



СПИ УРНОСТ ВСЕКИ ДЕН

БЪЛГАРСКА АГЕНЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ
ЦЕНТЪР ЗА ОЦЕНКА НА РИСКА

✉ Гр. София, 1606, бул. "Пенчо Славейков" № 15А
☎ +359 (0) 2 915 98 20, 📠 +359 (0) 2 954 95 93, www.bfsa.bg

Научно становище относно епизоотологичните особености на
вируса на синия език – серотип – 4

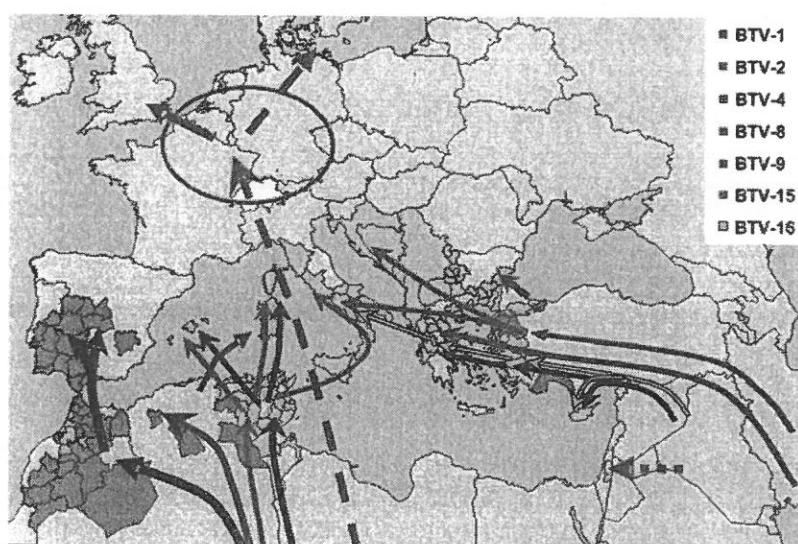
Георги Георгиев, Георги Чобанов, Бойко Ликов

Заразната катарална треска по овцете, известна още като син език (Bluetongue) по преживните животни, до неотдавна се считаше за „екзотично“ заболяване със строго ограничено географско разпространение. През последните 15 години навлизайки многократно на Европейския континент то се превърна в глобален проблем, обхващайки все по-нови географски ширини и територии (Mellor, P.S. 2004, Георгиев Г., 2007, Георгиев Г. и Н. Неделчев, 2008), а някои територии от южна Европа вече показват данни и за ензоотичност на заболяването.

Синият език е вирусно, неконтагиозно заболяване по преживните животни, предавано чрез кръвосмучещи насекоми от рода *Culicoides sp. (Diptera: Ceratopogonidae)*. Характеризира се с треска (фебрилно състояние) и възпалително-некротични изменения по лигавиците (особено в устната кухина и езика), храносмилателния и респираторния тракт, копитния венец и дегенеративни изменения в сърдечния и скелетните мускули. Много често езикът е едематизиран, изпълва устната кухина или е пролабирал и е с мораво син цвят, от където болестта носи наименованието „син език (Bluetongue)“. Предизвиква се от *Bluetongue Virus (BTV)*, принадлежащ към семейство *Reoviridae* на род *Orbivirus*. Клиничните признаци при синия език най-често се наблюдават при овцете, при които патологичната изява може да варира по сила. Говедата и козите рядко боледуват с клиника, но винаги реагират с образуване на антитела. Към вируса са чувствителни и други домашни и диви преживни – биволи, елени, сърни, антилопи, газели, лама, алпака и др.

Основните пътища за нахлуване на вирусите на синия език в Европа са три – Иберийски, Централно-Средиземномосрски и Балкански. По „Балканският път“ до сега са навлезли серотиповете 1, 2, 4, 9 и 16 на вируса (Фиг.1). Така през периода 1999-2001г. в България се реализираха две епизоотии от болестта син език, предизвикани от серотип 9 на вируса. През лятото на 1999г. у нас за първи път бе регистрирано „екзотичното“ за онова време заболяване син език по преживните. Инфекцията бе доказана клинично, патологоанатомично, серологично и вирусологично чрез изолация на вируса. Резултатите бяха потвърдени и от Световната референтна лаборатория по син език и Арбовирусология в Пърбрайт –

Англия, където бе установено, че заболяването е предизвикано от 9-ти серотип на вируса. През 1999г. бяха засегнати 4 административни области от Юго-Източна България – Бургас, Ямбол, Хасково и Сливен, като вирусът на синия език навлезе на разстояние 40-45 км. навътре в територията на страната. През 2001 година страната бе засегната от Втора епизоотия на болестта, обхванаха 6 области на Западна България. През есента на 2001г. засегнати бяха 6 области – Благоевград, София, Перник, Кюстендил, Монтана и Видин. Отново етиологичният причинител бе серотип 9 на ВТВ. Характерното за тази епизоотия бе, че клинични случаи се наблюдаваха само при овцете в Кюстендилска област. Развитието на тази Втора епизоотия с проява само на сероконверсия при чувствителните животни се обяснява с развитието и в края активния сезон на летеж и развитие на куликоидните вектори и на постепенното затихване на вирусната циркулация.

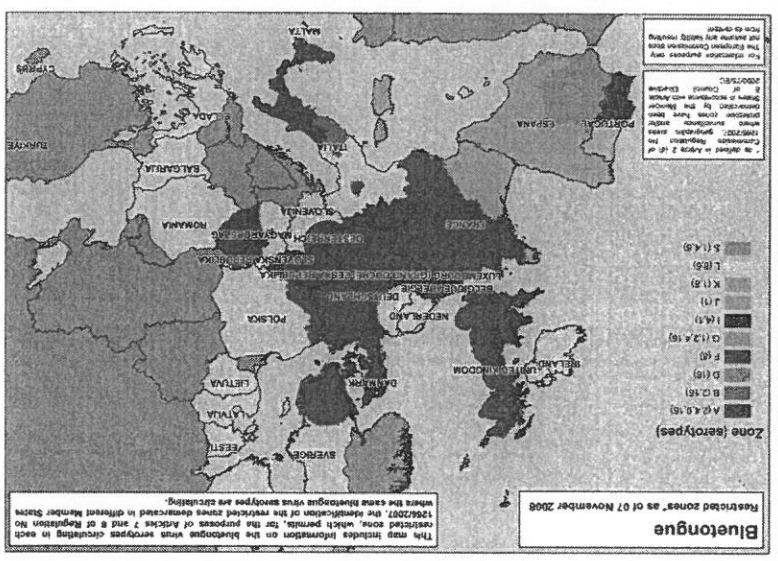


Фиг.1. Основни пътища за нахлуване на синия език в Европа и серотипов пейзаж на участващите епизоотични щамове на вируса.

В края на лятото и есента на 2002 г. у нас бяха доказани само антитела срещу вируса на синия език и активна циркулация на ВТВ, със засягане на сентинелни (индикаторни) животни в три области на южна България, граничещи с Р. Гърция. Засегнати бяха 23 населени места от областите Кърджали, Смолян и Благоевград. Тази засилена циркулация на вируса се наблюдаваше на фона на изобилен летеж и активност на куликоидни вектори. Във ферма, намираща се на гръцка територия срещу гр. Златоград в един улов са установявани до 4000 екземпляра куликоиди, с преобладаващ вид *C. obsoletus* (Георгиев, 2007 по устни данни на Patakakis M.).

На 10-и октомври 2006г. при рутинно изследване на сентинелни (индикаторни) животни от с. Сливарово, област Бургас отново бяха установени положителни серореагенти за син език, както при говеда, така и при овце и кози. Опитите да се изолира вирус, както у нас, така и от изпратените на 2 пъти проби в WRL Пърбрайт, Англия се оказаха неуспешни. В изпратените в Референтната лаборатория на ЕС серумни проби бе потвърдено наличието на специфични ВТВ

антигела с помощта на eLISA, а чрез BHP бе доказана серологичната им принадлежност към **серотип 8** на вируса на синия език. Това не бе изненадващо на фона на епизоотичната ситуация в Западна Европа, обхваната от болеста, предизвиквана от серотип 8 на вируса на синия език по това време, но достатъчно учудващо на фона на проявяването на тази циркуляционна на вируса у нас. От направеното епизоотологично проучване бе показано, че в региона на гр. М. Трново не е имало внос на животни от Западна Европа или от други региони през 2006г. в периода до появата на първите серум положителни сентинелни животни. Така за първи път у нас се доказват антигела срещу вируса на синия език от серотип 8. С това си присъствие и епизоотична циркуляция този серотип манифестира етиологичното участие на втори серологичен тип на вируса на синия език у нас в последните години. По късно, в неофициални данни се получи информация за внос на крави във ферма в Р. Турция и настъпване в селите срещу село Сливарово, област Бургас.



Фиг.2. Засегнати и територии под възбрана в Европа заради син език в края на 2008 г. с пейзаж на участващите БТВ серологични типове

По време на епизоотията от син език в Северна и Западна Европа през 2008 г. бе наблюдавано безпрецедентно разширяване ареалът на проявление на болеста със завладяване на нови географски ширини – 53,6°N Северна ширина (Дания и Швеция), а броят на страните и на засегнатите територии (Фиг. 2) нарасна до 12 (11 членки на ЕС и Швейцария), а засегнатата територия бе по-голяма от териториите, обхванати от епизоотията от БТВ, разразила се в Южна Европа и Централното Средиземноморие в периода 1998-2005 г., в която етиологично участие имаха 5 различни серологични типа БТВ вирус (1,2,4,9 и 16). След 21-и август 2006г. – с БТВ серотип 8, те станаха 6.

Вирусът на синия език се характеризира със забележителна антигенна вариабилност. Установено бе, че между някои изолати, принадлежащи към един и

същи серотип на вируса, изолирани в една и съща година или дори от една и съща ферма може да има големи антигенни различия (deMattos, С.А. и сътр., 1994). Това обяснява наличието на 26 серологични типа и множество варианти, означавани като топотипове (географски разпространени генетични подтипове) на този вирус.

Вирусът на синия език е изграден от 7 негликозилирани структурни полипептида (VP-1-7), от които 4 са главни (VP-2 – 111023D, VP-3-103326D, VP-5-59164D и VP-7-38548D), съставляващи около 94% от общия вирусен протеинов състав, 3 минорни полипептиди (VP-1-149588D, VP-4-76433D, VP-6-35750D), съдържащи останалите 6% от общия протеин. По време на вирусната репликация, в инфектираните клетки се експресират и 3 неструктурни протеини (NS-1-64445D, NS-2-40999D, NS-3-25602D).

VP2 и VP5 изграждат външната капсидна обвивка, като VP2 е протеинът индуциращ вирус-неутрализиращите антитела, а VP7 е главен протеин от вътрешния капсид, антигенно определящ 26-те вирусни серогрупи (общ групов антиген). Серогрупово специфични са и двата неструктурни протеини - NS-1 и NS-2.

VP-1 се кодира от геномен сегмент 1, големината му е 149 588D, изпълнява ролята на вирусна полимераза, намира се във вътрешната сърцевина.

VP-2 се кодира от геномен сегмент 2.

VP-3 се кодира от геномен сегмент 3.

VP-4 се кодира от геномен сегмент 4.

VP-5 се кодира от геномен сегмент 6.

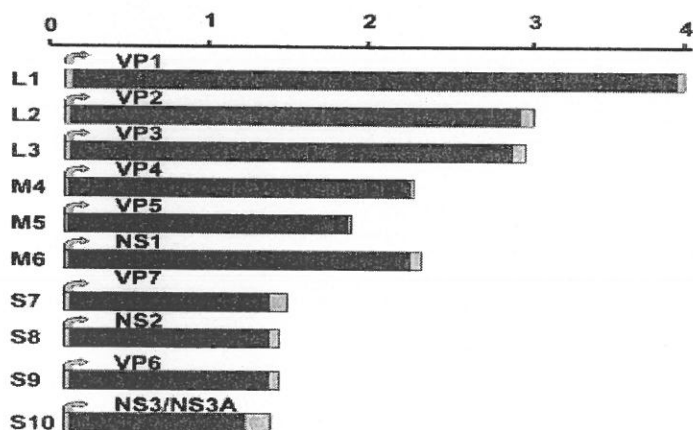
VP-6 се кодира от геномен сегмент 9. Намира се във вътрешния капсид и осъществява скачването на ss RNA в dsRNA.

VP-7 се кодира от геномен сегмент 6.

NS-1 се кодира от геномен сегмент 5

NS-2 се кодира от геномен сегмент 8

NS-3/NS -3A се кодират от геномен сегмент 10 и имат значение при напускането на готовите зрели вирусни частици от заразените клетки.

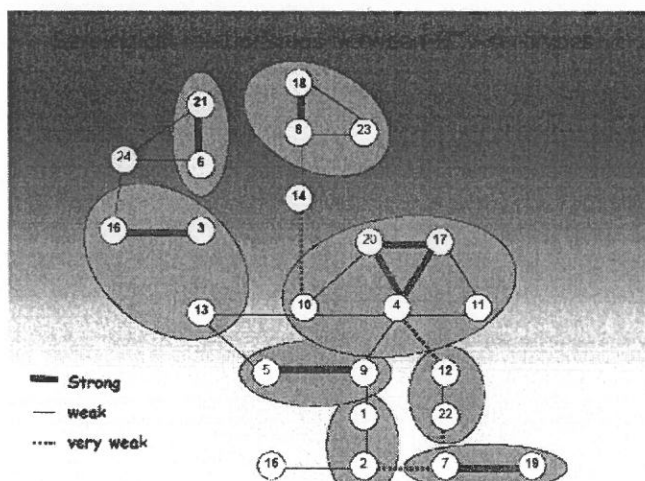


Фиг. 3. Диаграма, показваща големината на вирусните протеини и принадлежността им към генома на BTV (по Roy, P., 2004)

Големите сегменти на генома се означават с L-1, L-2 и L-3 (Фиг.3). Тези геномни сегменти в момента са обект на интензивни проучвания, като основният използван метод е геномния секвентен анализ. Средните сегменти на генома на вируса на синия език се означени като M-4, M-5 и M-6. Всичките dsRNA на вируса на синия език при секвениране показват голяма хомоложност с аналогичните dsRNA на вируса на Африканската чума по конете (AHSV). Малките сегменти на генома, означавани като S-7, S-8, S-9 и S-10 имат отношение към неструктурни и структурни протеини на вируса.

Геномът на вируса е представен от 10 сегмента на вирусната dsRNA, която е затворена в икосоедралния капсид на сърцевината. Следват слоевете на вътрешната и външната обвивки на вириона. Вътрешната обвивка е изградена от 5 протеини: сърцевинни - VP-1, VP-4, VP-6, протеини на външната обвивка - VP-3, VP-7 и още 3 NS минорни - NS-1, NS-2 и NS-3. Те са с висока консервативност. Структурните и неструктурните протеини се произвеждат в BTV инфектираните клетки и участват във вирусната репликация и мултипликация (Roy, P., 2004). Външната капсидна обвивка е изградена от VP-2 и VP-5 протеини, които са отговорни за навлизането на вируса в клетките и варират от серотип към серотип.

