

– 2002. – Vol. 49, № 7. – P. 325-331. **9.** Camargos, M.F. Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of Bovine leukemia virus Virus Genes [Текст] / M.F. Camargos, A. Pereda, D. Stancek, M.A. Rocha, J.K. dos Reis, I. Greiser-Wilke, R.C. Leite // Virus Genes. – 2007. – Vol. 34, № 3. – P. 343-350. **10.** Gatot, J.S. Conservative mutations in the immunosuppressive region of the bovine leukemia virus transmembrane protein affect fusion but not infectivity in vivo [Текст] / J.S. Gatot, I. Callebaut, J.P. Mornon, D. Portetelle, A. Burny, P. Kerkhofs, R. Kettmann, L. Willems // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – P. 12870-12880. **11.** Willems, L. The YXXL signaling motifs of the bovine leukemia virus transmembrane protein are required for in vivo infection and maintenance of high viral loads [Текст] / L. Willems, J.S. Gatot, M. Mammerickx, D. Portetelle, A. Burny, P. Kerkhofs, R. Kettmann // J. Virol. – 1995. – Vol. 69. – P. 4137-4141. **12.** Willems, L. The major homology region of bovine leukaemia virus p24gag is required for virus infectivity in vivo [Текст] / L. Willems, P. Kerkhofs, L. Attenelle, A. Burny, D. Portetelle, R. Kettmann // J. Gen. Virol. – 1997. – Vol. 78. – P. 637-640. **13.** Willems, L. In vivo infection of sheep by bovine leukemia virus mutants [Текст] / L. Willems, R. Kettmann, F. Dequiedt, D. Portetelle, V. Voneche, I. Cornil, P. Kerkhofs, A. Burny, M. Mammerickx // J. Virol. – 1993. – Vol. 67. – P. 4078-4085. **14.** Merezak, C. Suboptimal enhancer sequences are required for efficient bovine leukemia virus propagation in vivo: implications for viral latency [Текст] / C. Merezak, C. Pierreux, E. Adam, F. Lemaigre, G.G. Rousseau, C. Calomme, C. Van Lint, D. Christophe, P. Kerkhofs, A. Burny, R. Kettmann, L. Willems // J. Virol. – 2001. – Vol. 75. – P. 6977-6988. **15.** Twizere, J.C. Discordance between bovine leukemia virus tax immortalization in vitro and oncogenicity in vivo [Текст] / J.C. Twizere, P. Kerkhofs, A. Burny, D. Portetelle, R. Kettmann, L. Willems // J. Virol. – 2000. – Vol. 74. – P. 9895-9902. **16.** Kerkhofs, P. In vitro and in vivo oncogenic potential of bovine leukemia virus G4 protein [Текст] / P. Kerkhofs, H. Heremans, A. Burny, R. Kettmann, L. Willems // J. Virol. – 1998. – Vol. 72. – P. 2554-2599. **17.** Willems, L. Attenuation of bovine leukemia virus by deletion of R3 and G4 open reading frames [Текст] / L. Willems, P. Kerkhofs, F. Dequiedt, D. Portetelle, M. Mammerickx, A. Burny, R. Kettmann // PNAS. – 1994. – Vol. 91. – P. 11532-11536. **18.** Gillet, N. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human [Текст] / N. Gillet, A. Florins, M. Boxus, C. Burteau, A. Nigro, F. Vandermeeers, H. Balon, A.-B. Bouzar, J. Defoiche, A. Burny, M. Reichert, R. Kettmann, L. Willems // Retrovirology. – 2007. – Vol. 4. – P. 1-32.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS CIRCULATING IN DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

Limans'ka O.Yu., Gerilovich A.P., Solodyankin A.S., Bolotin V.I., Gorbatenko S.K.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Simonenko S.I.

Kharkov State Zooveterinary Academy

The primary structure of the env gene fragments of bovine leukemia virus circulating in the farms of different geographical regions of Ukraine is determined. Phylogenetic relationships between bovine leukemia virus is studied. The affiliation of Ukrainian isolates of infectious agent to the Euro-Asian subgroup is shown.

