

5. T.R. Doel. Foot-and-mouth disease: vaccine strains and field isolates // Foot-and-Mouth Disease: Control Strategies. Symp. Proc. 2-5 June 2002. Lyons, France, Paris, 2003. P.287–296.
6. D.Y. Paton, Y.-F. Valarcher, I. Bergmann et al. Selection of foot and-mouth-disease vaccine strains — a review // Rev. Sci. Tech. OIE. 2005. V. 24, № 3. P.981–993.
7. J.F. Valarcher, N. Ferris, N. J. Knowles et al. Annual OIE/FAO FMD reference laboratory network report // J.F. 2005. P. 32.
8. M.M. Rweyemamu. Antigenic variation in foot-and-mouth disease: Studies based on the virus neutralization reaction // J. Biol. Stand. 1984. V.12. P.323–337

УДК 619:578.835.2:616.07:636.4

В.В. Никифоров

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЯЩУРА В ПРОДУКТАХ УБОЯ СВИНЕЙ

Введение

В последние годы количество импортируемого в Российскую Федерацию мяса и мясных продуктов возрастает, в том числе и из стран, неблагополучных по ящуру.

В организме животных возбудитель ящура может сохраняться в разных тканях и органах [6, 7].

Вирус ящура сохраняется при pH 7,4–7,7 и высокочувствителен к ее изменению. В период созревания мясной туши происходит накопление молочной кислоты, в результате чего pH среды снижается до 6,0, и вирус ящура инактивируется [1].

Согласно Санитарному кодексу наземных животных МЭБ, созревание продуктов убоя крупного рогатого скота должно происходить при температуре 2–4° С в течение минимум 24 часов после убоя, а величина pH мяса в длиннейшей мышце спины (*m. longissimus dorsi*) должна быть ниже 6,0 [2].

Являлось актуальным исследовать динамику изменения pH в продуктах убоя свиней, зараженных ящуром, и изучить возможность обнаружения возбудителя ящура с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в тканях и органах после их созревания.

В настоящее время в лабораторных исследованиях для выделения вируса ящура из мясопродуктов используют такие чувствительные биосистемы, как культуры клеток, но данный метод по экспрессности анализа уступает ПЦР [3, 4].

Целью наших исследований является изучение динамики изменения pH в полутушах свиней, убитых в период клинического проявления заболевания и после переболевания ящуром, а также сравнение эффективности выявления возбудителя ящу-

ра с помощью ПЦР и культуры клеток.

Материалы и методы

В ходе проведения исследований использовали продукты убоя, полученные от свиней с клиническими признаками ящура через 4 суток после заражения вирусом, а также от переболевших через 8 суток после заражения.

Измерение pH проводили в длиннейшей мышце спины в течение 24 часов с интервалом в 2 часа, в холодильной камере при температуре 2–4° С, с помощью pH-милливольтметра "pH-410" и комбинированного электрода "ЭСК-10616/7" с ножевым устройством для измерения активности ионов водорода (pH) в мясе и мясопродуктах. Выделение вируса ящура осуществляли с использованием первично трипсинизированной культуры клеток СП (4). Индикацию генома вируса ящура проводили с помощью ПЦР на основе амплификации консервативной области 3D гена [5].

Результаты и обсуждение

Данные, представленные на рис. 1, свидетельствуют о том, что в тушах свиней, убитых через 4 суток после заражения вирусом ящура, значение pH в длиннейшей мышце спины через 10 часов после убоя было ниже 6,0, а через 16–18 часов после убоя незначительно повышалось и к 24 часам не превышало 6,0.

В продуктах убоя свиней без клинических признаков болезни уже через 6–8 часов после убоя значение pH было ниже 6,0, а в период с 10 до 24 часов оно составляло 5,5. В течение 24 часов после убоя значение pH в подкожном жире составляло 7,2.