Инфектираните с вируса на синия език животни реагират имунологично спрямо структурните и неструктурни вирусни протеини с образуването на антитела. В резултат на експерименти на имунизация и кръстосана протекция, както е показано на Фиг.4. Антителата, насочени спрямо VP-2, са отговорни за неутрализирането на вируса, а тези спрямо VP-7 – имат серогрупова специфичност и с тяхна помощ се доказват всичките 26 серотипа (групово специфични). На тях се основават тестове за доказване на вируса като AGID, DIF, CF, ELISA, IEM, "Immunogold", IP, и др.



Фиг.4. Схема, показваща вътрешните антигенни връзки и взаимоотношения между 24 серотипа на BTV (по Erasmus, B.J., 1990)

Поради факта, че вирусът на синия език при репликацията си в заразените организми индуцира образуването на вирусни протеини, които са имуногенни, то това води и до образуване на антитела спрямо 26-е серологични

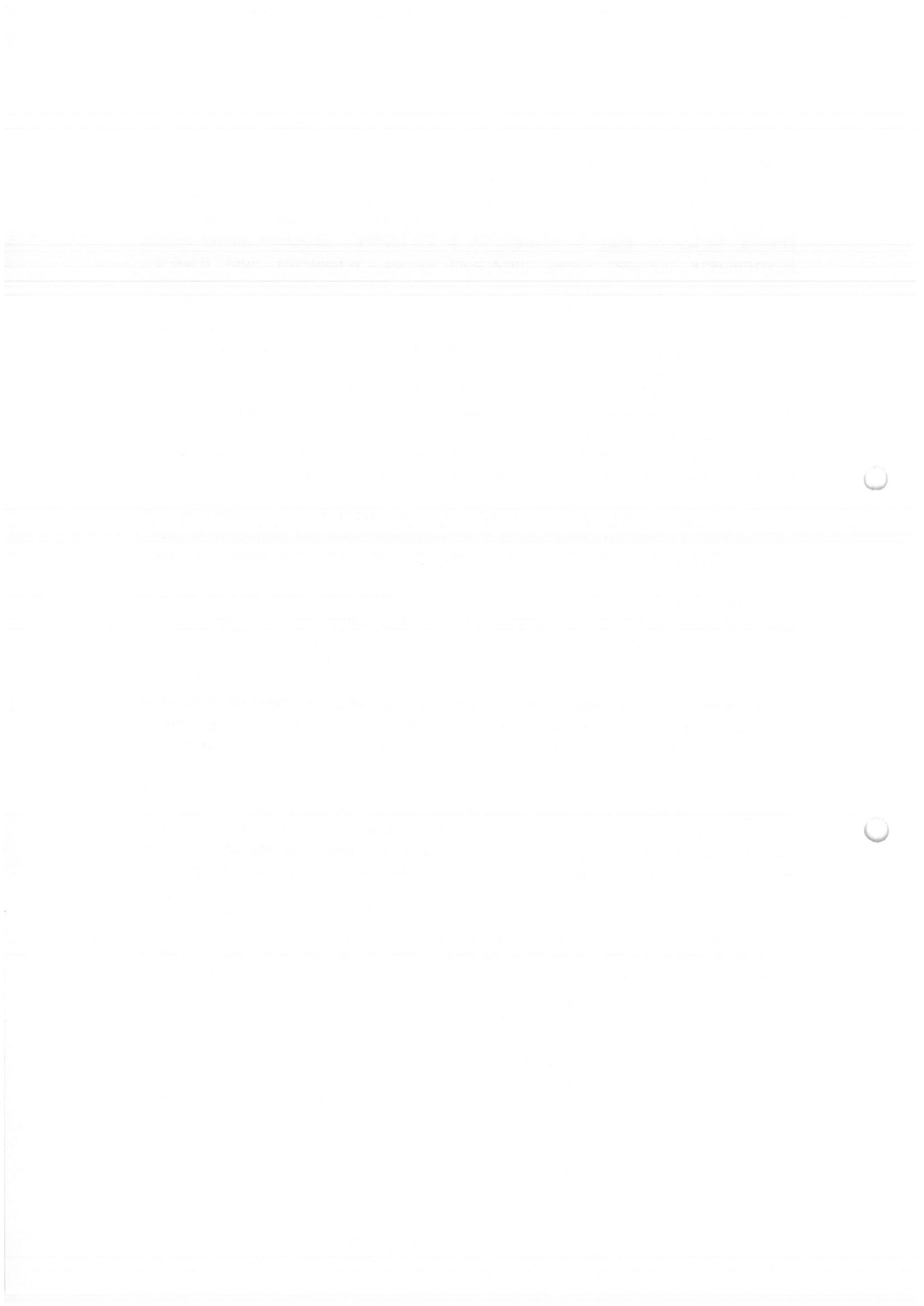
типа на вируса. Колкото и да се различават те в имунологично отношение, все пак имат известно припокриване и съществуват кръстосани реакции между тях, което се вижда от по-горе представената фигура. На тази основа различните серотипове могат да бъдат подложени на известно групиране (Maan, S., Maan, A.R, Samuel, R. O'Hara, Meyer, S., Rao, S., Mertens, P. P. C. (2004). Дебелите линии между серотиповете показват силна антигенна връзка, установена чрез плаковоредукционния метод. Тънките линии изразяват слаби кръстосани хетеротипови реакции, получени в теста на кръстосана протекция. С пунктираните с точки се подчертават много слабите антигенни взаимоотношения между отделните серотипове. Както се вижда от представената илюстрация единствено серотипове 24, 14 и 15 са изключени от групиране в „нуклеотипове“.

Днес е установено със сигурност, че това групиране съответства на по-високи или по-ниски нива на аминокиселинна и нуклеотидна идентичност или хомоложност на вирусните серотипове, подсказваща по-тясната или по-далечната им филогенетична взаимовръзка. Наред със силно вариабилните са установени и няколко дискретни, високо консервативни участъци на тези нуклеотидни последователности и аминокиселини.

Синият език, като инфекциозно, но неконтагиозно трансмисивно заболяване се разпространява между чувствителните животни посредством серия от ухапвания от кръвосмучещи насекоми от род *Culicoides* (*Diptera: Ceratopogonidae*). **От известните на науката над 1400 вида куликоиди, само няколко десетки могат да пренасят вируса на синия език.** В различните региони на света част от тях са се адаптирали към определени вирусни щамове и са означени като главни или компетентни вектори в разпространението на болестта. Другите куликоидни видове играят ролята на спомагателни в осъществяването на епизоотологичната верига от заразявания поради ниската си степен на инфектираност. По неизвестни засега причини, те могат да се превърнат в основни (компетентни), с което коренно да се измени епизоотологичната ситуация на дадени региони или континенти. Такъв е примерът с епизоотията от син език в Западна Европа през 2006 г.

Инфекцията от син език не се предава вертикално от родителите на дъщерното поколение куликоиди посредством яйцата. Това означава, че всяко ново дъщерно поколение е стерилно по отношение на вируса. Женските екземпляри, когато настъпи тяхната зрялост да снасят яйца, задължително трябва да смучат кръв. Чрез акта на кръвосмучене става предаването (инокулирането) на инфекциозен вирус от болни към чувствителни здрави животни. Един жизнен цикъл на куликоидите трае около 23-25 дни, като се започне от яйце, ларва I-IV стадий, пупа до възрастно насекомо. Този цикъл е значително по-скъсен напролет, когато се развива първото поколение куликоиди. Обикновено те презимуват като ларви и по-рядко като яйца, с което този цикъл се скъсява. Затова и епизоотичният процес на дадена територия, когато няма силни ветрове, които механично да пренасят куликоидите на по-големи разстояния, се развива вълнообразно, следвайки естествения жизнен цикъл и активност на векторите със скорост около 15-20 km за една седмица.

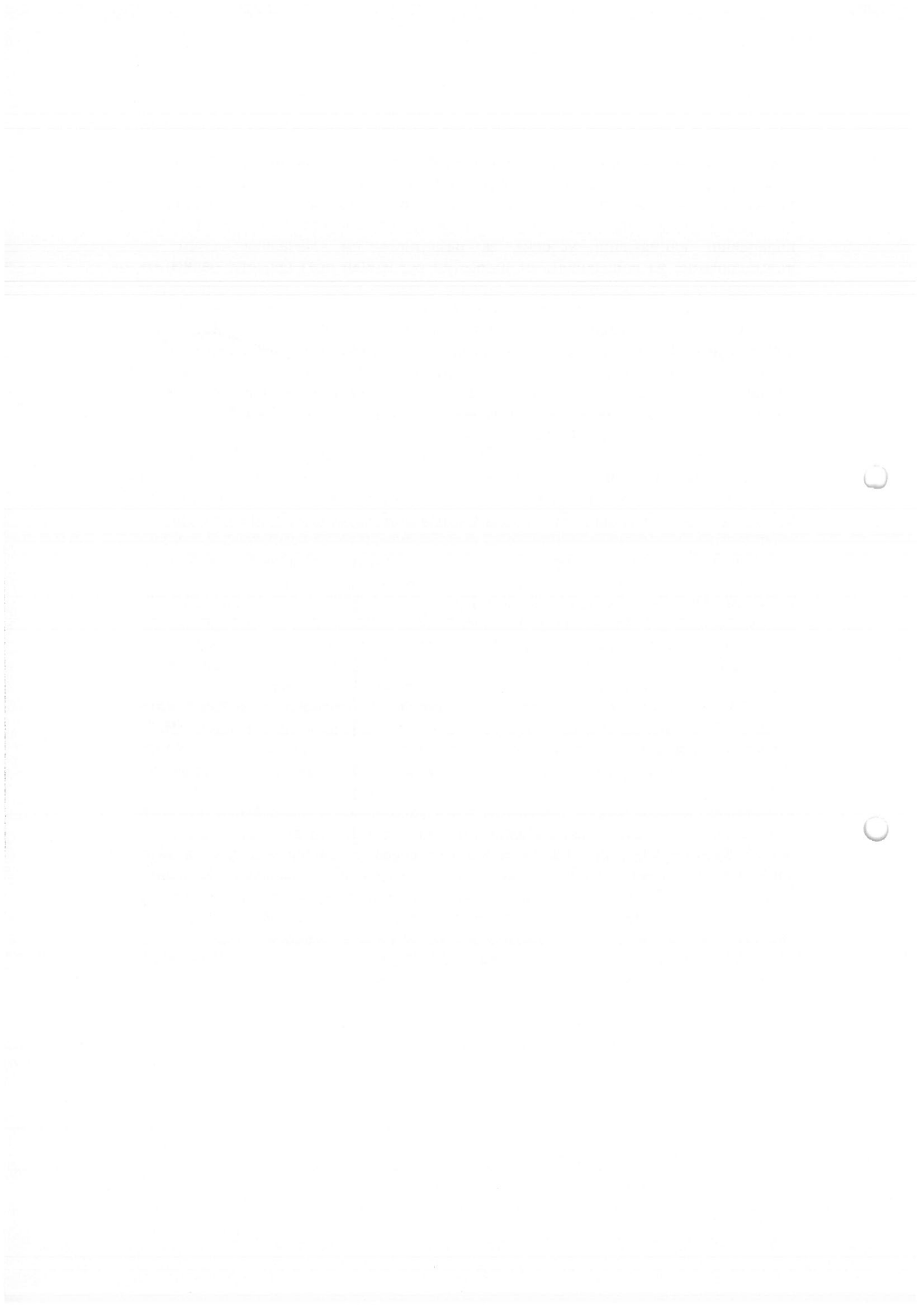
Отчитайки влиянието на климатичните фактори и по-детайлно температурата на околната среда, следва да се отбележи, че тя модулира повечето

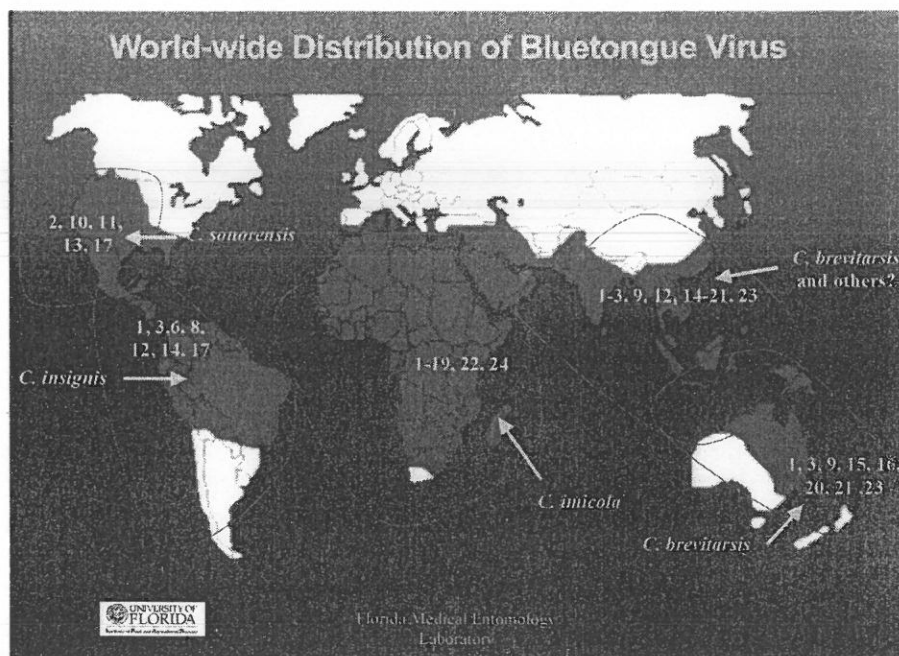


етапи от жизнения цикъл на куликоидите (Mellor, P.S., J. Boorman & Baylis, M., 2000) и Wittmann, E.J. & Baylis, M., 2000). В умерените географски ширини студената зима или горешото и сухо лято могат чувствително да редуцират векторната популация, независимо че в останалите периоди на годината има подходящи климатични условия за развитието им. Началният старт на възстановяване на популацията от възрастни куликоиди през пролетта зависи от съотношението на преживяемост на ларвите и яйцата. Средно дневни температури от $>12.5^{\circ}\text{C}$ благоприятстват появата и поддържането на популацията от *C. imicola* (Paul, E., J. Gibbs & Greiner, E.C., 1994), Wittmann, E.J., Mellor, P.S. & Baylis, M., 2001). Най-добрите условия за развитие на *C. imicola* се наблюдават през лятото/есента при наличие на средно дневни температури от $25-30^{\circ}\text{C}$. Те са най-активни в границите $18-29^{\circ}\text{C}$ при залез и изгрев на слънцето. Температурата също директно влияе на компетентността на векторите Mellor, P. S. (1990), Mellor, P. S. Rawings, P., Baylis, M. & M.P. Welibi (1998).

