

Висновок. З метою забезпечення стійкого благополуччя тваринництва України з туберкульозу, профілактичні протитуберкульозні заходи в господарствах усіх форм власності необхідно проводити відповідно до Інструкції щодо заходів профілактики та боротьби з туберкульозом тварин, при цьому особливу увагу необхідно приділяти якості діагностичних досліджень поголів'я великої рогатої худоби як господарств, так і приватного сектора, а також проведенню ветеринарно-санітарних заходів.

Список літератури

1. Горжесв, В.М. Епізоотологічний моніторинг та удосконалення системи боротьби з туберкульозом рогатої худоби у господарствах України [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук / В.М. Горжесв ; ІЕКВМ УААН. – Х., 2005. – 20 с. 2. Кассіч, Ю.Я. Вивчення культур мікобактерій виділених від великої рогатої худоби та об'єктів зовнішнього середовища [Текст] / Ю.Я. Кассіч, А.І. Завгородній, В.А. Кочмарський // Ветеринарія : респ. міжвід. темат. наук. зб. – К., 1992. – Вип. 67. – С. 58–61. 3. Наукові та практичні аспекти дезінфекції у ветеринарній медицині [Текст] / А.І. Завгородній [та ін.]. – Х. : ФОРМ Бровін О.В., 2013. – 222 с. 4. Туберкулёз животных и меры борьбы с ним [Текст] / Ю. Я. Кассич [и др.]. – К. : Урожай, 1990. – 304 с. 5. Солодова, И. В. Ретроспективный анализ измененной эпизоотической ситуации по туберкулёзу крупного рогатого скота в Российской Федерации за 1951–2009 гг. [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 06.02.02 / И. В. Солодова ; ГНУ ВНИИЭВ. – М., 2011. – 23 с.

CAUSES OF TUBERCULOSIS INFECTION IN THE ECONOMIES OF UKRAINE

Gorzheyev V.M.

State Veterinary and Phytosanitary Service of Ukraine, Kyiv

The article presents the results of study on the epizootic situation on TB in cattle farms in Ukraine. The main cause of relapse and tuberculosis infection in previously restored to the farms.

УДК 619:578.833.2

БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ ГЕНОМУ ВІРУСУ ЛИХОМАНКИ ЗАХІДНОГО НІЛУ ТА РОЗРОБКА ОЛІГОНУКЛЕОТИДНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ЗБУДНИКА

Герілович А.П., Стегній Б.Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Лихоманка Західного Нілу – це емерджентне вірусне трансмісивне захворювання людини та коней, що супроводжується пропасницею та ознаками енцефаліту. Збудником хвороби є РНК-вміщуючий флавівірус, який має одноплазмовий геном, що характеризується нестабільністю в плані мутацій та є надто мінливим. Резервуаром захворювання в дикій природі є птахи багатьох видів. Між ними та від них до ссавців вірус передається кровосисними комахами та кліщами [1, 2].

Діагностика лихоманки Західного Нілу здійснюється в комплексний спосіб. Що стосується засобів лабораторної діагностики, то, згідно з рекомендаціями МЕБ, використовується комплекс вірусологічних, серологічних і молекулярно-генетичних тестів. Важливе місце в системі оперативного реагування та моніторингу лихоманки Західного Нілу займає полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

На сьогоднішній день запропоновано чимало її модифікацій та адаптована велика кількість протоколів. Існує цілий ряд комерційних засобів детекції вірусу Західного Нілу, які доступні у формі тест-систем для класичної ПЛР та ПЛР у режимі реального часу [1].

У державах Європейського Союзу проводиться значна робота щодо моніторингу хвороби. У рамках проекту EPIZON та інших країн Євросоюзу щорічно досліджують десятки тисяч зразків з метою виявлення нагальних ризиків поширення хвороби.

На превеликий жаль у нашій країні моніторинг лихоманки Західного Нілу не проводиться з причин відсутності засобів діагностики та відповідних програм фінансованих державою. У зв'язку з цим існує нагальна необхідність щодо створення засобів моніторингу та діагностики, що і є **метою** представленої роботи.

