

УДК: 619:616.98:578.823.1:577.2

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЯ БОЛЕЗНИ ИБАРАКИ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

Бурова Н.С.\* – студент 4 курса факультета ветеринарной медицины;  
Научный руководитель – Аронова Е.В.\*\*\*, кандидат биологических  
наук, старший научный сотрудник; Янжиева Д.В.\*\*\*, аспирант

\*ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

\*\*ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии

\*\*\*ФГБОУ ВПО «Бурятская ГСХА им. В.Р. Филиппова»

**Ключевые слова:** молекулярно-генетический мониторинг, вирус болезни Ибараки, Республика Бурятия, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

**Аннотация.** Работа посвящена молекулярно-генетическому мониторингу возбудителя болезни Ибараки на территории Республики Бурятия. В результате проведённых исследований не выявили геном вируса болезни Ибараки в пробах крови от крупного рогатого скота и в мокрецах рода *Culicoides*.

В настоящее время особое внимание уделяется мониторингу трансмиссивных болезней, т.к. глобальное потепление климата способствует созданию условий, благоприятных для расширения ареалов патогенов, а также ухудшению эпизоотической ситуации в уже существующих очагах инфекций. К облигатным трансмиссивным болезням, вызывающим эпизоотии среди крупного рогатого скота (КРС), относится болезнь Ибараки (БИ), характеризующаяся лихорадкой, анорексией, язвенным поражением ротовой полости, нарушением глотательного рефлекса и репродуктивной функции [Сюрин, В.Н., 1998; Watanabe, Y., 2000].

Несмотря на отсутствие БИ на территории Российской Федерации существует угроза заноса возбудителя данной инфекции, особенно в регионах с развитым животноводством, активно сотрудничающих с эпизоотически неблагополучными странами. К таким регионам относится Республика Бурятия (РБ), через пограничную территорию которой осуществляется интенсивная миграция населения и постоянный транзит грузопотока [Баянжаргал, Б., 2014].

Поэтому целью данной работы являлось проведение молекулярно-генетического мониторинга возбудителя БИ на территории Республики Бурятия.

Материалом исследований служили: 91 проба крови, отобранная от клинически здорового КРС в животноводческих хозяйствах Кяхтинского района РБ

в марте-апреле 2014 г.; кровососущие мокрецы рода *Culicoides* в количестве 11200 особей. Сбор мокрецов проводили в животноводческих помещениях Селенгинского, Иволгинского, Кяхтинского и Баргузинского районов республики в июле-августе 2014 г.

Выделение вирусной рибонуклеиновой кислоты (РНК) из проб крови и 10% суспензии мокрецов осуществляли с помощью метода нуклеосорбции, рекомендованного разработчиками «Тест-системы для выявления РНК вируса болезни Ибараки методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» [Аронова Е.В., 2012] и оптимизированного нами.

Постановку реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) осуществляли на термоциклерах Терцик («ДНК-технология», Россия) и RotorGene 6000 («Corbett Research», Австралия), соответственно, руководствуясь методическими положениями к тест-системе [Аронова Е.В., 2011].

Работа являлась продолжением исследований по мониторингу орбивирусных инфекций, выполненных в 2013 г. [Аронова Е.В., 2014].

Проведению молекулярно-генетических исследований предшествовала оптимизация методики выделения РНК вируса БИ. Нами было подобрано оптимальное соотношение объёмов исследуемого материала и лизирующего раствора №1 (200:600 мкл), количество вносимого сорбента (35 мкл) и количество буфера для элюции (50 мкл). Полученные результаты позволили перейти к следующему этапу работы.

При исследовании проб крови от КРС и 10% суспензии мокрецов с помощью ПЦР-РВ не выявили специфичный фрагмент генома вируса болезни Ибараки (таблица). Об этом свидетельствовало отсутствие значения порогового цикла для каждой пробы в соответствующей графе таблицы результатов амплификации. Искомый фрагмент генома амплифицировался только в пробах положительных контролей выделения РНК (вирус-кровь от экспериментально заражённого вирусом БИ телёнка) и ПЦР-РВ (рекомбинантная плаزمида pGEM-T со встройкой фрагмента гена NS3 вируса БИ длиной 159 п.о.).

**Таблица. Результаты выявления генома вируса болезни Ибараки**

№ п/п	Характеристика пробы	Место отбора	Количество проб/имаго мокрецов, шт.	Результат ПЦР-РВ
1.	Кровь от КРС	Кяхтинский р-он	91	отрицат.
2.	Мокрецы рода <i>Culicoides</i>	Кяхтинский р-он	3050	отрицат.
		Селенгинский р-он	2700	отрицат.
		Иволгинский р-он	2980	отрицат.
		Баргузинский р-он	2470	отрицат.

Таким образом, при выделении РНК с помощью набора №1 «Тест-системы для выявления РНК вируса болезни Ибараки методом ПЦР-РВ» рекомендуется использовать соотношение исследуемого материала и раствора №1, равное 1:3 (т.е. 200:600 мкл); количество вносимого сорбента увеличить до 35 мкл.

Результаты молекулярно-генетических исследований, проведённых в 2014 г., свидетельствуют об отсутствии РНК вируса БИ в пробах крови от КРС, отобранных в Кяхтинском районе, и в мокрецах рода *Culicodes*, отловленных в 4 районах Республики Бурятия.

