

син // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т. 43. – Вып. 2. – С. 86–88. 8. Медведев, А.П. Требования к штаммам, предназначенным для производства противозерихозных препаратов / А.П. Медведев, А.М. Юдасин // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т. 43. – Вып. 1. – С. 154–157. 9. Медведев, А.П. Условно-патогенные микробы и их роль в инфекционной патологии животных / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий, М.В. Грибанова // Ветеринарная медицина Беларуси: научно-практический журнал – 2006. – № 1. – С. 12–13. 10. Специфическая профилактика вирусно-бактериальных пневмонитов молодняка крупного рогатого скота / П.А. Красочко [и др.] // Ветеринарная наука – производству: Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины в условиях современного животноводства», посвященной 75-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского НАН Беларуси и 100-летию со дня рождения академика Р.С. Чеботарева. – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 302–306. 11. Спиридонов, Г.Н. Этиологическая структура инфекционных болезней поросят-отъемышей в свиноводческих комплексах / Г.Н. Спиридонов [и др.] // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: материалы Международной научно-практической конференции, 23–25 сентября 2002 г. – Воронеж, 2002. – С. 40–41. 12. Этиологическая структура инфекционных болезней свиней в животноводческих хозяйствах России / А.В. Щербаков [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. материалы научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2003. – С. 146–150.

УДК 619:579.842.1/2

## КУЛЬТУРАЛЬНО–МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННОГО ШТАММА *S. ENTERITIDIS*

Лагун Н.В., Машеро В.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Результаты исследования по изучению культурально-морфологических и ферментативных свойств выделенных штаммов сальмонелл показали, что данные микроорганизмы являются представителями семейства Enterobacteriaceae, рода Salmonella, вид S. enteritidis.*

*Researches on studying культурально-morphological and ферментативных properties allocated штаммов salmonellas have shown V.A.result, that the given microorganisms are representatives of family Enterobacteriaceae, sort Salmonella, kind S. enteritidis.*

**Ведение.** Сохранение устойчивого благополучия животноводства по болезням животных, птиц и рыб является важнейшей задачей сельскохозяйственной науки и ветеринарной практики, имеет первостепенное значение в защите здоровья людей, обеспечении населения полноценными продуктами питания, а промышленности – качественным сырьем. В свою очередь, устойчивое благополучие животноводства следует рассматривать через систему мониторинга тех или других болезней.

Увеличение производства животноводческой продукции, насыщение рынка отечественными продуктами питания возможно только при создании устойчивого благополучия стад крупного рогатого скота по острым и хроническим инфекциям и обеспечении высокой сохранности сельскохозяйственных животных.

Каждая болезнь возникает от определенной причины, знание которой необходимо для правильного представления о сущности болезни, для разработки научно обоснованных мероприятий по ее предупреждению и устранению. Изучение этиологии, патогенеза, клиники болезни и морфологических изменений в организме позволяет разрабатывать научно обоснованные мероприятия по лечению и профилактике, т.е. предупреждению болезни.

Среди болезней телят, вызванных условно-патогенной микрофлорой, особую актуальность приобретает сальмонеллез.

Эта проблема, по мнению экспертов Всемирной Организации Здравоохранения, носит глобальный характер, так как сальмонеллез относится к зооантропонозам и имеет не только эпизоотологическое, но и эпидемиологическое значение, являясь возбудителем токсикоинфекций у людей. По данным Н.И. Лебедева (1980), при «пищевых» вспышках сальмонеллеза наибольший процент инфицирования людей в Беларуси регистрировался при употреблении инфицированной говядины (28,4%) и телятины (12,8%), полученных от больных сальмонеллезом животных.

Сальмонеллезы сельскохозяйственных животных относятся к семейству Enterobacteriaceae, роду Salmonella, подразделяющемуся на два вида – *S. enterika* и *S. bongori*. По классификации Кауфмана, бактерии этого семейства делятся на 12 родов. Род объединяет около 2400 сероваров, разделенных по набору соматических антигенов на 46 серологических групп. Данная группа бактерий поражает сельскохозяйственных и диких животных различных видов, преимущественно молодняк, и сопровождается широким бактерионосительством: большие и перелетевшие животные загрязняют окружающую среду, воду, корма, подстилку и т.д. Сальмонеллезный процесс может протекать спорадически или с большим охватом поголовья. К способствующим факторам инфицирования следует отнести совместное размещение животных, высокую влажность, колебания температуры, что обеспечивает в помещении значительную устойчивость сальмонелл[1].

