

УДК 619:614.31

**ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА ПРОДУКЦИИ  
КРОЛИКОВОДСТВА ПРИ МИКСОМАТОЗЕ И ВИРУСНОЙ  
ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ МЕТОДОМ ПЦР В  
РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ**

Чернова Т.Л., 5 курс, факультет ветеринарной медицины

Научные руководители: Г.С. Бурмакина, микробиолог лаборатории Биофизики  
ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, Мерчина С.В., к.б.н., доцент кафедры  
МВЭиВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»

Рынок кролиководства в России находится в стадии формирования и характеризуется устойчивым ростом поголовья. Однако есть ряд проблем, с которыми сталкиваются крупные и мелкие кролиководческие хозяйства. Среди них особое место занимают болезни различной этиологии (бактериальные, вирусные, паразитарные, грибковые и др.). Из вирусных болезней для кролиководства наиболее опасны миксоматоз и вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) [1].

Миксоматоз кроликов – остро протекающая, высоко контагиозная вирусная болезнь, которая характеризуется серозно-гнойным конъюнктивитом, воспалением слизистых оболочек, образованием опухолевых узелков на коже и подкожных студенистых отеков преимущественно в области головы, анального отверстия и половых органов. [2] За последние годы вспышки миксоматоза регистрируются в Тунисе, Швейцарии, Люксембурге, Мексике, Греции и России [3].

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов – остро протекающая высоко контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся явлениями геморрагического диатеза во всех органах, в особенности в легких и печени. [4] Последние несколько лет вспышки ВГБК регистрируются в Дании, США, Канаде, Италии, России и на Кубе [3].

С 2007 по 2012 гг. данные заболевания были отмечены более чем в 30 регионах России. В благополучные по миксоматозу и ВГБК районы возбудители этих заболеваний попадают при завозе инфицированных кроликов, контаминированного мяса и шкур, при контакте здоровых кроликов с больными на выставках и рынках [5].

В связи с высокой контагиозностью и смертностью при данных вирусных инфекциях (90-100%), а также с устойчивостью вирусов к факторам внешней среды необходимо применение современных методов ветеринарно-санитарной оценки с целью быстрого и своевременного принятия санитарно-гигиенических мер и предотвращения распространения заболеваний. Одним из таких методов является полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее модификации, которая уже нашла широкое применение в диагностических исследованиях в области ветеринарии.

**Цель данной работы**

На основании результатов выявления геномов вирусов ВГБК и миксомы кроликов в пробах патологического материала методом ПЦР в режиме

реального времени определить возможность применения данного метода в ветеринарно-санитарной экспертизе продукции кролиководства.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. исследовать пробы органов и кровь инфицированных животных на наличие генома вируса миксомы кроликов;
2. исследовать пробы мышечной ткани и шкур инфицированных животных на наличие генома вируса миксомы кроликов;
3. исследовать пробы органов и кровь инфицированных животных на наличие генома вируса ВГБК;
4. исследовать пробы мышечной ткани и шкур инфицированных животных на наличие генома вируса ВГБК.

### Результаты исследования

Для выявления геномов данных вирусов в пробах патологического материала проводили экспериментальное заражение кроликов вирусом ВГБК штаммами «В-87» и «Манихино-09», а так же вирусом миксомы кроликов изолятом «Хабаровск-09». Работа выполнена совместно с сотрудниками Научно-экспериментального отдела ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии. В ходе опыта нами были отобраны и исследованы пробы органов (легкие, сердце, печень, селезенка, почки, лимфатические узлы), кровь, мышечная ткань и шкура инфицированных животных.

Выделение нуклеиновых кислот из 10%-ной суспензии проб органов, крови, смывов из глаз и носовой полости проводили методом нуклеосорбции (R. Boom et al., 1989), фенольно-детергентной экстракции и с использованием набора DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Германия).

Выделенные нуклеиновые кислоты использовали в качестве матрицы для проведения ОТ-ПЦР и ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию и детекцию репортерной флуоресценции проводили в термоциклере «Rotor-Gene 6000» (Corbett Research, Австралия).

ДНК вируса миксомы была выявлена в почках, селезенке, печени, легких, сердце инфицированных кроликов (рис.1).

