

4. Серопозитивними сироватки крові собак були як до одного з 3-х ієрсиніозних антигенів, так і одночасно до двох або трьох (змішані реакції).

Перспективи подальших досліджень. Планується провести епізоотологічне обстеження собак щодо ієрсиніозу в інших регіонах України.

Список літератури

1. Бабкин, А.Ф. Серологические исследования служебных собак на бруцеллез, иерсиниоз и хламидиоз в питомниках с учетом клинико-эпизоотологических данных [Текст] / А.Ф. Бабкин, М.Н. Николаенко // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2005. – Вип. 85, т. 1. – С. 72–76.
2. Ивановская, Л.Б. К изучению роли *Y. enterocolitica* в патологии плотоядных [Текст] / Л.Б. Ивановская, М.Г. Зон // Материалы 7-ой междунар. конф. по пробл. вет. медицины мелких домашних животных, 3-5 марта 1999 г. – М., 1999. – С. 262–263.
3. Івановська, Л.Б. Епізоотологічний моніторинг та розробка серологічної діагностики ієрсиніозу тварин [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. / Л.Б. Івановська ; ННЦ «ІЕКВМ». – Х., 2007. – 22 с.
4. Fenwick, S. Duration of carriage and transmission of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype O3 in dogs [Text] / S. Fenwick, P. Madie, C. Wilks // Epidemiol. Infect. – 1994. – Vol. 113, № 3. – P. 471–477.

EVALUATION OF THE ANTIBODY-POSITIVE RESULTS FOR YERSINIOSIS ANTIGENS IN DOGS SERUM

Zon G.A., Kuznetsov M.U., Kuznetsova E.U., Ivanovskaya L.B.

Sumy National Agrarian University, Sumy

The article contains the data regarding the serological research of yersiniosis antibody-positive serum samples of dogs, being different by age, gender and breed. The defined antibody-positiveness (from 1:200 till 1:800) mainly to the yersinia antigens O6:30 and O9, in some cases-mutually with antigen O3 (mainly young animals 1-3 yrs).

УДК 619:616.98:578.842.1

ПАТАНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРОЙ ФОРМЫ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Каралова Е.М., Арзумянн Г.А., Мирзоян А.Ф., Акопян А.В., Каралян З.А.

Институт молекулярной биологии НАН Республики Армения;

Восканян Г.Е.

Научный центр животноводства и ветеринарии Республики Армения;

Каралян Н. Ю.

Центр профилактики особо опасных инфекций Республики Армения

Африканская чума свиней (АЧС) известна уже около ста лет, однако в евразийском регионе это заболевание встречалось редко. Ситуация изменилась в 2007 году, когда началась эпизоотия сначала в Грузии, затем в Армении [1]. Удержать в национальных границах высококонтагиозное заболевание не удалось. Вскоре случаи АЧС были зафиксированы в различных регионах России. Как следует из анализа, скорее всего заболевание будет иметь тенденцию к расширению своего ареала. В связи с этим необходимо проводить исследования по изучению биологических свойств вируса АЧС в экспериментальных условиях. Известно, что зачатую проявление экспериментальной инфекции отличается от естественной формы заболевания.

В связи с вышеизложенным, целью работы было исследование особенностей клинических и патанатомических изменений у больных свиней, зараженных экспериментальным путем.

Материалы и методы. Вирус. В работе использовали вирус АЧС, генотип II, вызвавший заболевание в Грузии, а затем и в соседних странах, в том числе и в Армении [1]. Определение инфекционного титра АЧС проводили методом гемадсорбции [2]. Доза вируса АЧС, используемая в опытах на свиньях, составляла 10^4 гемадсорбирующих единиц – ГАЕ/мл.

Животные. В работе использовали 14 здоровых свиней 3-х месячного возраста (вес около 40 кг), десять из которых были инфицированы вирусом АЧС, а четыре – служили контролем. Эвтаназия свиней проводилась согласно протоколу Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, AVMA Guidelines (Institutional Review Board/ Independent Ethics Committee of the Institute of Molecular Biology of NAS, IRB00004079).

Патологоанатомические исследования проводили путем вскрытия павших и эвтаназированных животных.

Статистический анализ проводился согласно t-критерию с помощью программы SPSS 14.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

Результаты исследований.

Экспериментальная инфекция. Экспериментальная инфекция АЧС была описана ранее [3]. Она характеризовалась ранней вирусемией (начиная с 1–2 д.п.и.). Максимальные титры вируса в крови инфицированных свиней были зафиксированы на 5-е сутки заболевания ($5\text{--}25 \log_{10}$ ГАЕ/мл).