Для изучения эффективности обнаружения возбудителя ящура с помощью ПЦР и культуры клеток СП из продуктов убоя свиней после созревания были отобраны

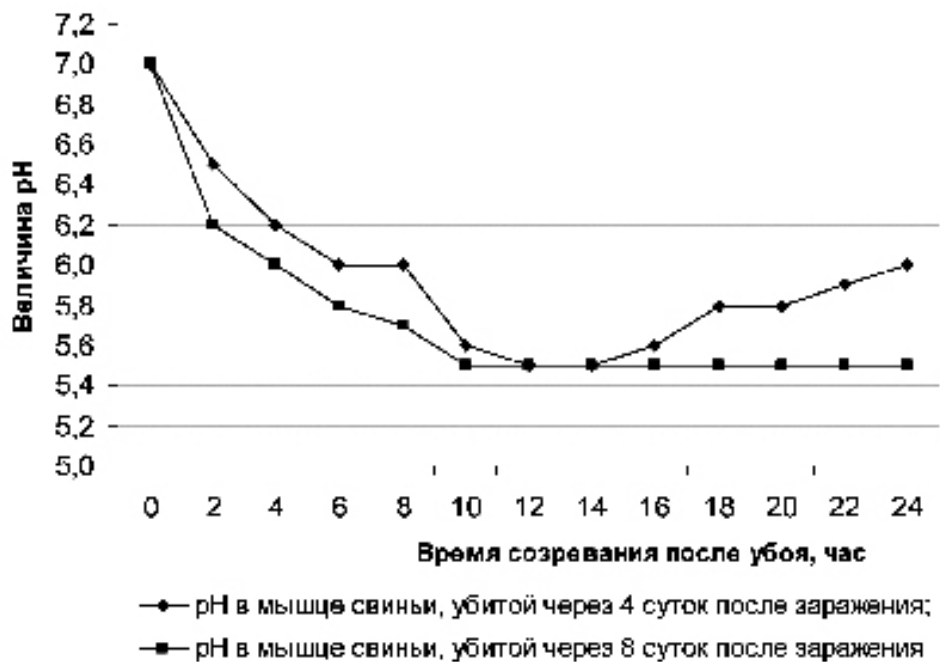


Рисунок 1. Изменение величины pH в мясе, полученном от свиней и 8 суток после заражения животных вирусом ящура

пробы лимфоузлов, слизистой оболочки языка, мышц, костного мозга, подкожного жира, надпочечников, поджелудочной железы, легких и миндалин.

Из результатов, представленных в таблице 1, следует, что в число положительных проб, как в случае использования метода ПЦР, так и культуры клеток, входили образцы слизистой оболочки языка, лимфоузлов, костного мозга, подкожного жира, легких и миндалин. Это объясняется тем, что костный мозг защищен костной тканью, а лимфоузлы – капсулой, кото-

рые предохраняют их от смены pH в кислую сторону и разрушения вируса ящура. В подкожном жире значение pH после созревания продуктов убоя не изменилось, что способствовало сохранению вируса.

Выявление возбудителя ящура после созревания в слизистой оболочке языка, миндалинах и легких можно объяснить эпителиотропностью вируса и, как следствие, его максимальной репродукцией и наличием высоких титров в данных тканях. При исследовании проб мышц, надпочечников и поджелудочной железы были

Таблица 1
Обнаружение возбудителя ящура в разных продуктах убоя свиней после созревания

Продукты убоя	Обнаружение вирусного гено- ма при использовании ПЦР		Выделение вируса в куль- туре клеток СП	
	время после заражения, сут			
	4	8	4	8
Слизистая оболочка языка	+	+	+	+
Лимфоузлы	+	+	+	+
Мышцы	-	-	-	-
Костный мозг	н/и*	н/и*	+	-
Подкожный жир	н/и*	н/и*	+	-
Надпочечники	-	-	-	-
Поджелудочная железа	-	-	-	-
Легкие	+	-	+	-
Миндалины	+	+	+	+

Примечание: «+» — положительно; «-» — отрицательно; н/и* — не исследовано

получены отрицательные результаты.