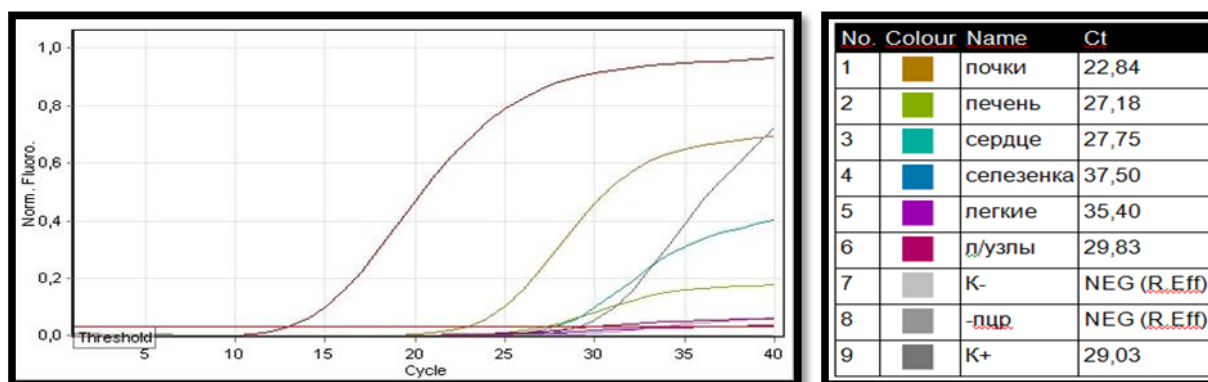


Рис.1 Результаты выявления генома вируса миксомы в образцах внутренних органов кролика

С использованием метода ПЦР в режиме реального времени геном вируса миксомы кроликов удалось выявить в крови инфицированных животных, начиная с 3 суток после заражения и далее на всем протяжении эксперимента (до 14 суток после заражения) (рис.2).

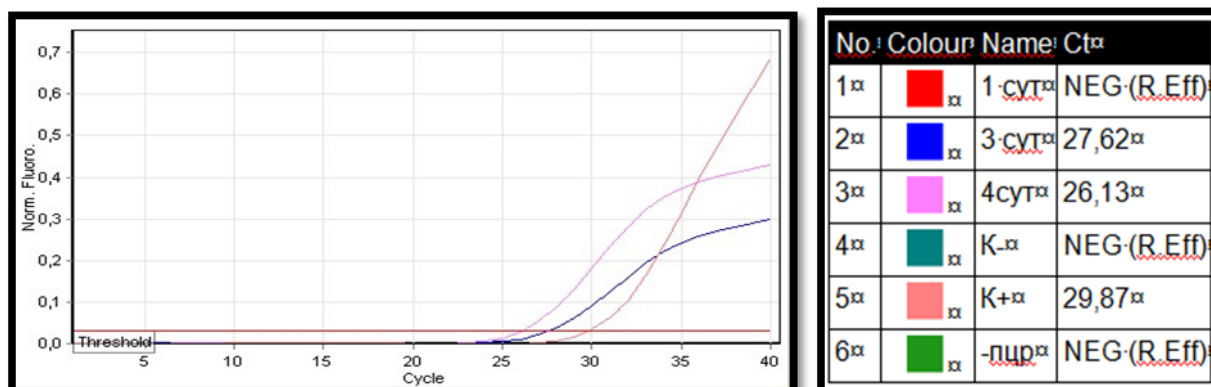


Рис.2 Результаты выявления генома вируса миксомы в образцах крови кролика на разные сутки после заражения

При исследовании органов животных, инфицированных вирусом ВГБК штаммами «В-87» и «Манихино-09» методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени геном вируса был выявлен в печени, легких, селезенке, почках, л/у и сердце (рис.3).