Сальмонеллез телят – инфекционная болезнь, поражающая животных в возрасте от 10 суток до четырех месяцев, характеризующаяся при остром течении повышением температуры тела и расстройством пищеварения, септициемией, при хроническом – воспалением легких и артритам.

Экономический ущерб определяется высоким процентом заболевших животных, зачастую достигающим 100%-ного охвата поголовья, смертностью в пределах 50-70 %, частым рождением мертвых телят, большими затратами на лечение больных, отстающих в развитии животных.

Совершенствование методов профилактики является важным звеном в ликвидации сальмонеллеза. Ста-

тистические материалы за последние годы показывают, что тенденция к уменьшению заболевания телят сальмонеллезом выражена незначительно, а в отдельных районах нашей республики наблюдается увеличение числа неблагополучных пунктов и заболевших животных. Это свидетельствует о необходимости совершенствования специфической профилактики сальмонеллеза телят, которая осуществляется моно- и бивалентными вакцинами.

Несмотря на то, что в хозяйствах нашей республики вакцинация телят против сальмонеллеза является обязательной, болезнь широко распространена ввиду несоответствия антигенного состава вакцин этиологической структуре болезни. Результаты биохимических и серологических исследований показали, что в этиологии заболевания у телят участвуют 6 видов сальмонелл, 3 из них являются доминирующими: *S. dublin* – 25 %, *S. typhimurium* – 13 %, *S. enteritidis* – 8 % от общего количества положительных результатов исследований за 2005-2007 годы. [2].

В связи с этим актуальной задачей является изучение этиологической структуры сальмонеллеза телят в Республике Беларусь.

В последнее десятилетие ведущую роль в этиологии сальмонеллезов человека и животных приобрели бактерии *S. enteritidis* (А.Н. Панин, 2005; В. М. Красильникова и др., 1996).

Выяснение этого феномена, а также необходимость совершенствования и разработки средств специфической профилактики сальмонеллезов явились причиной активного изучения данного вида как со стороны ветеринарных, так и медицинских специалистов.

Целью настоящих исследований явилось изучение культурально-морфологических и ферментативных свойств выделенного от теленка штамма *S. enteritidis*. По данным обзора литературы, данным статистической отчетности Белорусского Ветеринарного центра за последние 5 лет, по результатам собственных биологических и бактериологических исследований нам удалось выяснить следующие факты.

При изучении литературных данных было установлено, что ведущую роль в этиологии заболевания у телят в последнее десятилетие приобрели бактерии *S. enteritidis*. Немалую роль в эпидемиологии сальмонеллезной инфекции играет серовар, который выделяется из кормов, живой птицы, мяса и яиц. Другие же исследователи установили циркуляцию у телят в республике 6 видов сальмонелл: *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. paratyphi B*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. london*, три из них являются доминирующими: *S. Dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*. Другие сероварианты сальмонелл у телят фиксируют реже: *S. london*, *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum*, *S. humber* [1].

На основании данных статистической отчетности ГУВ МСХ и П РБ установлено, что доля *S. enteritidis* в общем количестве выделенных культур с 2005 по 2007 год увеличилась с 1 до 17%. Это подтверждает ее значимость как этиологического фактора болезни.

Количество проб и положительных результатов бактериологических исследований патологического материала на сальмонеллез крупного рогатого скота представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Количество бактериологических исследований на сальмонеллез крупного рогатого скота, проведенных в отделах диагностики районных ветеринарных станций Республики Беларусь за период 2005-2007 гг. (по данным ГУ "Белорусский государственный ветеринарный центр")**

Год	Количество проб исследованного патологического материала		Количество положительных результатов исследований	
	Всего	В том числе абортированных плодов	Всего	В том числе из абортированных плодов
2005	15277	3325	128	8
2006	12140	1120	93	
2007	20050	2500	179	12

Из данных таблицы 1 видно, что количество проб патматериала, направленных в диагностические учреждения в период с 2005 по 2007 год, увеличилось на 31,2%, а положительных результатов исследований – на 39,8%.

Результаты серологического типирования выделенных культур сальмонелл с О- и Н- специфическими мнорецепторными сыворотками представлены в таблице 2.

