СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2016, том 51, № 4, с. 467-474

УДК 636/639:636.4:578:577.083 doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.467rus

ИНФЕКЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В ЛАБОРАТОРНЫХ ОБРАЗЦАХ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМАХ (С ЭКСТРАПОЛЯЦИЕЙ НА СОХРАНЯЕМОСТЬ В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ)

И.П. СИНДРЯКОВА[1], Ю.П. МОРГУНОВ[1], А.Ю. ЧИЧИКИН[1], И.Х. ГАЗАЕВ[2], Д.А. КУДРЯШОВ[1], С.Ж. ЦЫБАНОВ[1]

Известно, что вирус африканской чумы свиней (АЧС) может распространяться алиментарно (например, вследствие скармливания животным контаминированных вирусом пищевых и боенских отходов, не подвергнутых термической обработке, комбикормов, не прошедших ветеринарно-санитарную экспертизу и поступивших из неблагополучных районов, и т.п.). Свинина служит сырьем для приготовления солонины, мясных консервов, сала и других пищевых продуктов. Сохраняемость вируса в них окончательно не изучена. Нами впервые выполнены исследования инфекционной активности изолята вируса АЧС, циркулирующего на территории Российской Федерации, в контаминированной продукции свиноводства, кормах, а также в пробах, предназначенных для ветеринарно-санитарного надзора. С этой целью мы экспериментально заражали 3-4-месячных подсвинков с живой массой 20-30 кг, вводя внутримышечно вирусосодержащую кровь. Животных инокулировали изолятом Волгоград-Калач 2012 с исходным инфекционным титром 7,5 lg ГАЕ$_{50}$/см^3 (получен из Государственной коллекции ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии). Через 3 сут после заражения проводили убой, отбирали пробы органов и тканей для выявления вируса, а из мяса изготавливали солонину, мясные консервы и шпик. Кровь, содержащую вирус АЧС, использовали также для искусственной контаминации образцов кормов и питьевой воды. Для изучения влияния температуры хранения образцов на инфекционную активность вируса и на возможность обнаружения фрагментов его генома приготовленные образцы распределили по аликвотам для дальнейшего хранения при различных температурных режимах: 20-25 °С (комнатная температура); 4-6 °С (условия бытового холодильника); –16...–20 °С (температура морозильной камеры). Температуры, выбранные для хранения образцов, соответствовали естественным погодным условиям в разные времена года (20-25 °С летом, –16...–20 °С зимой); температура 4-6 °С, как правило, поддерживается в тамбуре свинарника или кормокухне в зимние месяцы. Через каждые 5 сут отбирали пробы для определения титра вируса АЧС в образцах и выявления его генома. Выделение вируса проводили в первичной культуре клеток костного мозга свиньи в течение 5 сут в двух последовательных пассажах. Результаты учитывали по гемадсорбирующим свойствам вируса (РГАд) и в ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Установлено, что вирус АЧС обнаруживается в солонине и шпике, хранившихся при 20-25 °С в течение 16 сут. При температуре хранения 4-6 °С вирус в солонине выявляли в течение срока наблюдения (60 сут). В образцах, хранившихся при отрицательных температурах, вирус АЧС сохранял инфекционную активность на протяжении всего периода исследований (60 сут) и были найдены фрагменты его ДНК. Таким образом, в пробах органов и пищевых продуктах, полученных от свиней убитых в ранние сроки после заражения, инфекционный вирус АЧС сохраняется (в зависимости от условий хранения) длительное время и может представлять серьезную опасность как фактор распространения возбудителя. Полученные данные также позволяют прогнозировать температурные условия, способствующие поддержанию циркуляции вируса в очагах АЧС.

Ключевые слова: африканская чума свиней, АЧС, вирус, реакция гемадсорбции, РГАд, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, ПЦР-РВ, эпизоотия, ликвидация очага АЧС.