За една година в Тропика могат да се продуцират до 9 генерации куликоиди, а в страните на умерения климат значително по-малко (от 3-5), в зависимост от конкретните климатични и екологични особености (температура, влажност, биотопи и др.). Те са пряко отражение на екологичните фактори на екосистемите в местата за обитаване на куликоидите. ВТV се намножава за 6-8 дни в слюнчените жлези на векторите, където достига високи инфекциозни стойности. След този период вирусът може да бъде предаван на другите чувствителни животни чрез процеса на кръвосмучене. При така отчетения механизъм на развитие на куликоидите и предаването на инфекцията става ясно, че за появата на инфектирани популации от мокреци при старта на епизоотичната верига от заразявания са необходими около 20-25 дни, като се отчита, че от яйцата до образуването на възрастните насекоми са необходими около 15 дни.

Куликоидите са разпространени по целия свят с изключение на Хавайските острови, Нова Зеландия и най-южните части от Американския континент. Най-известен и най-широко разпространен куликоиден вид в света е *C. imicola* Keifer (Фиг.20), по името на откривателя си. Той обитава цялата територия на Африканския континент и повечето южни части на редица европейски страни от Средиземноморския басейн. Освен това той е установен в Близкия Изток и Азия в страни като Лаос, Шри Ланка, Индия, Виетнам, Лаос и Тайланд. Счита се, че *C. imicola* Keifer е добре адаптиран към околната среда, култивирана от човека, като ларвите му се развиват еднакво добре в гниещи органични материали на пасищата (фекални маси), бавно течащи води по реките и отходните иригационни системи на полетата. Ларвите на *C. imicola* Keifer не флотират, както на *C. obsoletus* sp. и *C. pulicaris* sp., затова този куликоиден вид се развива в повърхностния слой на почвата, във фекалните маси, а съвременното модерно земеделие с капковите си технологии на напояване е особено благоприятен за неговото развитие.

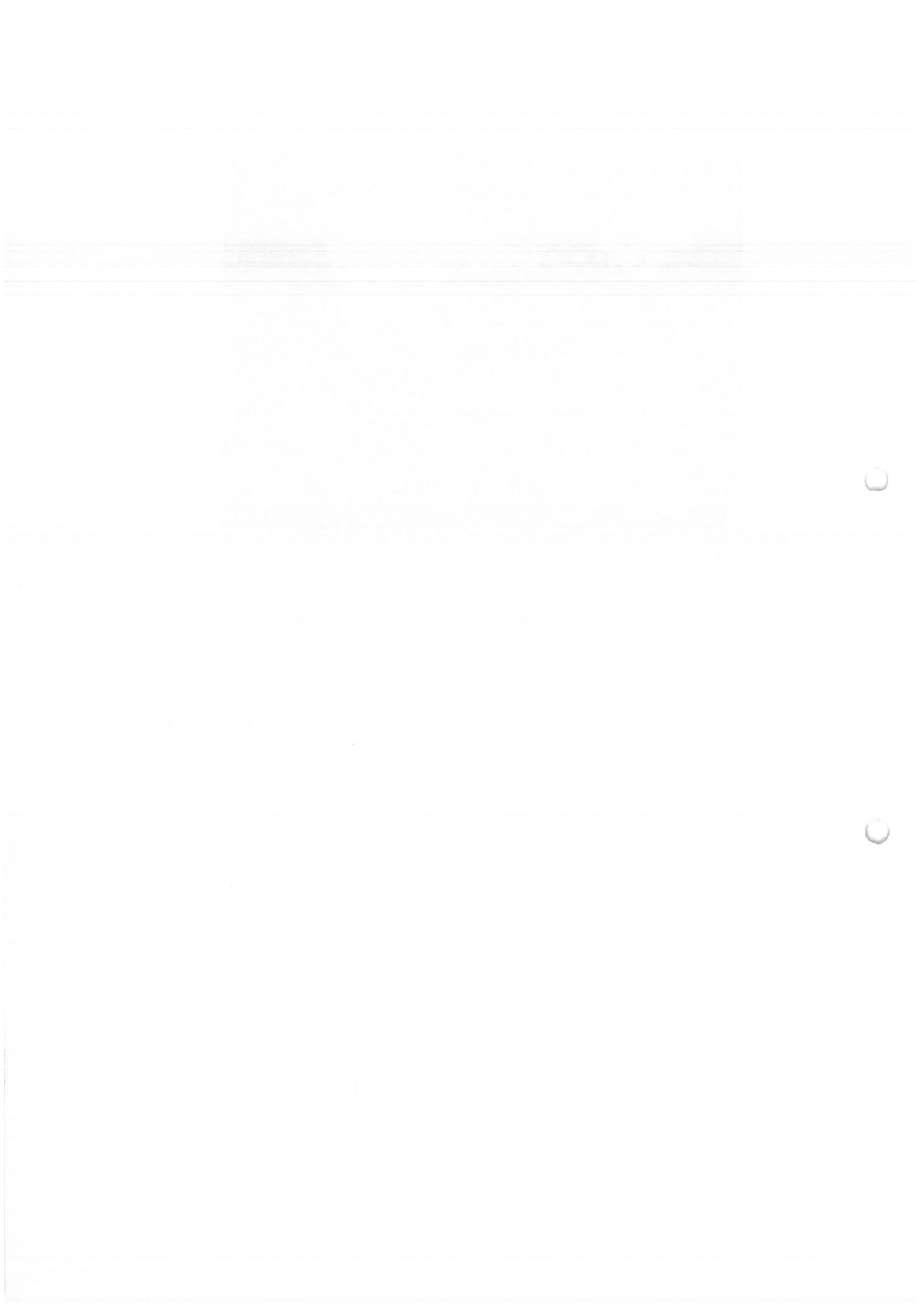




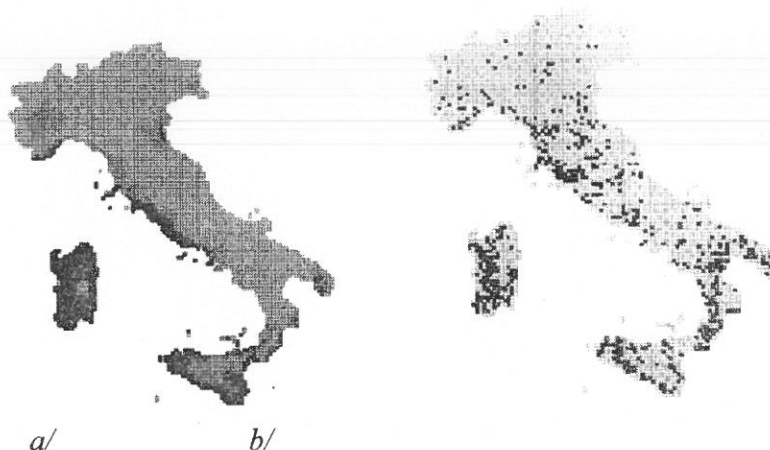
Фиг. 5. Разпределение на BTV серотиповете и техните компетентни куликоидни вектори по континенти и региони в света (по Tabachnick W.J., 2004)

В световен мащаб, компетентните куликоидни вектори са различни за различните континенти и региони, а така също и тази им способност е относителна спрямо циркулиращите на терена серотипове вируси на синия език. Както се вижда от представената схема на Фиг.5 за Северна Америка, основен (компетентен) вектор там е *C. Sonorensis*. За южните щати на САЩ - Ню Мексико, Тексас, Луизиана и Флорида, компетентен вектор е *C. varipennis*, а за Южна и Централна Америка - *C. insignis*. В Океания и Югоизточна Азия – най-разпространени са *C. imicola* и *C. brevitarsis*, а в Австралия - *C. brevitarsis*.

От друга страна, разпространението на *C. imicola* може да бъде твърде лимитирано от околната температура, количеството на валежите и другите климатични особености на съответната географска ширина или релефа на местността, както и вида, произхода и състава на почвите (Фиг.6). Така о-в Сардиния и о-в Сицилия коренно се различават по разпространението на *C. imicola* sp.



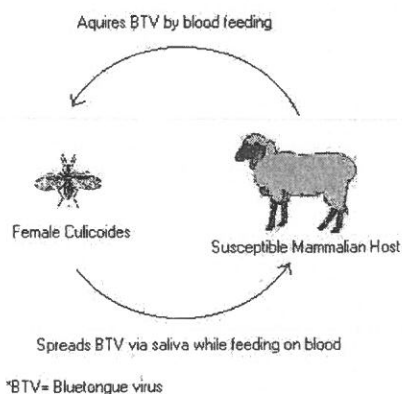
Фиг.6. Распространение на *C. imicola* sp. в Италия (по Purse, V.P. и сътр., 2004)



- a/ Предсказани места за обитаване от *C. imicola* sp.
 b/ Резултати от уловите през сезон 2002-2003 г.

Твърде слабото разпространение на *C. imicola* на о-в Сицилия най-вероятно се дължи на вулканичния произход на почвите, въпреки сходните климатични особености и релеф на двата острова (Purse, V.V., и сътр. 2004, Purse, V.V., и сътр. 2005). *C. imicola* регулярно се установява по островите в Егейско море, но липсва на о-в Крит (Patakakis, M. 2002 - устно съобщение), вероятно по същата причина.

В САЩ и Канада най-разпространени вектори на BTV са *C. sonorensis* и неговия вариант - *C. varipennis*, а в Централна и Южна Америка - *C. insignis*. Степента на инфектираност на *C. varipennis* с вируса на синия език достига до 51.6% при изкуствено захранване с инфектирана кръв на мембрана. В Австралия най-висока степен на заразеност е установена с BTV-20 при *C. fulvus* - 62%, следван от *C. wadai* - 11%, *C. actoni* - 2% и *C. brevitarsis* - 0.3%.



Фиг. 7. Схема, показваща начина на предаване на BTV инфекцията от векторите към чувствителните животни (по Purse, V.V. и сътр., 2005)



За осъществяването на ефективен цикъл на заразяване трябва да съществува източник на зараза (виремични животни, т.н. „кръвна банка“), чувствителни възприемчиви животни и компетентен вектор (Фиг.7). Съгласно представената схема възрастните компетентни куликоиди поглъщат кръв чрез ухапване на виремични животни и след размножаване на вируса в слюнчените им жлези при последващи ухапвания, те го пренасят на следващи чувствителни индивиди. Тук следва да се отбележи, че едрите преживни животни (домашни и диви) играят ролята на основна „вирусна банка“ поради факта, че при тях виремичният период е най-дълъг и наличието на къса космена покривка, осигуряваща по-лесен достъп на куликоидите при ухапване. Този процес се влияе от температурата на околната среда, от влажността на въздуха и други климатични фактори и от компетентността на векторите. Ниската степен на инфектираност в популацията от куликоиди може да бъде компенсирана с увеличаване на броя им на единица площ (плътност на векторите), както и на увеличаване на възможностите за многократни контакти и ухапвания на чувствителните животни.

Куликоидните вектори са древни насекоми, еволюирали значително по-дълго от преживните животни и притежават сравнително къс популативен период на развитие (20-25 дни, започвайки развитието си от яйце, ларва, пупа, възрастно насекомо), като за един сезон се осъществяват от 5, 6 -10 цикъла на развитие, което е условие за по-добра адаптативност и пластичност в условията на промени в екосистемите, Това им дава голямо предимство да реагират на промените в околната среда и екосистемите и то със значителна устойчивост в извършването на еволюционните процеси. Процеси, които ентомолозите до скоро пренебрегваха и не познаваха в подробности. Главно внимание се обръщаше на създаването на основи за тяхното определяне, идентификация, сезонна динамика, дневна активност, преобладаване на видовия състав, плътност на популацията и т.н.

След извършването на няколко годишни прецизни проучвания се установи, че разширяването на територията, обитавана от вектора *C. imicola* Keifer комплекс в Европа едва достига 46° N (Южна Швейцария) и с това не може по никакъв начин да обясни експанзията на синия език в последните години в Европа.

Предаването на вируса на синия език в Европа от друг(и), различен(и) компетентния *C. imicola* Keifer вид за Северна Африка и Средиземноморския басейн се подозираше отдавна. Пример за това бе безпрецедентната епизоотична вълна на Балканите в периода 1998-2001г. Преди това Mellor и Pitzolis 1979 изолираха BTV от популации женски мокреци от *C. Obsoletus* на О-в Кипър и с това показаха, че някой от палеарктичните („европейските“) куликоидни видове също могат да подържат и пренасят вируса на синия език. По-късно, по време на епизоотията от син език през 2002 г. в Централна Италия вирусът на синия език бе изолиран от мокреци *C. obsoletus* Scoticus Downes и Kettle (Savini G. и сътр. 2005) и на о-в Сицилия от женски екземпляри от *C. pulicaris* Linacus (Caracappa S. и сътр. 2003).

При епизоотията от син език в западна Европа единия от видовете куликоиди, в който вирусът на синия език BTV-8 серотип бе доказан чрез RT-PCR, а в следствие бе изолиран принадлежи към *C. obsoletus* Mengen Complex беше *C. dewulfi*. Той обитавана и се развива добре, както в екосистеми с ферми, населени от

крави, така и от кози и овце. Следва да се отбележи, че *C. obsoletus* (*C. dewulfi*) е широко разпространен до 72° N Северна ширина, притежава висока плътност на популацията като е преобладаващ вид в уловите във всички засегнати страни. Развива се в говежда и овча тор.

C. obsoletus Menges комплекс е значително по-устойчив в околната среда и има редица особености, различни от тези на *C. imicola* Keifer комплекс. За разлика от *C. imicola*, който изисква минимална средно дневна температура от 12,5°C за да осъществява ефективни ухапвания, *C. obsoletus* е ефективен при температури с 3-4 °C по-ниски.

