проводят среди населения разъяснительную работу об опасности заболевания бешенством и мерах его предупреждения;

- организуют подворный (по квартирный) обход неблагополучного населенного пункта для выявления лиц, нуждающихся в прививках против бешенства, проверки условий содержания собак, кошек и других животных, выявления больных бешенством, подозрительных по заболеванию и подозреваемых в заражении животных;

- умерщвляют всех выявленных больных бешенством животных, а также собак и кошек, подозрительных по заболеванию, кроме покусавших людей или животных, которых изолируют и оставляют под наблюдением;

- трупы умерщвленных и павших от бешенства животных сжигают или утилизируют на предприятиях по производству мясокостной муки. Допускается захоронение на скотомогильниках. Снятие шкур с трупов запрещается;

- при выявлении случаев бешенства диких животных совместно с органами охраны природы и охотничьего хозяйства принимают все доступные меры (отстрел, отлов, затравка в норах) к снижению

численности диких хищников, независимо от сроков охоты, установленных в данной местности.

5.7. В эпизоотическом очаге бешенства устанавливают постоянное наблюдение за группой животных (ферма, стадо, гурт, отара, табун), из которой выделены больные или подозрительные по заболеванию бешенством. Этих животных осматривают не реже трех раз в день и подвергают вынужденным прививкам антирабической вакцины в соответствии с наставлением по ее применению. После прививок обязательна 60-дневная изоляция животных.

5.8. Клинически здоровых животных, покусанных дикими хищниками или собаками, разрешается, независимо от прививок против бешенства, убивать на мясо.

5.9. Убой производится на месте, в хозяйстве, полученная продукция используется на общих основаниях.

5.10. Молоко клинически здоровых животных неблагополучной по бешенству фермы (гурта, стада, отары, табуна) разрешается, независимо от проведенных прививок против бешенства, использовать в пищу людям или в корм животным после пастеризации при 80-85 °С в течение 30 минут или кипячения в течение 5 минут.

5.11. Шерсть, полученную от клинически здоровых животных неблагополучной по бешенству группы, вывозят из хозяйства в таре из плотной ткани только на перерабатывающие предприятия с указанием в ветеринарном свидетельстве о том, что она подлежит дезинфекции в соответствии с действующей "Инструкцией по дезинфекции сырья животного происхождения и предприятий по его заготовке, хранению и переработке".

5.12. Места, где находились животные, больные и подозрительные по заболеванию бешенством, предметы ухода за животными, одежду и другие вещи, загрязненные слюной и другими выделениями больных бешенством животных, подвергают дезинфекции в соответствии с действующей "Инструкцией по проведению ветеринарной дезинфекции объектов животноводства".

5.13. Карантин снимают решением органов местной администрации (на основе совместного представления главного ветеринарного врача района или города и руководителя территориального центра госанэпиднадзора) по истечении двух месяцев со дня последнего случая заболевания животных бешенством при условии выполнения запланированных противоэпизоотических и профилактических мероприятий.

6. Противоэпидемические мероприятия

6.1. Лица, травмированные или ослюенные больным бешенством или подозрительным на это заболевание животным, считаются лицами, подвергшимися риску инфицирования вирусом бешенства.

6.2. Медицинские работники, выявившие лиц, подвергшихся риску инфицирования вирусом бешенства, обязаны оперативно сообщить о них (экстренное извещение, телефонограмма и т.п.) в территориальный ЦГСЭН.

6.3. Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора обязан на основании оперативного сообщения из больничного, амбулаторно-поликлинического учреждения или травматологического пункта (кабинета), хирургического кабинета о каждом случае обращения по поводу каждого случая о риске инфицирования вирусом бешенства:

- зарегистрировать пострадавшего в журнале (ф. 060У);
- немедленно провести расследование такого случая с заполнением "Карты эпизоотолого-эпидемиологического обследования очага зоонозного заболевания" (ф. 391-У);

- информировать главного государственного ветеринарного инспектора района (города) об известных животных, нанесших повреждение, с целью установления наблюдения и карантинирования последних;

- выявить круг лиц, подвергшихся риску инфицирования вирусом бешенства и нуждающихся в

лечебно-профилактической иммунизации, и направлять их в травматологический пункт (кабинет), а

при отсутствии последнего - в хирургический кабинет.

6.4. Лица, подвергшиеся риску инфицирования вирусом бешенства, проходят курс

лечебно-профилактической иммунизации в соответствии с нормативно-инструктивными документами ГКСЭН РФ и Минздравмедпрома РФ.

6.5. Лица, больные бешенством, подвергаются госпитализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коваленко А.М. Особенности туберкулезного процесса у морских свинок иммунизированных вакциной БЦЖ и протитуберкулезным анатоксином // Пробл. вет. медицины по обслуживанию животноводства коллектив. и фермер. хозяйств: Материалы конф. молодых ученых и специалистов Украины, 26 окт. 1992 г., г. Харьков.- Х., 1992.- С.30-31.
2. Коваленко А.М., Урбан В.П. Динамика развития туберкулезного процесса у морских свинок и кроликов // Лаб. животные в медико-биол. и биотехнол. исследованиях: Тез. докл. 1-й междунар. симпозиум, окт. 22-24 1992 г.- Ланималогия.-Москва.- 1993.- N 1.- С.63.
3. Коваленко А.М., Урбан В.П. Изучение специфической профилактики туберкулеза крупного рогатого скота на морских свинках // Лаб. животные в медико-биол. и биотехнол. исследованиях: Тез. докл. 1-й междунар. симпозиум, окт. 22-24 1992 г. - Ланималогия.- 1993.- N 1.- С.64.
4. Коваленко А.М., Тихонов П.М., Кассич Ю.Я. Изучение показателей иммунитета у телят, иммунизированных препаратом ПКП-1// Сохранность молодняка с/х животных- успех развития животноводства Украины: Сб. стат. Научно-практической конференции.- Харьков., 1994.- С.87-89.
5. Kovalenko A.M. Effects of chlorine preparations on pathogenic mycobacterium tuberculosis// Advansed school, 18-20 May 1995, Kiev (Ukraine).- К., 1995.- С.25.
6. Kovalenko A.M. Study of iodine - containing preparation effect on cell enveloppes of pathogenic mycobacterium tuberculosis // Advansed school, 18-20 May 1995, Kiev (Ukraine).- К., 1995.- С.26.
7. Бусол В.А., Коваленко А.М. Изучение иммуногенных свойств противотуберкулезных вакцинных препаратов// Общая эпизоотология: иммунол., экол. и методол. пробл.: Материалы междунар. науч. конф., 20, 21, 22 сент. 1995 г./ ИЭКВМ.- Харьков., 1995.- С.488-491.
8. Коваленко А.М., Гнатовская В.М. Изучение некоторых физико-химических свойств вакцинных препаратов против туберкулеза // Информ. бюл., 1994 г./ ИЭКВМ.- Харьков., 1995.- С.18.
9. Коваленко А.М., Урбан В.П. Данные об иммуногенных свойствах вакцины БЦЖ, туберкулезного анатоксина и нового противотуберкулезного препарата // Вет. медицина: Межвед. тематич. научн. сб.- К., 1995.- Вып.70.- С.41-43.
10. Иммуномодулирующие свойства таксола /В.А.Бусол, А.М.Коваленко, Н.В.Мягих, О.В. Шаповалова, П.П. Зданевич // Пробл. лечебн. растениеводства: Тез. докл./ Междунар. научн.-практ. конф. 80-лет Ин-та лекарственных растений. 3-5 июля 1996 г., г. Лубны.- Полтава, 1996.- С.260-261.
11. Биохимическая характеристика и диагностические свойства туберкулинов, полученных разными методами /А.А.Евглевский, Б.Ф.Керимжанова, М.М.Судаков, А.М.Коваленко // Новые