В результате эпизоотологического анализа вспышек африканской чумы свиней в первичных очагах установлено, что одна из основных причин, способствующих заносу и распространению вируса, — использование контаминированной продукции свиноводства (1, 2) или ее отходов (3, 4). Это происходит вследствие игнорирования ветеринарно-санитарных норм и правил: несоблюдения технологических условий производства продуктов и правил утилизации (переработки или хранения) боенских, пищевых и бытовых отходов; нарушения условий транспортировки и хранения готовой продукции или кормов (5). Так, по сведениям Россельхознадзора, в 2009 году на территорию Цимлянского района Ростовской области завезли мясо и фарш из неблагополучного региона. Как оказалось, продукты были

изготовлены из зараженной свинины и подвергнуты переработке с нарушениями ветеринарно-санитарных норм и оформления соответствующих документов (6). В октябре 2009 года в прикухонном хозяйстве войсковой части, расположенной на территории Ленинградской области, была зафиксирована вспышка АЧС. По результатам эпизоотологического расследования выяснилось, что вирус АЧС завезли из неблагополучного региона, и далее он распространялся через контаминированные пищевые отходы (7). Аналогичные вспышки на территории подсобных хозяйств, подведомственных силовым структурам, ставшие результатом использовании необеззараженных кухонных отходов, были зарегистрированы в Ростовской (апрель, декабрь 2010 год) и Тверской (май 2011 года) областях (7). Это классический пример заноса вируса АЧС в благополучные хозяйства. Аналогичные случаи происходили ранее в странах Европы, в частности в Португалии в 1957 году, на Кубе в 1971 году, в Южной Америке (Бразилия) в 1978 году, в Бельгии в 1985 году; последний описанный случай произошел в Грузии в 2007 году (1).

Изучение путей распространения инфекции остается важным подходом для понимания эпидемиологии АЧС. В последние годы европейскими коллегами проведены исследования роли транспортных средств, кормов, предметов ухода за животными, обслуживающего персонала, (8), а также нелегальной торговли мясом (9) в связи с проблемой распространения АЧС, оценен риск заноса заболевания при импорте поголовья (10).

Однако проконтролировать или отследить все вероятные способы распространения вируса с продукцией свиноводства не всегда представляется возможным. Одна из основных проблем — определение эпизоотологически значимых направлений при разработке профилактических и ликвидационных мероприятий. Недооценка некоторых (на первый взгляд, малозначительных) аспектов приводит к существенному возрастанию масштабов ущерба от эпизоотии. Это относится к так называемому гуманитарному фактору распространения вируса АЧС и поддержания эпизоотической цепочки. Недостаточная информированность населения либо сознательное нарушение элементарных правил биобезопасности могут стать причиной крупной эпизоотии АЧС не только среди домашнего поголовья, но и в природных популяциях диких свиней. Учитывая роль гуманитарного (антропогенного) фактора в возникновении вспышек АЧС, следует признать актуальным изучение описанных путей распространения вируса.

Нами впервые экспериментально изучено влияние температуры на сохраняемость изолята вируса АЧС, циркулирующего на территории Российской Федерации, в контаминированной продукции свиноводства, кормах, а также в пробах, предназначенных для ветеринарно-санитарной экспертизы. Полученные данные также позволяют прогнозировать температурные условия, поддерживающие напряженность в природных очагах АЧС.

Цель выполненной работы состояла в изучении влияния температуры на инфекционность вируса африканской чумы свиней в субпродуктах, пищевых продуктах, комбикорме и питьевой воде.

Методика. Эксперименты проводили на 3-4-месячных подсвинках крупной белой породы с живой массой 20-30 кг. Для инокуляции использовали изолят Волгоград-Калач 2012 с исходным инфекционным титром 7,5 lg $ГАЕ_{50}/см^3$ (получен из Государственной коллекции ГНУ ВНИИВ-ВиМ Россельхозакадемии). Подсвинков заражали кровью, содержащей вирус АЧС в титре 5,0 lg $ГАЕ_{50}/см^3$ (1,0 мл крови вводили внутримышечно в область средней трети шеи).

Через 3 сут после заражения проводили убой животных и отбирали пробы внутренних органов (печень, почки, сердце), мяса и сала.

Солонину изготавливали из мяса инфицированных подсвинков методом мокрого посола. Мясные консервы готовили с соблюдением регламентов ГОСТ 32125-2013 «Консервы мясные. Мясо тушеное. Технические условия». Сало консервировали сухим посолом согласно типовой технологии по ОСТ 49 38-85 «Продукты из шпика свиного. Технические условия».