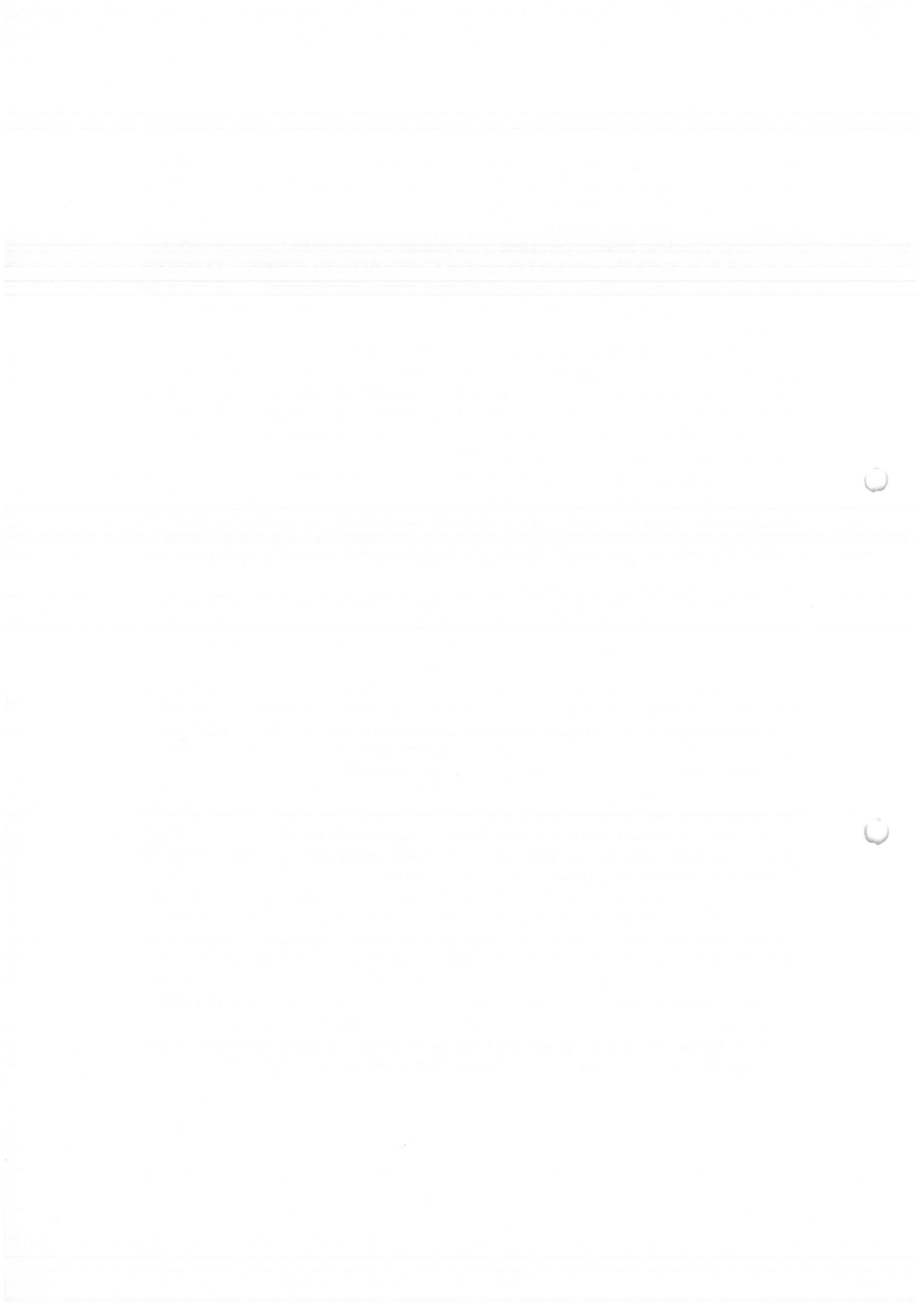
През 2007г. при лабораторно изследване в Холандия на улови от *C. obsoletus/C. scoticus* бе доказано, че са RT-PCR+ за генома на BTV-8. Този факт показва, че вече не само един куликоиден вид е въввлечен в епизоотологията от синия език. След доказването на BTV в *C. obsoletus* и *C. pulicaris* в Сицилия и Южна Италия през 2003 г., днес установените компетентни куликоидни вектори в палеарктичното пространство на Европа станаха 3.

Появата отново на заболяването син език след зимата на 2006/2007 г. и преживяването на инфекцията от един сезон в друг постави с огромна острота кардиналния въпрос: какви са основните механизми на „презимуване“ на инфекцията от син език в регионите с умерен климат и дали няма някои от изглеждащите до скоро твърде химерични нови хипотези, като тази на Takamatsu и сътр. 2004 да се превърнат в реалност?

Както вече бе отбелязано *C. obsoletus* е значително по-устойчив през зимния период поради факта, че навлиза във фермите и може да презимува там с което скъсява периода на зимната пауза в сезонната си активност (Losson B. и сътр. 2007). Този феномен до значителна степен компрометираща сезонността на заболяването от настъпващото трайно зимно понижаване на температурите, намаляване или прекратяване активността на куликоидните вектори. По този начин паузата в периода на тяхната активност става равен или по-къс от периода на времето при едрите преживни животни (100-105 дни), което дава възможност на вируса на синия език да „преживява“ от един сезон в друг.

Един новооткрит феномен (Desmecht D. и сътр. 2008) даде ново познание за механизма на патогенетично действие на вируса на синия език, като бе установено трансплацентарно (конгенитално) предаване на вируса при говеда. Това откритие доведе до ново революционно разбиране за значението на „скрития“ епизоотичен процес при това заболяване.

Трансплацентарното предаване на синия език при преживните, установено и доказано в периода 2007-2008 г. създава уникалната възможност за прехвърляне на вируса от един сезон в друг по един естествен и „защитен“ от противоепизоотичните мерки път и болестта да се прояви при единични животни чак след 9 месечния период на бременността при кравите. Това е нов мощен епизоотологичен фактор и генератор за разпространение на инфекцията. „Скритият“ интраплацентарен период дава възможност за запазване на вируса на синия език и преживяването му в междуепизоотичните периоди в Северна Европа, която иначе е територия с 4 годишни времена (Фиг. 8).



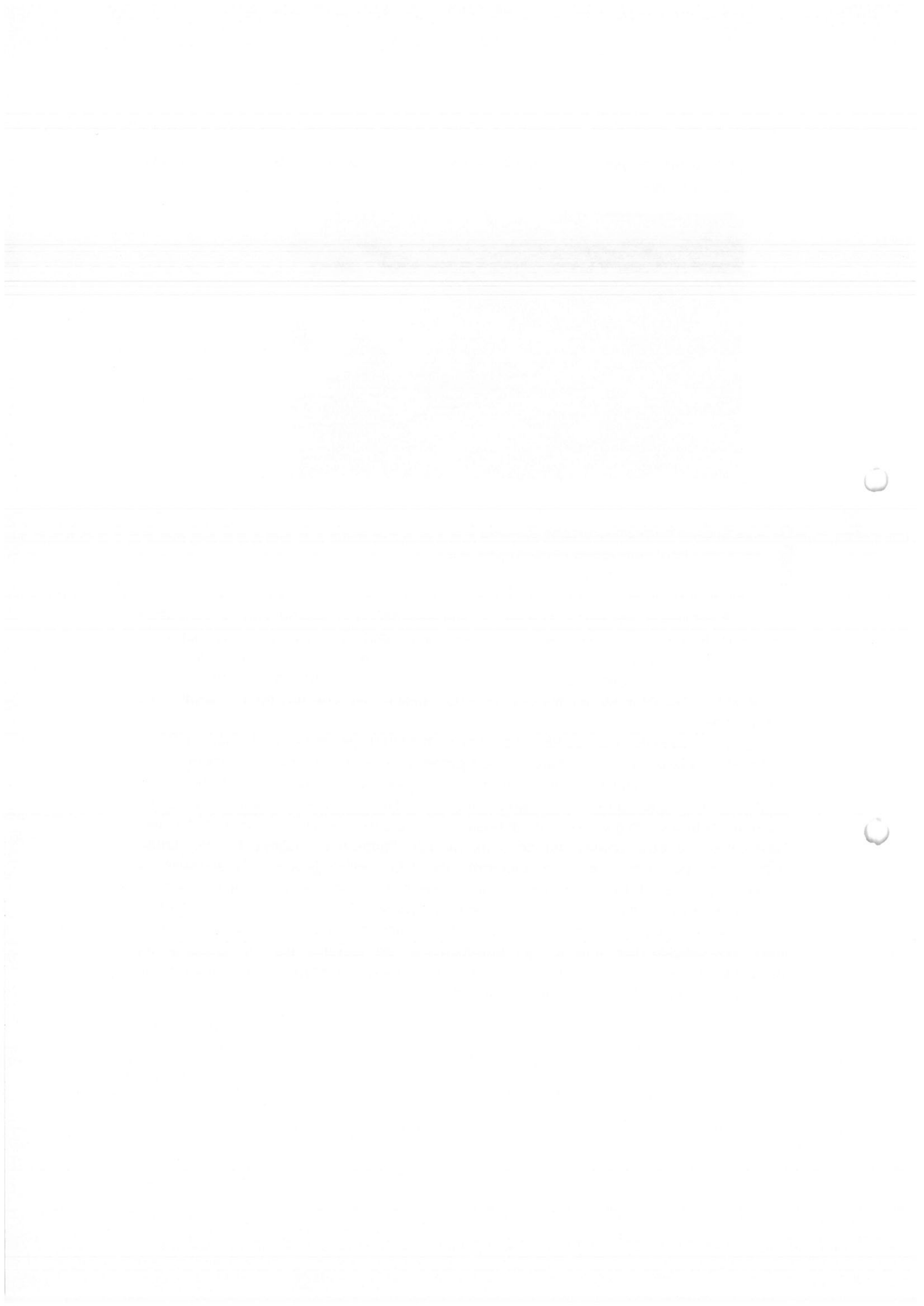
Фиг.8. Климатографски зони на Балканския полуостров и Централна Европа
(www.ecmwf.int)

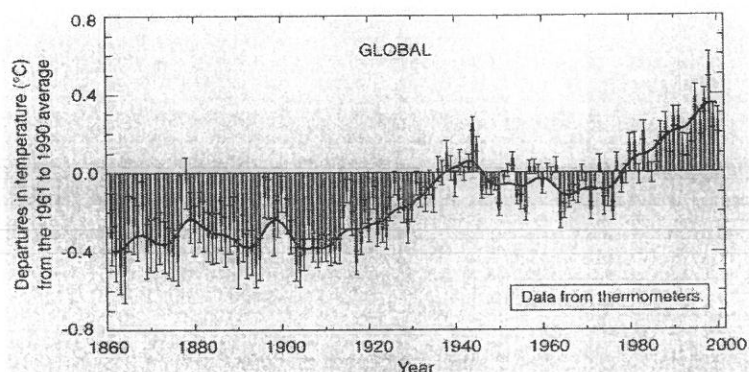


- Средиземноморска климатична зона
- Умерено-континентална климатична зона
- Остро континентална климатична зона

Умереният климатичен пояс се характеризира с четири сезона (годишни времена) и ясно изразена лятна сезонна активност на куликоидните вектори. Значително по-меката зима в страните от Западна Европа позволява в периодите със средна денонощна температура от 8-10°C да се създаде възможност за достатъчна куликоидна активност за поддържане на епизоотичната верига от заразявания.

Повишаването на средногодишната температура се счита за най-важният белег на **глобалното затопляне** и за **промяната на климата на Земята**. Това твърдение се основава на постоянните измервания в последните години. Те показват, че в последните 50 години (Фиг.9) имаме два пика на общия подем на средногодишната температура на Земята. Счита се, че най-важният фактор за това “затопляне” е създаването на условия на т.н. “парников” ефект (“green house effect”) в резултат на натрупването на CO² атмосферата. Промените в климатичните фактори със засилване затоплянето климата на Земята в момента се моделират и прогнозира от мощни научни центрове. Прогнозата за следващите 50 години е, че средногодишната температура на Земята може да нарасне с 4-7°C. Това неминуемо ще доведе до **удължаване на сезона на активността на куликоидните вектори** за сметка на намаляването и скъсяването на зимния сезон в умерените географски региони на Европа.

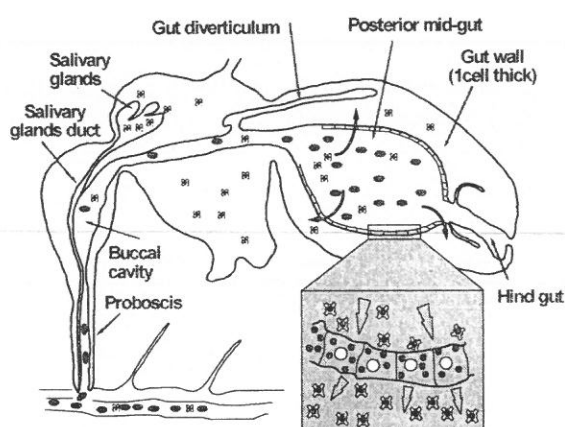




Фиг. 9. Тенденция за повишаване на средногодишната температура на Земята, съгласно резултатите от 140 годишното и регистриране (по Purse V.V. и сътр., 2005)

Възприемането на подхода “wait and see”, т.е. изчакването с прилагането на ваксина в засегнатите страни през периода 2006-2008 г. до получаването на достатъчни количества инактивирана ваксина за син език серотип 8 доведе до генериране на огромни количества вирус сред чувствителни преживни животни с много висока концентрация и всичко това бе практически на фона на липсата на ефективна борба с векторите-преносители. Нищо или практически нищо не се правеше за борба с векторите и техните биотопи във връзка с криворазбраната опасност от разрушаването на естествените екосистеми при широкото използване на инсектицидни препарати. Това вероятно спомогна от една страна за разширяване на способността за пренасяне и адаптиране на вируса на синия език към други куликоидни видове и от друга, до увеличаване на пропорцията на векторите, способни да пренасят вируса на СЕ.

Фиг. 10. Схема, показваща тъканите и органите на *Culicoides sp.*, които участват в развитието и намножаването на ВТВ в стомашно-чревния тракт и слюнчените жлези на инсектите (по Mellor, 2004)



В последните години за определянето на векторния **капацитет** и **компетентност** се използва една на пръв поглед сложна формула, която отразява баланса между генетично зависимата способност на куликоидите да генерират в

