

УДК 619:616.98:578.842.1:577.2

Использование ПЦР в режиме реального времени при исследовании на АЧС проб,

поступивших в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии в 2012 году 

Д.А. КУДРЯШОВ; И.Х. ГАЗАЕВ, кандидат биол. наук; И.П. СИНДРЯКОВА, Е.В. АРОНОВА, С.А. КАТОРКИН; О.Н. БУРДИНСКАЯ, кандидат вет. наук; Д.В. КОЛБАСОВ, доктор вет. наук, профессор, ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, г. Покров

В статье представлены данные, полученные при исследовании на африканскую чуму свиней проб от диких кабанов и домашних свиней, поступивших в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии из различных регионов Российской Федерации в 2012 г. Для выявления генома вируса использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. ДНК вируса АЧС выявили в 699 из 5318 поступивших проб.

Ключевые слова: африканская чума свиней, РФ, дикие кабаны, домашние свиньи, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

Using of the PCR-RT in the study on the determination ASFV in samples received by SRI NRIVViM RAAS in 2012 year

D.A. KUDRYASHOV, I. H. GAZAEV, I.P. SINDRYAKOVA, E. V. ARONOVA, S.A. KATORKIN, O.N. BURDINSKAYA, D.V. KOLBASOV, Professor, National Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology (SRI NRIVViM RAAS) Pokrov

The article presents the data obtained in the study on the isolation ASFV from different samples of wild boars and domestic pigs that received to SRI NRIVViM RAAS from different regions of the Russian Federation in 2012 year. PCR-RT method was used. The ASF virus is found in 699 from 5318 received samples.

Key words: african swine fever, Russian Federation, wild boars, domestic pigs, PCR-RT.

■ Введение

Африканская чума свиней (АЧС) – контагиозное заболевание, поражающее домашних и диких свиней всех возрастов и пород [3].

Возбудителем заболевания является ДНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Asfarviridae* [7].

С момента заноса АЧС на территорию Чеченской Республики в 2007 г. произошло поступательное распространение болезни не только в близлежащие регионы, но и спонтанное непрогнозируемое появление вспышек инфекции в удаленных от первичного очага субъектах Российской Федерации (РФ) [1, 2].

Влияние на ухудшение эпизоотической ситуации по АЧС в РФ оказали проблемы, возникавшие при диагностике болезни на основании данных патологоанатомического вскрытия. Отсутствие в ряде случаев характерных для АЧС изменений в органах и тканях при сверхострой и острой формах привело к увеличению времени на постановку диагноза. Следствием этого стало несвоевременное объявление карантинного периода и проведение комплекса мер по ликвидации вспышки.

С целью сокращения сроков анализа проб на наличие генома вируса АЧС в 2010 г. сотрудниками ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии была разработана и применена в диагностике АЧС «Тест-система для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР в реальном времени». Использование предложенного метода позволило существенно расширить диапазон исследуемых образцов, добиться экспрессности получения результатов и выявить новые очаги болезни в 2010–2011 гг. [5].

В течение 2012 г. на базе ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии были проведены исследования по выявлению ДНК вируса АЧС из проб биоматериала, поступившего из различных субъектов РФ.

■ Цель работы

Целью данной работы являлось исследование проб, поступивших в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии в 2012 г., с помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на наличие генома вируса АЧС.

■ Материалы и методы

Объектами исследований служили: биоматериал от домашних и диких

свиней (пробы крови, органов), продукты, изготовленные на основе сырья от домашних свиней, – сосиски, сало, шпик, колбасы, поступившие в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии для проведения лабораторных исследований на АЧС.

Подготовку проб для выделения ДНК вируса АЧС проводили согласно «Методическим положениям по выявлению генома вируса АЧС в образцах биологического материала и объектах ветеринарного надзора» [4].

При выделении ДНК и проведении ПЦР-РВ использовали компоненты «Тест-системы для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР в реальном времени» производства ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии и руководствовались прилагаемой инструкцией по применению. Постановку ПЦР-РВ осуществляли в амплификаторе Rotor Gene 6000 (Qiagen, Германия).

■ Результаты исследований и обсуждения

В течение 2012 г. для исследования на АЧС поступило 5318 проб от домашних и диких свиней. Из них: 3116 проб – из Центрального

Таблица. Результаты выявления генома вируса АЧС с использованием ПЦР-РВ за 2012 г.

Федеральный округ	Количество поступивших для исследования проб	Количество проб от домашних свиней (в том числе мясопродукты)		Количество проб от диких кабанов	
		Положительные пробы	Отрицательные пробы	Положительные пробы	Отрицательные пробы
Центральный	3116	152	1831	101	1032
Южный	1700	288	1273	76	63
Северо-Западный	342	25	92	40	185
Дальневосточный	3	0	3	0	0
Сибирский	4	0	4	0	0
Приволжский	93	7	51	0	35
Северо-Кавказский	60	10	46	0	4
Общее количество проб	5318	482	3300	217	1319

федерального округа (58,5% от общего числа поступивших проб), 1700 – Южного федерального округа (32,0%), 342 – Северо-Западного федерального округа (6,4%), 93 – Приволжского федерального округа (1,8%), 60 – Северо-Кавказского федерального округа (1,1%), 4 – Сибирского федерального округа (0,1%), 3 – Дальневосточного федерального округа (0,1%) (табл., рис.).

