

Список литературы

1. Gillet, N., Florins, A., Boxus, M. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. // *Retrovirology*. — 2007. — V.4. — p. 18-50. 2. Dube, S., Bachman, S., Spicer, T. et al. Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia / lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world. // *J. General Virol.* — 1997. — V. 78. — p.1389-1398. 3. Licursi, M., Inoshima, Y., Wu, D. et al. Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts. // *Virus Res.* — 2002. — V. 86 (1-2). — p. 1-10. 4. Klintevall, K., Ballagi-Pordány, A., Näsund, K. et al. Bovine leukaemia virus: rapid detection of proviral DNA by nested PCR in blood and organs of experimentally infected calves. // *Vet Microbiol.* — 1994. — V. 42 (2-3). — p. 191-204. 5. Fechner, H., Blankenstein, P., Looman, A.C. et al. Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle. // *Virology*. — 1997. — Oct 27; 237 (2). — p. 261-269. 6. Спиридонов, В.Г., Ищенко, Л.М., Мельничук, С.Д. Применение метода ПЦР в реальном времени для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. / Сб. тр.: VI Всероссийск. н.-пр. конф. «Генодиагностика инфекционных болезней — 2007» (Молекулярная диагностика — 2007), 28-30 нояб., Москва, под ред. В.И.Покровского. — 2007. — Т.2 — С. 60-62.

APPLICATION OF PCR FOR THE DETECTION OF BOVINE LEUCOSIS VIRUS

Gulyukin M.I., Kozyreva N.G., Lomakina N.F., Ivanova L.A., Lopunov S.V.

All Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya.R. Kovalenko, Moscow

Application of PCR for diagnostics and study of bovine leucosis, on the basis of peculiarities of this disease course, is considered in the paper.

УДК 597.2/.5:579.843(262.54)

РОЛЬ ГАЛОФИЛЬНЫХ ВИБРИОНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО БАССЕЙНА

Гурина Л.М.¹

Крымская опытная станция Национального научного центра «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»

В статье приведены данные по бактериологическому мониторингу выделенных культур галофильных вибрионов и их роль в возникновении инфекционных заболеваний основных промысловых рыб и других гидробионтов Азово-Черноморского бассейна. Представлены результаты бактериологических исследований 15 видов основных промысловых рыб, 1 вида черноморских мидий, 2 видов рапанов, морской и пресной воды. Выделено 108 культур микроорганизмов.

Развитие морского промысла и искусственного воспроизводства морских рыб тесно связано с проблемой их заболеваний. Заболевания разной этиологии могут снижать численность естественных популяций рыб, вызывать их массовую гибель.

Вследствие ухудшения условий окружающей среды появляется все больше заболеваний, которые раньше не регистрировались. Особое внимание заслуживают заболевания, которые вызываются галофильными вибрионами и являются этиологическим агентом вибриоза у рыб [1–3]. Течение и клиническая картина вибриоза различаются у разных видов рыб, но имеют некоторые общие признаки (кровоизлияния, некрозы и язвы на поверхности тела).

Вибриоз протекает быстро, с высокой летальностью, или хронически и наносит ощутимый урон, особенно отечественным садковым хозяйствам.

Вибрионы широко распространены на земном шаре и являются естественными обитателями пресных и соленых водоемов, а также гидробионтов, обитающих в них. Вибрионы многих видов являются галофильными.

Галофильные вибрионы обитают в морях, океанах, озерах, в воде которых концентрация соли колеблется от 5 до 30 ‰. Эти микроорганизмы могут длительно вы-

¹ Науковий керівник — д-р вет. наук, проф. Ковалев В.Л.

живать в воде с концентрацией соли ниже 5 % при условии повышенного содержания в ней органических веществ. С другой стороны, летом концентрация соли в пресных водоемах повышается за счет испарения воды, что создает благоприятные условия для существования в ней галофильных вибрионов. Их выделяют из воды, ила, от гидробионтов, водоплавающих птиц. Некоторые виды вибрионов патогенны для морских животных и рыб.

В СССР галофильные вибрионы были впервые выделены из воды и гидробионтов Черного моря в 1972 году [4].

Основным звеном противоинфекционных мероприятий является правильная и своевременная диагностика, поэтому накопление материала по галофильным вибрионам дает возможность более качественной лабораторной диагностики.

Целью работы является бактериологический мониторинг выделения культур условно-патогенных галофильных вибрионов у основных промысловых рыб и других гидробионтов, их видовой состав и распространение по территории Азово-Черноморского бассейна.