себе си и в последствие да пренасят вируса на синия език на чувствителните животни – гостоприемници с отчитане влиянието на факторите на околната среда върху този феномен, където:

$$C = \frac{ma^2 Vp^n}{-\ln_e p}$$

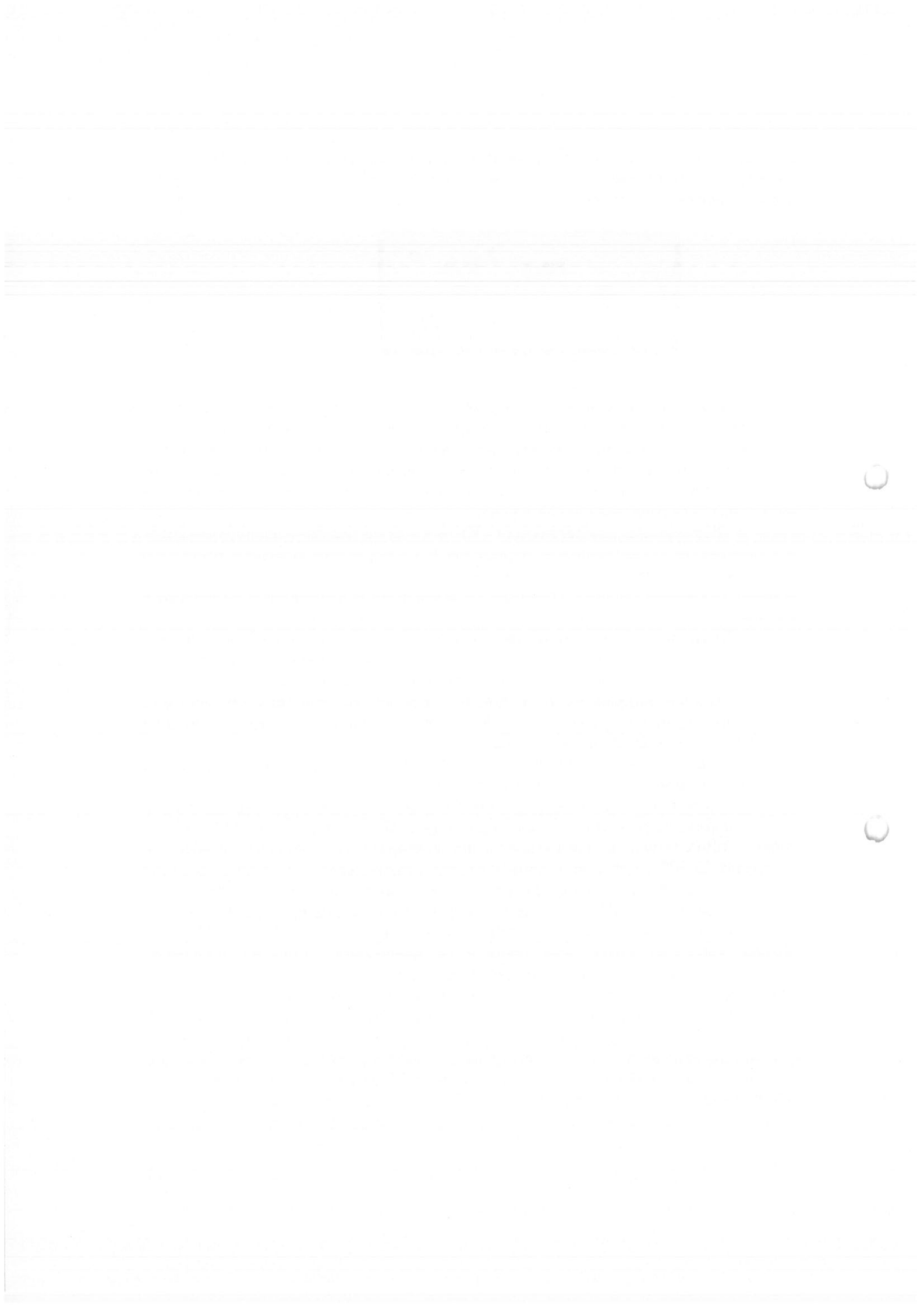
Векторният капацитет (C) може да бъде определен като брой на успешните ухапвания (ma), които инфектираният вектор предизвиква по време на своя живот (2-4 седмици). За тази цел се отчита броя на куликоидите, които посещават един гостоприемник (m), броят на кръвосмученията, осъществени от гостоприемника за един ден – ma . Пропорцията на векторите, способни да пренасят вируса на СЕ се означава като biting rate.

Векторната компетентност (V) може да се изрази в пропорция между векторите, които са захранвани с вируса на СЕ в лабораторни условия и тези които поддържат вирусната репликация и го предават след съответен инкубационен период. Тук важен елемент е отчитането на времето за преживяване на вектора в дни (p)

Вътрешен инкубационен период (e) – Времето за размножаване на вируса на СЕ в слюнчените жлези на куликоидния вектор, отчетено от първоначално заразяване до момента на предаване на вируса чрез последващо ухапване.

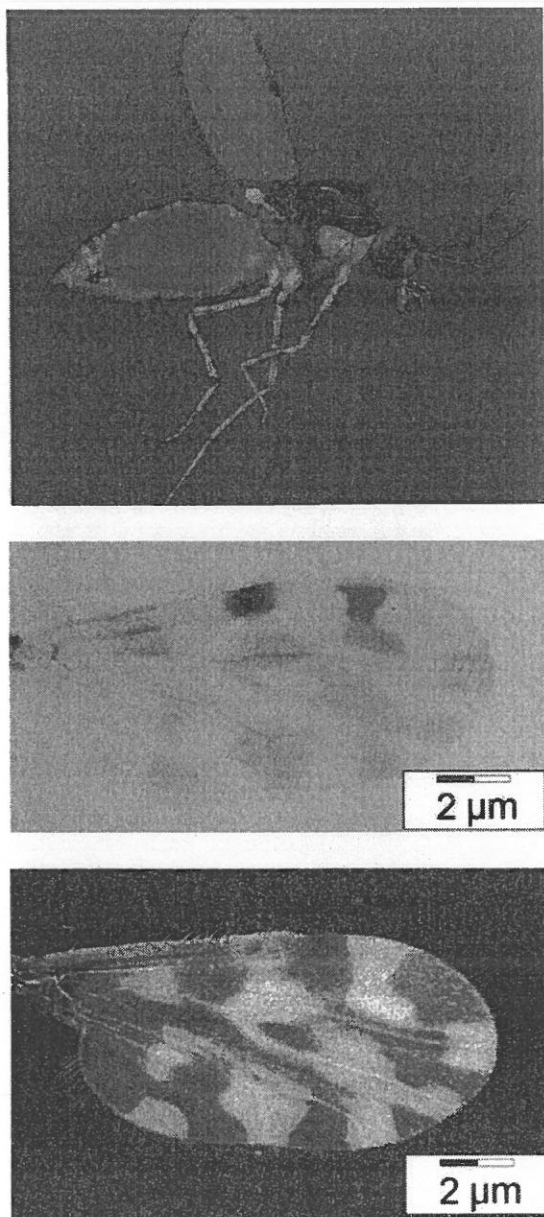
Външен инкубационен период (n) – Времето от момента когато векторът е бил инфектиран и времето, когато той започва за първи път да предава вируса на чувствителните животни чрез ухапване.

За да се осъществи ефективен цикъл на предаване на вируса на синия език е необходимо компетентен възрастен екземпляр от *Culicoides sp.* да се храни с кръв от виремично, заразено животно (Фиг.10). По време на периода на снасяне на яйца куликоидите се хранят с кръв всеки 3 дни. При по-високи от 12,5°C средно дневни температури компетентността на векторите се повишава, особено в интервала 25-30°C. Известно е допълнителното размножаване на вируса на синия език в слюнчените жлези на куликоидите. Това се дължи на факта, че активността на РНК-зависимата РНК полимераза на вируса е оптимална при температура 28-29°C и се инхибира под 10°C (Van Dajjk, A.A. и Huismans H., 1982). За *C. obsoletus* Menges комплекс, обаче тези граници са значително по-ниски. По-ниският векторен капацитет на куликоидите може да се компенсира от множествеността и броя на ухапванията (Purse, V.V. и стр., 2005). Проучването на куликоидната фауна у нас започна в началото на 80-те години на миналия век. Глухова, М. и Н. Неделчев, (1981) и Диловски, М. и сътр. (1992) доказаха присъствието на 29 куликоидни вида на територията на страната. По-късно, в резултат на целенасочени проучвания този брой нарасна на 34 (Неделчев Н. 2013). Не бе установен основният куликоиден вектор за Северна Африка и част от Средиземноморието - *C. imicola* Keifer. В България преобладават комплексите *C.obsoletus* и *C.pulikaris*. Изучена бе



сезонната динамика и дневната активност на куликоидите и видовете, които могат да бъдат потенциални преносители на вируса за нашите географски ширини.

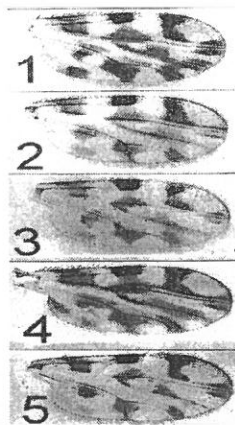
Фиг. 11. *C.imicola* Keifer и Характерната окраска на крилата (по Capela R. и сътр. 2003)



Характерната окраска на крилата на *C. imicola* Keifer е видов белег (Фиг.11). С помощта на определител под стереоскоп е възможно идентифицирането на целия видов комплекс на тази група куликоиди. Заедно с още

няколко много сходни по окраската на крилата си видове, разпространени в Африка те образуват *C. imicola* Keifer комплекс (Фиг.12)

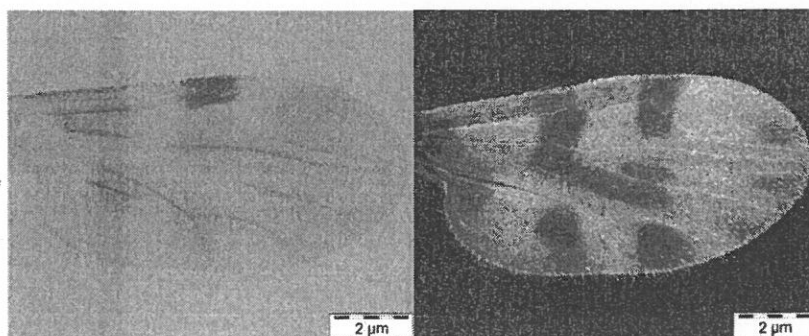
Фиг. 12. Особености в окраската на крилата на *C.imicola* Keifer комплекс (по Meiswinkell R. и сътр. 2004)



Комплексът на *C. imicola* Keifer включва следните куликоидни видове: 1. *C. imicola* Keifer, 2. *C. bolitinos*, 3. *C. loxodontis*, 4. *C. miombo* и 5. *C. tutifruti*.

Подобно на *C. imicola* Keifer комплекс и другите два основни представители на т.н. палеарктични или афро-азиатски видове *C. obsoletus* sp. (Фиг. 13) и *C. pulicaris* sp. (Фиг. 14) също са представени от групи много сходни видове, образуващи комплекси. В групите или комплексите на *C. obsoletus* Linnacus Complex и *C. pulicaris* Mengen комплекс съществуват слаби различия в окраската на крилата и диференцирането на индивидуалните подвидове се извършва от опитни специалисти-ентомолози.

Фиг. 13 Характерна окраска на крилата на *C.obsoletus* sp. (по Capela R. и сътр. 2003)

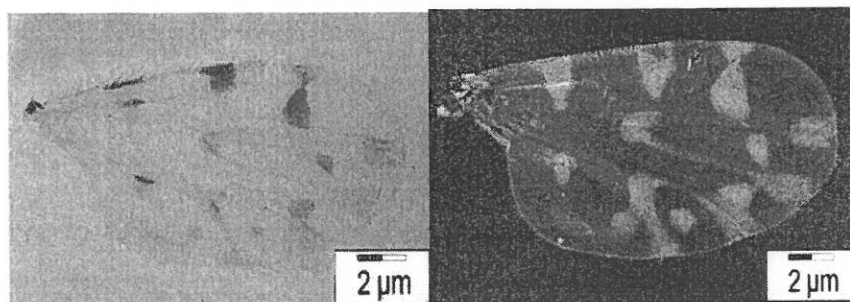


C. obsoletus Mengen комплекс (Mellor, Ph. & E. Wittmann, 2002) е космополитно разпространен на север до 70°N. В Европа заедно с *C.pulicaris* Linnacus комплекс той е един от най-често срещания и преобладаващ в уловите куликоиден вид. От дълго време *C. obsoletus* sp. е подозиран като преносител на вируса на синия език в Европа. В Кипър той е изолиран от този вид от Mellor, Ph. и



Pitzolis, 1979 г., а вируса на АНС в Испания от смесени пулове от *C. obsoletus sp.* и *C. pulicaris sp.* (Mellor, Ph., и сътр. 1990). Този научен факт е косвено указание, че ВТВ и АНСВ могат понякога да използват едни и същи куликоидни вектори за разпространение. През 2003 година ВТВ бе изолиран от *C. obsoletus sp.* в южна Италия (Savini, J. и сътр. 2003), където епизоотията от син език се развиваше в региони с отсъствие на *C. imicola* Keifer комплекс.

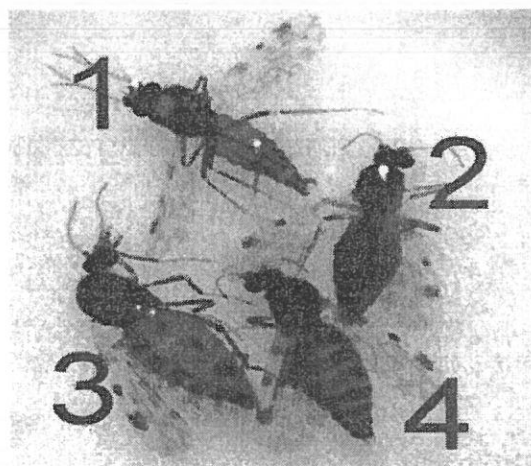
Фиг. 14. Характерна окраска на крилата на *C. pulicaris sp.* (по Capela R. и сътр. 2003)



C. pulicaris Linnacus комплекс е другата, най-широко разпространена група куликоидни вектори в Европа. Този комплекс също е космополитно разпространен. През 2003 година ВТВ бе изолиран на о-в Сицилия от заразени *C. pulicaris* (Carasarra и сътр., 2003, Savini J. и сътр., 2003.) екземпляри.

В научната литература съществуват, макар и ограничени данни за участието и на други кръвосмучещи паразити в епизоотологията на синия език. Като най сигурни се считат овчата муха (*Melophagus ovis*) и някои кърлежи от род *Rhipicephalus*. Тяхното значение за епизоотологията на заболяването обаче е нищожна на фона на куликоидните вектори, тяхната способност да летят (700 - 1000 m собствен летеж), а при наличие на ветрови потоци – десетки километри, огромното и изобилното им количество на единица площ и множествеността на ухапвания. От възрастните куликоидни екземпляри, женските индивиди (Фиг.15), чрез акта на кръвосмучене имат най-голямо значение за епизоотологията на синия език.

Фиг. 15. Възрастни куликоиди в различен стадии на развитие и физиологично състояние и значението им за епизоотологията на синия език (по Meiswinkell R. и сътр. 2004)



1. Nuliparous- женски, които не са пили кръв и не са снесли
2. Blood feed - женски, които са пили неотдавна кръв
3. Gravid – женски, които съдържат порции узрели яйца
4. Parous – женски, които са пили кръв и са снасяли най-малко веднъж (розов абдомен)

В светлината на дългосрочните климатични проучвания и прогнози, които се правят в момента през настоящето столетие до 2050 година се очаква чувствително затопляне на световния климат. Мощното индустриализиране, замърсяването на околната среда, глобалната автомобилизация и изхвърлянето в атмосферата на огромни количества CO_2 водят до образуването на т.н. „парников” ефект на планетата. Това води до постоянно нарастване на средногодишните температури, намаляване размера на ледниковите „шапки” на полюсите, намаляване на глетчерите във високите части на планините, в Гренландия и общо затопляне на климата на Земята.

До този момент инфекции с вируса на синия език се наблюдават в Африка, Азия, Австралия, Южна и Северна Америка, Европа, както и редица острови в Субтропика и Тропика. Свободни от син език са главно онези територии, където липсват вектори-преносители – Патагония и Огнена Земя, Нова Зеландия, Хавайските острови, най-южните и най-северните арктически и антарктически части на света. Затова определението, че синият език е световен и глобален проблем, днес не буди никакво съмнение.