УДК 619:616.981.553

БОТУЛІЗМ. БІОБЕЗПЕКА І БІОЗАХИСТ

Ничик С.А., Риженко В.П.

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

Риженко В.В.

Українська військово-медична академія, м. Київ

Біобезпека. Ботулізм людини і тварин є проблемою світового значення зі зростаючою актуальністю. Випадки спалахів захворювання серед людей в Україні мають тенденцію до зростання. Число потерпілих кожного року перевищує 300 осіб.

В умовах України ботулізм тварин відноситься до групи емерджентних інфекцій. Це тяжка харчова та ранова токсикоінфекція всіх видів тварин і людини, реєструється в багатьох країнах світу. Розрізняють ботулізм харчовий, рановий та новонароджених. Летальність сягає 70-100 %.

Мета роботи – здійснити аналіз системи захисту тварин і людини від можливих спалахів ботулізму на ґрунті біотерористичних актів та визначити роль вітчизняної науки у вирішенні проблем біозахисту.

За рівнем небезпечності збудник хвороби *Clostridium botulinum*, відноситься до категорії А, збудник має 7 серотипів, продукує ботулотоксин, який відноситься до найсильніших біологічних отрут, що належать до засобів біологічної зброї та терористичних актів. Відомо, що 1 см³ токсину містить 10 млн. летальних доз для мишей. Для людини масою 60 кг летальна доза становить 0,05 мкг кристалічного токсину *Cl. botulinum* типу А [1].

Біологічну загрозу становлять контаміновані спорами збудника ґрунти, корма, харчові продукти та виготовлені з них консерви, продукти забою тварин та молоко.

Так, в умовах США ґрунти на 70 % контаміновані спорами *Cl. botulinum*, які витримують кип'ятіння до 6 годин. Найбільшу небезпеку для тварин становлять контаміновані корми, а для людини – консерви бобових культур та томатний сік.

Присутність в раціоні корів 10-100 г контамінованого *Cl. botulinum* силосу здатне викликати їх захворювання з тяжким перебігом. Підвищений рівень заліза та солі у воді, наявність плісняви ускладнює перебіг ботулізму.

Велику роль в патогенезі хвороби має феномен Берінга, коли сенсibilізований до ботулізму організм гине від малих доз повторного потрапляння токсину.

В останні роки в Німеччині реєструється вісцеральний ботулізм корів. В більшості випадків тварини гинуть раптово з діагнозом «невідомо хвороба». Згодом було встановлено, що у вмісті нижніх відділів кишечника уражених тварин знаходять вільний ботулотоксин і сліди бацил. Вважається, що в організмі йде накопичення малих доз токсину, що призводить до порушення функції органів травлення, зниження продуктивності, виснаження та загибелі тварин.

В Європі, у стаді з 150 голів ВРХ у 80 спостерігали клінічні ознаки ботулізму після поїдання силосованої підстилки від птахів. З них загинуло 68 голів. З досліджених 22 проб сироватки крові у 18 виявлено токсин *Cl. botulinum* тип С. Цей тип токсину виявлено з пашиних останків і силосованої підстилки. [2]

У Бразилії вивчали спалах ботулізму ВРХ на пасовищах з дефіцитом фосфору в області Savanna, де спостерігалися значні збитки в минулому. В усіх 24 загиблих тварин діагноз був підтверджений температурно-індукованою реакцією зв'язування комплекменту.

При спаласі ботулізму в молочному стаді, зі 100 корів, в штаті Орегон захворіло 18 гол. з яких загинуло 14. Коровам згодували високо зволожене цільне зерно, люцерновий та житній сінаж із силосної ями. Лікування було не ефективним. Підтверджено діагноз в РН на мишах, яким вводили екстракт із зерна.

В штаті Онтаріо у молочному стаді загинуло 34 корови від поїдання сінажу. У вмісті рубця знайдено токсин *Cl. botulinum*.