При изучении инфекционности вируса АЧС и его генома в кормах использовали комбикорм свиной следующего состава (%): ячмень — 40, пшеница — 21, овес — 10, отруби пшеничные — 10, мука ячневая — 11, хлопок шротный — 5, мука хвойная — 0,5, мел — 0,7, соль поваренная — 0,1. Навески комбикорма (по 10 г) контаминировали вирусосодержащей кровью (изолят Волгоград-Калач 2012), предварительно разведенной в питательной среде ГЛА (гидролизат лактоальбумина) в соотношении 1:10 до конечного инфекционного титра 7,0 lg $ГАЕ_{50}/см^3$, и высушивали при комнатной температуре в течение 8-12 ч. Для исследования образцов водопроводной воды (90 мл, pH 7,1-7,2) их также контаминировали вирусосодержащей кровью (изолят Волгоград-Калач 2012, инфекционный титр 7,5 lg $ГАЕ_{50}/см^3$, объем инокулята 10 мл).

Все приготовленные образцы разделяли для дальнейшего хранения при разных температурных режимах: 22-25 °С (комнатная температура); 4-6 °С (условия бытового холодильника); –16...–20 °С (температура морозильной камеры). Через каждые 5 сут отбирали пробы для определения титра вируса в реакции гемадсорбции (РГАд) и выявления ДНК возбудителя в ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Вирус выделяли в первичной культуре клеток костного мозга свиньи (ККМС) в течение 5 сут в двух последовательных пассажах. Зараженную культуру клеток инкубировали при 37,0±0,5 °С в течение 3-5 сут. Результаты учитывали по наличию гемадсорбции. Постановку РГАд осуществляли по стандартной методике (11). Титр вируса ($ГАЕ_{50}/см^3$) рассчитывали по методу Рида и Менча.

При молекулярно-генетических исследованиях подготовку образцов, выделение нуклеиновых кислот, постановку ПЦР-РВ и учет результатов проводили с использованием тест-системы для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР в реальном времени (ВНИИВВиМ, г. Покров) в соответствии с прилагаемой инструкцией (12).

Результаты. Выбранные для хранения образцов температуры соответствуют естественным погодным условиям, характерным для разных времен года: 22-25 °С — летняя температура в средней полосе России, –16...–20 °С типичны для зимнего периода. Температура 4-6 °С, как правило, поддерживается в тамбуре или кормокухне свинарников в зимнее время.

1. Сроки выявления вируса африканской чумы свиней и фрагментов его генома в субпродуктах и инфицированных пищевых продуктах при температуре хранения 22-25 °С

Проба	РГАд	ПЦР-РВ
Солонина	+ (16 сут)	+ (28 сут)
Сало	н.и.	+ (28 сут)
Сердце	н.и.	+ (28 сут)
Почка	н.и.	+ (28 сут)
Печень	+ (16 сут)	+ (56 сут)
Тушенка	–	–

Примечание. РГАд — реакция гемадсорбции, ПЦР-РВ — ПЦР в реальном времени. Указаны крайние сроки наблюдения; н.и. — не исследовали; «+» и «–» — соответственно положительный и отрицательный результат.

Известно, что гемадсорбирующими свойствами обладают, как правило, все вирулентные штаммы АЧС, что характеризует их инфекционную активность по отношению к животным (13). Поэтому при интерпретации полученных результатов мы расценивали гемадсорбцию как подтверждение наличия инфекционного вируса.

Как видно из данных таблицы 1, в образцах пищевых продуктов, заложенных на хранение при

комнатной температуре, инфекционный вирус АЧС выявляли с 1-х по 16-е сут (максимальные сроки хранения с положительными результатами исследований), а фрагменты ДНК обнаруживали до 28-х сут (в печени — до 56 сут) в зависимости от исследованного образца. Это объясняется активными автолитическими и гидролитическими процессами, происходящими в сырых мясопродуктах при температуре 22-25 °С. Как следствие, серологические методы исследования таких образцов малоэффективны. Необходимо принять во внимание, что длительное хранение мясопродуктов при положительных температурах (более 12 ч), за исключением свежеохлажденных (предпродажное хранение), запрещено санитарными нормами и правилам. В тушенке, приготовленной из инфицированного свиного мяса, вирус и фрагменты его генома не обнаруживались в течение всего срока исследований (56 сут) (см. табл. 1).