Материалы и методы. Работа проводилась на КОС ННЦ «ИЭКВМ», а также на базе государственного учреждения «Украинская противочумная станция» МОЗ Украины.

В качестве исследуемого материала были использованы образцы 15 видов основных промысловых рыб: пиленгас, хамса, тюлька, килька, бычок, ставрида, атерина, барабулька, сельдь, кефаль, карп, толстолобик белый, окунь, карась, белый амур, образцы мидий, рапанов, а также пробы морской и пресной воды открытых водоемов.

Диагностика заболеваний бактериальной этиологии выполнялась согласно с общепринятыми в микробиологии методами по схеме исследования галофильных микроорганизмов рода *Vibrio* в соответствии с Санитарными правилами для предприятий и суден, изготавливающих продукцию из рыбы и др. водных живых ресурсов № 435/7756 от 04.06.2003 г. и «Инструкций по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных» 1991 г.

При этом использовались селективные питательные среды на основе морской воды (дифференциально-диагностические среды разных модификаций с 5% хлорида натрия).

Морская вода исследовалась согласно с методикой, регламентированной приказом МОЗ Украины от 30.05.1997 г. №167 с предварительным обогащением.

Результаты исследований. В результате проведенных бактериологических исследований в течение двух лет (2006–2007 гг.) выделено 85 культур микроорганизмов из объектов окружающей среды, которые идентифицированы, как *Vibrio* и *Aeromonas*. Изучены биохимические свойства выделенных микроорганизмов и по результатам исследований проведена типизация культуры до вида. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Виды микроорганизмов, выделенных в 2006-2007 гг.

Наименование микроорганизма	Год выделения		Общий итог	%
	2006г	2007г		
<i>Aeromonas</i>	4	9	13	15,3
<i>V. fluvialis</i>	-	4	4	4,7
<i>V. alginolyticus</i>	4	8	12	14,1
<i>V. anguillarum</i>	5	1	6	7,01
<i>V. parahaemolyticus</i>	31	16	47	55,3
<i>V. vulnificus</i>	-	3	3	3,59
Общий итог	44	41	85	
%	51,8	48,2		100

Анализируя проведенные исследования, за два года, видно, что в 2007 г. наблюдается тенденция к снижению выделения таких культур, как *V. parahaemolyticus* и *V. anguillarum*, но были выделены новые виды галофильных вибрионов: *V. fluvialis* и *V. vulnificus*.

При исследовании 758 экземпляров промысловых рыб, 150 экземпляров черноморских мидий, 30 экземпляров рапанов и 21 образца морской воды было выделено: 47 – *V. parahaemolyticus*, 12 – *V. alginolyticus*, 6 – *V. anguillarum*, 3 – *V. vulnificus* и 13 – микроорганизмы рода *Aeromonas*. Посевы проводились с использованием дифференциально-диагностических сред с повышенной концентрацией соли. Дополнительные тесты на галофилию проводили с использованием бессолевой, 7% и 10% солевой пептонной воды.

В 2008 году проведены исследования 10 видов промысловой рыбы (из них 6 видов морской и 4 вида пресноводной) и 2 проб пресной воды открытых водоемов. В качестве исследуемого материала использовали: ставрида – 13; пиленгас – 5; килька черноморская – 100; кефаль – 2; сельдь азовская – 1; бычок азовский – 11; карп – 7; толстолобик – 3; окунь – 5; карась – 8 экземпляров. Всего исследовано 155 экземпляров промысловой рыбы и 2 образца пресной воды.

В результате исследований, проведенных в 2008 году, выделено 23 культуры микроорганизмов, в т. ч. микроорганизмы рода *Aeromonas* – 10, *V. alginolyticus* – 7, *V. parahaemolyticus* – 2, *V. anguillarum* – 4. Выделение культур по видам рыб представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Культуры микроорганизмов, выделенные из разных видов рыб

Объекты исследований	Количество образцов, из которых выделены микроорганизмы				Общее количество	%
	<i>Aeromonas</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>		
ставрида	-	-	-	2	2	8,7
пиленгас	2	-	-	2	4	17,4
килька черномор.	2	-	-	-	2	8,7
кефаль	-	1	-	-	1	4,35
сельдь азов	-	1	1	-	2	8,7
бычок азов.	-	1	1	-	2	8,7
карп	3	1	-	-	4	17,4
толстолобик	1	-	-	-	1	4,35
окунь	-	1	-	-	1	4,35
карась	1	2	-	-	3	13,0
пресн. вода	1	-	-	-	1	4,35
Общ. кол-во	10	7	2	4	23	
%	43,5	30,4	8,7	17,4		100

Анализируя представленную таблицу 2, можно сделать вывод, что больше всего в 2008 г было выделено микроорганизмов из пиленгаса – 17,4 %, из карпа – 17,4 %, из карася – 13 %, меньше всего выделено микроорганизмов из кефали, толстолобика и образцов пресной воды по 4,35 %.