фармакологические средства в ветеринарии: Материалы 9-й межгос. межвуз. науч.-практ. конф.- С.-Петербург, 1997.- С.154-155.

12. Евглевский А.А., Коваленко А.М. Иммуноэпизоотологическая оценка эффективности испытания туберкулезного анатоксина в условиях стационарно неблагополучных по туберкулезу хозяйств // Новые фармакологические средства в ветеринарии: Материалы 9-й межгос. межвуз. науч.-практ. конф.- С.-Петербург, 1997.- С.110-112.

13. Евглевский А.А., Коваленко А.М. Оценка иммуноморфологических изменений в организме морских свинок при иммунизации их туберкулезным анатоксином и вакциной БЦЖ// Материалы науч.-практ. конф., посвященной 25-летию факультета вет. медицины КГСХА.- Курск, 1997.- С.15-17.

14. Коваленко А.М. Аллергическая диагностическая проба при экспериментальном туберкулезе// Развитие вет. науки в Украине: достижения и проблемы: Сб. материалов междунар. научн.-практ. конф., 24-26 сентября 1997 г., г. Харьков/ ИЕКВМ.- Х., 1997.- С.98-99.

15. Коваленко А.М. Изучение протективных свойств противотуберкулезных вакцин // Научн. достижения в отрасли вет. медицины: Матер. междунар. научн.-практ. конф. молодых ученых, 1-2 апр. 1997 г.- Харьков., 1997.- С.28-29.

16. Коваленко А. Туберкулезные тревоги// Здоровье животных.- Киев.-1997.- N 1.- С. 2.

17. Оценка проективной активности разных вариантов туберкулезного анатоксина при испытании на морских свинках /А.А. Евглевский, А.М. Коваленко, С.Ю. Стебловская, А.Н. Дубинин // Материалы науч.-практ. конф., посвященной 25-летию факультета вет. медицины КГСХА.- Курск,1997.- С.25-26.

18. Биохимические показатели крови животных, иммунизированных противотуберкулезным комплексным препаратом ПКП-3 //А.М.Коваленко, В.А. Бусол, Л.В.Коваленко, В.С.Антонов // Научн.-техн. бюл. Института земледелия и биологии животных. Серия - Физиология и биохимия.-Львов.-1999.- Вып.1(3).- С.183-185.

19. Евглевский А.А., Коваленко А.М. Специфическая диагностика и профилактика туберкулеза // Аграрный вестник Причерноморья: сб. научн. трудов.-Одесса.- 1999.- N 2(7).- С. 27-28.

20. Коваленко А.М. Материалы испытаний противотуберкулезных вакцинных препаратов // Аграрный вестник Причерноморья: Сб. научн. трудов.- Одесса.-1999.- N 2(7).- С. 23-24.

21. Коваленко А.М. Вакцинопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота: этапы развития // Вет. медицина Украины.- Киев.-1999.- N 9.- С. 15-16.

22. Коваленко А.М. Материалы испытаний противотуберкулезных вакцинных препаратов // Аграрный вестник Причерноморья: Сб. научн. трудов.-Одесса.- 1999.- N 2(7).- С. 23-24.

23. Коваленко А.М. Синтетическая питательная среда для

выращивания микобактерий туберкулеза и VCG // Вестн. Сумского Гос. аграрн. ун-та.- 1999.- Вып. 4.- С. 104-106.

24. Коваленко А. Профилактическое действие нового противотуберкулезного вакцинного препарата ПКП-3 при экспериментальном туберкулезе // Вет. медицина Украины 2000.- N 8.- С. 16-17.

25. Состояние системы перекисного окисления липидов животных при применении вакцинных препаратов / Л.В. Коваленко, М.Е. Романько, О.В. Волосянко, А.М. Коваленко // Вет. медицина: Межвед. тематич. научн. сб.- 2000.- Вып. 77.- С. 151-156.

26. Коваленко А.М. Изучение протективных свойств противотуберкулезного вакцинного препарата на биологической модели// Научн. весн. НАУ. -Киев.- 2000.- Вип. 28.- С.178-186.

27. Изучение безвредности, алергенных и протективных свойств нового противотуберкулезного комплексного препарата ПКП-3 /В.А.Бусол, Г.А.Красников, А.М.Коваленко, Л.В.Коваленко// Вет. медицина: Межвед. темат. науч. сб.- Харьков.- 2000.- Ч.І, Вып.78.- С.34-42.

28. Туберкулезный анатоксин как средство активной иммунопрофилактики /В.П.Урбан, Л.А.Евглевский, В.А.Бусол, А.М.Коваленко и др.// Вестник ветеринарии, -Киев.-2000.- N 16.- С.11-14.

29. Бусол В.О., Красников Г.А., Коваленко А.М., Остапенко В.О., Коваленко Л.В. Протективные свойства противотуберкулезного препарата ПКП-3 и вакцины VCG // Материалы всеукраинской научно-практической конференции “Проблемы патологии животных и пути их решения”, Киев.- 2000.-С.41-43.