В условиях бытового холодильника (4-6 °С) (табл. 2) вирус АЧС сохранял инфекционные свойства в солонине в течение 60 сут (срок наблюдения) и обнаруживался в титре 3,0-1,5 lg $ГАЕ_{50}/см^3$, тогда как в пробах сала (соленый шпик) вирус не выявили. Геном вируса АЧС сохранялся в пробах шпика и солонины при температуре 4-6 °С в течение всего срока исследования (60 сут).

2. Титр вируса африканской чумы свиней (lg $ГАЕ_{50}/см^3$) **и выявление фрагментов его генома в ПЦР-РВ в инфицированных пищевых продуктах в зависимости от сроков хранения при температуре 4-6 °С**

Продукт	Число проб	1 сут	10 сут	20 сут	30 сут	40 сут	50 сут	60 сут
Солонина (мясо)	14	3,0/+	3,0/+	3,0/+	2,5/+	2,0/+	2,0/+	1,5/+
Соленый шпик	14	0,0/+	0,0/+	0,0/+	н.и./+	н.и./+	н.и./+	н.и./+
Тушенка	14	0,0/–	0,0/–	0,0/–	н.и./–	н.и./–	н.и./–	н.и./–

Примечание. Титр вируса определяли в реакции гемадсорбции (РГАд) с использованием культуры клеток костного мозга свиньи, н.и. — не исследовали. ПЦР-РВ — ПЦР в реальном времени, «+» и «–» — соответственно положительный и отрицательный результат в ПЦР-РВ.

При выделении вируса АЧС и выявлении его генома в пробах тушенки получили отрицательный результат (см. табл. 2). Очевидно, что длительное воздействие высоких температур, применяемых согласно ГОСТ в технологическом процессе, разрушает вирус АЧС и его ДНК.

3. Титр вируса африканской чумы свиней (lg $ГАЕ_{50}/см^3$) **и выявление фрагментов его генома в ПЦР-РВ в контаминированном комбикорме и воде в зависимости от температуры и сроков хранения**

Образец	Число проб	1 сут	5 сут	10 сут	20 сут	30 сут	40 сут	50 сут	60 сут
Температура хранения 22-25 °С									
Комбикорм	20	1,0/+	0,0/+	0,0/+	н.и./+	н.и./+	н.и./–	н.и./–	н.и./–
Вода	20	5,5/+	4,0/+	3,5/+	3,0/+	2,5/+	2,0/+	1,0/+	0,0/+
Температура хранения 4-6 °С									
Комбикорм	20	3,0/+	н.и.	2,5/+	1,5/+	1,0/+	0,0/+	0,0/+	0,0/+
Вода	20	5,5/+	н.и.	4,5/+	4,0/+	3,5/+	2,0/+	1,0/+	1,0/+

Примечание. Срок наблюдения — 60 сут. Титр вируса определяли в реакции гемадсорбции (РГАд) с использованием культуры клеток костного мозга свиньи, н.и. — не исследовали. ПЦР-РВ — ПЦР в реальном времени, «+» и «–» — соответственно положительный и отрицательный результат в ПЦР-РВ.

В боксовом помещении, в котором хранили образцы комбикорма и водопроводной питьевой воды, концентрация хлора в воздухе составила 0,8 мг/м^3, относительная влажность воздуха — 50-70 %. В этих условиях при комнатной температуре вирус АЧС сохранял инерционность в комбикорме до 5 сут (табл. 3). Вероятно, инактивация вируса АЧС в более поздние сроки обусловлена воздействием многочисленных химических составляющих комбикорма и его высокой адсорбционной способностью. В пробах воды инфекционный вирус АЧС выявляли в течение 60 сут (срок наблюдения). Геном вируса АЧС не обнаруживался в комбикорме, начи-

ная с 40-х сут. Возможно, это также связано с вирулицидным воздействием химических составляющих примесей комбикорма. При комнатной температуре в пробах водопроводный воды геном вируса АЧС выявляли в течение всего срока исследования (60 сут).

