

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ивантер Э.В., Медведев Н.В. Экологическая токсикология природных популяций птиц и млекопитающих Севера; Ин-т леса КарНЦ РАН. – М.: Наука, 2007. – 229 с.
2. Скородумов Д.И., Субботин В.В., Сидоров М.А., Костенко Т.С. Справочник: «Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных», М.: «Изограф», 2005. – 653 с.
3. Dierauf L.A., Gulland F.M.D. (ed.) «Handbook of marine mammal medicine: health, disease, veterinary medicine and wildlife rehabilitation» (2nd ed.), – CRC Press LLC, 2001, 1063 p.
4. Glad T., Bernhardsen P., Nielsen K.M. et al. Bacterial diversity in faeces from polar bear (*Ursus maritimus*) in Arctic Svalbard. BMC Microbiology, Jan 2010.
5. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. – М.: ГОЭТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 1200 с.
6. Антонов Б.И., Яковлева Т.Ф., Дербинова В.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические. – М.: Агропромиздат, 1989. – 324 с.
7. Costillow P.N. «Manual of methods for General Bacteriology» 1981, v. 1. 185 p.
8. 10. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса 9-е изд. М.: Мир, 1997. – 799 с.
9. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: Пер. с англ. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
10. Gilliver M.A., Bennett M., Begon M. et al. Enterobacteria: Antibiotic resistance found in wild rodents. Nature 1999, 401(6750): 233–234 p.

ASSESSMENT OF THE HEALTH STATUS OF WILD POLAR BEARS (*URSUS MARITIMUS*) BY STUDYING THEIR MICROBIOTA

*Denisenko T.E.¹, Semenova V.S.², Boltunov A.N.²,
Belikov S.E.³, Kochi K.V.⁴*

¹ *Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology
– MVA by K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation*

² *Marine Mammal Research and Expedition Center
Moscow Russian Federation*

³ *NSI Ecology, Moscow, Russian Federation*

⁴ *Arctic Scientific Centre, Moscow, Russian Federation*

This paper presents the first results of the study of the microflora of the polar bear (*Ursus maritimus*), carried out in the framework of comprehensive studies of the species in the areas of long-term development of hydrocarbons on the Russian Arctic shelf in order to develop effective measures for the conservation of polar bears in a changing climate and growing economic development of the Arctic region.

Key words: *Polar bear, Ursus maritimus, veterinary microbiology, ecology, pathogenicity factors, antibiotic resistance, health status.*

УДК 639.371.2091:578.825.1

ТЕЧЕНИЕ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ БОЛЕЗНИ РУССКОГО ОСЕТРА, ВЫЗВАННОЙ ГЕРПЕСВИРУСОМ СИБИРСКОГО ОСЕТРА(SBSHV)

*Елеев Э.Л.¹, Грищенко Л.И.¹,
Щелкунова Ю.П.², Головин П.П.²*

¹ *ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина
г. Москва, Российская Федерация*

² *Всероссийский научно-исследовательский институт
пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ), п. Рыбное
ruel@bk.ru;*

Ключевые слова: *герпесвирусная болезнь сибирского осетра, русский осётр.*

Введение. Впервые эксперименты по заражению осетровых рыб герпесвирусом сибирского осетра (SbSHV) были поставлены после выделения герпесвируса от сибирских осетров в одном из хозяйств России в 2006 г. [Щелкунов А.И. и др., 2010]. В результате исследований удалось выявить особенности течения герпесвирусной болезни сибирских осетров, стерляди, гибрида русского и сибирского осетров, бестера [Прокаева И.Б., 2012; Елеев Э.Л. и др. 2014; Shchelkunov I.S. et al., 2009]. При этом, опыты по воспроизведению герпесвирусной болезни одного из основных в России объектов осетроводства – русского осетра не ставились.

Целью настоящей работы являлась описание течения болезни русского осетра, вызванной герпесвирусом сибирского осетра (SbSHV) при экспериментальном заражении.

Материалы и методы. Исследования выполнены в лаборатории ихтиопатологии ВНИИПРХ и на кафедре мелкого животноводства ФГБОУ ВО МГАВМиБ.

Рыба. Мальки русского осетра

Культура клеток. Для выделения и идентификации герпесвируса использовали культуру клеток SSO-2, полученную из паренхиматозных органов сибирского осетра.