30. Бусол В.А., Постой В.П., Коваленко А.М. Закономерности эпизоотического и эпидемиологического процессов при туберкулезе КРС и людей // Материалы научной конференции профессорско-преподавательского состава, Киев.-2000.- С.20-21.

31. Иммуногенные и протективные свойства ПКП-3 // Бусол В.А., Стегний Б.Т., Короленко Л.С., Ткаченко А.А., Коваленко Л.В., Коваленко А.М., Евглевский А.А., Сытник В. // Проблемы зооинженерии и ветеринарной медицины. X.- 2001.-Вып. 9 (33), ч. 1.-С. 147-152.

32. Патент 35088 А Украины, МКИ С 12N 1/20. Синтетическая питательная среда для культивирования микобактерий туберкулеза и БЦЖ/ А.М.Коваленко, В.А.Бусол, А.И.Завгородній, А.М.Головко (ІЕКВМ) .-N 99084565; Заявлено 10.08.1999; Опубл. 15.03.2001,- 1 с.

33. Патент 35036 А Украины, МКИ А 61К 39/04. Способ повышения иммуногенности вакцины БЦЖ/ А.М.Коваленко, В.А.Бусол (ІЕКВМ).-N 99084433; Заявлено 03.08.1999; Опубл.15.03.2001,-1 с.

34. Протективные свойства противотуберкулезного препарата ПКП-3 и вакцины VCG / В.А.Бусол, Г.А. Красников, Л.В. Коваленко, А.А. Евглевский А.М. Коваленко // Вет. медицина: Межвед. темат. науч. сб. X.- 2001.- Вып.79.- С.48-51.

35. Контроль иммунного ответа животных на введение вакцинного

препарата ПКП-3 с помощью реакции иммунной диффузии/ Коваленко А.М., Пархоменко Л.И., Бусол В.А., Евглевский А.А.// Сборник научных трудов Луганского гос. аграрного университета. -Луганск. -2001. -№3 (серия «Ветеринарные науки»).- С.39-41.

36. Показатели крови крупного рогатого скота иммунизированного препаратом «ПКП-3» / Коваленко А.М., Евглевский А.А., Бусол В.А., Пархоменко Л.И., // Сборник научных трудов Луганского гос. аграрного университета. -Луганск. -2001. -№3 (серия «Ветеринарные науки»).- С.41-45.

37. Эпизоотологический мониторинг / В. Бусол, В. Постой, В. Сытник, А. Коваленко // Ветеринарная медицина Украины. –Киев.-2002. - №1.- С. 8-10.

38. Показатели крови крупного рогатого скота, иммунизированного ПКП-3/ А.М. Коваленко, Л.В. Коваленко, А.А. Евглевский, В.А. Бусол // Ветеринария. Москва. -2002. -№ 2.- С. 17-19.

39. Перспективность поиска новых биопрепаратов для профилактики туберкулеза / В.М. Коломиец, А.А. Евглевский, А.М. Коваленко, Е.А.Тимкова // Проблемы туберкулеза. Москва.- 2002.- № 10.- С.31-33.

40. Сибирская язва (антракс), распространение и перспективы снижения заболеваемости/ Белоконов И.И., Стегний Б.Т., Красников Г.А., Коваленко А.М.// Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. Харьков.- 2002. - Вып.80.- С. 60-65.

41. Ранняя диагностика и профилактика некоторых инфекционных заболеваний / Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Белоконов И.И., Короленко Л.С., Евглевский А.А., Кузьмин В.А.// Ветеринарная медицина: межведомственный тематический научный сборник. Х.- 2002. - Вып.80.- С. 569 - 571.

42. Детекция возбудителей инфекційних захворювань с помощью полимеразной цепной реакции / Стегний Б.Т., Головка В.О., Вербицкий П.И., Коваленко А.М. , - Пособие, - Харьков.: Изд. ХГЗВА, – 2003. – 29 с.

43. Stegnyy B., Kovalenko A., German V., Skrypnik A (2003) Epidemiological situation of bovine tuberculosis in Ukraine // Arbeitstagung "Mycobakterieninfektionen", 13-14 mai 2003, Jena , Bundesforschungsanstalt fur Viruskrankheiten der Tiere (BFAV), Deutschland, 2, p.7-10.

44. Позитивне рішення на видачу патента «Спосіб одержання преципітуючої сироватки сибіркової» автори Белоконов І.І., Стегній Б.Т., Коваленко А.М. та інш. від 02.06 2003., МПК 7 А61К39/00.

45. Позитивне рішення на видачу патента «Спосіб діагностики туберкульозу великої рогатої худоби» автори Бусол В.О., Вербицкий П.І., Коваленко А.М. від 15.01. 2003., , МПК 7 А61К39/04 А61D7/00.

46. Диагностика инфекционных заболеваний с помощью молекулярно-биологических методов/ Б. Стегний., В. Бусол., А. Коваленко., Л. Коваленко // Ветеринарная медицина Украины. К. - 2003.- N 5.- С. 20-23.