Как видно из таблицы, геном вируса АЧС был выявлен в 699 из 5318 поступивших проб. Данные пробы поступили из 7 федеральных округов РФ: Центрального ФО – 253 (36,2%), Южного ФО – 364 (52,1%), Северо-Западного ФО – 65 (9,3%), Северо-Кавказского ФО – 10 (1,4%), Приволжского ФО – 7 (1,0%). При этом ДНК вируса АЧС выявили в пробах, отобранных от домашних и диких свиней в новых регионах РФ: Республика Карелия, Новгородская, Тульская, Ярославская, Ивановская и Московская области.

Геном вируса АЧС обнаружили в 29 пробах мясопродуктов, поступивших на исследования из Ленинградской области, Краснодарского и Ставропольского краев и Республики Татарстан.

Из общего количества образцов, поступивших для исследования, на долю домашних свиней приходилось 3782 проб (71,1%). Среди данных проб положительный результат был зарегистрирован в 482 образцах (12,7%), тогда как в 3300 образцах геном вируса АЧС не был обнаружен (87,3%).

Общее количество проб, отобранных от диких кабанов, составило 1536 образцов (28,9%). Из них в 217 пробах выявили геном вируса АЧС (14,1%), тогда как в 1319 образцах геном вируса АЧС не обнаружили (85,9%).

Следует отметить, что большая часть положительных образцов приходится на пробы от домашних свиней (69,0%), а процент положительных образцов, отобранных от диких

кабанов, составил 31,0% от общего количества положительных проб.

По сравнению с предыдущими годами количество проб, поступивших в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии для исследований на АЧС, уменьшилось. При этом количество образцов, в которых был выявлен геном вируса АЧС, увеличилось. Так, в 2010 г. ДНК вируса АЧС выявили в 197 пробах из 19 412, и процент положительных образцов составил 1,0% от общего количества проб от диких и домашних свиней. В 2011 г. геном вируса АЧС обнаружили в 188 пробах из 9549, то есть процент положительных образцов равнялся 2,0% от общего количества проб. Тогда как в 2012 г. процент проб, содержащих ДНК вируса АЧС, составил 13,1% (699 положительных проб из 5318). Однако необходимо отметить, что в 2012 г. пробы поступали в основном для подтверждения диагноза. Этим объясняется увеличение процента положительных проб по сравнению с предыдущими годами.

■ Заключение

Таким образом, в ходе исследований биоматериала от домашних и диких свиней за 2012 г. с помощью метода ПЦР-РВ геном вируса АЧС был выявлен в 699 из 5318 поступивших образцов.

Регистрация вспышек АЧС в ранее свободных от болезни регионах РФ позволяет сделать вывод о сохранении тенденции к расширению ареала вируса АЧС на территории нашей страны.

Литература

1. Африканская чума свиней в Российской Федерации: эпизоотология, диагностика, мониторинг болезни (февраль 2009 г.)/В.В. Куриннов, Д.В. Колбасов, С.Ж. Цыбанов [и др.]// Проблемы инфекционной патологии свиней: материалы XVII Московского Международного ветеринарного конгресса. М. 2009. С. 11–14.
2. Африканская чума свиней – главная проблема для свиноводства России/В.В. Куриннов, Д.В. Колбасов, С.Ж. Цыбанов [и др.]//Жизнь без опасностей. 2010. №3. С. 82–87.
3. Африканская чума свиней/И.А. Бакулов. М. Колос. 1969. С. 267–290.
4. Методические положения по выявлению генома вируса АЧС в образцах биологического материала и объектах ветеринарного надзора/И.Х. Газаев, А.А. Елсукова, А.С. Малоголовкин, С.Ж. Цыбанов, Д.В. Колба-