Вирус. В эксперименте использовали герпесвирус (изолят SK/1114), выделенный из кожных тканей больных сибирских осетров.

Сыворотка, питательная среда, растворы. Сыворотка плода коровы, среда Игла 2МЕМ, раствор трипсина, раствор версена.

Выделение вируса проводили согласно утверждённым методическим рекомендациям [Щелкунов И.С. и др. 2009].

Опыт ставили на отстоянной артезианской воде при температуре 15–17°C, отвечающей рыбобоводным требованиям. В эксперименте использовали три проточных аэрируемых аквариума по 70 л. В три аквариума помещали по 11 рыб для формирования опытной группы. В третий 20 рыб для формирования контрольной группы. Средняя масса мальков составляла 7 г. После адаптации (15 дней) рыбу опытных групп заражали методом ванн в течение 1 часа с конечной концентрацией вируса в воде 10^4 ТЦД₅₀/мл. Вирус идентифицировали в культуре клеток SSO-2 по цитопатогенному действию в соответствии с принятой методикой.

Результаты и обсуждение. Первые рыбы с признаками болезни появились на 8 сутки после заражения. У этих рыб наблюдались апатия, вялость, отказ от корма, бледные пятна на поверхности тела, энцефальзм. На 10–12 сутки погибли 12 рыб, из них у 7 геморрагии в области хвостового стебля и боковых жучек (рис. 1), у трёх – воспалённая прямая кишка.



Рис. 1. Геморрагии в области хвостового стебля

У пяти рыб выраженных симптомов не выявлено. Перед гибелью отдельные мальки плавали на боку (рис. 2). При этом периоды неподвижности чередовались с резкими порывистыми движениями. У двух рыб наблюдали «стояние» на грудных плавниках (рис. 3).



Рис. 2. Рыба, плавающая на боку



Рис. 3. «Стояние» на грудных плавниках

На 13 сутки у 2 рыб появились пятнистые и очаговые кровоизлияния в области боковых и брюшных жучек, воспаленная прямая кишка. Рыбы погибли к концу дня. На 13 сутки погибли 8 рыб. У трёх рыб отмечали пятнистые и очаговые кровоизлияния в области жучек, на кончике хвостового и анального плавников были заметы участки распада ткани, на поверхности тела бледные пятна, у двух рыб увеличенное брюшко. При этом пять рыб погибли без выраженных симптомов. За 2–3 часа до гибели у рыбы были взяты органы для патологоанатомических и патогистологических исследований. На 14–18 сутки погибли 9 рыб. У всех рыб наблюдались признаки, описанные выше. Одна рыба из опытной группы не имела признаков болезни.

У рыб контрольной группы симптомов болезни и гибели не было.

Как видно из результатов эксперимента общая продолжительность инфекционного процесса составила 18 суток. При этом инкубационный период – 8 суток, стадия развития болезни – 10 суток. Гибель рыб составила 97%.

Выводы

1. Герпесвирусная болезнь русского осетра, вызванная герпесвирусом сибирского осетра (SbSHV) имеет течение, сходное с описанным в литературе при аналогичной болезни сибирского осетра, но симптомы при этом менее выражены.

2. Герпесвирусная болезнь русского осетра, вызванная герпесвирусом сибирского, характеризуется высокой летальностью, сопоставимой с таковой при герпесвирусной болезни сибирского осетра.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Щелкунов А.И., Щелкунов И.С. Герпесвирусная болезнь сибирского осетра/ Ветеринария. – 2010. – №1. – Стр. 18–21.
2. Прокаева И.Б., Особенности гуморального иммунного ответа осетровых рыб на возбудитель герпесвирусной болезни. Научный журнал КубГАУ. – 2012. – № 81(07) – С. 839–848.
3. Елев Э.Л., Грищенко Л.И., Пономарёв В.Н., Калабекова Ф.С. Клинические признаки и патологоанатомические изменения при экспериментальной герпесвирусной инфекции гибрида русского (Acipenser gueldenstaedtii Brandt) и сибирского (Acipenser baerii) осетров // Российский ветеринарный журнал СХЖ. – 2014 № 1. С. 19–21.
3. Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I., Kolbassova Y.P., Didenko L.V., Bykovsky A.P. 2009. First detection of a viral agent causing disease in farmed sturgeon in Russia // Dis. Aquat. Org. V. 86. № 3. P. 193–203.
4. Щелкунов И.С., А.И. Щелкунов, Т.И. Щелкунова, В.И. Балышева Методические рекомендации по диагностике герпесвирусной болезни сибирского осетра. – М., 2009. – С. 1–10.