Значний спалах ботулізму, викликаного *Cl. botulinum* типу С, був зареєстрований серед великої рогатої худоби, якій згодували силосовану підстилку від птахів. Експериментально було підтверджено наявність токсину типу С, в м'язах і сироватці крові, нирках і фекаліях. [3]

У Канаді мав місце спалах ботулізму у 52 корів, спричинений *Cl. botulinum* типу Д. Тваринам згодували харчові відходи із пекарні. Збудник виділений із вмісту рубця.

Hogg R.A. et all вивчали спалах ботулізму у ВРХ на випасах одночасно на 3 близько розміщених фермах, викликаний *Cl. botulinum* типу С і Д. Вважається що джерелом інфікування тварин став силос, контамінований останками та послідом домашньої птиці.

Тяжкий перебіг ботулізму у корів зареєстрований весною 1998 р. [4]. Із 441 тварин протягом тижня загинуло 427 корів. Через 8 годин після прояву перших клінічних ознак захворювання (слабкість, залежування, водяниста діарея) розпочалась загибель тварин.

Коровам згодували гниле вівсяне сіно в тюку, в якому містився мертвий кіт. Ботулінічний токсин типу С виявлено у ката, а також в рубці та печінці 2 корів.

Згодовування тюкованого ячмінного сінажу коровам викликало захворювання 22 голів, 11 з яких загинули (50 %). Протоксин *Cl. botulinum* типу В виявлено у сінажі 1 тюка, а спори збудника – в трьох. Хворобу диференціювали від гіпокальцемії, гіпомангезії, вуглеводного перенавантаження, мікотоксикозів, токсикозу свинцевого, нітратного, органофосфорного, атропінового, атропіно-подібного алкалоїду [5].

У південно-східному Квінсленді в Австралії мав місце спалах паралітичної хвороби з клінікою ботулізму на трьох фермах: із 770 голів загинуло 237 (31 %), на другій фермі із 271 голів загинуло 109 (40 %), на третій – із 380 голів загинуло 30 (8 %). Позитивною пробою корму на вівцях підтверджено діагноз [5], але лабораторними тестами діагноз не підтверджено. Спалах ботулізму серед корів унаслідок згодовування зерна із пивоварні, контамінованого протеолітичним *Cl. botulinum* типу В. Гноєм від цього стада корів було контаміноване пасовище. У силосі із в'ялої трави цих пасовищ кількість бацил *Cl. botulinum* зростає. Згодовування такого силосу сприяло виникненню хвороби та подальшої контамінації зовнішнього середовища.

Важливими переносниками інфекції є птахи. Особливість перебігу ботулізму у водоплавних птахів полягає в тому, що вироблений токсин в її організмі призводить до отруєння інших птахів. Здійснено моделювання прогнозу величини вторинного отруєння. Встановлено, що місцем продукції та адсорбції ботулотоксину у курчат є сліпа кишка. Останній – найбільш чутливий до токсину *Cl. botulinum* типу А, С₂. Виявилось, що оптимальна температура росту *Cl. botulinum* типів С і Д є 40-42 °С. Токсини типу С і Д при рН > 7 є більш стабільними ніж типу А, чим пояснюється перевага випадків ботулізму типу С у курчат бройлерів. Розглядаючи питання ранового ботулізму в умовах біотерористичних актів, згадується про випадки контамінації ран кастрованих курчат *Cl. botulinum* тип С у 3 тижневому віці, а повторним спалахом хвороби у 8-14 тижневому віці.

Про контамінації підстилки птахів збудником ботулізму свідчать випадки спалахів ботулізму у ВРХ в ряді країн Європи.

Заслуговує на увагу думка Hunter L.S. та ін., що висока смертність коней, захворілих на трав'яну хворобу, виникає з причини токсинуотворення в кишечнику *Cl. botulinum* типу С. За допомогою Elisa-тесту у вмісті кишечника та фекаліях збудник виявлено у 44-48 % відповідно.