Матеріали і методи. Робота виконана з використанням біостатистичних методів досліджень. З метою розробки олігонуклеотидів були створені локальні бази нуклеотидних послідовностей основних генів і повних геномів вірусу лихоманки Західного Нілу, отримані з GenBank.

Аналіз їх щодо консервативності був проведений за допомогою програми BioEdit (v.7.2.4), після чого в областях консервативних мотивів з використанням AmpliX 1.5 були розраховані олігонуклеотиди за принципами видової та міжвидової стабільності послідовностей та питомої специфічності відносно збудника лихоманки Західного Нілу

Видоспецифічні праймери перевіряли методами локального та глобального порівнянь за розробленим у ННЦ «ІЕКВМ» алгоритмом [3].

Результати досліджень. На першому етапі наших досліджень були проаналізовані геномні карти вірусу лихоманки Західного Нілу, виділених у різних країнах світу. Всього було отримано та проаналізовано 24 послідовності.

Аналіз баз даних нуклеотидних послідовностей показав, що найбільшою гомогенністю та широтою вибірки секвенованих ділянок характеризувалися гени 5'-UTR та gE. Зважаючи на те, що ген 5'-UTR є більш варіабельним у порівнянні з геном gE, ми зупинили свою увагу на більш детальному аналізі останнього. Рівень його консервативності для різних штамів вірусу склав 96–98 %. Аналіз цього гена за допомогою програми BioEdit (v.7.2.4) показав наявність 14 консервативних ділянок розміром понад 25 п.н., що були придатними для розрахунку видоспецифічних праймерів. Пошук олігонуклеотидних послідовностей для детекції вірусу лихоманки Західного Нілу виявив 18 потенційних пар, що відповідали генетично стабільним локусам геномної РНК збудника. При поглибленому аналізі цих послідовностей методами мікроаналізу відібрано чотири праймерні системи, які фланкували ділянки гена gE вірусу Західного Нілу довжиною 170–340 п.н. Дослідження цих олігонуклеотидних пар методами мікроаналізу показали 100 %-ову відповідність однієї з них (вона обмежувала ділянку аналізованого гена довжиною біля 186 п.н. і дістала назву WNV_4) до матриці збудника більшості описаних штамів як людського, так і пташиного походження (рис.).

Перевірка якості розроблених олігонуклеотидних пар показала, що вони не містять вроджених і паліндромних ділянок, ознаки формування вторинних структур за низьких енергетичних впливів були відсутні. Різниця температур плавлення для розрахованих праймерів не перевищувала 1 °С. Вони були на 100 % комплементарними до кДНК-матриць вірусу лихоманки Західного Нілу та мали відповідність у парі не вище за 65 % та індивідуальну – не вище 85 % стосовно подібних та гетерологічних матриць (віруси діареї ВРХ, прикордонної хвороби, класичної чуми свиней).

Висновки. За біоінформатичним аналізом фрагментів геному вірусу лихоманки Західного Нілу встановлено, що для видоспецифічної детекції збудника як таргетний може бути використаний ген gE.

