

Литература

1. Collins C.H., Lyne P.M. Collins Lynes Microbiological Methods.- London, UK: Arnold, 2004. - p. 144-155.
2. Buttiaux R., Mossel D.A. The significance of various organisms of faecal origin in foods and drinking water // J. of Applied Bacteriology, 1961, p. 353-364.
3. Mossel D.A. Marker organisms in food and drinking water. Semantics, ecology, taxonomy and enumeration // Antonio van Leeuwenhoek, 1982, 48, p. 604-611.
4. Eriksson E., Nerbrine E., Borch E., Aspap N. Verocytotoxin - producing E. coli 0157: H7 in the Swedish pig population // Veterinary Records, 2003, 153, p. 712-717.
5. Struijk C.B., Mossel D.A. Letter to the Editor of International Journal of Food Microbiology // Intern. J. of Food Microbiology, 2005, 99, p. 113-114.
6. Daintr P.H., Shaw B.C., Roberts T.A. Microbial and chemical changes in chill-stored red meats // Food Microbiology: Advances and Prospects / Roberts, T.A., Skinner F.A. (eds).- London, UK: Academic Press, 1983.- p. 151-178- (Society of Applied Bacteriology Symposium Series NH).
7. Ветеринарно-санитарная экспертиза пищевых продуктов на продовольственных рынках: учеб. пособие) сост. И.Г. Серегин.- СПб.:Пиорд, 2008.- 478с.
8. Управление качеством на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности: учебник для вузов / Л.Н. Австриевских и др.-2-е изд., испр. и доп.- Новосибирск: Сиб. университет. из-во, 2007. - 268 с.
9. Mackey B.M., Roberts T.A. Improving slaughter hygiene using HACCP and monitoring // Fleischwirtschafft, 1993, 73, S. 58-61.
10. Corry E.L. Possible sources of ethanol ante-and post-mortem: its relationship to the biochemistry and microbiology of decomposition // J. of Bacteriology, 1978, 44, p. 1-56.
11. Gill C.O. A Review: intrinsic bacteria in meat // J. of Applied Bacteriology, 1974, 47, p. 367-378.
12. Nottingham P.M. Microbiology of carcass meats // Meat Microbiology / Brown, M.H. (ed). - London, UK: Applied Science Publishes, 1982, p. 13-65.
13. Mackey B.M., Derrick C. Contamination of the deep tissues of carcasses by bacteria present on the slaughter instruments or in the gut // S. of Applied Bacteriology, 1979, 46, p. 355-366.
14. Gill C.O., Badoni M. Recovery of bacteria from poultry carcasses rinsing swabbing or excision of skin // Food Microbiology, 2005, № 22, p. 101-107.
15. Hinton A., Cason J.A., Ingram K.D. Enumeration and identification of yeasts associated with commercial poultry processing and spoilage of refrigerated broiler carcasses // J. of Food Protection, 2002, № 65, p. 993-998.
16. Holley R.A., Peirson M.D., Lam J., Tan K.B. Microbial profiles of commercial, vacuum-packaged, fresh pork of normal or short storage life // Intern. J. of Food Microbiology, 2004, № 97, p. 53-62.

УДК: 616.981.48-022:599.82:599.9

В.А. Калашникова

(Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт Медицинской приматологии РАН (УНИИ МП РАН), г. Сочи-А)

ДЕТЕКЦИЯ САМРУЛОВАСТЕР JEJUNI И HELICOBACTER PYLORI, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖКТ У ОБЕЗЬЯН

Ключевые слова: африканская чума, картографический анализ, моделирование, эпизоотический.

Введение

Начиная с середины прошлого столетия приматы широко используются в качестве экспериментальных объектов в биологических и медицинских экспериментах. Обезьяны расцениваются как адекватная модель для изучения различных форм клинической патологии, расшифровки патогенеза заболеваний, механизма действия средств терапии, испытания вакцин, а также для моделирования различных болезней человека. Кроме того, проводятся исследования, посвященные изучению самих обезьян. Несомненно, всестороннее изучение этих уникальных животных имеет большое практическое значение и представляет теоретический интерес в сравнительно – эволюционном аспекте.