Выводы

Таким образом, после созревания продуктов убоя свиней, убитых с клиническими проявлениями ящура через 4 суток после заражения вирусом ящура, величина рН составляла 6,0. При этом возбудитель ящура был выявлен в большем количестве проб, чем у свиней через 8 суток после заражения, когда уже происходило выздоровление животных и разрушение (инактивация) вирусов в некоторых тканях. По эффективности обнаружения

возбудителя ящура в продуктах убоя метод ПЦР не уступает методу вирусовыделения с помощью культуры клеток, а по скорости получения результатов превосходит его. Установлено, что в слизистой оболочке языка, лимфатических узлах, костном мозге, подкожном жире, легких и миндалинах в период созревания мяса вирус ящура не теряет своей активности. В пробах мышц вирус ящура не выделен, а отсутствие вирусного генома возможно связано с влиянием тканевой нуклеазы на РНК вируса.

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование динамики изменения рН в процессе созревания продуктов убоя свиней, экспериментально зараженных вирусом ящура. Показана эффективность обнаружения возбудителя ящура в тканях и органах свиней с применением метода ПЦР и вирусовыделения в культуре клеток.

ABSTRACT

The pH dynamics during the maturation of slaughter products from FMDV experimentally infected swine was examined. The effectiveness of FMDV detection in swine tissues and organs using PCR and virus isolation in a cell culture was demonstrated.

Литература

1. Под ред. А.Н. Бурдова. Ящур. М.: Агропромиздат, 1990. С. 320.
2. МЭБ. Санитарный кодекс наземных животных. 14 изд. Париж, 2005. С. 114–126.
3. O.I.E. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2004. V. 1. P. 110–118.
4. Методические указания по выявлению и идентификации штаммов вируса ящура: утв. Департаментом Ветеринарии МСХ РФ 10.11.02.
5. Методические указания по индикации генома вируса ящура с помощью полимеразной цепной реакции на основе амплификации консервативной области 3D гена: утв. Департаментом Ветеринарии МСХ РФ 21.02.97.
6. А.А. Гусев, В.М. Захаров, А.М. Рахманов, Н.А. Яременко. Профилактика ящура в Российской Федерации // Ветеринария. 2001. № 5. С. 3–5.
7. А.А. Гусев, В.М. Захаров, Т.А. Фомина, А.В. Щербаков. Биологические свойства вируса ящура типа O/1685/“Московский”, выделенного у свиней // Сучасні ветеринарні та технологічні аспекти свинарства: мат. конф. Киев, Україна, 2002. С. 9–10.

УДК 619:578.835.2:57082.26

Н.Д. Клюкина, В.В. Михалишин, Т.Н. Лезова

ОЧИСТКА И КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ВИРУСА ЯЩУРА С ПОМОЩЬЮ ПОЛИАКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Введение

В результате репродукции вируса в культуре клеток ВНК-21 в вирусосодержащей суспензии содержится не только вирус, но и балластные белки, количество которых влияет на качество вакцин. Применение вакцин из такого материала приводит к возникновению у КРС аллергических реакций [5]. С целью уменьшения реактогенности вакцин проводят очистку от примеси балластных белков.

Для повышения содержания специфического антигена в вакцинах применяют различные методы концентрирования вирусосодержащих суспензий с использованием метода сорбции вируса или антигена на

сорбенты, метода осаждения полиэтиленгликолем и проточной ультрафильтрации.

Метод сорбции вируса ящура на гель ГОА обеспечивает концентрирование вируса более чем на 90% и зависит от количества вносимого сорбента [1, 2, 3]. Основным условием метода концентрирования является высокая сорбционная емкость ГОА и наименьшие потери иммуногенных компонентов (146S+75S).

При изучении сорбции белков сорбентами, такими, как ГОА, фосфат алюминия, фосфат кальция, установлено, что в первую очередь адсорбировались высокомолекулярные белки. Следовательно, адсорбционная специфичность минеральных