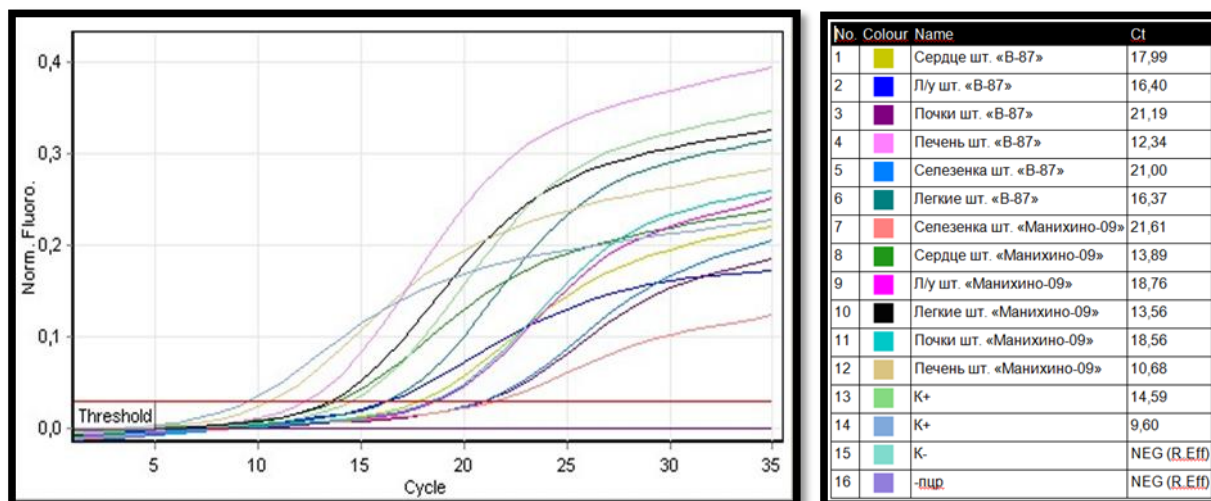


Рис.3 Результаты выявления генома вируса ВГБК в образцах внутренних органов кроликов

РНК вируса ВГБК была так же выявлена в крови у всех экспериментально зараженных животных через 24 ч. и 48 ч. после заражения (рис.4).

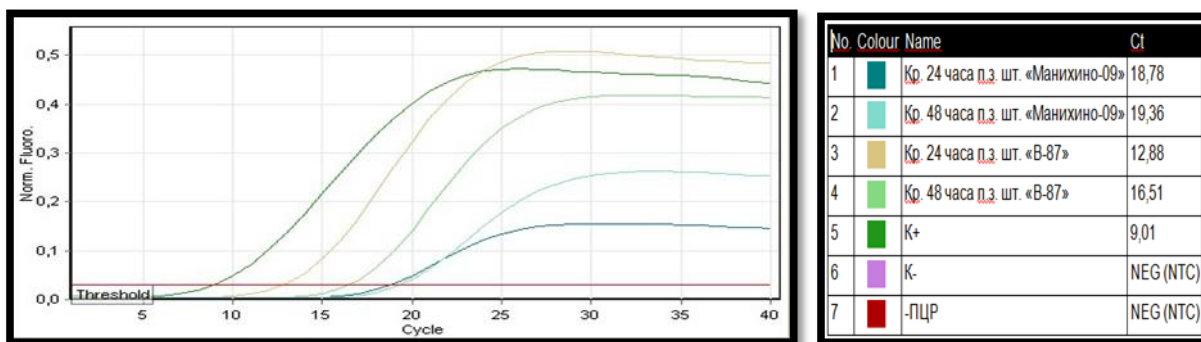


Рис.4 Результаты выявления генома вируса ВГБК в образцах крови кроликов на разные сутки после заражения.

Важнейшим этапом нашей работы являлось исследование основных продуктов кролиководства (мясо и шкура) на наличие геномов вирусов ВГБК и миксомы кроликов. Нуклеиновые кислоты данных вирусов были выявлены как в мышечной ткани, так и в шкуре инфицированных животных (рис.5,6).