При температуре бытового холодильника вирус АЧС был обнаружен в титре 3,0-1,0 lg $ГАЕ_{50}/см^3$ в контаминированном комбикорме с 1-х по 30-е сут (при сроке наблюдения 60 сут). В пробах воды его выделяли в течение 60 сут в титре 5,5-1,0 lg $ГАЕ_{50}/см^3$ (в зависимости от срока хранения). Геном вируса АЧС в пробах контаминированного комбикорма и водопроводной воды при этом выявляли в течение всего срока наблюдения (60 сут). Следовательно, при температуре окружающей среды 4-6 °С контаминированный комбикорм и вода могут представлять инфекционную опасность более 30-60 сут.

Во всех пробах (мясопродукты, ливер, комбикорм и вода), хранившихся при отрицательных температурах, на протяжении всего периода исследований (60 сут) вирус АЧС сохранял инфекционную активность и были выявлены фрагменты его ДНК.

Таким образом, представленная нами работа — это первое исследование влияния температуры на изолят вируса африканской чумы свиней, циркулирующий на территории Российской Федерации, в продукции свиноводства и кормах. Важность полученных результатов определяется также тем фактом, что в настоящее время вспышки заболевания регистрируют на ранее благополучных территориях как у домашних свиней, так и среди диких кабанов.

Возможные пути распространения вируса АЧС многочисленны — через скармливание пищевых отходов (2, 13), транспортные средства, корма для животных, обслуживающий персонал или загрязненные предметы ухода (8, 14). Согласно исследованиям, проведенным в Дании и Нидерландах, используемый транспорт был назван одним из наиболее важных способов распространения классической чумы свиней (КЧС) (15, 16). Оценивалась передача болезней животных посредством используемого транспорта в конкретных регионах или странах (15, 16) либо через нелегальную торговлю мясом (9). Другие исследования, выполненные в Дании, Нидерландах, США и Великобритании, были направлены на определение уязвимых популяций животных при скармливании им пищевых отходов (17-19). В недавних публикациях обсуждается риск заноса АЧС при импорте свиней (10). Наиболее значимыми антропогенными факторами распространения АЧС признаются нелегальная торговля свининой и использование пищевых отходов в кормлении животных (20-22). Кроме того, дополнительные риски возникновения и распространения болезни создает большое число личных подсобных хозяйств при низком уровне их биологической безопасности.

Ранее испанскими исследователями при выявлении вируса АЧС в мясопродуктах было показано, что он может сохраняться в течение нескольких недель или месяцев в замороженном (23), свежем или сыром, а также в соленом высушенном мясе (24, 25), что согласуется с полученными нами данными.

При экстраполяции результатов наших исследований на природные и сельскохозяйственные объекты следует акцентировать внимание на необходимости соблюдения элементарных норм общежития, учитывая тот факт, что вирус в благоприятных для него условиях сохраняет вирулентность более 2 нед. К нарушениям, контроль за которыми часто не включен в компетенцию ветеринарных служб и соответствующим образом не регламентирован, относятся несвоевременная уборка мусора на территориях отдыха

граждан или отсутствие оборудованных точек складирования бытовых отходов, спонтанные свалки, возникающие по обочинам дорог и окраинам населенных пунктов, в лесных массивах, кормление домашних свиней не подвергнутыми термической обработке пищевыми отходами, нелегальная утилизация и захоронение боенских отходов. Все эти действия приводят к заражению свиней и возникновению новых вспышек АЧС.