Клинические проявления. Инкубационный период АЧС длился около 18–24 ч. Короткий срок инкубационного периода объясняется внутримышечным введением вируса. Развитие первых клинических признаков заболевания наступало в период 18–30 ч. п.и. Развитие основных клинических симптомов наблюдается через 24–48 ч.п.и. Летальный исход наступал на 5–7 день. В 1–2 д. п.и., несмотря на вирусемию, наблюдаемую начиная со 2-х суток (до $4\text{--}5 \log_{10}$ ГАЕ/мл), клиническая картина была не выраженной. Начиная со 2 суток, наблюдалась невыраженная гипертермия, потеря аппетита, после чего следовало быстрое нарастание основной симптоматики, которая выражалась в подъеме температуры тела у отдельных животных до $(40\text{--}42)^\circ\text{C}$ (в норме не выше $(39,1\text{--}39,7)^\circ\text{C}$) ($p < 0,01$), снижении активности, затруднении дыхания. На 5–6 сутки у некоторых животных была обнаружена кровь в фекалиях. Симптоматика нарастала и на терминальной стадии (начало 7-х суток) выжившие животные умерщвлялись согласно протоколу. До указанного срока в промежутке с 5 по 6 день погибло 2 свиньи из 10 (20 %).

Раннее проявление АЧС характеризовалось потерей аппетита и подъемом температуры. На 2–3 день на кожных покровах наблюдались геморрагии – пятна от темно-красного до коричневого цвета, от очень маленьких – 1–2 мм до 10 мм в диаметре. Локализация геморрагий: на внутренних частях передних и задних конечностей, на ушах, особенно на кончиках. Одиночные геморрагии имели тенденцию к сливанию (на 3–5 день).

Заболевшие животные лежали в тени, у них было учащенное дыхание, выраженная слабость, при движении наблюдалась заплетание задних конечностей, шаткость походки.

Патологоанатомические изменения. При острой форме АЧС нами наблюдались как хорошо известные, так и сравнительно редкие, а также малоизвестные патанатомические изменения [4, 5, 6].

При вскрытии были обнаружены многочисленные кровоизлияния на слизистых и серозных оболочках, в органах брюшной и грудной полостей, а также заметные многочисленные кровоизлияния в брыжейке (рис 1.А).

Некоторые лимфатические узлы были увеличены, а в них обнаруживалась геморрагическая инфильтрация. Были выявлены, хорошо описанные в литературе, изменения висцеральных лимфоузлов, они были увеличены, на ощупь мягкие, темно-вишневого цвета и напоминали гематомы [5].

Селезенка была увеличена в объеме (иногда в несколько раз), пульпа была дряблая, размягченная, темно-красного цвета, переполненная кровью. Печень была увеличена и полнокровна. Легкие неспавшиеся, иногда наблюдался серозный отек. Часто были заметны отдельные кровоизлияния. Кровоизлияния чаще наблюдались в маргинальных долях легких (рис 1.Б).

В грудной, брюшной и перикардиальной полостях отмечали накопление значительного количества экссудата (окраска экссудата колебалась от желтовато-красного до темно-красного), нередко со сгустками фибрина.

Почки были увеличены в объеме, полнокровные, покрытые многочисленными точечными кровоизлияниями. Иногда наблюдалась сливная гемморрагия почек. При этом пораженная почка была больших размеров и приобретала темно красную окраску.

Сердце у некоторых свиней было увеличено в размере. Перикард часто был заполнен темно-красным экссудатом, объемом до 100–150 мл. Иногда наблюдались геморрагии непосредственно в миокарде (рис 1.В).

В наблюдаемом нами варианте острой формы АЧС неоднократно отмечали геморрагии в мышечной ткани, чаще в мышцах конечностей. Также были обнаружены геморрагии в суставах, прежде всего в крупных суставах задних конечностей (1.Г). Важно отметить, что гемартрозы наблюдались не только в коленных суставах (наиболее частая локализация), но и в других крупных суставах (в бедренном).