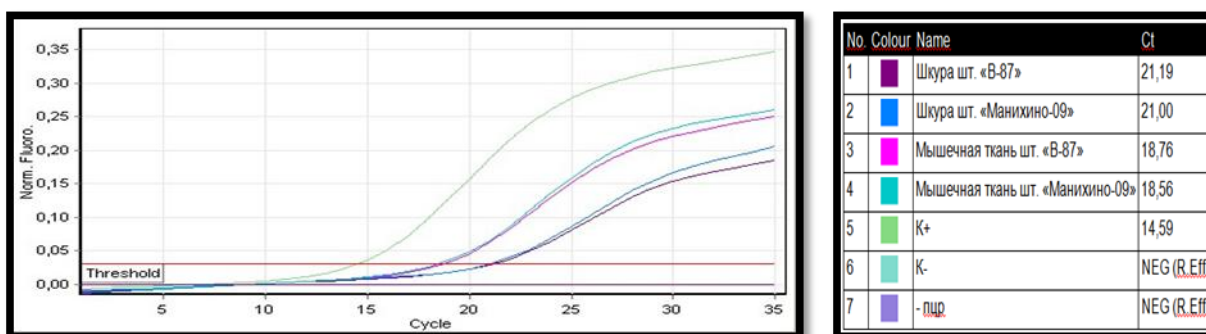


Рис.5 Результаты выявления генома вируса ВГБК в образцах мяса и шкурок кроликов

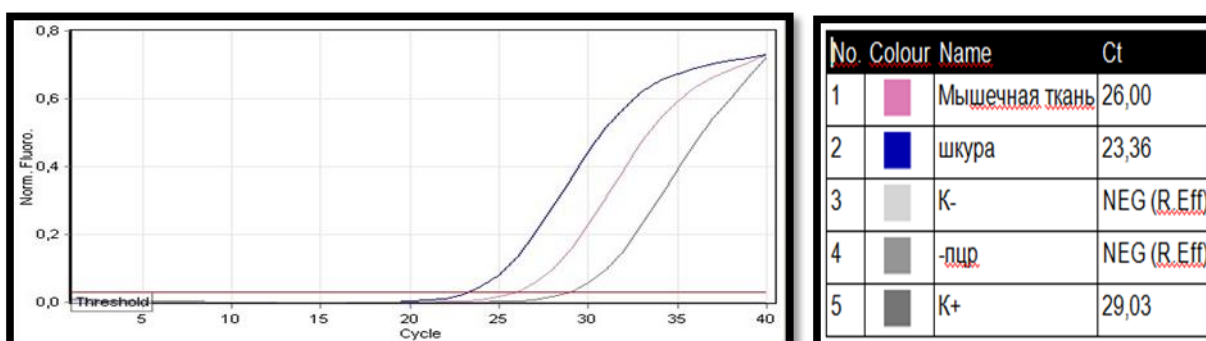


Рис.6 Результаты выявления генома вируса миксомы в образцах мяса и шкурок кролика

Причем с использованием метода ПЦР в режиме реального времени положительный результат был получен при исследовании проб шкурки кролика, инфицированного вирусом миксомы, на 4 сутки после заражения до появления у животного клинических признаков болезни (рис.7).

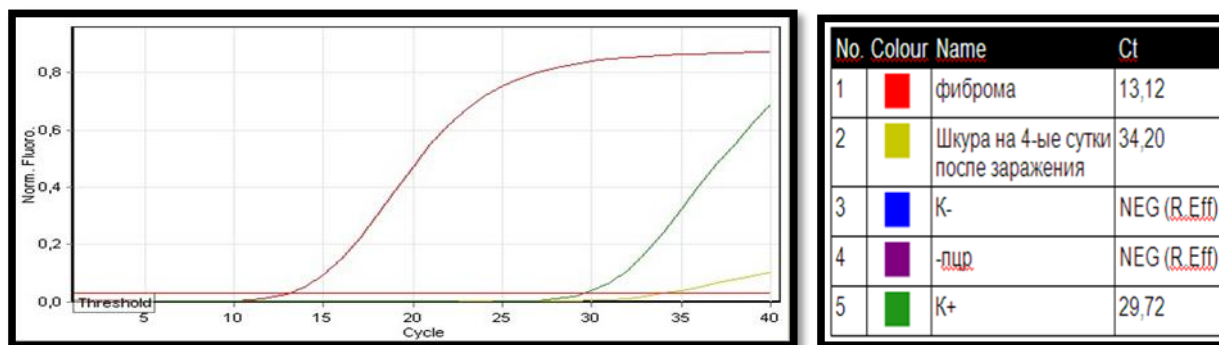


Рис.7 Результаты выявления генома вируса миксомы в образцах мяса и шкурок кролика на 4 сутки после заражения

### Выводы

В результате проведённых исследований по выявлению геномов вирусов миксомы кроликов и ВГБК в продуктах кролиководства методом ПЦР в режиме реального времени можно сделать следующие выводы:

1. метод ПЦР в режиме реального времени позволяет выявлять нуклеиновые кислоты вирусов ВГБК и миксомы кроликов в крови экспериментально зараженных животных на разных стадиях болезни;
2. с использованием метода ПЦР в режиме реального времени геномы вирусов ВГБК и миксомы кроликов выявлены в пробах органов (легких, сердце, печени, селезенке, почках и лимфатических узлах) инфицированных животных;
3. Показана возможность применения метода на основе ПЦР в режиме реального времени для обнаружения геномов вирусов ВГБК и миксомы кроликов в продуктах кролиководства (мясо и шкура).

### Библиографический список

1. Вишняков И.Ф., Шевченко А.А., Бакулов И.А., Власова Т.А. Вирусные болезни кроликов. – Покров: ВНИИВВиМ, 1997. – 51 с
2. Вирусные болезни животных / Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Фомина Н.В., Соловьев Б.В. - М.: ВНИТИБП, 1998. – 928 с.
3. <http://web.oie.int>
4. Барышников П.И. Ветеринарная вирусология. - Барнаул: Изд-во АГАУ, 2006. – 372 с.
5. Шевченко А.А. Специфическая профилактика инфекционных болезней кроликов: вирусной геморрагической болезни, миксоматоза и пастереллеза. // Докторская диссертация. – Покров: ВНИИВВиМ, 1994. – 346 с.

### VETERINARY – SANITARY INSPECTION OF RABBIT PRODUCTS BY MYXOMATOSIS AND RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE USING THE REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Chernova T.L., Burmakina G.S., Merchina S.V.

The article deals with the study of the possibility of using of real time PCR in the veterinary-sanitary inspection of rabbit products.