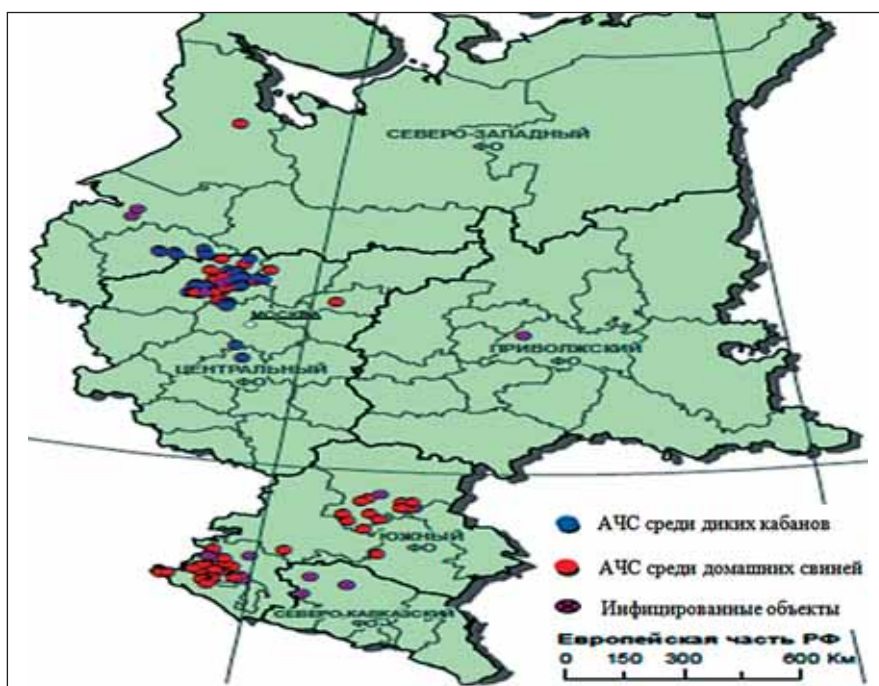


Рис. Карта распределения вспышек АЧС, зарегистрированных на территории европейской части РФ за 2012 г. [6]

сов//ГНУ ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии. Покров. 2011 г. 14 с.

5. Применение метода ПЦР в режиме реального времени для выявления вируса африканской чумы свиней/ И.Х. Газаев, А.А. Елсукова, И.П. Синдрякова, С.Ж. Цыбанов, Д.В. Колбасов//

Молекулярная диагностика – 2010: 7 Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. М. 2010. С. 83–85.

6. Эпизоотическая ситуация по АЧС [электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.fsvps.ru>. Загл. с экрана.

7. Family Asfarviridae/L.K. Dixon, J.V. Costa, J.M. Escribano, D.L. Rock, E. Vinuela, P.J. Wilkinson [et al.]// Virus taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Summers Academic Press. San Diego. 2000. P. 159–165.

ЛЕНТА НОВОСТЕЙ



МСХ РФ предлагает освободить от НДС ввоз в Россию племенных животных

Минсельхоз РФ предлагает освободить сельхозтоваропроизводителей от уплаты НДС на ввоз в РФ племенных животных, информирует rbc.ru.

Ранее председатель Правительства РФ Дмитрий Медведев поручил заинтересованным ведомствам совместно с отраслевыми союзами проработать и представить предложения по этому вопросу.

«В период с 2007 по 2012 год ввоз племенных животных был освобожден от НДС, – напомнил зам. главы Минсельхоза Дмитрий Юрьев. – От-

мена данной налоговой льготы привела к увеличению нагрузки на хозяйства и отвлечению оборотных средств сельхозорганизаций, которые могли быть направлены на развитие и повышение финансовой устойчивости».

По данным Национального союза свиноводов, среднегодовое количество ввозимых племенных животных составит к 2017 г. от 40 до 50 тыс. голов, а среднегодовая высвобождаемая сумма от уплаты НДС, которая будет оставаться в распоряжении свиноводческих компаний, составит от 200 млн руб. до 250 млн руб.

Ген. директор Национального союза производителей говядины Д. Черкесов оценил общий объем выплаты НДС сельхозпредприятиями на покупку импортного скота в 4,2 млрд руб. с учетом потребности отрасли в племенной продукции до 2020 г. По данным ФТС, в

2012 г. было ввезено около 80 тыс. голов племенного КРС мясного направления, а общий объем суммы уплаченного НДС составил около 870 млн руб.

Участники совещания под руководством Д. Юрьева заявили, что целесообразно освободить предприятия от уплаты НДС при ввозе племенного поголовья животных, семени и эмбрионов. Это позволит увеличить поголовье высокопродуктивных сельхозживотных и повысить конкурентоспособность отечественной животноводческой продукции как на отечественном, так и международном рынках.

Минсельхоз по итогам совещания с участниками рынка принял решение направить в Минфин предложения о восстановлении нулевой ставки НДС на ввоз племенных животных на период реализации Госпрограммы развития сельского хозяйства 2013–2020 г.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Ведущий центр разработчиков и производителей ветеринарных препаратов для профилактики и диагностики болезней птиц, свиней и рогатого скота (производится около 100 наименований вакцин и около 50 наименований диагностических наборов).



- Референтная лаборатория по бешенству в РФ
- Референтная лаборатория по гриппу и ньюкаслской болезни птиц в РФ
- Испытательный центр

Международные статусы ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

- Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья
- Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру

Деятельность осуществляется в соответствии с международными стандартами ISO 9001-2008.

600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьеvec
Тел./факс: (4922) 26-38-77, 26-15-25,
26-15-51, 38-30-30, 26-18-56
Тел.: (4922) 26-06-14, 26-17-65
E-mail: mail@arriah.ru
<http://www.arriah.ru>

