

наблюдался несколько повышенный уровень содержания эозинофилов (6,5 % против 4,0 % в контроле), с пятого по 60-й день с

В течение первых 15 суток после облучения отмечалось, так же, пониженное содержание моноцитов. В более поздние сроки после облучения оно колебалось в пределах, довольно близких к фоновым.

Исходя из вышеизложенного мы делаем вывод, что при облучении в дозе 6,0 Гр в периферической крови цыплят уменьшалось относительное и абсолютное содержание лимфоцитов, отмечался относительный и абсолютный псевдоэозинофилиз, наблюдалось уменьшение содержания лейкоцитов и тромбоцитов.

Литература:

1. Сафонова В.А., Старых О.Н. Динамика общего числа лейкоцитов крови крыс при облучении на фоне применения эраконда // Вестник ветеринарии. Вып. 5. – Оренбург, 2002. – С. 187 – 189.

2. Топурия Г.М. Гипофункция щитовидной железы у телят в условиях загрязнения окружающей среды ксенобиотиками // Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии: Сб. научных тр. / ФГОУ ВПО «МГАВМ и Б им. К.И. Скрябина». – М., 2003. – С. 90 – 92.

УДК 619:616.98:578.842.1:577.2

ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА. AFRICAN SWINE FEVER VIRUS GENOME DETECTION IN ANIMAL PRODUCE.

***Газаев И.Х., Синдрякова И.П., Елсукова А.А., Шендрик А.Г., Цыбанов С.Ж
Gazaev I.H., Sindryakova I.P., Elsukova A.A., Shendrik A.G., Tcibanov S.J.
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной вирусологии и микробиологии
National Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology***

The current article covers the research of possibility of ASFV genome detection in animal produce by PCR, especially in pork fat. The technique of experimentation is presented. The ability of ASFV genome detection in pork fat is proved.

Эпизоотологическая обстановка последних лет характеризовалась многочисленными вспышками африканской чумы свиней на территории РФ (ноябрь 2007 - Чечня, апрель-май 2008 - Ингушетия, июль 2008 – Оренбургская область, октябрь 2008 - Ставрополье, ноябрь - Краснодарский край, март 2009 - Ростовская область, ноябрь 2009 - РСО Алания). В 2010 году продолжают регистрироваться вспышки в Краснодарском крае и Ставрополье. В марте 2010 г. к списку неблагополучных регионов присоединилась Кабардино-Балкарская республика.

Африканская чума свиней (АЧС, болезнь Монтгомери) - высококонтагиозная болезнь, относящаяся к списку «А» по классификации

МЭБ и наносящая существенный экономический ущерб многим странам-импортерам свинины. Появление АЧС вне эндемической зоны — это катастрофа для свиноводческой отрасли в силу ряда причин, таких как: высокая смертность в первичных очагах; тотальный запрет на импорт свиноводческой продукции; огромные затраты на сдерживание и ликвидацию инфекции; потери в области сельскохозяйственных коммуникаций; формирование природного очага.

Анализ эпизоотической ситуации по АЧС показывает, что распространение болезни происходит двумя путями:

- заносом возбудителя на ранее благополучные территории инфицированными вирусом АЧС кабанями;
- при несанкционированных перевозках продукции свиноводства и живых свиней из неблагополучных по этой болезни территорий.

Возможен занос заболевания с инфицированными кормами, транспортом, обслуживающим персоналом, предметами ухода, так же необеззараженными продуктами убоя больных свиней. [1.2]

В настоящее время при лабораторной диагностике африканской чумы свиней наибольшее признание получили такие методы, как метод флюоресцирующих антител, реакция гемадсорбции и биопроба, позволяющие проводить прямую индикацию и специфическую идентификацию вирусного агента. Но приведенные методы имеют ряд недостатков, в том числе ограниченный спектр материалов, пригодных для исследования, значительные затраты времени и материальных средств, а также трудоемкость исполнения.

В ГНУ ВНИИВВиМ были разработаны тест-системы для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР, и ПЦР в режиме реального времени. В отличие от перечисленных выше методов, ПЦР характеризуется быстротой и легкостью исполнения, возможностью работы практически с любым материалом и относительной дешевизной.