47. Значение и практическая ценность молекулярно-генетических методов детекции возбудителей инфекционных заболеваний/ Стегний Б.Т., Бусол В.А., Коваленко А.М., Коваленко Л.В., Белоконов И.И., Скрипник А.В., Аничин Р.Ю. // Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. Х.-2003. - Вып.81.- С. 301- 315.
48. Патент 59830 А України, А61К39/00. Спосіб одержання преципітуючої сироватки сибіркової / Белоконов І.І., Стегній Б.Т., Вербицький П.І., Бабкіна А.Ф., Вовк С.І., Коваленко А.М. / № 20021210448; Заявлено 23.12.2002; Опубл. 15.09.2003. Бюл. № 9.
49. Патент 61779 А України, С12N15/10. Спосіб виділення мікобактерій з зразків фекалій та тканин великої рогатої худоби/ Стегній Б.Т., Коваленко А.М., Скрипник А.В., Коваленко Л.В., Бусол В.О., Заксе Конрад (DE) Опубл. 17.11. 2003. Бюл. N 11.
50. Stegnyy B., K.Sachse, I. Moser, H. Hotzel, Kovalenko A., Skripnik A. (2003) The comparative analysis of different methods for mycobacteria by the example of *Mycobacterium fortuitum* // 6th Conference on “Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology”, Warsaw agricultural university, Warsaw, Poland, December 2003, p.196-203.
51. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Способ получения туберкулезного анатоксина” авторы Евглевский А.А., Коломиец В.М., Коваленко А.М., Бусол В.А. от 05.01 2003., МПК 7 А61К39/04.
52. Эпизоотическое состояние по инфекционным болезням и пути ее улучшения/ Горжеев В.Н., Евглевский А.А., Коваленко А.М., Лебедев А.Ф., Стегний Б.Т.// Передовые технологии науки и образования: Сб. науч. Тр. – Курск: Издательство КГУ, 2004 г. С. 5-8.
53. Биологические свойства отдельных штаммов вируса болезни Марека / Стегний Б.Т., Пашкова Л.П., Евглевский А.А., Коваленко А.М., Коваленко Л.В. // Передовые технологии науки и образования: Сб. науч. Тр. – Курск: Издательство КГУ, 2004, С. 79-81.
54. Современные подходы в изучении кариотипической изменчивости клеток при их паспортизации / Стегний Б.Т., Евглевский А.А., Коваленко А.М., Коваленко Л.В., Тимкова Е.А. // Передовые технологии науки и образования: Сб. науч. Тр. – Курск: Издательство КГУ, 2004 г. С. 81-83.
55. Молекулярно-генетические методы детекции возбудителей инфекционных заболеваний животных/ Стегний Б.Т., Головка В.А., Коваленко А.М. и др.// Проблемы зооинженерии и ветеринарной медицины. Сборник научных работ, вып. 11 (35), часть 2 Ветеринарные науки, ХГЗВА, Харьков 2003, стр. 92-102.
56. Диагностика и идентификация хламидиозов животных\Стегний Б.Т., Бабкин А.Ф., Коваленко А.М., Аничин Р.Ю., Заксе К., Хотцель Х.\\ Весник аграрной науки. Киев– 2003. – №12. – с.36-39.
57. Kovalenko A.M. Antituberculosis molecular-subunit vaccine preparation “PCP-3” creation and testing // International workshop on

biotechnology commercialization and security, Tashkent, Uzbekistan, October 14-17, 2003, p. 47.

59. Дифференциация разных видов микобактерий/ Б.Т. Стегний., К. Sachse, I Moser., Н. Hotzel., Р. Mobius., А.М. Коваленко., А.В. Скрыпник // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2004. - Вып.84.- С. 647-656.

60. Б.Т. Стегний ., А.М. Коваленко., А.В. Скрыпник Применение сполиготайпинга для детекции *Mycobacterium tuberculosis complex*// Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2004. - Вып.84.- С. 685-689.

61. Электронно-микроскопическое изучение микобактерий туберкулеза/ И.И.Белоконов., Б.Т. Стегний., А.М. Коваленко., Завгородний А.И., Стегний М.Ю., Репин Н.В. // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2004. - Вып.84.- С. 71-75.

62. Б.Т. Стегний ., Р.Ю. Аничин., А.М. Коваленко Молекулярно-генетическая диагностика хламидиоза животных// Ветеринарная медицина: межвед.темат. науч. сб. X.- 2004. - Вып.83.- С. 222- 224.

63. Патент 67179 А Украины, С12Q1/68. Способ детекции ДНК хламидий в образцах патологического материала/ Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Аничин Р.Ю., Коваленко Л.В., Марченко А.Ю. Опубл. 15.06. 2004. Бюл. N 6.

64. Рестрикционно-энзимный анализ гена, кодирующего heat shock protein 65\ Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Заксе К., Мезер И., Хотцель Х.// Материалы научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ., С-Пб., 2004.- С. 107-109.

65. Современные подходы к диагностике и профилактике туберкулеза крупного рогатого скота\ Б.Т. Стегний ., А.М. Коваленко., А.В., А.А. Евглевский., Л.В. Коваленко// Материалы международной научно-практической конференции (27-29 октября 2004 года), „Обеспечение ветеринарно-санитарного благополучия животноводства, качества и безопасности продукции”, часть 1, Одесса 2004 г, стр.22-28.

66.Патент Российской Федерации „Способ получения туберкулезного анатоксина” авторы Евглевский А.А., Коломиец В.М., КоваленкоА.М., Бусол В.А. от 20.06 2004., RU 2230569С2 МПК 7 А61К39/04.

67. Диагностика хламидиоза \ Б.Т. Стегний ., А.М. Коваленко., Р.Ю. Аничин// Материалы международной научно-практической конференции (27-29 октября 2004 года), „Обеспечение ветеринарно-санитарного благополучия животноводства, качества и безопасности продукции”, часть 1, Одесса 2004 г, стр.46-49.

68. Коваленко А.М., Коваленко Л.В. Идентификация видов микобактерий с использованием рРНК секвенирования// Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе», СПб., 2004.-С. 57-58.

69. Коваленко А.М., Коваленко Л.В. Современная диагностика и профилактика туберкулеза крупного рогатого скота // Материалы

международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе», СПб., 2004.-С. 58-60.

70. Детекция и дифференциация микобактерий\ Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Заксе К., Мозер И., Хотцель Х// Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе», СПб., 2004.-С. 128-130.

71. Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Скрыпник А.В. Поэтапная ПЦР тест-система для диагностики туберкулеза и микобактериозов// Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе», СПб., 2004.-С. 130-131.

72. Лебедев А.Ф., Горжеев В.Н., Евглевский А.А., Коваленко А.М., Стегний Б.Т. Эпизоотическое состояние по инфекционным болезням и пути ее решения // Сборник научных трудов Курского государственного университета Министерства образования РФ., Курск.- 2004.- С.5-8.

73. Декларационный патент на полезную модель Украины № 3080, G01N33/00. Способ диагностики туберкулеза и микобактериозов животных / Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Скрыпник А.В., Скрыпник В.Г., Опубл. 15.10. 2004. Бюл. N 10.

74. Stegnyy B., Kovalenko A., K.Sachse, I. Moser, H. Hotzel, Skripnik A.// The different method for Mycobacteria (2004) // Symposium with international participation “Veterinary and animal husbandry in production of healthy safe food”, Herceg Novi, Serbije, 21-25 juni 2004, p.41.

75. Б. Стегний, В. Головки, А. Коваленко, И. Белоконов, М. Стегний Молекулярно-генетический анализ при дифференциации микобактерий// Материалы восьмой международной научно-производственной конференции « Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения», Белгород., 2004.-С. 122-123.