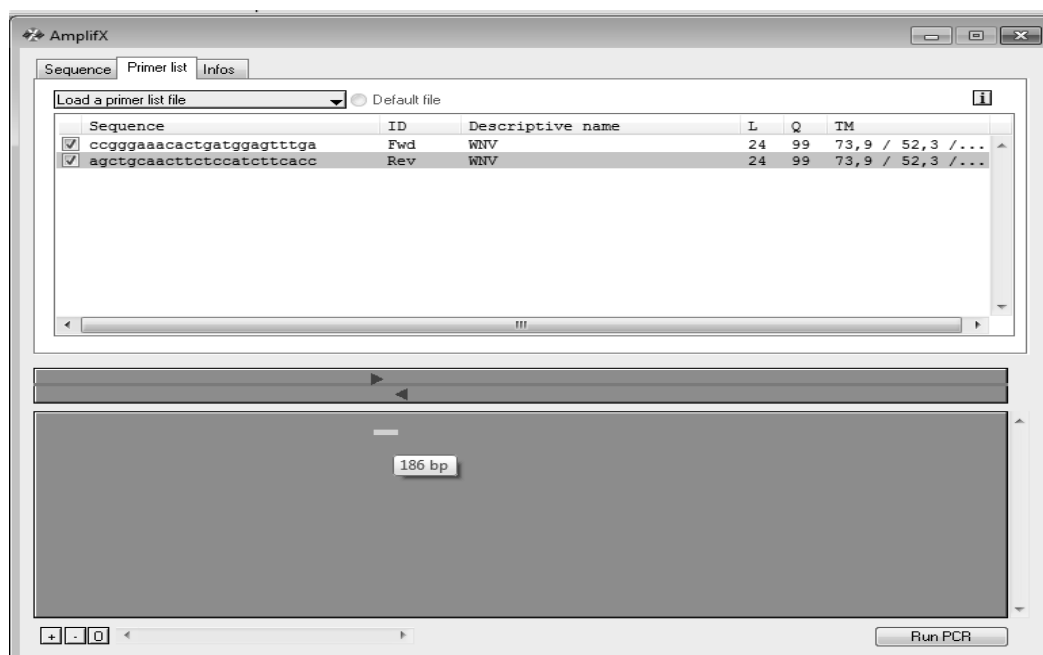


Рис. Діалогове вікно програми AmplifX – праймери для детекції генетичного матеріалу вірусу лихоманки Західного Нілу.

З метою видоспецифічної ампліфікації кДНК вірусу лихоманки Західного Нілу розроблені праймерні системи WNV_4 що фланкують ділянку довжиною 186 п.н. і характеризуються високою передбаченою специфічністю детекції та задовільними показниками ПЛР-quality.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих результатів зі створення видоспецифічних праймерів для виявлення кДНК вірусу лихоманки Західного Нілу в подальшому планується розробка методик з індикації збудника в клінічних зразках за допомогою ПЛР.

Список літератури

- Office international epizootical Terrestrial Code [Electronic resource]. – Access mode : URL: http://www.oie.int/eng/normes/mcode/code2008/en_preface.htm – Title from the screen. 2. Molecular evolution of lineage 2 West Nile virus [Text] / A. R. McMullen [at al.] // J. Gen. Virol. – 2013. – № 94 (PT 2). – P. 318–325. 3. Герілович, А. П. Методологія розрахунку та теоретичної перевірки якості олігонуклеотидів для виявлення нуклеїнових кислот патогенів тварин на основі полімеразної ланцюгової реакції [Текст] / А. П. Герілович // Вет. біотехнологія : бюл. / ІВМ. – 2009. – № 14. – С. 56–69.

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF THE WEST NILE VIRUS GENOME AND THE DEVELOPMENT OF OLIGONUCLEOTIDE SYSTEM FOR DETECTION OF THE PATHOGEN

Gerilovych A.P., Stegnyy B.T.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov

West Nile virus is an emergent RNA-containing virus that is spreading pandemic threat and demonstrates transmissibility. Reservoirs of disease are numerous species of wild migratory birds. Effective risk assessment on the spread of the pathogen and early diagnosis of caused disease require the development of new and emerging products. The article analyzes the genetic material of the virus and the development of oligonucleotides for the detection of viral RNA by PCR. Analysis of West Nile virus genome identified conserved regions and allowed to design oligonucleotide system. Further results of the research will be the basis for the creation of national monitoring of disease.

УДК 619:616.578.2:988.21

ВИЯВЛЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ВІРУСУ СКАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАРАЖЕННІ МИШЕЙ РІЗНИМИ СПОСОБАМИ

Бабкін М.В., Головка М.А., Романенко О.А.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

Дерябін О.М.

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

Незважаючи на давню історію досліджень сказу певні питання патогенезу хвороби ще недостатньо вивчені. Відомо, що інкубаційний період може варіювати в значних часових межах від декількох діб до року і більше, але здебільшого становить 3–6 тижнів. Його тривалість залежить від тяжкості поранення та локалізації завданих укусів, ступеня стійкості покусаної тварини, вірулентності та кількості занесеного в рану вірусу. При інфікуванні молодих тварин період інкубації звичайно коротший, ніж у дорослих тварин [1–4].