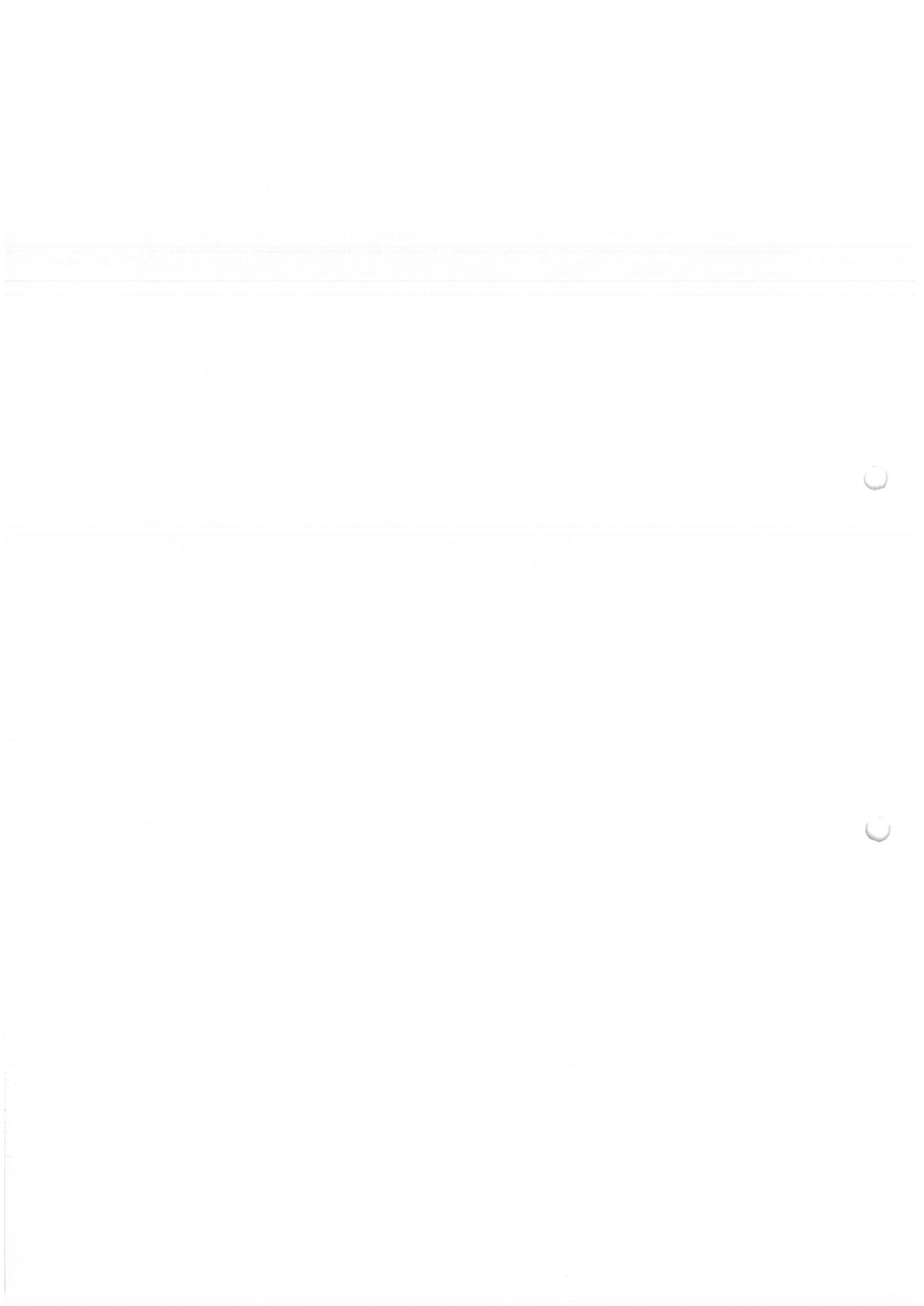
За първи път инфекцията от син език е регистрирана извън Африка на остров Кипър от Gamble през 1941 година, а по-късно в Израел, Сирия, Турция, Пакистан, Индия, Португалия и Испания (1956-1957г.), Перу, Австралия, Южна и Централна Америка, САЩ и Канада. След 1998 год. в Европа бе регистрирана безпрецедентна епидемия от син език, причинена от 6 серотипа на вируса на

синия език, която обхваща 12 държави и навлезе 800 км на север в територии на Балканите, Централното и Западното Средиземноморие, Иберийския П-в на Европа (Mellor & Wittman, 2002; Purse, B.V. и сътр., 2005). Тези серотипове на вируса на синия език бяха установявани в Европа почти едновременно или последователно от запад и изток. Тази поява бе провокирана вероятно от последните промени в климата на Европа, което вероятно е повлияло и върху персистирането и преживяването (“overwintering”) на вируса на синия език през зимата. Експанзията на север извън ареала на най-стария световен вектор на синия език *Culicoides imicola* Kieffer, означава че трансмисията на вируса на синия език се осъществява и от местни европейски видове *Culicoides sp.*, което увеличава риска от предаването му във все по-големи географски региони (Purse, B.V. и сътр., 2005).

От литературата е известно, че заболяването син език по преживните животни в регионите с умерен климат има **ясно изразен сезонен характер**, който съвпада с периодите на усилено летене на куликоидните вектори – преносители на вируса (Mellor, P.S. 1992, Sellers, R.F. и Mellor, P. S., 1993). Освен това то силно се влияе от природно-климатичните фактори на терена, обусловени от честотата и количеството на валежите, релефа на местността, състава на почвите и надморската височина. До скоро се смяташе, че синия език е географски строго ограничен между 35°S паралел на юг и 40°N паралел на север от Екватора (Mellor, P.S. 1992, Sellers, R.F. и Mellor, P. S., 1993), (Paul, E. J. и сътр., 1994). За района на Северна Африка и Средиземноморието тази географска ширина се свързваше с най-северните точки, където все още можеше да се докаже преди 2000-а година обитаването на основният куликоиден вектор *C. imicola* Keifer - преносител на вируса (Фиг.11.). След 2000-а г., когато по неоспорим начин бе доказана възможността на куликоидните комплекси от *C. pulicaris* Linacus комплекс и *C. obsoletus* Menges комплекс също да бъдат ефективни вектори на ВТВ, ареалът на разпространение на болестта бе разширен и увеличен.

Gibbs, E.P.J и Greiner E.S. (1988) идентифицираха 4 зони на разпространение на синия език по света. **Ензоотични** са зоните, в които синия език е трайно вкоренен и може да се проявява целогодишно. Региони, където заболяването се появява през няколко години, се считат за **епизоотични**. **В зоните, където заболяването е само спорадично, то се нарича екзотично (incursive).** Такова е **определението за синия език в България** Накрая са свободните зони, където заболяването син език никога и все още не е наблюдавано.

Mellor, P. S. (1993, 2004) анализира климатичните условия необходими за презимуването на ВТВ в куликоидните вектори в различните части на света. Анализът, който се основава на измерване на куликоидната активност и преживяемост на видовете *Culicoides sp.* показва, че за преживяването им през зимата е необходима средно дневна температура от >12.5°C. Установено е още, че яйцата на *C. imicola* могат да преживеят два месеца при температура под 6°C, а възрастните *C. imicola* - до 2 седмици при температури от 1.5°C. Те умират за 1 седмица, когато температурите са близки или под 0°C. За да се осъществи ефективен цикъл на предаване на вируса на синия език, е необходимо компетентен възрастен екземпляр от *Culicoides sp.* да се храни с кръв от виремично, заразено с вируса животно. При по-високи от 12,5°C средно дневни температури



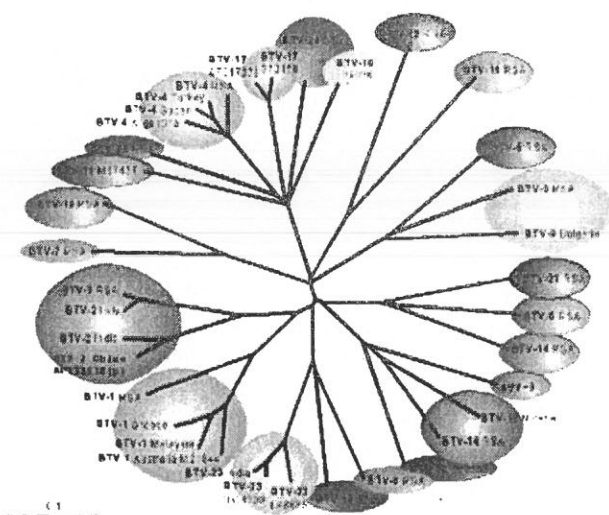
компетентността на векторите се повишава, особено в интервала 25-30°C. Известно е допълнителното размножаване на вируса на синия език в слюнчените жлези на куликоидите. Днес със сигурност се знае и факта, че активността на РНК-зависимата РНК полимераза на вируса на синия език е оптимална при температура 28-29°C и се инхибира под 10°C (Van Dijk, A.A. и Huismans H., 1982). Затова пък по-ниската компетентност (инфектираност на екземплярите, способни да пренасят вируса на синия език в популацията от куликоиди), се компенсира от множествеността им и броя на ухапванията (Purse, B.V. и стр., 2005). Вероятно такъв механизъм на предаване се реализира, когато болестта син език се проявява в територии, в които отсъства *C. imicola Keifer Complex* (Mellor, P.S. и E. Wittmann, 2001, Mellor, P.S. и E. Wittmann, 2002, Baylis, M. и сътр., 2001)

В последните години се наблюдава разширяване на ареала на обитаване на *C. imicola* Keifer комплекс, като това се обяснява с промените в климатично-географските елементи и затоплянето на климата. Модерното земеделие, естественото торене на пасищата и въвеждането на капковите технологии за напояване и модерните иригационни системи също спомагат за разширяване ареала на обитаване на *C. imicola* поради факта, че неговите ларви не флотират, а се размножават във влажни почви, гниеци органични материали и фекалните маси.

В световен мащаб съществува известно разпределение и преобладаване на циркулиращите серотипове на вируса на синия език. **Единствено в Южна Африка се срещат всичките 24 серотипа на вируса.** В Централна и Северна Америка основните векторни системи *C. sonorensis* и *C. varipennis* подържат едни или други серотипове, а мощните въздушни течения на основата на ураганите, които са обичайни за Карибския басейн, пасивно пренасят инфектирани инсекти със серотипове 1,3,4,6,6,12 и 17, които се срещат и в САЩ.

В Европа до неотдавна бе известна циркулацията на ВТВ серотип 10 в Португалия и Испания (1956 г.) и **Турция и Гърция (1977-1981 г.) с участието на серотипове 1, 4, 9 и 16.** В последните години обаче циркулиращите вирусни серотипове на синия език в Европа, както вече бе отбелязано нараснаха до 6.

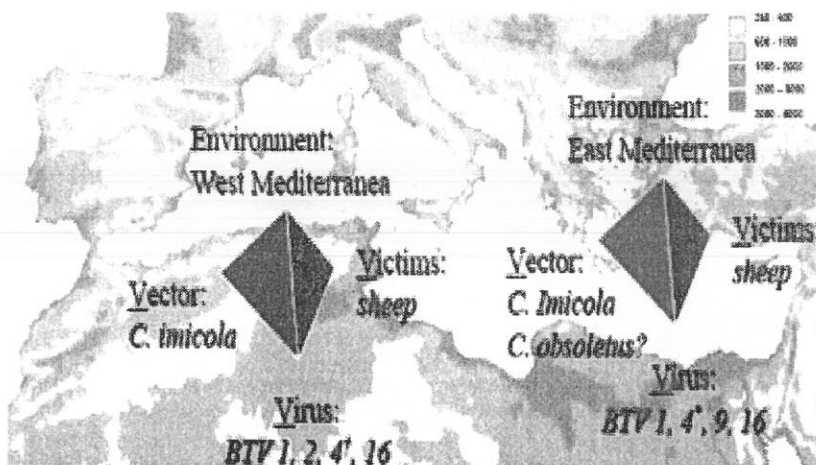
Съществуват известни антигенни връзки между отделните ВТВ серотипове, но те не могат да създават достатъчно силен имунитет, при което са възможни повторни инфекции (реинфекция) с два и повече серотипа на вируса на дадена територия. Такъв феномен се наблюдава в Южна Африка, където, както вече бе отбелязано, се срещат 24 серотипа на вируса. След епизоотията през 2000-та година в Южна Италия (о-в Сардиния), предизвикана от серотип 2 на вируса, през 2002 г. нова епизоотия се разрази с участието на серотип 4, въпреки че в Южна Италия овцете вече бяха ваксинирани с ваксина, съдържаща ВТВ серотип 2. Генетичният секвентен анализ днес дава възможности за най-фино разграничаване на циркулиращите вируси на терена и тяхното определяне без използване на бавните и скъпи методи на ваксинация, последвана от провокация с патогенен вирус и установяване на кръстосана протекция чрез ВНР (Фиг. 16).



Фиг. 16. Дендрограма, показваща антигенните връзки и взаимоотношения между 24-те серотипа на BTV, установени с помощта на молекулярно-генетичните методи (по Mertens, P.P.C. и сътр.; 2004)

На представената дендрограма на вътрешните взаимовръзки между 24 серотипа на вируса на синия език (на основата секвентен геномен анализ на протеините на VP-2) е възможно тяхното разграничаване, без да се провежда вирус неутрализация. С тази техника ясно се очертават и демонстрират групи от серотипове, които имат тесни взаимовръзки (Erasmus, B.J., 1990, Maan, S., Maan, A.R, Samuel, R. O'Hara, Meyer, S., Rao, S., Mertens, P. P. C., 2004). Установено е още, че нулеотидните секвенции на геномния сегмент 2 на един и същи серотип, например BTV-9, могат да варират до 32%, а при BTV-16 – до 16%, което потвърждава, че VP-2 протеин е най-вариабилният протеин на BTV.

До 2005 г. на основата на секвентният геномен анализ на вирусните серотипове, които са доказани да циркулират в Европа, дори и от един и същи серотип на BTV, са установени два фокуса – „Източен” и „Западен” (Mellor, P.S., 2004). Към източния принадлежат серотипове - 1, 4, 9, и 16. Тези вирусни типове и топотипове (генотипове) бяха доказани в Израел, Сирия, Турция, Гърция, България, Сърбия и Черна Гора, Албания, Македония, Босна и Херцеговина и Хърватска.

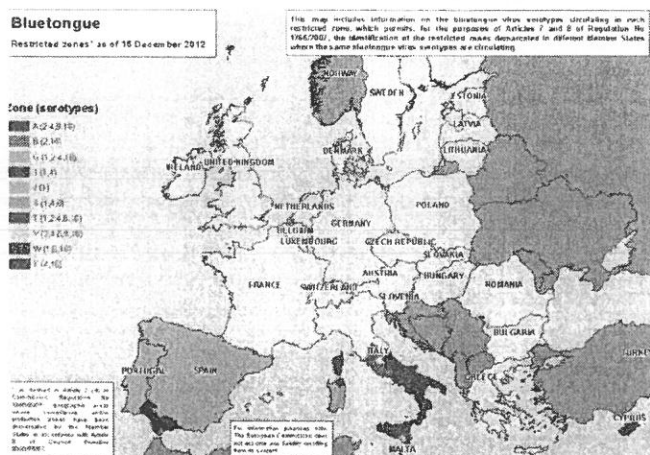


Фиг. 17. Групи от БТВ серологични типове, вектори и екосистеми, установени в Източното и Западното Средиземноморие в периода 1998-2005 г. (по Purse V.V. и сътр. 2005)

Към западния фокус спадат БТВ серотипове и топотипове - 1, 2, 4 и 16. Тези вируси са доказани в Мароко, Тунис, Алжир, Италия, Испания в т.ч. Балеарските о-ви, о-в Корсика (Франция) и Португалия.