76. Б.Т. Стегний, А. М. Коваленко, Л.В. Коваленко, А.Й. Мазуркевич, В. О. Головки, А.Б. Стегний, И.И. Белоконов, М.В. Репин электронно микроскопическое исследование Mycobacterium bovis и Mycobacterium avium // Весник аграрной науки. Киев - 2005.- N 4.- С. 50-52.

77. Аничин Р.Ю., Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Болотин В.И, Гузь С.А. Диагностика мікоплазмозу тварин// Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. X.- 2005. - Вип.85.- С. 50- 53.

78. Коваленко А.М., Аничин Р.Ю., Болотин В.И, Скрыпник А.В., Гузь С.А., Белоконов И.И., Хотцель Х. Диагностические подходы к молекулярно-генетической индикации микоплазмозов животных// Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2005. - Вып.85.- С. 515- 520.

79. Коваленко А.М., Гузь С.А., Аничин Р.Ю., Болотин В.И, Коровин И.В., Зигмунд Пейсак Респираторно – репродуктивный синдром свиней // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2005. - Вып.85.- С. 520- 523.

80. Коваленко А.М., Гузь С.А., Аничин Р.Ю., Болотин В.И, Зигмунд Пейсак Проблемы цирковиральной инфекции свиней // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.- 2005. - Вып.85.- С. 523- 528.

81. Коваленко А.М., Стегний Б.Т., Скрипник А.В. Розробка ПЛР тест-системи “Tubmус - Україна” для детекції бактерій роду *Mycobacteria* // Ветеринарна медицина: міжвед. темат. науч. сб. X.- 2005. - Вып.85.- С. 528- 533.

82. Stegnyy B.T., Kovalenko A.M., Guz S.A., Anichin R. Yu., Bolotin V.I. // Problems of PRRS on the pig population (2005) // Symposium with international participation “Animal husbandry, veterinary and agroecology in the traditional processes”, Herceg Novi, Serbije, 19-24 juni 2005, p. 134.

83. Б.Т. Стегний., Р.Ю. Аничин , А.М. Коваленко., И.И. Белоконов Диагностика хламидиозов животных с помощью ПЦР тест-систем// Проблемы ветеринарной медицины., Харьков – 2005., Сборник научных трудов., Выпуск 12 (37), часть 2., стр. 198-200.

84. Б.Т. Стегний ,Sachse K., Moser I., Горжеев В.М., А.М. Коваленко., И.И. Белоконов., Белоконова Л.А., Скрипник А.В. Индикация и дифференциация выделенных культур микобактерий // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных, Харьков – 2005., Сборник научных трудов ХГЗВА., Т. 15., стр. 328-338.

85. А.М. Коваленко, С. А. Гузь, Зигмунд Пейсак, В.А., Кузьмин, А.А. Евглевский Диагностические подходы к цирковирусной инфекции свиней « РСВ-2» // журнал практического специалиста «Практик»., Санкт-Петербург., N 5-6 май-июнь 2005, стр. 46-50.

86. Коваленко А.М., Аничин Р.Ю., Гузь С.А. Кампилобактериоз- методы выделения и идентификации // Сборник научных трудов ведущих ученых России, СНГ и др. стран.- Уральское издательство, Екатеринбург, 2005, стр. 248-251.

87. Патент Украины 8094,7 G01N33/00. Способ выделения ДНК микобактерий с питательной среды для диагностики туберкулеза и микобактериозов в полимеразной цепной реакции/ Стегний Б.Т., Скрипник А.В., Скрипник В.Г., Коваленко А.М., Опубл. 15.07. 2005. Бюл. N 7.

88. В.А., Кузьмин, Б.Т. Стегний, А.М. Коваленко Современные методы анализа для диагностики сальмонеллеза и изучения его иммуногенеза // Тезисы докладов международного научно-практического конгресса «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» 29-30 августа 2005., Санкт-Петербург., 2005, стр. 109-115.

89. А.М. Коваленко, В.А. Кузьмин, А.А.Евглевский, Konrad Sachse, Р.Ю. Аничин, В.И. Болотин, С.А. Гузь Диагностика пограничной болезни // Журнал практикующего специалиста «Практик»., Санкт-Петербург.,№ 7-8 июль-август 2005, стр. 46-49.

90. Евглевский А.А., Коваленко А.М., Гузь С.А. Некоторые данные о респираторно-репродуктивном синдроме свиней (PRRS)// Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 120-летию ветеринарной службы Курской области // 26-27 мая 2005., Курск 2005, стр. 138-140.

91. Евглевский А.А., Коваленко А.М., Гузь С.А. Проблемы смешанных вирусных инфекций свиней// Материалы Всероссийской научно-

практической конференции, посвященной 120-летию ветеринарной службы Курской области// 26-27 мая 2005., Курск 2005, стр. 141-145.

92. Патент № 3080, G01N33/00. Способ получения сыворотки против сибирской язвы преципитирующей / Белоконов И.И., Ничик С.А., Стегний Б.Т., Завгородний А.И., Коваленко А.М., Опубл. 21.10. 2005. Бюл. N 10.

93. Стегний Б.Т., Andrzej Lipowski, Коваленко А.М. и др.. Мониторинговые исследования на микоплазмоз и репродуктивно-респираторный синдром свиней с использованием ELISA и PCR- тестов // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.,- 2006., - Вып.86.- С. 307- 312.

94. Стегний Б.Т., Коваленко А.М., Аничин Р.Ю. и др.. Диагностика хламидиоза свиней с помощью молекулярно-генетических тестов // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб. X.,- 2006., - Вып.86.- С. 312- 318.

95. Коваленко А.М., Мерзленко Р.А. Диагностика и профилактика туберкулеза животных -Белгород: Бел ГСХА, 2007.- 126с.

96. Мерзленко Р.А., Коваленко А.М., Жеребненко С.В. Комплексная диагностика, профилактика и ликвидация инфекционных болезней, общих для нескольких видов животных -Белгород: Бел ГСХА, 2007.- 159с.

97. Коваленко А.М. Ветеринарная санитария -Белгород: Бел ГСХА, 2007.- 118с.

98. Коваленко А.М., Хламидиозы животных -Белгород: Бел ГСХА, 2008.- 140с.

99. Коваленко А.М., Бруцеллез свиней. -Белгород: Бел ГСХА, 2008.- 156с.

100. Коваленко А.М. Мультисистемный синдром свиней (PMWS) // Бюллетень научных работ., Выпуск N 12 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2008, стр. 20-24.