Итак, в продуктах, полученных от животных, больных африканской чумой свиней (АЧС), и в пробах контаминированной вирусом АЧС воды инфекционный вирус и фрагменты его генома сохраняются при 22-25 °С (температура окружающей среды в весенне-летне-осенний период) более 2 мес, на основании чего можно судить об их высокой инфекционной опасности в очаге болезни и вероятности участия в распространении инфекции за его пределы. При возникновении вспышки АЧС в зимний период срок сохранения высокой инфекционной опасности продуктов, полученных от больных АЧС свиней, и контаминированной вирусом воды в очаге болезни, а также распространения вируса за его пределы увеличивается на период, соответствующий времени воздействия отрицательной температуры. Учитывая, что в комбикорме ДНК вируса АЧС сохраняется более 60 сут, в логистике кормов необходимо исключить возможное нелегальное перемещение за пределы угрожаемой по АЧС зоны. При изготовлении пищевых продуктов из свинины согласно технологическим условиям (ГОСТ 32125-2013 «Консервы мясные. Мясо тушеное. Технические условия») происходит полная стерилизация сырья, при этом исключается возможность сохранения не только вируса АЧС, но и фрагментов его генома. Места несанкционированного сброса бытовых или пищевых отходов, неучтенные или необорудованные объекты их утилизации, находящиеся на территории эпизоотического очага или угрожаемой по АЧС зоны, могут стать территориями сохранения вируса АЧС как участки, не охваченные противоэпизоотическими мероприятиями и плановой дезинфекцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mur L., Martinez-Lopez B., Sanchez-Vizcaino J.M. Risk of African swine fever introduction into the European Union through transport-associated routes: returning trucks and waste from international ships and planes. BMC Vet. Res., 2012, 8: 149 (doi: 10.1186/1746-6148-8-149).
2. Beltran-Alcrudo D., Lubroth J., Depner K., De La Rocque S. African swine fever in the Caucasus. EMPRES Watch, 2008, April: 1-8.
3. Данкверт С.А. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации по африканской чуме свиней (по состоянию на 1 октября 2013 года). Режим доступа: http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/report.html. Без даты.
4. Макаров В.В. Африканская чума свиней. М., 2011.
5. Gogin A., Gerasimov V., Malogolovkin A., Kolbasov D. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007-2012. Virus Res., 2013, 173: 198-203 (doi: 10.1016/j.virusres.2012.12.007).
6. Власов Н.А. О развитии эпизоотической ситуации по АЧС на территории Российской Федерации. Режим доступа: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2009/files/iac_asf.pdf. Без даты.
7. О реализации мероприятий по ликвидации АЧС на территории Российской Федерации. Режим доступа: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2011/files/asf_2011-06-29.pdf. Без даты.
8. Morilla A. Las enfermedades virales emergentes de los cerdos. Ciencia veterinaria, 2003, 9: 197-219.
9. Wooldridge M., Hartnett E., Cox A., Seaman M. Quantitative risk assessment case study: smuggled meats as disease vectors. Rev. Sci. Tech., 2006, 25: 105-117 (doi: 10.20506/rst.25.1.1651).
10. Mur L., Martinez-Lopez B., Martinez-Aviles M., Costard S., Wieland B., Pfeiffer D.U., Sanchez-Vizcaino J.M. Quantitative risk assessment for the introduction of African swine fever virus into the European Union by legal import of live pigs. Transbound. Emerg. Dis., 2012, 59: 134-144 (doi: 10.1111/j.1865-1682.2011.01253.x).
11. Carrascosa A.L., Bustos M.J., de Leon P. Methods for growing and titrating African