**Таблица 2 — Количество серологических вариантов сальмонелл, изолированных из патологического материала от крупного рогатого скота в Республике Беларусь за период 2005-2007 гг.**

Год	Вид возбудителя	Количество выделенных культур	Доля от общего количества исследованных проб (%)
2005	<i>S. typhimurium</i>	25	19,5
	<i>S. enteritidis</i>	1	1
	<i>S. dublin</i>	99	77,3
2006	<i>S. typhimurium</i>	19	20
	<i>S. enteritidis</i>	1	1
	<i>S. dublin</i>	72	77
	<i>S. panama</i>	1	1
2007	<i>S. typhimurium</i>	73	40
	<i>S. enteritidis</i>	32	17
	<i>S. dublin</i>	74	41

Из таблицы видно, что количество выделенного штамма *S. enteritidis* с 2005 по 2007 год увеличилось с 1 до 17%.

При проведении собственных исследований на начальном этапе работы изучали культурально - морфологические и биохимические свойства выделенного штамма *S. enteritidis*. Микроорганизм отнесен к семейству Enterobacteriaceae, роду Salmonella, виду bongori. Данный штамм был выделен из органов теленка (селезенки, сердца, печени, лимфоузлов) 2-месячного возраста.

Данный микроорганизм в мазках, приготовленных из бульонных и агаровых культур, окрашенных по Грамму, имеет вид грамотрицательных палочек с закругленными концами, размером 1-4\*0,5 мкм, располагающихся одиночно и беспорядочно, подвижных.

Изучение культуральных свойств показало, что данный микроорганизм является аэробом. Растет на питательных средах (МПА, МПБ, МППЖА, висмут-сульфитном агаре, селенитовой среде, среде Эндо, Плоскирева, Левина). На МПА образовывались серо-белые, кажущиеся голубоватыми в тонком слое среды, сочные, полупрозрачные, округлые колонии (1 мм в диаметре). На МПБ образовывалось интенсивное помутнение, на дне пробирок появляется серо-белый обильный осадок. При посеве уколом на МППЖА наблюдался рост колоний по всему объему среды, что свидетельствовало о подвижности бактерии. На висмут-сульфитном агаре образовывались черные колонии с характерным металлическим блеском, что является видовым признаком. На среде Эндо сальмонеллы имели вид светло-розовых колоний. На среде Плоскирева - бесцветные, слегка голубоватые, нежные колонии. На среде Левина - прозрачные, с голубовато-фиолетовым оттенком (таблица 3).

Таблица 3 — Культивирование штамма на питательных средах

Наименование питательных сред	Характер роста
МПА	округлые колонии розоватого цвета
МПБ	помутнение среды, на дне пробирки осадок
Эндо	округлые колонии 1-2 мм сероватого цвета
Плоскирева	бесцветные колонии
Левина	прозрачные колонии
Висмут- сульфитный агар	черные колонии с характерным металлическим блеском

При изучении биохимической активности выделенного штамма *Salmonella enteritidis* установили, что он разлагает глюкозу, метиленовый красный и маннит. К сахарам, многоатомным спиртам инертен. Не ферментирует лактозу, сахарозу, цитрат. Способствует образованию сероводорода. Индол не выделяет (таблица 4).

Таблица 4 — Ферментативные свойства выделенного штамма *S. enteritidis*

Дата исследований	Наименование органов	глюкоза	лактоза	сахара-роза	маннит	цитрат	метиленовый красный	Реакция Фогеса-Проскауера	подвижность	индол	сероводород	мочевина
С 01.06-05.06	сердце, почка, печень	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-

Примечание: «+» - наличие ферментативных свойств;  
«-» - отсутствие ферментативных свойств.

В антигенном отношении штамм относится к серотипу enteritidis, группа D1(09,12). Имеет в своем составе соматический O – антиген (1,9) и жгутиковый антиген H 1-й фазы (g, m) и 2-й фазы (1,7). Чувствителен к многим антибиотикам (таблица 5).

Патогенные свойства выделенного штамма определяли в остром опыте путем заражения лабораторных животных массой 16-18 г. В работе использовали 25 белых мышей, которые были разделены на пять групп. В исследованиях использовали возбудителя с концентрацией  $10^9$  микробных клеток в 1мл. Животным каждой группы вводили внутривенно по 0,5 мл микробной взвеси *S. enteritidis* из разведений  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-11}$ . За лабораторными животными наблюдали в течение 15 дней после инфицирования, делая посевы на питательные среды с целью выделения чистой культуры возбудителя.