101. Коваленко А.М. Выявление провируса лейкоза КРС в образцах спермы // Бюллетень научных работ., Выпуск N 15 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2008, стр. 63-64.

102. Коваленко А.М., Евглевский А.А., Евглевский Д.А. Индикация микобактерий секвенированием // Сборник научных трудов «Диагностика, лечение и профилактика болезней животных», Курск.- Изд. КГСХА им. И.И. Иванова, 2008, стр. 6-9.

103. Коваленко А.М., Бреславец П.И., Головкин В.А., Клименко Б.Ф. Основы общей эпизоотологии с ветеринарной санитарией. -Белгород: Бел ГСХА, 2009.- 260с. (Гриф УМО высших учебных заведений РФ).

104. Коваленко А.М., Клименко Б.Ф., Сапегин В.М. Грипп птиц. -Белгород: Бел ГСХА, 2009.- 82с. (Гриф УМО высших учебных заведений РФ).

105. Коваленко А.М., Клименко Б.Ф., Сапегин В.М. Бешенство животных. -Белгород: Бел ГСХА, 2009.- 78с. (Гриф УМО высших учебных заведений РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии).

106. Бреславец В.М., Коваленко А.М., Хохлов А.В., Белогурова Н.А.

Применение препарата «Йодпротектин» для лечения хронических эндометритов различной этиологии у коров // Материалы 13 международной научно-производственной конференции (19-22 мая 2009 года)., Белгород.- Изд. БелГСХА, 2009, стр. 52-53.

107. Евглевский А.А., Коваленко А.М., Евглевский Д.А., Смирнов И.М. Состояние и перспективы создания туберкулезных биопрепаратов // Сборник научных трудов «Теоретические и прикладные проблемы ветеринарной медицины», Курск.- Изд. КГСХА им. И.И. Иванова, 2009, стр. 47-49.

108. Евглевский Д.А., Коваленко А.М., Смирнов И.М. Десенсибилизирующие свойства и алергизующая активность туберкулезного анатоксина // Сборник научных трудов «Теоретические и прикладные проблемы ветеринарной медицины», Курск.- Изд. КГСХА им. И.И. Иванова, 2009, стр. 49-50.

109. Хачко В.И., Бреславец Е.М., Коваленко А.М. Решение проблем бесплодия крупного рогатого скота, вызванных инфекционными заболеваниями, поражающими репродуктивные органы и молочную железу // Бюллетень научных работ., Выпуск N 19 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2009, стр. 17-19.

110. Коваленко А.М., Коваленко Л.В. Туберкулез крупного рогатого скота – существующие возможности диагностики и вакцинопрофилактики // Бюллетень научных работ., Выпуск N 22 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2010, стр. 59-61.

111. Коваленко А.М., Головкин В.А., Сапегин В.М. Инфекционные болезни свиней. -Белгород: Бел ГСХА, 2010.- 247с. (Гриф УМО высших учебных заведений РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии от 03 июня 2010 г. №63-93).

112. Коваленко А.М., Трескач В.И., Сапегин В.М. Основы ветеринарной иммунологии. -Белгород: Бел ГСХА, 2010.- 140с. (Гриф УМО высших учебных заведений РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии от 03 июня 2010 г. №63-94).

113. Kovalenko A., Sapegin V, Zhabina V, Hetmanskay V. (2010) Badania nad sytuacja epizootyczna grzylicy bydla // Monografia (czesc 6) “Noworodek a srodowisko”, “Niedobory ucielat i krow”, Uniwersytetu przyrodniczego we Wroclaiu, Wroclaw, Polska, p.110-114, (ISBN 978-83-927907-8-5).

114. А.М. Коваленко, В.А. Кузьмин, Н.А. Винс, В.М. Сапегин, А.М. Мигно Развитие вторичной микрофлоры при кожных поражениях плотоядных // Вестник КГСХА., Курск., №5, 2010, стр. 71-72.

115. А.М. Коваленко, Д.А. Евглевский, Ан.А. Евглевский Новые подходы к лечению репродуктивных органов и молочной железы // Вестник КГСХА., Курск., №5, 2010, стр. 75-76.

116. Коваленко А.М., Евглевский Д.А. Иммунопрофилактика и терапия болезней свиней. –Белгород-Курск: КГСХА, 2011.- 146с.

117. А.М. Коваленко, В.М. Сапегин, Жабина В.Ю. Эпизоотологические исследования в отношении хламидийных инфекций в репродуктивных хозяйствах Белгородской области // Материалы международной научно-

практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп с/х животных, рыб и пчел» (г. Москва, 26-27 апреля 2011 г.). -Москва, Издательство ООО «Агентство творческих технологий», 2011г. стр. 206-208.

118. А.М. Коваленко, В.А. Евглевский Д.А., Кретьева С.Н. Иммунологические сдвиги при сальмонеллезе // Наука и инновации в сельском хозяйстве (Материалы международной научно-практической конференции, 26-28 января 2011 г., г. Курск, ч. 3).- Курск: Изд-во Курск.гос.с-х.ак., 2011, стр. 207-211.

119. Левицкая И.Л., Писаренко В.Ф., Сапегин В.М., Жабина В.Ю., Шумская Н.П., Коваленко А.М. Использование РМА для изучения распространенности лептоспироза свиней // Ветеринарная медицина: межвед. темат. науч. сб., Харьков.,- 2011., - Вып. 95.- С. 207- 209.

120. А.А. Евглевский, Д.А. Евглевский М.Д. Сычев, А.М. Коваленко / Иммуногенные и протективные свойства вакцины для профилактики лейкоза крупного рогатого скота // Вестник КГСХА., Курск., №3, 2011, стр. 68-69.

121. А.М. Коваленко, Сапегин В.М., Жабина В.Ю., В.А., Кузьмин Вакцинопрофилактика болезни Марека // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПб ГАВМ. -СПб, Издательство СПб ГАВМ, 2011г. стр. 33-34.

122. В.А. Кузьмин, А.М. Коваленко, В.М. Сапегин Особенности диагностики болезни Марека // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПб ГАВМ. -СПб, Издательство СПб ГАВМ, 2011г. стр. 44-46.

123. Коваленко А.М., Евглевский Д.А. Общая эпизоотология и иммунопрофилактика (классификационные критерии) *монография*. – Белгород-Курск: КГСХА, 2011.- 142с.