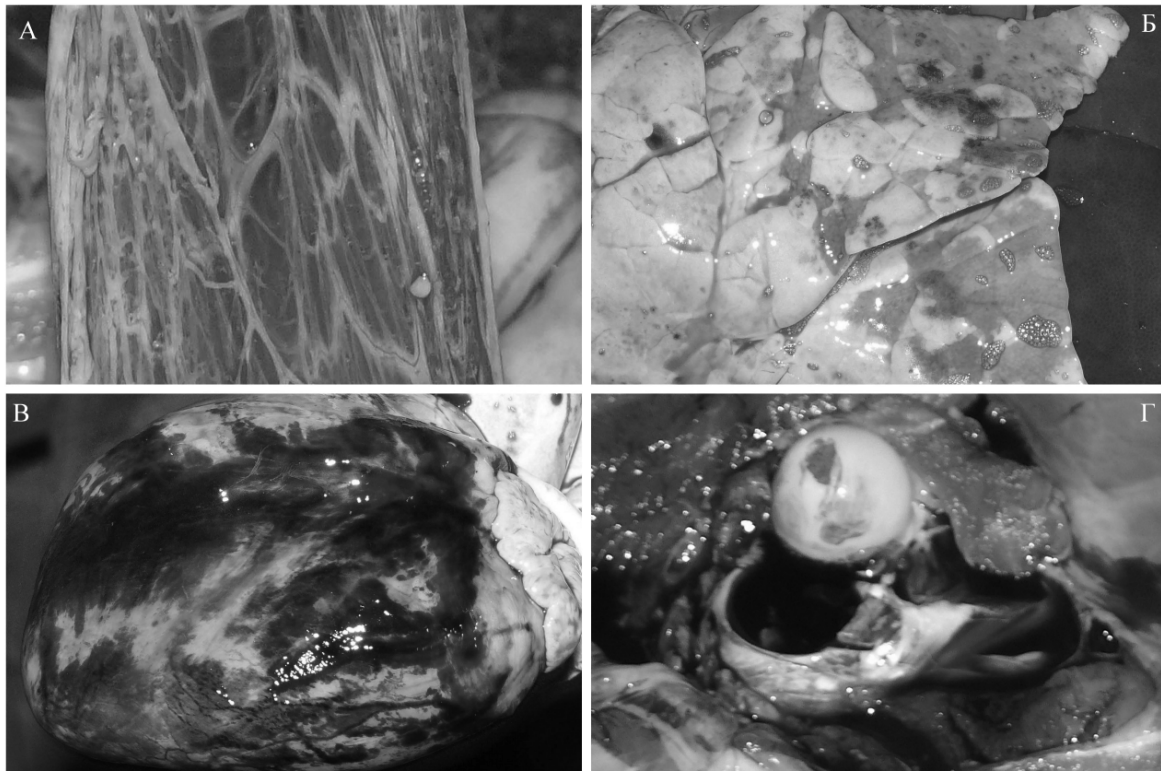


Рис. 1. Патологоанатомические изменения при острой АЧС: А – Кровоизлияния в брыжейку. Б – Кровоизлияния в маргинальной доле легкого. В – Заполнение перикарда экссудатом, кровоизлияние в миокард. Г – Гемартроз бедренного сустава.

Выводы. Таким образом, экспериментальная АЧС имела некоторые отличия от естественной формы заболевания. Экспериментальная форма АЧС характеризовалась более быстрым возникновением ранних клинических проявлений заболевания. Патологоанатомическое исследование выявило более выраженные явления геморрагии, включая ранее не описанные при АЧС гемартрозы.

Список литературы

1. African swine fever virus isolate, Georgia [Text] / R.J. Rowlands [at al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 14. – P. 1870–1874.
2. Titration of African swine fever (ASF) virus [Text] / L. Enjuanes [at al.] // J. Gen. Virol. – 1976. – Vol. 32. – P. 471–477.
3. Pathology of porcine peripheral white blood cells during infection with African swine fever virus [Text] / Z. Karalyan [at al.] // Vet. Res. – 2012. – Doi: 8:18.
4. Experimental African swine fever: apoptosis of lymphocytes and virus replication in other cells [Text] / J. Gomez-Villamandos [at al.] // J. Gen. Virol. – 1995. – P. 2399–2405.
5. Mebus, C. A. African swine fever [Text] / C. A. Mebus // Adv. Virus Res. – 1988. – Vol. 35. – P. 251–269.
6. African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease [Text] / F. Rodriguez [at al.] // Vet. Rec. – 1996. – Vol. 139, № 11. – P. 249–254.

PATANATOMICAL DESCRIPTION OF THE ACUTE AFRICAN SWINE FEVER IN EXPERIMENT

Karalova E.M., Arzumanyan H.A., Mirzoyan A.F., Hakobyan A.V., Karalyan Z.A.

Laboratory of Cell Biology, Institute of Molecular Biology of NAS RA, Yerevan, Armenia

Voskanyan H.E.

Scientific Center of Stock Breeding and Veterinary RA, Yerevan, Armenia

Karalyan N.Yu.

Center for the Prevention of particularly dangerous infection MH RA, Yerevan, Armenia

It was shown the features of the clinical circuit of ASF provoked by intramuscular injections of the virus. The increase of the clinical symptomatology occurs faster in comparison with depicted. It was detected hemorrhages in the marginal lobe of the lung. For the first time were detected hemorrhages in the mesentery and in the big joints of the extremities.

УДК 616.423423-018.1-02: 576.858.13+576.858.51

ПОЛИПЛОИДИЯ ПРИ ИНФЕКЦИИ ПАРАМИКСОВИРУСАМИ

Каралян З.А., Аброян Л.О., Акопян Л.А., Аветисян А.С., Закарян О.С., Каралова Е.М.