swine fever virus: field and laboratory samples. In: Current Protocols in Cell Biology. Wiley, Hoboken, 2011. Suppl. 53. Unit 26.14: 26.14.1-26.14.25 (doi: 10.1002/0471143030.cb2614s53).
12. Инструкция по применению «Тест-системы для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР в реальном времени». Покров, 2013.
13. Моргунов Ю.П., Петров Ю.И. Изучение иммунобиологических свойств вируса африканской чумы свиней 5-го типа: выделение, типизация и определение референс-штамма. Проблемы биологии продуктивных животных, 2010, 4: 104-111.
14. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare). EFSA Journal, 2015, 13(7): 4163 (doi: 10.2903/j.efsa.2015.4163).
15. Spickler A.R., Roth J.A. African swine fever. In: African swine fever. Iowa State University, College of Veterinary Medicine, 2011.
16. Bronsvoort B.M.D., Alban L., Greiner M. Quantitative assessment of the likelihood of the introduction of classical swine fever virus into the Danish swine population. Prev. Vet. Med., 2008, 85: 226-240 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2008.01.013).
17. de Vos C.J., Saatkamp H.W., Nielen M., Huirne R.B. Scenario tree modeling to analyze the probability of classical swine fever virus introduction into member states of the European Union. Risk Analysis, 2004, 24: 237-253 (doi: 10.1111/j.0272-4332.2004.00426.x).
18. Adkin A., England T., Hall S., Coburn H., Marooney C.J., Seaman M., Cooper J., Hartnett E. Estimating the risk of exposure of British livestock to foot-and-mouth disease associated with the importation of ship and aircraft waste. Vet. Rec., 2008, 163: 235-240 (doi: 10.1136/vr.163.8.235).
19. Corso B. Likelihood of introducing selected exotic diseases to domestic swine in the continental United States of America through uncooked swill. Rev. Sci. Tech., 1997, 16: 199-206 (doi: 10.20506/rst.16.1.1005).
20. Gale P. Risks to farm animals from pathogens in composted catering waste containing meat. Vet. Rec., 2004, 155: 77-82 (doi: 10.1136/vr.155.3.77).
21. Iglesias I., Mucoz M.J., Montes F., Pérez A., Gogin A., Kolbasov D., de la Torre A. Reproductive ratio for the local spread of African swine fever in wild boars in the Russian Federation. Transbound. Emerg. Dis., 19 FEB 2015 (doi: 10.1111/tbed.12337).
22. Costard S., Jones B.A., Martínez-Lypez B., Mur L., de la Torre A., Martínez M., Sánchez-Vizcaíno F., Sánchez-Vizcaíno J.M., Pfeiffer D.U., Wieland B. Introduction of African swine fever into the European Union through illegal importation of pork and pork products. PLoS ONE, 2013, 8(4): e61104 (doi: 10.1371/journal.pone.0061104).
23. Adkin A., Coburn H., England T., Hall S., Hartnett E., Marooney C., Wooldridge M., Watson E., Cooper J., Cox T., Seaman M. Risk assessment for the illegal import of contaminated meat and meat products into Great Britain and the subsequent exposure of GB livestock (IIRA): foot and mouth disease (FMD), classical swine fever (CSF), African swine fever (ASF), swine vesicular disease (SVD). New Haw, Veterinary Laboratories Agency, 2004.
24. Sánchez-Vizcaíno J.M., Mur L., Martínez-Lypez B. African swine fever (ASF): five years around Europe. Vet. Microbiol., 2013, 165(1-2): 45-50 (doi: 10.1016/j.vetmic.2012.11.030).
25. Scientific Opinion on African swine fever. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). EFSA Journal, 2010, 8(3): 1556 (doi: 10.2903/j.efsa.2010.1556).
26. Mebus C., Arias M., Pineda J., Tapiador J., House J., Sánchez-Vizcaíno J.M. Survival of several porcine viruses in different Spanish dry-cured meat products. Food Chem., 1997, 59(4): 555-559 (doi: 10.1016/S0308-8146(97)00006-X).

[1]ГНУ Всероссийский НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии,
601125 Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н,
пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1,
e-mail: sindryakova.irina@yandex.ru;
[2]ФГБУ Кабардино-Балкарский референтный центр Россельхознадзора,
360051 Россия, Кабардино-Балкарская Республика,
г. Нальчик, ул. 9 Мая, 1

Поступила в редакцию 23 мая 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2016, V. 51, № 4, pp. 467-474

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE RUSSIAN ISOLATE OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS IN PORK PRODUCTS AND FEED WITH EXTRAPOLATION TO NATURAL CONDITIONS

I.P. Sindryakova[1], Yu.P. Morgunov[1], A.Yu. Chichikin[1], I.Kh. Gazaev[2], D.A. Kudryashov[1], S.Zh. Tsybanov[1]

[1]*All-Russian Institute of Veterinary Virology and Microbiology,* Federal Agency of Scientific Organizations, 1, ul.