У північній Арізоні загинуло 12 коней та мул з ознаками ботулізму. Збудник і токсин *Cl. botulinum* типу С виявлені в кишечнику 3-х коней, у зразках ґрунту та фекаліях птахів, зібраних поблизу місця утримання хворих коней. Висловлюється думка, що переносниками збудника є птахи, переважно ворони.

Надзвичайно важливо знати тенденції щодо попередження різних типів збудника. Так, наприкінці ХХ століття вважалось, що у Європі в консервах тваринного походження частіше виділяють *Cl. botulinum* тип В, в Америці – в овочевих і фруктових консервах виділяють частіше сероваріант А, в Японії – в рибних і грибних консервах – сероваріант Е. Цей тип збудника є найбільш токсичним.

У публікаціях останніх 20 років відображена еволюція серотипів збудника ботулізму, що надзвичайно важливо для визначення напрямків створення засобів захисту тварин та розробки системи профілактичних заходів.

Продуцентами ботулотоксину на сьогодні є не тільки 7 типів *Clostridium botulinum*, а також *Clostridium butiricum*, *Clostridium barati* та *Clostridium argentinense*. Це біологічне явище значно ускладнює бактеріологічну діагностику захворювання, коли ознаки хвороби типові для ботулізму, а збудники *Cl. botulinum* не виділяються. Останнім часом звертається увага на виявлені випадки, коли листя зеленої трави містить ботулінічний токсин, а застосування антгельмінтика інвермектину підвищує ризик виникнення ботулізму у коней, спричиненого *Cl. botulinum* тип С.

Bohnel H. [7, 8] виявив у молоці корови нейротоксин *Cl. botulinum* тип В.

Слід зазначити, що при зберіганні молока за температури 21 °С протягом 6 діб токсин ботулізму виявляється в усіх пробах молока з додаванням 9,1 моль СО₂. Через дві доби молоко створюється та має йогуртоподібний запах.

Отже, замкнуте коло циркуляції збудника ботулізму супроводжується контамінацією м'яса та молока, що становить небезпеку для людей.

Молекулярний механізм дії ботулінічних нейротоксинів полягає в секреції ацетилхоліну нейромускулярних синапах шляхом ферментного розщеплення молекул, які відповідають за екзоцитоз.

Ботулінічні токсини, що не належать до нейротоксинів (типи С₂ і С₃), які продукують ряд штамів *Cl. botulinum* типів С і Д, впливають на цитоскелет шляхом дисоціації актинових філаментів [4].

Існує думка [4], що дія різних ботулінічних токсинів після потрапляння їх в організм може сприяти розвитку різних хвороб. Це пов'язано з тим, що ряд речовин які знаходяться в їжі (аглютиніни ростків пшениці, дігітонін, сапонін) бактеріальні токсини (стрептолізин О, префрінголізини, С₂ токсин-ботулізин) і теж формують пори в клітинних стінках. У нормальних умовах ботулініч-

ний токсин може проходити кишковий бар'єр і циркулювати в крові певний проміжок часу та впливати на функцію головного та спинного мозку, мозочку, гіпофізу, наднирників, підшлункової залози та інших органів. У поєднанні з дією продуктів, що є в їжі, або інших токсинів виникає клінічний прояв певної хвороби.

Аналізуючи особливості виникнення та перебігу ботулізму у тварин, птиці та людини, низьку ефективність лікування цієї хвороби та можливість її виникнення в наслідок навмисного застосування, постає нагальна потреба розробки високоефективних засобів специфічної профілактики хвороби.

Наразі в ряді країн здійснюються наукові роботи щодо розробки вакцин та анатоксинів.

Біозахист. На сьогодні добре відомо, що ботулінічний нейротоксин здатні виробляти в ряді країн світу. Наслідки його використання є непередбачуваними.

Зважаючи, що інкубаційний період при ботулізмі знаходиться в межах 12-72 годин, то при появі перших ознак хвороби можна одержати ефект лише від застосування біопрепаратів які мають профілактичні та лікувальні властивості.