Из материалов таблицы 2 видно, что больше всего выделено микроорганизмов рода *Aeromonas* – 43,5 %, меньше всего *V. parahaemolyticus* – 8,7 %.

В 2007 году из пиленгаса и в 2008 из сельди выделены культуры *V. parahaemolyticus*, которые обладали феноменом Kanagava, т. е. способностью вызывать гемолиз эритроцитов человека на среде Wagatsuma.

Выводы 1. Галофильные вибрионы выделялись из 15 видов промысловых видов рыб, морской и пресной воды, всего выделено 108 культур, которые идентифицированы, как микроорганизмы рода *Aeromonas*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*.

2. По видовому составу галофильных вибрионов при исследовании морских гидробионтов чаще выделялись виды *V. alginolyticus* и *V. parahaemolyticus*, а у рыбы пресноводных открытых водоемов возбудитель *Aeromonas* sp.

Список литературы

1. Клинико-эпидемиологическая характеристика заболеваний, вызванных галофильными вибрионами на побережье Азовского моря [Текст] / Шиколов А.В. [и др.] // ЖМЭИ. — 1987. — № 7. — С. 14–15.
2. Гурина, Л.М. Бактеріологічний моніторинг щодо вібрионів та аеромонад серед морських риб та інших гідробіонтів Азово-Чорноморського басейну [Текст] // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. — X., 2008. — Вип. 90. — С. 147–151.
3. Мониторинг выделения культур галофильных вибрионов у морских гидробионтов Азово-Черноморского бассейна [Текст] / Болдырев А.Д., Коляда Н.И., Гурина Л.М., Болдырев Д.А. // Наук. праці Південного філіалу «КАТУ» НАУ. — 2007. — № 101. — С. 107–108.
4. Галофильные вибрионы Черного моря и их роль в патологии человека [Текст] / Либинзон А.Б., Брудный Р.А., Нагорная А.Ф. [и др.] // ЖМЭИ. — 1987. — № 2. — С. 97.

ROLE OF HALOPHILIC VIBRIOS IS IN THE DETECTION OF INFECTIOUS DISEASES OF MARINE HYDROCOLES IN THE AZOV-BLACK SEA BASIN

Gurina L.M.

Crimean Experimental Station of the National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»

Data concerning bacteriological monitoring of isolated cultures of halophilic vibrios and their role in the origin of infectious diseases of marketable fish and other hydrocoles are presented in the paper. Results of bacteriological investigations of 15 species of marketable fish, 1 species of the Black Sea mussel, 2 species of Rapana are presented in the paper. 108 cultures of microorganisms have been isolated.

УДК 619:576.535

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СУСПЕНЗИОННОЙ ЛИНИИ КЛЕТОК ВНК–21 (С–13)

Гусев А.А., Бабак В.А., Желиховская З.Л.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

В статье приведено описание роллерно-сuspensionного метода культивирования клеток ВНК–21(с–13) и опыт использования кондиционированных питательных сред. Разработанный метод эффективнее базового варианта в 2,7 раза и может быть использован при накоплении клеток ВНК–21 (с–13) для заправки биореактора на первом этапе культивирования.

Введение. При производстве живых и инактивированных вирусных вакцин применяются различные методы культивирования клеток для накопления вирусной биомассы. До недавнего времени методы тканевых культур применялись в вирусологии преимущественно в виде однослойных стационарных культур клеток – стационарный метод культивирования. Роллерный метод культивирования означает процесс, при котором клеточный монослой располагается по всей цилиндрической поверхности горизонтально вращающихся сосудов и периодически омывается питательной средой. Перспективным является разработка и внедрение глубинного метода культивирования в биореакторах для получения биоматериала в полупромышленных объемах [1, 2, 4, 5].

При роллерном культивировании суспензионных линий клеток некоторое их количество остается взвешенным в культуральной среде. В подобном варианте культуру клеток условно называют роллерно-сuspensionной [1, 5].

При накоплении суспензионной линии клеток ВНК–21 (с–13) роллерным методом для заправки лабораторного биореактора на первом этапе культивирования наблюдался незначительный рост клеток в питательной среде.

Нами была поставлена задача изучить это явление с целью увеличения выхода клеток с роллера при одновременном их росте в монослое и в суспензии, а так же