Akademika Bakuleva, pos. Vol'ginskii, Petushinskii Region, Vladimir Province, 601120 Russia, e-mail sindryakova.irina@yandex.ru;
[2]*Kabardino-Balkarian Reference Center of Rosselkhoznadzor (Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance),* 1, ul. 9 Maya, Nalchik, Kabardino-Balkar Republic, 360051 Russia
Received May 23, 2016 doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.467eng

Abstract

It is known that one of the ways to spread African swine fever (ASF) virus is alimentary way (e.g., through feeding animals with contaminated feed and slaughterhouse waste products not subjected to thermal treatment, not passed veterinary and sanitary examination, and derived from epidemiologically disadvantaged regions). A variety of preserved food, such as corned beef, canned meat, bacon, etc., is made of pork products and by-products. Persistence of the virus in these products is not fully understood. For the first time we carried out studies on infectious activity of ASF virus isolates circulating in the Russian Federation, in contaminated pig products, feed, as well as in samples intended for veterinary-sanitary supervision. For this purpose, the 3-4 month-old piglets of 20-30 kg body weight were intramuscularly challenged with virus-containing blood. For inoculation we used ASFV isolate Volgograd-Kalach 2012 with the initial infectious titer of 7.5 lg HAU_{50}/cm^3 obtained from the National Collection of the SSINRRIVV&M of RAAS. Three days after infection the animals were slaughtered, samples of internal organs and tissues were taken for virus isolation, and the pork was used for making corned beef, canned meat and salted lard. Blood, containing ASF virus, was also used for contamination of a compound feed and drinking water. To study effects of storage temperature on the virus infectious activity and genome detection, the samples were divided into aliquots and stored at 20-25 °C (room temperature), 4-6 °C (a common refrigerator); –16...–20 °C (freezer). The temperatures selected for the storage of samples conform to the natural weather conditions at various seasons (20-25 °C in the summer, –16...–20 °C in winter); 4-6 °C is generally maintained in storerooms or stern room in the winter months. Samples from the aliquots were taken with a 5 day intervals to determine the ASF virus titer and its genome fragments. Virus isolation was carried out in a primary culture of swine bone marrow cells for 5 days in two consecutive passages. Hemadsorption test (HAD) and real-time PCR were conducted for ASFV titer estimation and genome detection. As a result, the ASF virus was found in corned beef and lard stored at 20-25 °C for 16 days. At storage temperature of 4-6 °C the ASF virus was revealed in corned beef during the observation period (60 days). In frozen samples the ASFV infectious activity and DNA fragments were found throughout the entire study period (60 days). Thus, it is found that in food products and by-products from pigs slaughtered soon after ASF infecting the ASFV infectivity persists for a long time depending on the storage conditions and can pose a serious danger as a pathogen transmission factor. The data also allow to predict the temperature conditions conducive to maintaining circulation of the virus in ASF outbreaks.

Keywords: African swine fever, ASF, virus, hemadsorption test (HAD), real-time polymerase chain reaction (qPCR), epizooty, liquidation of infection focus.

Научные собрания

6th EUROPEAN CONGRESS OF VIROLOGY

(19-22 October 2016, Hamburg, Germany)

Organization: EUROPEAN SOCIETY for VIROLOGY; HPI Heinrich-Pette-Institut Leibniz-Institut für Experimentelle Virologie

The European Congress of Virology is the premier virology conference in Europe and is organized by the European Society for Virology (ESV). ECV2016 will bring together both junior and senior scientists, and will cover all aspects of virus research including basic, clinical, veterinary and plant virology.

Contacts: http://www.hpi-hamburg.de, ecv2016@hpi.uni-hamburg.de

Information: http://www.globaleventslist.elsevier.com/events/2016/10/6th-european-congress-of-virology/

EMBO CONFERENCE: EXPERIMENTAL APPROACHES TO EVOLUTION AND ECOLOGY

(19-23 October 2016, Heidelberg, Germany)

The explicit intention to identify and address fundamental questions of evolution and ecology generated an open and interactive environment that enabled fruitful discussions across boundaries of individual expertise. Beyond this, selected speakers with expertise from different areas, from computational evolutionary simulations, evolutionary cancer biology or protein evolution led to many stimulating discussions that we now would like to continue more pronouncedly in the next series of conferences.

Contacts: http://www.embl.de/training/events/2016/EAE16-01/index.html

Information: http://www.globaleventslist.elsevier.com/events/2016/10/embo-conference-experimental-approaches-to-evolution-and-ecology/