У США застосовується п'ятивалентна анатоксин-вакцина проти ботулізму, яка після триразового щеплення забезпечує імунітет протягом року. Військовослужбовці перед відправкою в Ірак підлягали щепленню такою вакциною.

У Канаді застосовують власну вакцину для щеплення тварин проти ботулізму. При застосуванні вакцини проти ботулізму норк (тип С) для щеплення качок, одноразово, підшкірно, через 5 днів зменшилась загибель качок, що свідчить про лікувальні властивості цієї вакцини.

В Україні власні засоби специфічного захисту тварин і людини від ботулізму відсутні.

Як засоби екстреної терапії при спалахах ботулізму у більшості країн застосовують антитоксичні протиботулінічні сироватки, завдяки чому значно знижуються показники летальності.

Висновки. 1. Епізоотична ситуація щодо поширення ботулізму великої рогатої худоби, коней, птиці в ряді розвинутих країн свідчить про існуючу вірогідність занесення збудника на територію України з кормами, сировиною тваринного походження, овочевими, фруктовими, м'ясними, рибними та грибними консервами та, навіть, перелітними птахами.

2. Епізоотичне благополуччя нашої держави щодо ботулізму не повинно принижувати увагу науковців до цієї важливої проблеми, а наполегливо розробляти систему заходів і засобів захисту тварин і людей від спалахів ботулізму.

3. Звертаючи увагу на еволюцію сероваріантів *Clostridium botulinum* в інших країнах є нагальна потреба створення власної колекції всіх існуючих типів збудника та інших кластридій, що продукують ботулотоксин.

4. У світі існують сучасні високоефективні методи лабораторної діагностики ботулізму. У той же час в умовах виробництва діагноз встановлюється з великими складнощами.

5. В ІВМ НААН визначені стратегічні напрями створення полівалентного ботулоанатоксину для використання з профілактичною та лікувальною метою, але інститут ще не одержав дозволу на дослідні роботи з цим збудником.

Напрями подальших досліджень. Першочерговим завданням вчених України є створення власної колекції штамів збудника ботулізму всіх 7 типів та екстрена розробка власного полі анатоксину для створення резервного спецфонду.

Список літератури

1. Андрейчин, М., Копча, В. Біотероризм. Медична продукція. Тернопіль «Укрмедкнига», 2005, – С. 266-271.
2. Cherington, M. Clinical spectrum of botulism Muscle Nerve. 1998, Jun.: 21 (6):701 (10).
3. Kelch, W.I., Kerr, L.A., Pringle Fatal Clostridium botulinum toxicosis in eleven Holstein cattle fed round bale barley haylage. Vet. Dragn. Invest., 2000, Sep. 12 (5):433-5.
4. Bohnel, H., Neufeld, B., Yessler, F. Botulinum neurotoxin tipe B in milk from a cow affected by visceral botulism. Vet. J. 2005. Jan.: 169 (1):124-5/
5. Abbit, B., Murlhy, M.I., Ray, A.C. Catastrophic death losses in a dairy herd attributed to type D botulism. An. Vet. Med. Assoc., 1984. Oct. 1:187 (7):798-801.
6. Wobeser, Y Avian botulism – another perspective. Wildl Dis., 1997. Apr. 33 (2):181-6.
7. Bohnel, H., Neufeld, B., Yessler, F. Botulinum neurotoxin B in milk from a cow affected by visceral.
8. Hunter, L.C., Poxton, I.R. Systemic antibodies Clostridium botulinum tipe C: do they protect hareses from grass sickness (dysautonomia). Equine Vet.J., 2001., non :33 (6):540-2.

BOTULISM. BIOSAFETY AND BIOSECURITY

Nuchik S.A., Ryzhenko V.P.

Institute of Veterinary medicine NAAS, Kyiv

Ryzhenko V.V.

Ukrainian military medical academy, Kyiv

The article presents results of the research in several countries, indicating the increasing role of botulism in the pathology of animals, birds and humans. A wide range of pathogen circulation in nature and opportunity to deliberate its versatile use as a means of bioterroristic acts encourages researchers to effective protection of humans and animals.