К сожалению, в настоящее время произошло сокращение ареала обитания обезьян и, соответственно, резкое уменьшение популяций диких приматов, большинство из которых уже занесены в Международную Красную книгу. Для сохранения этих животных создаются питомники в разных странах, одним из которых является Адлерский питомник при Научно-исследовательском институте медицинской приматологии РАН. Однако в условиях неволи обезьяны болеют многими инфекционными болезнями, свойственными другим животным и человеку. Особое место среди бактериальных инфекций занимают желудочно-кишечные, которые являются наиболее частой причиной заболеваемости и массовой гибели животных,

содержащихся в условиях неволи. Так, по данным клинико-ветеринарной и патоморфологической служб института, в структуре заболеваемости обезьян до 50% занимают острые кишечные инфекции (ОКИ), а при несвоевременном выявлении инфекционных агентов и отсутствии адекватного лечения погибают до 40% заболевших кишечными инфекциями животных. При этом большинство случаев (50-70%) остаются этиологически нерасшифрованными, хотя клиника и эпизоотологические наблюдения свидетельствуют об их инфекционной природе.

В настоящее время доказана этиологическая роль при ОКИ обезьян возбудителей из семейства Enterobacteriaceae – Shigella, Salmonella, Yersinia. Наиболее перспективным для успешного решения проблемы расшифровки этиологии представляется поиск других патогенных микробов, вирусов и паразитофауны, пока еще малоизученных в качестве возбудителей данной патологии обезьян. В этом плане особое внимание заслуживают микроорганизмы родов Campylobacter и Helicobacter. Исследования кампилобактерий и хеликобактерий у обезьян началось с конца прошлого столетия за рубежом [1-6].

Целью настоящей работы явилось изучение естественной инфицированности обезьян микроаэрофильными бактериями (Campylobacter jejuni, Helicobacter pylori).

Материалы и методы

На наличие микроаэрофильных возбудителей (C. jejuni, H. pylori) обследованы 846 обезьян различных видов (макаки резусы, макаки яванские, макаки лапундеры, макаки ассамские, мартышки зеленые, павианы анубисы, павианы гамадрилы, мангобей, капуцин, саймири) в возрасте от месяца до 28 лет.

Объектом исследования служили 486 образцов фекалий, 275 образцов кишечного содержимого трех отделов кишечника (тонкого, слепого, прямого), 85 образцов патологического материала из отделов желудка (тела и антрального) и двенадцатиперстной кишки погибших обезьян с морфологически выраженным гастроэнтерocolитом, гастритом, гастроэнтеритом, другими диагнозами (кишечная инфекция, травма, анемия, амилоидоз и др.).

Детекция кампилобактерий и хеликобактерий проводилась молекулярно-генетическим методом (полимеразной цепной реакцией - ПЦР). Для выявления ДНК возбудителей использовались лиофилизированные ПЦР-тест-системы Ge-

nePak (ООО "Biokom", Россия). Работу проводили по рекомендуемому протоколу [7].

Результаты и обсуждения

Изучение микроаэрофильных бактерий у обезьян выявило высокую степень инфицированности данными возбудителями.

Исследования на *Campylobacter jejuni*. C. jejuni выявлены в 32,2% тестируемых проб (n=161). При заболеваниях ЖКТ (энтероколит, колит) ДНК C. jejuni обнаружена в 51,2% (n=141). Из 225 больных диареей обезьян возбудители кампилобактериоза выявлены у 150 (66,7%).

Носительство кампилобактерий среди клинически здоровых обезьян в среднем достигает 20,9%. При этом инфицированность различных видов приматов неодинакова и колеблется от 11,2% до 30%. Наиболее инфицированными оказались макаки лапундеры и макаки яванские (30% и 28,7% соответственно). Примерно одинаковый процент выявления кампилобактерий у павианов гамадрилов (20,8%) и макаков резусов (19,8%). У павианов анубисов возбудители кампилобактериоза были обнаружены в 14,6%, а у мартышек зеленых – в 11,2% случаев (рис. 1).

При ОКИ C. jejuni были обнаружены в высоких процентах у всех видов обезьян. Частота детекции этих возбудителей у макаков резусов и павианов гамадрилов оказалась одинаковой и составила 46,7%. У макаков яванских и лапундеров выявление кампилобактерий было несколько ниже (32,3% и 29,4% соответственно). У мартышек зеленых ДНК C. jejuni обнаружена в 37,5% (рис. 1).

При анализе возрастной структуры больных ОКИ была установлена высокая частота зараженности кампилобактериями обезьян трех возрастных групп: детенышей (50%), подростков (50,6%) и старых обезьян (50%). При этом наиболее часто возбудители обнаруживаются у макаков резусов и павианов гамадрилов во всех возрастных группах (26,1% - 66,7%; 37,5% - 62,5% соответственно).