Эти методы были использованы нами, в том числе и для обнаружения генома вируса АЧС в сало. Для исследования использовали сало и шпик соленный, полученные из Ставропольского края.

При пробоподготовке материала мы столкнулись с трудностями получения суспензии из сала. По этому были приготовлены смывы из этих образцов при помощи добавления ТЕ буфера в соотношении 1:1 к исследуемому материалу, с инкубацией при температуре 64°С в течение 5 мин, с последующим центрифугированием при 12 тыс. об./мин в течение 5 минут.

Выделение проводили с помощью метода нуклеосорбции согласно методике выделения ДНК вируса АЧС. Выделенную ДНК использовали для постановки ПЦР.

Для амплификации последовательностей вирусной ДНК были использована пара праймеров, фланкирующая 485 п.о. фрагмента гена B646L, кодирующего основной капсидный белок P72. [3]

Постановку ПЦР проводили на приборе Palm-Cycler фирмы Corbett Research при следующих температурных режимах: первый цикл - денатурация при 94° 3 мин, затем 35 циклов (денатурация-94° 19сек, отжиг 64° 30сек и синтез при 72° 16сек). Детекцию продуктов амплификации проводили в 2% агарозном геле с использованием этидиума бромиды, методом горизонтального электрофореза. Результаты регистрировали при помощи геледокументирующей системы Bio-Rad.

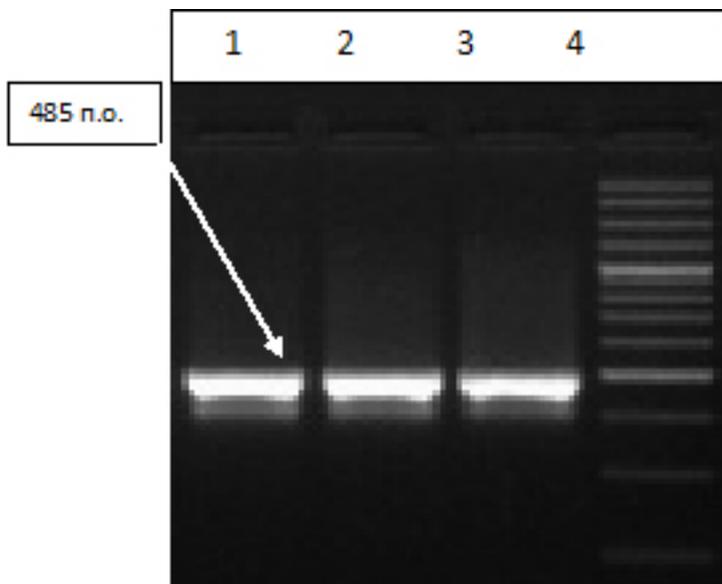


Рис. 1. - Электрофореграмма (1 - сало, 2 - шпик соленый , 3 - К+ , 4- маркер молекулярной массы 1000 п. о.)

В ходе проведенной работы, нами были исследованы две пробы сала, одна из которых представляла собой соленый шпик, а вторая – несоленое сало. После проведения ПЦР на электрофореграмме мы наблюдали специфический продукт реакции 485 п.о. Это свидетельствует о наличии генома вируса АЧС в исследованных образцах. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что приведенная выше методика позволяет обнаружить ДНК вируса АЧС, как в пробах сала, так и пробах засоленного шпика.

Литература:

1. «Катастрофа для свиноводческой отрасли» // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2009 г. №3 с.9-12.
 2. Козлова Д.И., Бесхлебнов В.А. Современные проблемы африканской чумы свиней. – М.: ВНИИТЭИСХ, 1980.- 60 с.
- Копытов В.О., Цыбанова Л.Я., Селянинов Ю.О., Цыбанов С.Ж. «Идентификация вируса африканской чумы свиней с помощью полимеразной цепной реакцией» // Генодиагностика инфекционных заболеваний. Сборник тезисов 4-ой Всероссийской научно-практической конференции, 2002г, Москва, с 341-343.