Пътят на навлизане вирусите на синия език през централното Средиземноморие и Апенините до сега се характеризира със серотипов пейзаж от БТВ-1, 2, 4, 9 и 16. Иберийският път – със серотипове 1 и 4, като БТВ, серотип 8, на който се дължи голямата епизоотия в Западна Европа в периода 2006-2008 г. се счита за вирус с произход Суб-Сахарна Африка и също се определя като „западен“ топотип. В последствие той десцендентно и не без помощта на свободната вътреобщностна търговия се разпространи и в по-южните части на Европа включително и в страни от Средиземноморския басейн.

През 2007 г. при лабораторно изследване в Холандия на улови от *C. obsoletus/C. scoticus* бе доказано, че са RT-PCR+ за генома на БТВ-8. Този факт показва, че вече не само един куликоиден вид на комплекса *C. obsoletus* е въввлечен в епизоотологията от син език. След доказването на БТВ в *C. obsoletus* и *C. pulicaris* в Сицилия и Южна Италия през 2003 г., днес установените компетентни куликоидни вектори в екосистемите на Европа станаха 4 (*C. imicola*, *C. obsoletus/Scoticus*, *C. obsoletus/dewulfi*, и *C. Pulicaris*). **Три от тях са Палеарктични!**



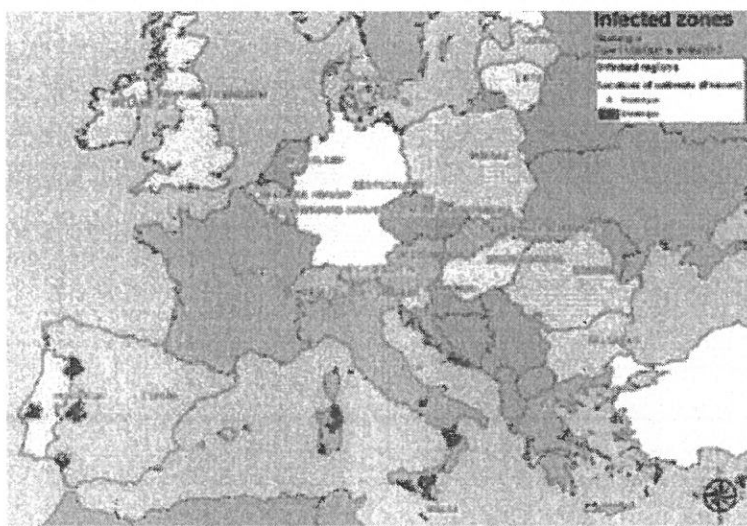
Фиг. 18. Територии под възбрана в Европа заради заболяването син език в края на 2012 г. и вирусен пейзаж на участващите BTV серологични типове

След 2008 г. вследствие предприетите адекватни мерки за профилактика, ограничаване и ерадикация постепенно зоните на рестрикция в Европа се локализираха само в района на Средиземноморието (Фиг.18). Това се дължи от една страна на широкия спектър на циркулиращите серотипове на BTV в този регион от една страна и непрекъснатото периодично „захранване“ с нови нахлувания на вируси от Северна Африка и страните от Магреб от друга. Счита се, че ко-циркулацията и „помощта“ на основния вектор на това заболяване – *C. imicola* Keifer комплекс, заедно с *C. obsoletus* и *C. pulicaris* подържат успешно вирусната репликация и циркулация в региона. Благоприятните природо-климатични условия пък осигуряват преживяемост на куликоидите през зимните периоди и целогодишно поддържане на инфекцията от BTV. По такъв начин в периода 2009-2013 г. се оформи зона на циркулация на син език в Централното Средиземноморие, засягащо Португалия, Испания и Италия (Фиг.19 и 20). Испански изследователи издигат и хипотезата за ролята на някои диви преживни животни за поддържането на вируса на синия език и за способността му да преминава от един сезон в друг. Това важи особено за инфекцията от серотип 4 на вируса в периода 2009-2010г. и 2010-2011г. на Иберийския полуостров (Ignacio García-Vocanegra и сърт., 2011). Авторите са установили както виремични, така и RT-PCR позитивни сърни и елени в след виремичния период, което потвърждава ролята на дивите преживни в поддържането и разпространението на инфекцията.

Геномът на вируса на синия език се състои от 10 сегмента линейна двойноверижна РНК с приблизително 19 200 базисни двойки нуклеотиди и кодира 7 структурни и 4 неструктурни протеини на вируса (Mertens et al., 2009, Ratnier et al., 2011 и Verwoerd, 1970). Подобно на Инфлуенца А вирусите този вирус еволюира чрез комбинирането на антигенни шифтове и дрифтове или по пътя на

реасортация, чрез смесването на индивидуални гени при ко-инфекции, както в кръвосмучещите вектори, така и в чувствителните преживни животни (Batten et al., 2008, Samal et al., 1987). **Остров Сардиния исторически е предразположен към непрекъснато проникване на вируси на синия език** от съседни страни и представлява един от трите най-важни за Европа коридори за проникване на ВТВ. За последните 13 години на о-в Сардиния са циркулирали или продължават да циркулират представители на вируса на синия език от серотипове 1, 2, 4, 8 и 16.

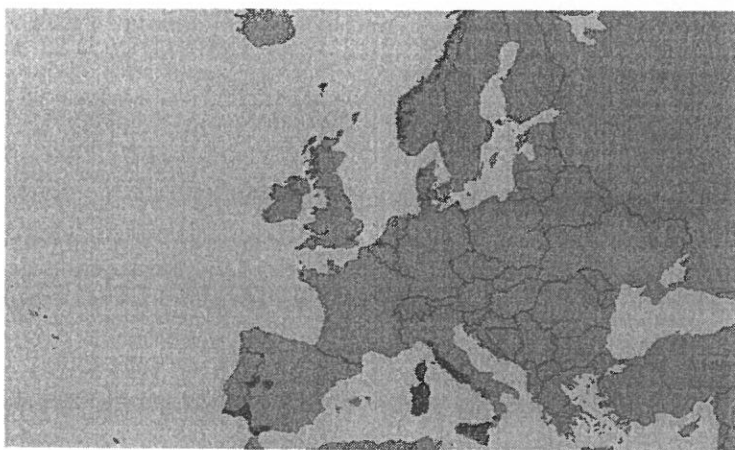
На 23 октомври 2012 г. клинични симптоми на син език са наблюдавани при овце в източната част на Сардиния (Lorusso A, and al. 2012). Диагнозата е потвърдена от референтната лаборатория на OIE в Терамо, Италия. За няколко седмици заболяването се разпространи в цялата южна част на Сардиния и засегна 788 стада овце със смъртност 6.8%. Циркулиращи серотипове на вируса на синия език бяха типове 1 и 4, като инфекциите се явяваха като самостоятелни или асоциирани. ВТВ-1 бе установяван в Сардиния и през 2011 г. и през май 2012 г., което бе доказано чрез сероконверсия при сентинелни животни. През 2010 г. ВТВ-4 циркулира безсимптомно и е установяван само чрез сероконверсия при сентинелни животни.



Фиг. 19. Циркулация на вирусни щамове на синия език в Средиземноморския басейн в периода 2009-2012г.

Епизоотологичните данните показват, че заболяването син език в Сардиния през 2012 г. се проявява като една възвръщаща се инфекция. Умират 9238 овце, а клиника се проявява при 14 826. Причината за тази заболеваемост и смъртност се дължи на едновременната циркулация на два щам на вируса - ВТВ-1 и ВТВ-4. В исторически план Сардиния е била инфектирана от ВТВ, серотип 2 през 2000 г.,

серотип 4 – през 2003 г., серотип 16 – през 2003 г., серотип 1 – през 2006 и 2010 г. и серотип 8 – през 2009 г., но никога с едновременната циркулация на два различни типа на вируса на синия език. С изключение на BTV-8 през 2009 г. (този тип на вируса е проникнал от други региони на Италия или Европа с внос на живи животни по време на голямата епидемия от BTV-8 в периода 2006-2008 г.), всички останали случаи на инфекция с вируса на синия език са започвали от южните региони на острова, показващо значителната връзка с циркулацията на BTV в Северна Африка и страните от Магреб.



Фиг. 20. Син език в централното Средиземноморие 2009-2013г.

В исторически аспект, когато през 2006г., BTV-1 за първи път навлиза в Сардиния за специфична профилактика срещу него първоначално е използвана жива модифицирана ваксина (IZS dell'Abruzzo e Molise, Teramo, Italy), а след това инактивирана ваксина (Merial, Lyon, France). BTV-1 се прониква отново през октомври 2010 г. при агнета, след което са установени само спорадична сероконверсия при сентинелни животни.

И при BTV-4 спорадична сероконверсия при сентинелни животни е установявана през 2010г. Възвръщането на инфекциите от син език в Сардиния поставя редица въпроси. **Първият** е за произхода на щамовете BTV и дали това са същите вируси от предишни епидемии или се касае за появата на нови вирусни щамове? При извършване на генетични проучвания чрез секвентен геномен анализ на Seg-5 и Seg-10 на вируса се доказва хомоложност към групата на BTV-1 вирусите, циркулиращи в региона на Централното Средиземноморие и Северна Африка (Cetre-Sossah et al., 2011 и de Diego et al., 2013). По-интересни са данните за изолата на вирус BTV-4SAD2012, който представлява реасортант между BTV-1 и 4. До 2005 г. на основата на секвентния геномен анализ на вирусните серотипове, които са доказани да циркулират в Европа, дори и от един и същи серотип на BTV,

бяха установени два фокуса – „Източен” и „Западен” (Mellor, P.S., 2004). Щамове BTV-1 GRE2001 или BTV-4 GRE1999/15, имат ясно изразен „източен“, а щамове BTV-1 ALG2006 или BTV-4 SPA2004 – „западен“ генетичен профил (Breard et al., 2007, Cetre-Sossah et al., 2011 и Potgieter et al., 2005). Последните проучвания на изолираните в Сардиния през 2012г. щамове от BTV-4 показват наличието и на трети генетичен профил (реасортантен), представен от щама BTV-4SAD2012, който притежава висока хомоложност на Seg-5 с BTV-1 щама, циркулиращ в момента в централната част на Средиземноморския басейн и Северна Африка (Алжир, Мароко, Испания, Италия, Португалия, Франция). Новият реасортантен вирус BTV-4 се различава значително от вирусите, циркулирали през периода 2003-2005 г. и изолирани, както в Сардиния, така и в Мароко и/или Испания и дори с най-далечния представител на BTV-4, изолиран в Гърция през 1999г. Авторите създават хипотеза, че е по-вероятно този вирусен реасортант да се е получил при едновременната циркулация на щамове BTV-1 и BTV-4 по време на тази епизоотична вълна при ко-инфектирането на едни същи възприемчиви преживни животни. Не изглежда правдоподобна другата хипотеза, причината за смесването на гените на вирусите да е станало по време на използването на живата модифицирана ваксина срещу синия език. Потвърждение за първата и против втората възможност е факта, че реасортантният BTV-4 не се култивира в клетъчни култури и се нуждае от „слепи“ адаптативни пасажи през ембрионирани кокоши зародиши.

Вторият въпрос се отнася до факта, че съседният о-в Сицилия е много по-рядко засяган от навлизане на вируси на синия език, при това е по-близо до Северна Африка. По климатогеографски характеристики той също следва да не се различава много от о-в Сардиния. Разликата тук е в условията за развитие на векторите. Проучванията на италианските ентомолози показаха, че векторът *C. imicola* Keifer е много по-слабо разпространен и плътността на популациите от него е много по-ниска в сравнение с о-в Сардиния (Mullens B.A., et al., 2004). Почвите на о-в Сицилия са преобладаващо вулканични и неподходящи за развитието на този компетентен вектор. За разлика от Сардиния в Сицилия е застъпено повече растениевъдството и овощарството, отколкото животновъдството, а плътността и броят на популацията от възприемчиви преживни животни е значително и несравнимо по-ниска.

Едновременната циркулация на два серотипа на вируса на синия език по време на епизоотичната вълна в Сардиния през 2012г. (BTV-1 и BTV-4) е довела до получаването „de novo” на нов вирусен реасортант BTV-4SAD2012 в организма на чувствителните възприемчиви животни, различен от типа BTV-4, циркулиращ в Централното Средиземноморие и страните от Магреб на Северна Африка. През лятото на 2013 г. вълната от възвръщаща се инфекция с вируса на синия език се

причинява само от един шам на BTV-1. Зачестилата проява на син език в Сардиния в последното десетилетие и в частност през последните 3 години води до ензоотичност на СЕ в региона. То е резултат от периодичното навлизане на вируси, обичайно циркулиращи в региони от съседни страни и се опосредства от наличието на допълнително предразполагащи фактори, като промяна в климатично-географските елементи на екосистемите при модерното поливно земеделие. Не бива да се подценява и ролята на дивите преживни животни за „презимуването“ на вируса в междуепизоотичните периоди и превръщането на региона в ензоотичен по отношение на определени вирусни щамове и серологични типове.

Използването на интензивно естествено торене на пасищата в Сардиния и въвеждането на капкови технологии, съчетани със съвременни иригационни системи спомага за разширяване ареала на обитаване и плътността на компетентния вектор *C. Imicola*. Високата концентрация на чувствителни преживни животни също предразполага за ефективното осъществяване и реализиране на инфекция с вируса на синия език и повишаване на капацитета на куликоидните вектори.

В Южна Испания и Португалия BTV от серотипове 4 и 8 в периода 2009-2013 г. засегнаха единични южни провинции. И докато BTV-4 в Португалия бе с произход страните от Магреб по генетичен профил, то изолираните вируси в провинции Кадис, Малага и автономният регион на Гибралтар бяха от серотип 8 и най-вероятно е да са навлезли в резултат на свободната вътреобщностна търговия в ЕС.

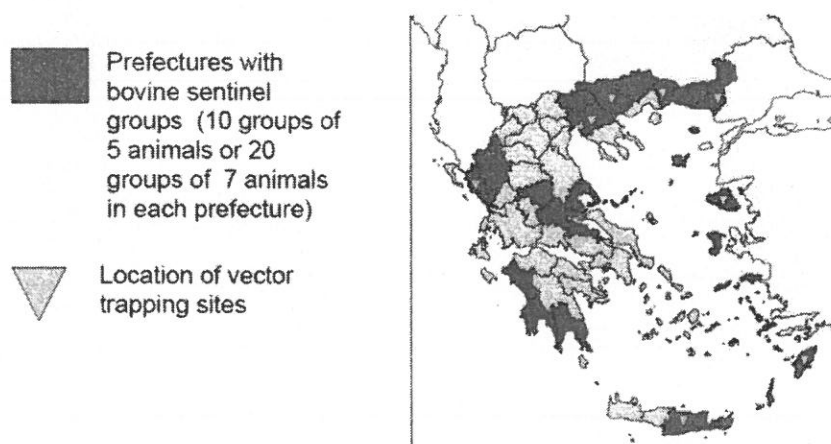
В същия период през 2012 г. гръцките ветеринарни власти съобщиха за усилена циркулация на BTV-4 серотип на синия език на островите в Егейско море (Фиг.21)



Фиг. 21 Син език по островите в Егейско море на Гърция през 2012г.