Анализ частоты выявления кампилобактерий при разных клинических формах заболеваний ЖКТ показал, что чаще всего кампилобактерии удалось выделить при гастроэнтероколитах и при энтероколитах. При исследовании post mortem погибших от острых кишечных заболеваний (ОКЗ) обезьян кампилобактерии выделялись либо из одного отдела кишечника (тонкого или толстого), либо из всех трех участков (тонкого, слепого, прямого). При обследовании отделов кишечника ДНК C. jejuni в прямом кишечнике обнаружена в

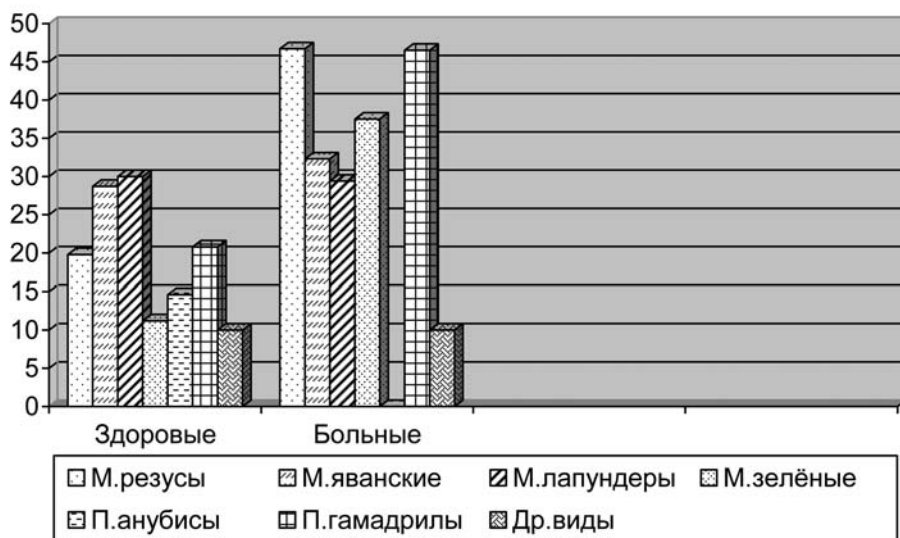


Рис. 1. Инфицированность различных видов обезьян *S. jejuni*

22%, в слепой кишке – в 30%, в тонком кишечнике – в 16%.

Для установления удельного веса кампилобактерий в структуре заболеваемости и смертности обезьян от ОКИ нами проанализирован материал от больных и погибших от ОКЗ животных. Для этих целей проводились параллельные бактериологические исследования по индикации и идентификации различных представителей семейства Enterobacteriaceae с учетом их культурально – морфологических характеристик. Анализ результатов показал, что от больных обезьян практически во всех случаях вырастали обычные представители нормофлоры кишечника (*Escherichia coli*, *Enterococcus*). В 0,5% наблюдали одновременное выделение *Campylobacter* и *Shigella flexneri* 4a. В 19,6% были высеяны условно-патогенные энтеробактерии (*Proteus*, *Citrobacter*, *Providencia*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*). Следовательно, в этих случаях *S. jejuni* являлись единственными бактериальными патогенами.

Исследования на *Helicobacter pylori*. При исследовании материала от обезьян на наличие *H. pylori* нуклеотидные последовательности этих возбудителей верифицированы в 23,8% (n=82). При этом в фекалиях клинически здоровых обезьян ДНК обнаружена в 16,5%, в то время как в слизистой оболочке желудка и ДПК погибших животных – в 45,9% случаях. При исследовании кишечника погибших обезьян ДНК возбудителя не обнаружена.

При сравнении инфицированности *H. pylori* разных родов обезьян установле-

но, что частота выявления данных патогенов выше у мартышек (58,3%). Зараженность *H. pylori* обезьян рода макак составляет 22,5%, при этом на первом месте по частоте инфицирования стоят макаки яванские (31,9%). У макаков резусов частота обнаружения возбудителей составила 18%, у павианов гамадрилов – 16%. При этом у клинически здоровых павианов нуклеотидные последовательности не обнаружены. Наибольший процент инфицирования искомыми возбудителями отмечен у здоровых мартышек зеленых (55,6%). Обнаружение в фекалиях макаков резусов *H. pylori* составило 12% (рис. 2).

У погибших обезьян без поражений желудка и ДПК частота выявления ДНК возбудителей хеликобактериоза в слизистых этих органов достаточно большой и колеблется от 36,9% у макаков резусов до 60,0% у макаков яванских. Среди погибших обезьян наиболее инфицированными хеликобактериями оказались павианы гамадрилы (61,1%), мартышки зеленые (57,2%) и макаки яванские (50,0%). У макаков резусов данные инфекционные агенты обнаружены в 37,5% случаев.