*Eleev E.L.¹, Grishenko L.I.¹, Shchelkunova Yu.P.², Golovin P.P.²
Current herpesvirus disease of the Russian sturgeon (SbSHV),
caused by Siberian sturgeon herpesvirus (SbSHV).*

¹ *Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology
– MVA by K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation*

² *All Russia Research Institute for Freshwater Fisheries, Rybnoe*

The results of investigations into current herpesvirus disease of the Russian sturgeon (SbSHV), caused by Siberian sturgeon herpesvirus (SbSHV) are given in the article.

Key words: *herpesvirus infection of the Russian sturgeon, Russian sturgeon.*

УДК 619:578.835.21:57.082.26

РАЗРАБОТКА ИММУНОПЕРОКСИДАЗНОГО МОНОСЛОЙНОГО АНАЛИЗА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЦИРКОВИРУСА СВИНЕЙ ВТОРОГО ТИПА

Емельянов И.А.¹, Матвеева И.Н.²

¹ *ФГБУ ВГНКИ, г. Москва, Российская Федерация
e-mail: petro-19@mail.ru*

² *ФГБНУ ВНИТИПБ, Московская область,
пос. Биокомбината
e-mail: biolog1967@mail.ru*

Ключевые слова: *цирковироз свиней 2 типа, иммунопероксидазный монослойный анализ, культура клеток*

Цирковирозы – это мелкие, лишенные липидной оболочки вирусы с икосаэдрической симметрией, имеющие одноцепочечный кольцевой ДНК – геном, размер цирковирозов составляет от 12 до 27 нм [3, 4]. Цирковироз свиней второго типа (ЦВС-2) относится к семейству *Circoviridae* рода *Circovirus*, впервые был выделен в 1998 году во время вспышки заболевания поросят с синдромом послеотъемного мультисистемного истощения (СПМИ). ЦВС-2 является возбудителем цирковирозной инфекции свиней, проявляющейся в виде СПМИ, синдрома дерматита и нефропатии свиней, репродуктивных нарушений и респираторных заболеваний свиней [3].

ЦВС-2 способен репродуцироваться в перевиваемых клеточных культурах: РК-15, РЕК (почка эмбриона поросенка, Англия), SK-H (почка поросенка Н, Япония), СРК (клональная линия почки поросенка, производное от SKH, Япония), ESK (почка эмбриона поросенка). При репродукции в культурах клеток ЦВС-2 не дает цитопатического эффекта, зараженные клетки обнаруживают методом иммунофлуоресценции (РИФ) или иммунопероксидазным окрашиванием [2].

Перевиваемые культуры клеток MA-104 и MRAC-145 также обладают чувствительностью к ЦВС-2 [1].

В опубликованных сообщениях ряда авторов показана возможность выявления репродукции ЦВС-2 в культуре клеток методом иммунопероксидазного монослойного анализа (ИПМА) [5, 6].

Принцип ИПМА для выявления репродукции ЦВС-2 в культуре клеток состоит в том, что при взаимодействии специфических антител к ЦВС-2 образуется иммунный комплекс. Комплекс антиген-антитело выявляется с помощью последовательного нанесения соответствующего антивидового пероксидазного конъюгата и хромоген-субстратного раствора. При положительных результатах ИПМА репродукция ЦВС-2 выявляется по наличию красно-коричневого окрашивания цитоплазмы клеток.

Для разработки ИПМА использовали штамм ЦВС-2 «PCV2/SHVC», депонированный в коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, штамм адаптирован к культуре клеток РК-15. Вирусосодержащими суспензиями инфицировали культуру клеток РК-15 (96-луночные культуральные планшеты с конфлюэнтным монослоем клеток), инкубировали в течение 7 дней. По истечении указанного времени проводили фиксацию клеток в течение 30 минут 1–4% раствором формальдегида в фосфатно-буферном растворе при pH 7,2–7,4 при комнатной температуре. Затем клеточный монослой промывали последовательно фосфатно-буферным раствором pH 7,2–7,4, содержащим 0,3–0,4 М глицина и 1–2% казеина, затем 10–15 минут 0,3–0,6%-ной перекисью водорода для ингибирования эндогенной пероксидазы. После