Для определения LD<sub>50</sub> использовали метод Рида-Менча. С целью определения патогенности штамма *S. enteritidis* произвели расчет величины LD<sub>50</sub> по методу Рида-Менча на основании данных, представленных в таблице 1. Использовали формулу определения патогенности штамма *S. enteritidis*

$$LD_{50} = \lg 1/10^2 + \lg 10 (\Sigma - 0,5).$$

где  $\lg 1/10^2$  – логарифм разведения с константой реакции 1,0; l

g 10 – логарифм интервала;

$\Sigma$  - сумма констант реакции.

LD<sub>50</sub> выделенной культуры *S. enteritidis* составило 53470 микробных клеток.

Таблица 5 — Определение чувствительности штамма *S. enteritidis* к антибиотикам

№	Название антибиотиков	Зона подавления роста (в мм)			
		До 0,5	0,5-1,0	1,0-1,5	С 1,5
1	Амикацин	+	+	+	+
2	Метилмецин	+	+	+	+
3	Каномицин	+	+	+	+
4	Цефуроксим	+	+	+	-
5	Цефазолин	+	+	+	-
6	Цефтазидим	+	+	+	+
7	Цефалексин	+	+	-	-
8	Карбенциллин	+	+	+	+
9	Левомецетин	+	+	+	+
10	Цефалотин	+	+	-	-
11	Офлоксацин	+	+	+	+
12	Тетрациклин	-	-	-	-
13	Цефотаксим	+	+	+	+
14	Ампициллин	+	+	+	-
15	Полимиксин	+	+	-	-
16	Ципрофлоксацин	+	+	+	+
17	Фураданин	+	+	+	-
18	Стрептомицин	+	-	-	-
19	Гентамицин	+	+	-	-
20	Цефтриаксон	+	+	+	+

Примечание: «+» - наличие чувствительности к антибиотикам;  
«-» - отсутствие чувствительности к антибиотикам.

Таблица 6 — Исходные данные для расчета LD<sub>50</sub> выделенной культуры штамма *S. enteritidis*

Разведение бульонной культуры	Доза (микробных клеток)	Число зараженных белых мышей	Пало	Выжило
10 <sup>-3</sup>	1600	5	5	0
10 <sup>-5</sup>	800	5	5	0
10 <sup>-7</sup>	400	5	2	3
10 <sup>-9</sup>	200	5	3	2
10 <sup>-11</sup>	100	5	1	4

**Заключение.** Результаты исследования по изучению культурально-морфологических и ферментативных свойств выделенных штаммов сальмонелл показали, что данные микроорганизмы являются представителями семейства Enterobacteriaceae, рода *Salmonella*, вид *S. enteritidis*.

**Литература.** 1. Борьба с сальмонеллезом: роль ветеринарии и пищевой гигиены / пер. с англ. Г.А. Медведковой // Докл. комитета экспертов ВОЗ. - Женева, 1991 - С. 25-77. 2. Даровских, С.В. Биологические свойства бактерий *Salmonella enteritidis*, изолированных от телят / С.В. Даровских // Ученые записки: [сборник научных трудов]. - Ред. А.И. Ятусевич [и др.] - Витебск: УО ВГАВМ. - 2006. - Т. 42, вып. 2, ч. 1. - С. 66 - 69.

УДК 619:578.825.15:636.2

#### РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ REAL-TIME ПЦР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Максимович В.В., Красочко П.П., Квач С.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

Приведены данные по разработке количественной полимеразной цепной реакции для выявления вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Чувствительность данной методики позволяет определить в образце наличие вируса с концентрацией 2 lg.

*Data on working out quantitative polymerase chain reaction for revealing of bovine rhinotracheitis virus infectious of cattle. Sensitivity of the given procedure allows to define in the sample presence of a virus with concentration 2 lg.*

**Введение.** Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота (ИРТ КРС) – это остро протекающая контагиозная болезнь крупного рогатого скота, характеризующаяся преимущественно катарально-некротическими поражениями дыхательного тракта, лихорадкой, общим угнетением и конъюнктивитом, а также развитием пупельного вульвовагинита, при попадании вируса в половые органы животного и абортными.

Особенностью данного вируса является его длительная персистенция в организме животных после пере-