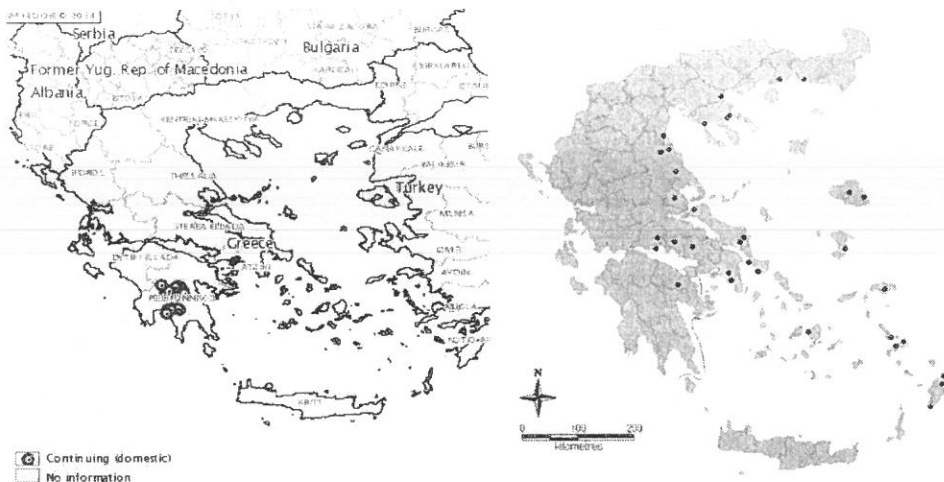
Близостта на тези островни архипелази с континентална Турция, усилените търговско-икономически и туристически дейности в региона, съчетани с висока плътност на чувствителни, възприемчиви животни на син език, които се отглеждат традиционно там (особено на островите Хиос, Лезвос, Кос и Додиканези) са предпоставка и за циркулацията на повече от един серотип на вируса на синия език. В предишни години там са регистрирани серотипове 16 и 8, като произходът на серотип 8, най-вероятно също се дължи на свободната вътреобщностна търговия на Гърция със страните от Западна Европа.

Надзорната система на СЕ на Р. Гърция е добре структурирана и изградена с години. Тя включва както островите на Егейско море, така и континенталната част на Гърция (Фиг. 22). Особено внимание е отделено на местата, където най-често се среща вектора *C. imicola*. В тези т.н. „рискови“ префектури са обособени 20 групи от ЕПЖ за целогодишно периодично изследване, включително и по островите в Егейско море. На 30 май 2014г. обаче в префектура Лакония на п-ов Пелопонес бе регистриран първият случай на син език, предизвикван отново от серотип-4 (Фиг.23).



Фиг. 22. Зони за активен надзор на синия език и векторите в Гърция За 2014г.

Причинителят бе идентифициран като серотип 4 на ВТВ, като до момента са регистрирани едно първично и над 250 вторични огнища в Аркадия, Лакония, Агролида, Коринтия и Месидия. До 11 юли 2014г. са засегнати общо 1879 овце, 645 кози и 2 крави. Клинично заболяването се проявява само при овцете (69 броя), като смъртността е ниска (19 броя).



Фиг.23. Син език в Пелопонес-Гърция след 10.06.2014 г. и географско разпространение на вектора *C imicola* на територията на страната.

Съгласно Директива 2000/75/ЕС и Регламент ЕС/1266/2007 са оформени предпазна и зона за наблюдение в радиус 150 км от засегнатите ферми (Фиг. 24).



Фиг. 24. Предпазна и зона за надзор на първичното огнище на син език в Пелопонес, Гърция. 2014 г.

Последният съобщен случай на регистрирана инфекция с вируса на синия език от серотип 4 в Гърция е от края на 2012 г. от островния архипелаг на 12-те острова в Егейско море. През 2013 г. Гърция не е регистрирала активна циркулация на син език на територията си, включително и по островите в Егейско море.

Анализът на епизоотологичните и молекулярно-биологичните данни за изолатите на ВТВ-4 серотип в Гърция за периода 1979-2000г. показват (Nominokou K. и стр. 2009) ниско ниво на нуклеотидни различия между изолатите, като авторите твърдят, че този вирус е значително стабилен и остава непроменен в продължение на години. Тези изолати са точно дефинирани като „източни“ топотипове на вируса на синия език и техният произход е о-в Кипър, Близкият Изток или Израел. Счита се, че регионът на Източното Средиземноморие, Югоизточна Гърция, включително и о-в Кипър, Близкият Изток и Израел представляват важна екологична ниша за постоянна циркулация на този вирус и източник за периодично „захранване“ и навлизане на вируса на синия език в Европа по т.н. „Балканския път“.

ЕПИЗООТОЛОГИЧНИ ОСОБЕНОСТИ на ВТВ – 4 :

1. Разкриването на първото огнище на болестта син език през 2014г. в с. Мандрица, Хасковска област преди болестта да бъде установена в съседна Гърция в префектурите Еврос или Родопи показва, че системата за надзор от подбрани сентинелни (индикаторни) животни, разположени в 10-километровата зона на застрашените от трансгранично навлизане на вируса е правилна и надеждна. Тя позволява ранно разкриване и оповестяване наличието на инфекция на територията на страната и дава възможност Компетентните органи да реагират правилно.

2. В настоящата епизоотична вълна заболяването син език по преживните животни, предизвикана от ВТВ-4 серотип, започва от п-ов Пелопонес (Гърция). Тя се разпространява и предава ефективно от наличните в региона куликоидни вектори, както от *C imicola* Keifer комплекс, така и *C. obsoletus* комплекс и *C. pulicaris* комплекс. В регионите, където съществува комбинация между *C imicola* и някои от другите два куликоидни комплекса е възможно потенциране на куликоидната компетентност и увеличаване на векторния капацитет.

3. На територията на България не е установяван векторът *C imicola* Keifer комплекс. Изследванията у нас показват, че представителите на *C. obsoletus* комплекс и *C. pulicaris* комплекс успешно подържат вирусната репликация и осъществяват епизоотичната циркулация в региона. Това се потвърждава от установената при осъществяване на епизоотичната циркулация на вируса на синия език в предишни години със серотипове на ВТВ-9 и ВТВ-8.

4. Молекулярно-биологичните данни за изолатите на ВТВ-4 серотип в Гърция за периода 1979-2000г. показват ниско ниво на нуклеотидни различия между изолатите, като авторите твърдят, че този вирус е значително стабилен и остава непроменен в продължение на години. Тези изолати са точно дефинирани като „източни“ генетични топотипове на вируса на синия език и техният произход и циркулация е в региона на Източното Средиземноморие и Близкият Изток.

5. По време на епизоотията от син език в Гърция и България през 2014 г. клинична изява на болестта се наблюдава само при овцете. Козите боледуват много рядко, а говедата не боледуват клинично, но реагират с образуване на антитела. Това не означава, че те не преминават през фаза на вiremия и тя има своите определени и известни параметри и продължителност.

6. Инфекцията с вируса на синия език, серотип 4 при диви преживни животни (сърни и елени) води до период на вiremия, подобен на този при едрите преживни животни. Испански изследователи са установили както вiremични (чрез вирус изолация), така и RT-PCR позитивни сърни и елени на Иберийския полуостров, което потвърждава ролята на дивите преживни в поддържането на инфекцията в междуепизоотичните периоди и сезоните и подпомага разпространението на инфекцията.

7. Първоначалните данни за Гърция и за България потвърждават очакването, че изолираният епизоотичен щам BTV-4 по вирулентност и патогенност има поведението на „източен“ генетичен топотип. Клинично боледуват овцете (обща заболяемост при овцете около 3.5% и смъртност около 1%) и много по-рядко козите. Говедата реагират само с образуването на специфични серумни антитела. Молекулярно-биологичните проучвания за принадлежността на вируса към съответния филогенетичен топотип все още не са приключили.

8. В монографията посветена на куликоидите в България (Неделчев. Н., 2013) е представен списък от 34 вида, от които най-важно значение имат *C. obsoletus* (относителен дял 66,2%), *C. pulicaris*- 12,78%, *C. halophilus*- 6,88% *C. punctatus*- 3,68%. *C. penicolicis*, *C. fascipenis* и *C. subfascipenis* имат относителен дял малко над 1%. Относителният дял на останалите видове куликоиди варира от 0,08% до 0,68%. Доказано е че комплексите *C. obsoletus* (относителен дял 66,2%) и *C. pulicaris*- 12,78% участват като вектори при предишните епизоотии на СЕ през 1999, 2001 и 2006 г причинени от серотипове 8 и 9 .

Епизоотологична прогноза :

Сравнително ранното проникване на СЕ в България в края на юни 2014 г и бързото му разпространение (до 24 юли са регистрирани 85 епизоотични огнища на територията на Бургаска, Ямболска, Хасковска, Кърджалийски, Старозагорска Сливенска и Шуменска области) ще доведе до обхващането и на други съседни области и преминаването на вируса в Северна България. На 24 юли е регистрирано първото огнище в южната част на Шуменска област (най-застрашени са още Варненска, Разградска и Търговищка области). Засегната територия засега е около 20% от територията на страната. Необичайните за м. юли валежи и среднодневни температури са благоприятни условия за размножаване на вектора, което ще засили интензивността и териториалното разпространение на епизоотичния процес.

През 2013 г вирусът причиняващ **инфекцията Шмаленберг** (установен за първи път в Германия в края на 2011 г) се разпространи бързо в почти цяла Европа и през 2013 г бе установен в **Хърватска**. Доказано е, че *S. obsoletus* и *S. pulicaris* (на първо място по относителен дял в България) са вектори и на тази инфекция. **При сегашната метеорологична обстановка е възможно през есента на 2014 г тази нова заразна болест по преживните животни да се появи и у нас.**

До 17 юли 2014 г са регистрирани шест случая на **Западнонилска треска (ЗНТ) при хора в Босна и Херцеговина** (Баня Лука, Босански Нови, Лакташи и Приедор). **Първи 3 случая са обявени в Сърбия**, в региона на Белград и окръг Ниш. На 10.07. 2014 г. **гръцките ветеринарни власти** съобщават за серологично положителен за **кон във ферма от 30 животни в гр. Серес, префектура Македония, която граничи с България**. Преди няколко години в Румъния имаше няколко десетки заболели хора от ЗНТ. Проведените неотдавна през 2010 и 2011 г) серологични проучвания в България потвърдиха, че **вирусът на ЗНТ циркулира най-малко в три области на страната (Добрич, Варна и Силистра)**, включвайки различни видове животни - птици и бозайници (еквиди). На фона на наводненията през миналия месец в Добрич и Варна и съседните територии ще има активизиране и увеличаване плътността на комарите. **Възможно е да има и заболели хора.**

Използвана литература:

1. Георгиев Г., (2007) Експанзия на болестта син език в Западна Европа през 2006-2007 г. Ветер. Сбирка 150, 7-8, 3-9.
2. Георгиев, г. Етиологични, епизоотологични и патологични изследвания на болестта син език по преживните животни в България Докторска Дисертация 2008 г.
3. Георгиев Г., Н.Неделчев. Епизоотологични особености на синия език (Bluetongue) в страните от Европейския съюз през 2008 г. и препоръки за профилактика и борба. Вет. сбирка 2008.
4. Георгиев Г. Сини език по преживните (Bluetongue) в региона на Средиземно море в периода 2011-2014г. Роля на екологичните фактори и векторите от род *Culicoides* за епизоотологията на болестта. <http://www.babh.government.bg/bg/actualno-risk-evaluation.html>
5. Георгиев Г. Епизоотична вълна от син език (Bluetongue) в Сардиния в периода 2011-2013 г. Роля на екологичните фактори и на компетентния вектор *C. imicola* Keifer в епизоотологията на болестта. <http://www.babh.government.bg/bg/actualno-risk-evaluation.html>

6. Неделчев Н. (2013) Куликоидите в България. Издателство Нетурък Технолоджи сълюшънс.
7. Baylis, M., Mellor, P.S., Wittmann, E.J. & Rogers, D.J. (2001) Prediction of areas around the Mediterranean at risk of bluetongue by modelling the distribution of its vector using satellite imaging. *Veterinary Record*, 149, 639-43.
8. Lorusso A, S. Sghaier, A. Carvelli, A. Di Gennaro and al. Bluetongue virus serotypes 1 and 4 in Sardinia during autumn 2012: New incursions or re-infection with old strains? *Infection, Genetics and Evolution* 19 (2013) 81–87
9. Mertens, P. N. Ross-Smith, J. Diprose, H. Attoui The structure of bluetongue virus core and proteins в книгата: P. Mellor, M. Baylis, P. Mertens (Eds.), *Bluetongue* (first ed.), Academic Press, London (2009), pp. 101–133
10. Mertens P., et al., (2004) Bluetongue virus replication, molecular and structural biology. *Vet. Ital.*, 40, 4, 426-437.
11. Mellor, P. S. (1994). Bluetongue. *State Veterinary Journal* 4, 7-10.
12. Mellor, P.S., Boorman, J., Baylis, M., 2000, Culicoides biting midges: Their role as arbovirus vectors, *Annu. Rev. Entomol.* 45, 307-340.
13. Mellor, P.S.(2004) Infection of the vectors and bluetongue epidemiology in Europe. *Vet. Ital.*, 40, 3, 167-174.
14. Mullens B.A., et al., (2004) Environmental effect on vector competence and virogenesis of Bluetongue virus in Culicoides: interpreting laboratory data in a field context. *Vet. Ital.* 40 3, 160-166.
15. Narender S. Maan, Sushila Maan, Manjunatha N. Belaganahalli, Eileen N. Ostlund, Donna J. Johnson, Kyriaki Nomikou, Peter P. C. Mertens, Evolution and Phylogenetic Analysis of Full-length BP-3 Genes of Eastern Mediterranean Bluetongue virus isolates. *PloS One*, July 2009, DOI 10.1371
16. Nominikou K., N.S. Maan, C.A Batten, H Attoui, N Ross-Smith, P.P.C. Peter Mertens Molecular epidemiology of BTV strains in Europe since 1998.
17. Sellers, R. F. & Mellor, P. S. (1993). Temperature and the persistence of viruses in Culicoides during adverse conditions. *OIE Scientific and Technical Review* 12, 733-755.

22.07.2014г.

Горепосочената информация ще бъде публикувана на електронната страница на Българска агенция по безопасност на храните (<http://www.babh.government.bg/bg/actualno-risk-evaluation.html>) и Националния фокален център на EFSA (http://focalpointbg.com/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=78&lang=bg) към Центъра за оценка на риска