124. А.М. Коваленко, И.Л. Левицкая, В.Ф. Писаренко, В.Г. Гетьманская Серологический мониторинг по распространенности лептоспироза свиней в репродуктивных хозяйствах Белгородской области // Материалы международной научно- практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп с/х животных, рыб и пчел» (г. Москва, 26-27 апреля 2011 г.). -Москва, Издательство ООО «Агентство творческих технологий», 2011г. стр. 214-216.

125. Н.П. Шумская, А.М. Коваленко, В.М. Сапегин Эпизоотологические исследования в отношении хламидийных инфекций животных // Бюллетень научных работ., Выпуск N 25 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2011, стр. 104-108.

126. Н.П. Шумская, А.М. Коваленко, В.М. Сапегин Эпизоотологические исследования в отношении хламидийных инфекций животных // Бюллетень научных работ., Выпуск N 25 Белгород.- Изд. БелГСХА, 2011, стр. 104-108.

127. А.М. Коваленко, Д.А. Евглевский, Б.М. Иммунологические сдвиги при сальмонеллезе // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – Курск, 2011. -№4. – стр. 61-62.

128. А.М. Коваленко, Г.В. Сноз, В.М. Сапегин, В.Ю. Жабина, Р.Ю. Аничин Изучение белков культуральных фильтратов микобактерий // Российский ветеринарный журнал. Москва. – 2011. - №1. – стр. 8-10.

129. А.М. Коваленко, Н.П. Шумская Изучение распространенности лептоспироза среди свинопоголовья // Бюллетень научных работ, Выпуск № 26 Белгород. – Изд. БелГСХА, 2011, стр. 63-67.

130. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Способ предпосевной обработки патологоанатомического материала для выделения L форм микобактерий” авторы Коваленко А.М., Тарасова Е.В. от 14.12 2011., № 2011150969/15 (076563).

131. Коваленко А.М., Евглевский Д.А. Иммунопрофилактика и терапия болезней свиней *монография*. –Белгород-Курск: КГСХА, 2011.- 146с.

132. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Способ выделения чистой культуры микобактерий туберкулеза” авторы Евглевский А.А., Евглевский Д.А., Коломиец В.М., Коваленко А.М., Смирнов И.И., Абрамов А.В. от 19.01 2012., № 2011112282/10 (018115).

133. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента «Способ идентификации микобактерий с помощью полимеразной цепной реакции» авторы Коваленко А.М., Сапегин В.М., Шеховцов А.Ю. от 14.02 2012., № 2010127614/10 (039288).

134. А.М. Коваленко, Г.В. Сноз, В.М. Сапегин, В.Ю. Жабина, Л.В. Коваленко Изучение иммунобиологических свойств противотуберкулезного препарата // Российский ветеринарный журнал. Москва. – 2012. - №1. – стр. 17-21.

135. А.М. Коваленко, Е.В.Тарасова Выделение измененных форм микобактерий // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№1. – стр. 113-115.

136. В.А. Кузьмин, Е.В.Тарасова, А.М. Коваленко Биологические свойства L форм микобактерий, выделенных из объектов внешней среды // Ветеринарная практика – Санкт-Петербург, 2012. -№1(56). – С. 13-16.

137. А.А. Евглевский, А.М. Коваленко, Р.А. Мерзленко, Е.Г. Яковлева, К.В. Татарников, Е.А. Стебловский Иммуногенные и протективные свойства колисальмонелезной анатоксин-вакцины // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№1. – стр. 105-106.

138. А.А. Евглевский, Д.А. Евглевский, А.М. Коваленко, В.А. Демин Достижения и перспективы диагностики, профилактики и терапии туберкулеза// Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№2. – стр. 105-107.

139. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Способ дифференциальной дагностики возбудителей хламидийных инфекций у свиней с помощью

молекулярно – генетического метода ” авторы Коваленко А.М., Сапегин В.М. от 16.12.2011г., № 2012125109 (038445).

140. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Питательная среда для выявления L-форм микобактерий ” авторы Коваленко А.М., Тарасова Е.В. от 16.12.2011., № 2011150971 (076565).

141. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента „Способ дифференциальной диагностики возбудителей хламидийных инфекций у свиней с помощью молекулярно – генетического метода” авторы Коваленко А.М., Сапегин В.М. от 19.06.2012., № 20121251009 (038445).

142. Патент на изобретение № 2490008 «Дезинфицирующее средство», зарегистрирован 30.08.2013, срок действия до 25.05.2032. авторы: Коваленко А.М., Дорофеев А.Ф.

143. Патент на изобретение № 2455364 « Способ идентификации микобактерий с помощью полимеразной цепной реакции», зарегистрирован 10.07.2012, срок действия до 02.07.2030. . Авторы: Коваленко А. М., Сапегин В.М., Шеховцов А.Ю.

144. Е.В.Тарасова, А.М. Коваленко, В.Ю. Жабина Изучение биологических свойств L- форм микобактерий, выделенных из бронхиальных и средостенных лимфатических узлов от КРС, реагирующего на ППД-туберкулин // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№4. – стр. 53-55.

145. В.М. Сапегин, А.М. Коваленко, М.А. Паюхина, К.В. Татарников Исследования эпизоотической ситуации по хламидийным инфекциям свиней в репродуктивных хозяйствах// Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№4. – стр. 64-67.

146. В.М. Сапегин, А.М. Коваленко Выявление возбудителей хламидиозов свиней методом полимеразной цепной реакции-Белгород: БелГСХА, 2012.- 126с. (методические рекомендации, Гриф УМО высших учебных заведений РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии от 04.04. 2012 г. №63-51).

147. Положительное решение Института промышленной собственности Российской Федерации о выдаче патента на изобретение от 19.01. 2012. Способ выделения чистой культуры микобактерий туберкулеза/ А.А. Евглевский, Д.А. Евглевский, В.М. авторы Коваленко А.М., Писаренко В.Ф., Левицкая И.Н.

Коломиец, А.М. Коваленко, И.И. Смирнов.(RU)КГСХА.

148. А.М. Коваленко, Г.В. Сноз, В.М. Сапегин, В.Ю. Жабина, Л.В. Коваленко Изучение иммунобиологических свойств противотуберкулезного препарата // Российский ветеринарный журнал. Москва. – 2012. - №1. – стр. 17-21.

149. А.М. Коваленко, Е.В.Тарасова Выделение измененных форм микобактерий // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№1. – стр. 113-115.