Один из актуальных вопросов хеликобактерной инфекции – вопрос о связи *H. pylori* с желудочной патологией. Наиболее часто гастроэнтероколитами болеют обезьяны рода павианов. Так, при исследовании патологического материала от павианов с этим диагнозом, возбудители хеликобактериоза обнаружены в 66,7% (рис. 2).

С возрастом происходит заметное увеличение процента обнаружения данных

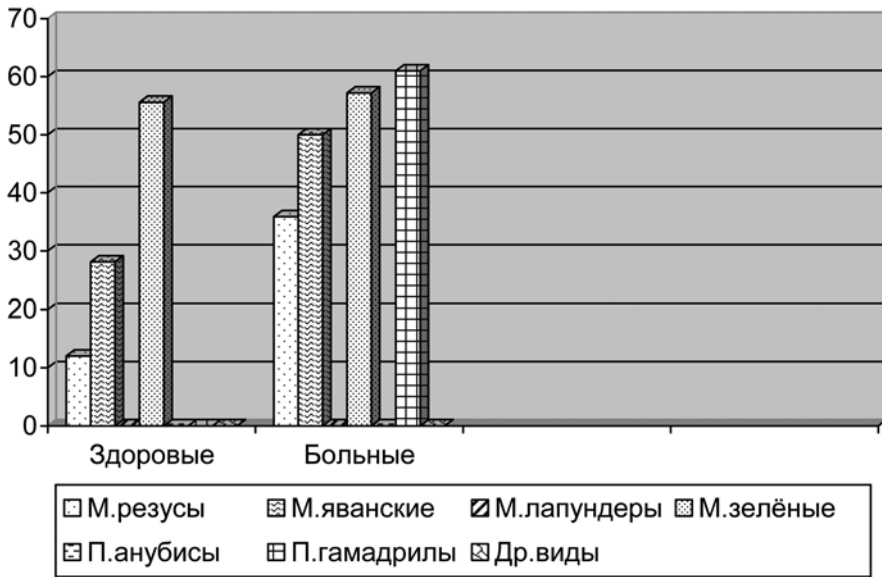


Рис. 2. Инфицированность различных видов обезьян *H. pylori*

возбудителей. Так, если у детенышей до года ДНК *H. pylori* обнаружена в 7,7%, то уже у подростков до 4-х лет – детекция ее составила 50%, а у взрослых обезьян старше 12 лет – 57,2%.

Таким образом, микроаэрофильные бактерии играют важную роль в этиологии ЖКЗ у обезьян, поскольку более 50% заболеваний обусловлено именно этими возбудителями. Нами также установлено, что наряду с клинически выраженными формами ОКИ, у обезьян имеет место бессимптомное носительство. Бессимптомное носительство кампилобактерий подтверждается обнаружением этих возбудителей в кишечном содержимом обезьян, погибших не от заболеваний ЖКТ. При этом также наблюдается отсутствие морфологических изменений слизистой оболочки на протяжении всего кишечника. Высокая инфицированность микроаэрофильными возбудителями обезьян пожилого возраста, по-видимому, связана с тем, что большинство из них можно рассматривать как иммунокомпроментированных животных в силу их социального статуса в стаде (постоянный эмоциональный стресс, недоедание, частые интеркуррентные заболевания,

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование *Campylobacter jejuni* и *Helicobacter pylori* у обезьян. В результате установлена достаточно высокая степень инфицированности данными возбудителями. Показано, что микроаэрофильные бактерии выявлены у всех видов и возрастных групп обезьян, причем с возрастом происходит увеличение частоты инфицирования *Helicobacter pylori*. Установлена этиологическая роль *Campylobacter* в развитии клинических форм кампилобактериоза у обезьян.

SUMMARY

A study of *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori* infection in monkeys was conducted. As result,

пониженный иммунитет). Таким образом, проведенное целенаправленное исследование на наличие микроаэрофильных возбудителей у обезьян позволило расшифровать этиологию желудочно-кишечных заболеваний, неустановленной ранее природы, и отнести их к кампилобактериозу и к хеликобактериозу.

Выводы

Выявлена высокая степень инфицированности больных желудочно-кишечными заболеваниями обезьян микроаэрофильными бактериями.

Выявление *Helicobacter pylori* в слизистых желудка и двенадцатиперстной кишки значительно выше, чем в фекалиях (45,9% и 16,5% соответственно).

Установлена этиологическая роль *Campylobacter* в развитии клинических форм кампилобактериоза у обезьян. Кампилобактериоз протекает в виде спорадических случаев преимущественно остро, с выраженным гастроинтестинальным синдромом.