#### Библиографический список:

1. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 41-43.
2. Исследование мокрецов комплекса *Culicoides pulicaris*, собранных на территории Республики Бурятия, на наличие генома вируса эпизоотической геморрагической болезни оленей / Е.В. Аронова, Д.В. Янжиева, Т.С. Конвисарева, И.В. Бобровская // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК: Мат-лы межд. научно-практ. конф., посвящённой 45-летию института / ВНИТИБП. – г. Щёлково, 2014. – С. 177-181.
3. Методические положения по выявлению РНК вируса БИ методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / Е.В. Аронова, И.М. Калабеков, С.Ж. Цыбанов, А.В. Луницин; ВНИИВВИМ. – Покров, 2011. – 16 с.
4. Разработка тест-системы на основе ПЦР-РВ для идентификации генома вируса болезни Ибараки / Е.В. Аронова, И.М. Калабеков, Г.С. Бурмакина, С.Ж. Цыбанов, А.В. Луницин // Биотехнология. – 2012. – № 6. – С. 70-75.
5. An outbreak of Ibaraki disease in Kagoshima Prefecture in 1997 and properties of the virus isolated from bovine aborted and stillborn fetuses / Watanabe, Y., Makiuchi, H., Imafuji, T., Yamasaki, K., Onitsuka, T., Ohashi, S. // J. of the Japan Vet. Med. Ass. – 2000. – vol. 53, № 5. – P. 302-306.
6. Золотухин С.Н. Чувствительность патогенных энтеробактерий, выделенных при диареях молодняка животных к антибиотикам и специфическим бактериофагам / С.Н. Золотухин, А.С. Мелехин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 233-236.
7. Золотухин С.Н. Выделение и селекция клонов бактериофагов патогенных энтеробактерий / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова, Н.А. Феоктистова,

- Е.Н. Пожарникова, А.С. Мелехин, Н.Г. Барт, Н.П. Катмакова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 227-230.
8. Курьянова Н.Х. Проблемы биологической диагностики орнитобактериоза / Н.Х. Курьянова, Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев // Научный вестник Московского государственного горного университета. Москва. - 2009. - С. 170.
  9. Золотухин С.Н. Штаммы бактериофагов малоизученных патогенных энтеробактерий и их практическое применение / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Л.П. Пульчеровская, Н.И. Молофеева, Б.М. Коритняк, А.Ю. Кузнецов, Е.А. Бульканова, Е.Н. Пожарникова, Н.А. Феоктистова, А.С. Мелехин, С.В. Лёнев // Научные разработки и научно-консультационные услуги Ульяновской ГСХА. Информационно-справочный указатель. Ульяновск. - 2006. - С. 45-49.
  10. Результаты выявления афлатоксина в1 у клинических изолятов *Aspergillus flavus* / А.В. Рыбин, Н.И. Потатуркина-Нестерова, С.А. Нестеров, А.В. Нестерова // Современные наукоемкие технологии. - 2011. - № 1. - С.47-48.
  11. Потатуркина-Нестерова Н.И. Атомно-силовая микроскопия как метод исследования в микробиологии / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, А.В. Даньшина // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3. - С. 316.
  12. Елистратова Л.Л. Современное состояние проблемы демодекоза / Л.Л. Елистратова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 9-1. - С. 67-69.
  13. Потатуркина-Нестерова Н.И. Изменение вирулентных свойств урогенитальных энтерококков в условиях межмикробных взаимоотношений / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, М.Н. Артамонова, Е.Б. Хромова, О.Е. Хохлова, Н.В. Трофимова, О.В. Теплякова, И.А. Кочергина // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 1. - С. 8.
  14. Белозерова Е.А. Влияние хронического поступления солей меди, цинка и свинца на микробиологический баланс толстой кишки в условиях эксперимента / Е.А. Белозерова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, Е.С. Климов. -Токсикологический вестник. - 2007. - № 4. - С. 26-30.
  15. Яцишина С.Б. Применение мультиплексной ПЦР для идентификации вирулентных форм возбудителя сибирской язвы / С.Б. Яцишина, И.Л. Обухов, Л.С. Саленко, Б.И. Шморгун и др. // Сб. тезисов Генодиагностика инфекционных заболеваний. Всеросс. науч.-практич. Конференция. – 2002.
  16. Калдыркаев А.И. Разработка системы фаговаров *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Алешкин, С.В. Мерчина // Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновск, ГСХА им. П.А. Столыпина. -. 2013. - С. 178-185.

17. Макеев В.А. Изучение чувствительности бактерий рода *Bacillus* к различным концентрациям хлорида натрия / В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, С.В. Мерчина // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения Международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменование 250-летия профессии ветеринарного врача. Ульяновск. - 2011. - С. 185-187.

## MOLECULAR GENETIC MONITORING PATHOGEN OF IBARAKI DISEASE ON THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BURYATIA

Burova N.S., Yanzhieva D.V., Aronova E.V.

**Keywords:** *molecular genetic monitoring, Ibaraki virus, Republic of Buryatia, real-time PCR.*

**Summary.** *The work is devoted to molecular genetic monitoring pathogen of Ibaraki disease on the territory of the Republic of Buryatia. As a result of studies not identified the genome of Ibaraki disease virus in blood samples from cattle and midges of genus Culicoides.*

УДК 616:619

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ПРОВЕДЁННОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Глухова В., Куракина О., студентки 3 курса, колледжа «Агротехнологии и бизнеса»  
Научный руководитель - Хлынов Д.Н., ассистент

ФГБОУ ВПО Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина

**Ключевые слова:** *дезинфекция, лабораторные методы, бактериология, профилактика инфекционных заболеваний.*

**Аннотация.** *Работа посвящена методике проведения качества проведенной дезинфекции, получение смывов образцов и исследованию их на общую микробную обсемененность.*