150. В.А. Кузьмин, Е.В.Тарасова, А.М. Коваленко Биологические свойства L форм микобактерий, выделенных из объектов внешней среды // Ветеринарная практика – Санкт-Петербург, 2012. -№1(56). – С. 13-16.

151. А.А. Евглевский, А.М. Коваленко, Р.А. Мерзленко, Е.Г. Яковлева, К.В. Татарников, Е.А. Стебловский Иммуногенные и протективные свойства колисальмонеллезной анатоксин-вакцины // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№1. – стр. 105-106.

152. А.А. Евглевский, Д.А. Евглевский, А.М. Коваленко, В.А. Демин Достижения и перспективы диагностики, профилактики и терапии туберкулеза// Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2012. -№2. – стр. 105-107.

153. Патент на изобретение № 2455364 « Способ идентификации микобактерий с помощью полимеразной цепной реакции», зарегистрирован 10.07.2012, срок действия до 02.07.2030. . Авторы: Коваленко А. М., Сапегин В.М., Шеховцов А.Ю.

154. Евглевский А.А., Коваленко А.М., Евглевский Д.А. Основы общей и частной эпидемиологии с иммунопрофилактикой *монография*. –Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова, 2012.- 358с.

155. А.П. Палий, Е.В.Тарасова, В.А. Кузьмин А.М. Коваленко Таблетированные хлорсодержащие дезинфектанты для борьбы с туберкулезом // Ветеринарная практика – Санкт-Петербург, 2013. -№1(60). – С. 31-35.

156. Аронов В.М., Спирина А.С., Шипова И.В., Коваленко А.М. Применение электрохимически активированных растворов для лечения мелких домашних животных при инфекционных стоматитах // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии – Санкт-Петербург, 2013. -№1. – С. 29-33.

157. А.М. Коваленко, Д.А. Евглевский, А.О. Павленко, К.В. Татарников Стратегия повышения эффективности средств диагностики и профилактики инфекционных болезней у свиней// Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. –Курск, 2013. -№2. – стр. 61-63.

158. А.М. Коваленко, Е.П. Васильева, Н.П. Акопджанян, Л.А. Шивырталова, Ф.Б. Сиберзянов, В.П. Писаренко, И.Л. Левицкая, В.М. Аронов Определение чувствительности кишечной палочки, выделенной от кроликов, к электрохимически активированному раствору и йодпротектину // Ветеринарная практика – Санкт-Петербург, 2013. -№3(62). – С. 38-42.

159. А.М. Коваленко, Е.В. Тарасова, В.Ю. Жабина Диагностическая ценность лабораторных тестов при туберкулезе крупного рогатого скота // Бюллетень научных работ, Выпуск № 36 Белгород. – Изд. БелГСХА, 2013, стр. 29-34.

160. Коваленко А.М., Коваленко Л.В. Эпизоотологические особенности туберкулеза крупного рогатого скота *монография*. –Saarbruken Deutschland (Германия): LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013.- 367с.

161. Решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента на изобретения „способ лечения пальцевого дерматита крупного рогатого скота ” авторы Писаренко В.Ф., Коваленко А.М., Левицкая И.Л. от 27.01.2014., RU 2012125030 А, МПК А61К9/06.

162. Решение Института промышленной собственности Российской Федерации на выдачу патента на изобретение „препарат для лечения пальцевого дерматита крупного рогатого скота (*Dermatitis digitalis*)” авторы Писаренко В.Ф., Коваленко А.М., Левицкая И.Н. от 15.01 2014., RU 2012125032 А, МПК А61К31/00.

163. А.М. Коваленко, Е.В. Тарасова, В.Ю. Жабина Диагностическая ценность лабораторных тестов при туберкулезе крупного рогатого скота// Инновации в АПК: проблемы и перспективы. –Белгород, 2014. -№2(2). – стр. 103-106.

164. В.Ф. Писаренко, А.М. Коваленко, А. Я Бахтурин. Сравнительная эффективность препаратов для лечения коров с синдромом инфекционного пальцевого дерматита// Вестник КГСХА.–Курск, 2014.- №5. – С. 70-71.

165. В.Ф. Писаренко, А.М. Коваленко, В. Н. Суворова. Разработка препарата для профилактики и лечения крупного рогатого скота при развитии инфекционного пальцевого дерматита// Вестник КГСХА.–Курск, 2014.- №6. – С. 79-80.

166. А.М. Коваленко, В. Ю. Жабина Диагностическая ценность аллергической диагностической пробы при проведении противотуберкулезных оздоровительных мероприятий// Вестник КГСХА.–Курск, 2014.- №8. – С. 73-74.

167. А.М. Коваленко, В. Ю. Жабина Экспериментальные исследования по изучению диагностической ценности лабораторных методов при туберкулезе крупного рогатого скота // Вестник КГСХА.–Курск, 2014.- №9. – С. 73-75.

168. Патент РФ на изобретение № 2521247 С2 «Препарат для лечения пальцевого дерматита крупного рогатого скота (*Dermatitis digitalis*)” опубликован 27.06.2014, срок действия до 27.06.2032. . Авторы: Писаренко В.Ф., Коваленко А.М., Левицкая И.Л.

169. Патент РФ на изобретение № 2521242 С2 «Способ лечения пальцевого дерматита крупного рогатого скота» опубликован 27.06.2014, срок действия до 27.06.2032. . Авторы: Писаренко В.Ф., Коваленко А.М., Левицкая И.Л.

170. А.М. Коваленко, И.Л. Левицкая, Р.А. Мерзленко, В.В. Дронов Изучение этиологической структуры бактериозов развивающихся в дистальном отделе конечностей и при маститах у крупного рогатого скота // Вестник КГСХА.–Курск, 2015.- №3. – С. 70-71.

171. А.М. Коваленко, И.Л. Левицкая, Р.А. Мерзленко, В.В. Дронов Сравнительная эффективность препаратов для лечения коров больных инфекционными заболеваниями молочной железы и дистального отдела конечностей // Вестник КГСХА.–Курск, 2015.- №3. – С. 71-73.

172. А.А. Кролевец, И.А. Богачев, А.М. Коваленко Влияние природы

антибиотиков цефалоспоринового ряда на размер нанокapsул на основе альгината натрия и их применение при развитии инфекционных гингивитов и пародонтитов // МНО «Inter-Medical».-Москва, 2015.- №1 (7), - С.115-118.