Инфицированные *Helicobacter pylori* животные редко проявляют клинические признаки болезни, что говорит о возможной скрытой или латентной форме.

the high degree of infection by these pathogens was established. It has been shown, that microaerophilic bacteria were found in all species and age groups of monkeys, moreover, the frequency of infection is increasing with age. The ethiological role of *Campylobacter* in development of clinical forms of campylobacteriosis in monkeys are found.

Литература

1. Baze, W.B. *Campylobacter* – induced Fetal Death in a Rhesus Monkey. / W.B. Baze, B.J. Bernacky // Vet. Pathol. American College of Veterinary Pathologists. 2002. № 39. С. 605 – 607.
2. Bryant, J.L. *Campylobacter jejuni*, isolated from Patas Monkeys with Diarrhea. / J.L. Bryant, H.F. Stills, R.H. Lentsch, C.C. Middleton // Lab. Anim. Sci. 1983. 33 (3). С. 303 – 305.
3. De Mello, M.F. Identification of *Helicobacter* species in gastric mucosa from captive marmosets (*Callithrix* sp.; *callitrichidae*, primates). / M.F. De Mello, A.B. Monteiro, E.S. Fonseca, A. Pissinatti, A.M. Ferreira // AmJ. Primatol. 2005. 66 (2). С. 111-118.
4. Doi, S.Q. Molecular characterization of *Helicobacter pylori* strains isolated from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). / S.Q. Doi, T. Kimbason, J. Reindel, A. Dubois // Vet. Microbiol. 2005. 108 (1-2). С. 133-139.
5. Fox, J.G. Novel *Helicobacter* species isolated monkeys with chronic idiopathic colitis. / J.G. Fox, L. Handt, S. Xu, Z. Shen, F.E. Dewhirst, B.J. Paster, C.A. Dangler, K. Lodge, S. Motzel, H. Klein. / J. Med. Microbiol. 2001. 50. С. 421-429.
6. Mackie, J.T. Gastritis Associated with *Helicobacter*-like Organisms in Baboons. / J.T. Mackie, J. L. O'Rourke. // Vet. Pathol. 2003. 40. С. 563-566.
7. Инструкция по применению тест-системы Ге-неРак для обнаружения ДНК возбудителей инфекционных заболеваний методом полимеразной цепной реакции. // М.: «Биоком», 2005. 17с.

УДК: 619:616.98:578.835.2:616-076

Н.Е. Камалова, Д.Н. Афонина, А.И. Егорова, С.Р. Кременчугская, В.В. Борисов
(ФГУ Федеральный центр охраны здоровья животных ФГУ «ВНИИЗЖ»)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕННОГО СООТВЕТСТВИЯ ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ЯЩУРА С ПОМОЩЬЮ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Ключевые слова: антигенный, эпизоотический, изоляты, штаммы, вирус ящура, иммуноферментный.

Введение

Возбудитель ящура обладает значительной антигенной изменчивостью штаммов в пределах одного серотипа, которая выявляется в различные временные промежутки на разных территориях и зависит от видового состава восприимчивого поголовья, его иммунного статуса и множества других факторов. Считается, что основной причиной антигенной изменчивости является изменение аминокислотной последовательности в полипептидах вирусных белков, образующих капсид вириона. Практически такие антигенные изменения могут проявляться как от незначительных отличий между штаммами, которые улавливают только с помощью методов молекулярного анализа, так и в проявлении существенно отличающихся штаммов, которые отличаются и серологически [6]. Причем, по мнению исследователей, при выборе вакцинного штамма изучение антигенного соответствия между штаммами предпочтительнее проводить серологическими методами [10].

Ранее исследователи для изучения это-

го вопроса апробировали серологические методы (РСК, РН, РПГА, РРИД), но все они имеют ряд недостатков: низкая воспроизводимость, чувствительность или специфичность [3, 5, 11]. Реакция нейтрализации (РН) в этом отношении является наиболее объективным методом. Однако существенными недостатками ее являются необходимость условий для работы с вирулентными агентами и длительность получения результатов.

Kitching R.P. и др. (1988) для изучения антигенного соответствия штаммов вируса ящура предложили жидкофазный блокирующий вариант иммуноферментного анализа (ЖФБ ИФА) [8], рекомендуемый в настоящее время Всемирной справочной лабораторией (ВСЛ) по ящуру для идентификации штаммов вируса ящура [9].

Целью нашей работы являлось изучение антигенного соответствия производственных штаммов вируса ящура эпизоотическим изолятам, выделенным на территории РФ и в сопредельных государствах с использованием «Набора для определе-