«Институт Молекулярной Биологии НАН РА», лаборатория клеточной биологии, г. Ереван, Республика Армения

Тер-Погосян З.Р.

«Национальный центр онкологии МЗ РА», г. Ереван, Республика Армения

Полиплоидия (от греч. *polyploos* – многократный и *eidos* – вид) – наследственное изменение, заключающееся в кратном увеличении числа наборов хромосом в ядрах клеток. Полиплоидия весьма широко распространенное явление, биологическая роль которой не всегда ясна, но в физиологических условиях может быть связана с необходимостью увеличения числа структурных генов [1]. В условиях *in vitro* полиплоидия может быть обусловлена также блоком клеток в монослое при насыщении последнего вследствие контактного ингибирования.

Достоверные цитологические данные об уровнях плоидности клеток, инфицированных различными представителями парамиксовирусов, отсутствуют. Более того, практически не изучены механизмы умножения геномов, в инфицированных вирусами клетках. Тем не менее, важность ядерных структур для репликации парамиксовирусов несомненна. У различных парамиксовирусов, реплицирующихся в цитоплазме, выявлены белки, мигрирующие в ядро. Например, у вируса парагриппа человека, V протеин содержит сигнал ядерной локализации - NLS (специфическая последовательность необходимая для транспортировки белка в ядро). Этот белок локализуется в ядре [2]. А в случае вируса болезни Ньюкасла выявлена способность вирусного белка М к импорту в ядро [3]. Функции этих белков в ядре зараженной клетки изучены недостаточно, и практически не изучено влияние репликации парамиксовирусов на функциональное состояние ядер инфицированных клеток. Одним из таких, малоизученных в данном аспекте вирусов, является вирус кори.

Материалы и методы исследований. В работе использовалась культура линия аденокарциномы толстого кишечника человека (CaCo-2). Клетки культивировались в среде Eagle, с добавлением 20 % фетальной бычьей сыворотки. Посевная доза 2×10^5 клеток/мл.

Для получения острой вирусной инфекции вирус кори (штамм *Edmonstone B*) использовался в дозе 1.0 ТЦД₅₀/мл.

Для моделирования влияния интерферона (ИФН) нами использовался α -ИФН в дозе 20 Ед/мл.

С помощью микроскопа-фотометра SMP-05 телевизионным методом после окраски препаратов реактивом Шифа по Фельгену определяли количество ДНК (λ 575 нм) в ядрах и ядрышках культуры клеток (CaCo-2) их площадь и периметр в процессе культивирования ежедневно с 24 часов по 144 часа в контроле, при инфекции вирусом кори и при действии α -ИФН. В качестве диплоидного стандарта использовали нестимулированные лимфоциты человека и выявляли распределение клеток культуры по плоидности (%). Данная методика является удобной для определения нарушений клеточного цикла *in vivo* [4] и *in vitro* [5], а также для определения полиплоидизации [6].

Достоверность различий между значениями распределения ДНК по классам плоидности определяли, используя u -критерий Вилкоксона-Манн-Уитни, с помощью программы SPSS 14.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

Результаты исследований и их обсуждение. Вирус кори реплицировался в клетках культуры с накоплением титра (максимальные титры вируса – 3–4 ТЦД₅₀/мл) вплоть до 5 дня после инфекции (д.п.и.), затем титры вируса несколько снижались (1,5–2,75 ТЦД₅₀/мл).

Культура CaCo-2 после формирования монослоя оказалась относительно стабильной популяцией и содержала, в среднем, 2,2–2,6 ядрышек на ядро. Для нее характерно относительно стабильное содержание ДНК и невыраженные колебания распределения ядер клеток по классам плоидности [7].

Вирус кори реплицировался в клетках культуры с накоплением титра (максимальные титры вируса – 3–4 ТЦД₅₀/мл) вплоть до 5 дня после инфекции (д.п.и.), затем титры вируса несколько снижались (1,5–2,75 ТЦД₅₀/мл).

Исследование распределения ядер клеток CaCo-2 по классам плоидности ДНК выявило, что под действием инфекции вируса кори в течение первых двух суток наблюдалось смещение гистограммы вправо (рис.). При сравнении распределения ядер зараженных клеток с контрольными, оказалось, что к 24 часам, число инверсий по u -критерию равно 3, ($p < 0,05$), а разница с группой клеток, подвергшихся воздействию ИФН не достоверна. К 48 часам число инверсий по u -критерию, при сравнении зараженных и контрольных клеток, равно 0 ($p < 0,01$), а при сравнении зараженных клеток с группой клеток получивших воздействие ИФН, число инверсий равно 2 ($p < 0,05$).