

УДК 619:616.98:579.842.11-07

Ю.Г.ЗЕЛУТКОВ

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АДГЕЗИВНЫХ АНТИГЕНОВ У ПАТОГЕННЫХ ЭШЕРИХИЙ

Известно, что колибактериоз вызывается энтеропатогенными штаммами *E.coli*, обладающими факторами вирулентности, одним из которых являются адгезивные антигены. Их открытие у эшерихий обусловило изменение точки зрения на патогенез и специфическую профилактику болезни. Установлено, что возбудитель колиинфекции способен вызывать развитие инфекционного процесса при наличии адгезивных антигенов, располагающихся в пилях *E.coli* и благодаря которым последние прикрепляются к ворсинкам проксимальной части тонкого кишечника новорожденных телят, интенсивно размножаясь, обширно колонизируя тонкий кишечник. Кроме того, эшерихии, имеющие адгезивные антенны, в большинстве случаев продуцируют энтеротоксины. Выявление их и осуществление идентификации имеет определяющее диагностическое значение (1, 4).

В связи с этим, целью наших исследований явилась идентификация адгезивных антигенов у энтеропатогенных штаммов эшерихий, выделенных от новорожденных телят с признаками патологии желудочно-кишечного тракта.

Эксперименты проведены в условиях лаборатории кафедры эпизоотологии с использованием патологического материала от павших новорожденных телят хозяйств Витебской области. В процессе работы осуществляли дифференциальную диагностику ротавирусной инфекции и коронавирусного энтерита.

Морфологические, тинкториальные и биохимические свойства культур *E.coli* изучали с использованием общепринятых микробиологических тестов. Определение O-серотипов *E.coli* и идентификацию адгезивных антигенов осуществляли в реакции агглютинации с типовыми выворотками и агглютинирующими сыворотками к адгезивным антигенам, согласно наставлению по применению их. При постановке РА использовали суточные культуры возбудителя. Вирулентность культур *E.coli* определяли на белых мышах путем интраперитонеальной инокуляции суточной бактериальной суспензии с концентрацией

500 млн. м. к. Изучение гемолитической активности у эшерихий проводили путем посева суточной бульонной культуры на МПА с 10% дефибрированной кровью овцы.

В целях максимальной экспрессии адгезивных антигенов кишечной палочкой, использовали бактериальную питательную среду, разработанную в УНИИЭВ, основу которой составляет перевар Хоттингера. Уровни концентрации адгезивных антигенов определяли методом двойной радиальной диффузии в агарозе Оухтерлони. Для этого культуру эшерихий стационарной фазы роста центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин., осадок ресуспендировали в фосфатном буфере до концентрации 10^{11} м.к./см³. В дальнейшем проводили экстрагирование адгезивных антигенов в водяной бане при 60-65°C в течение 20 минут. Затем суспензию снова центрифугировали и из надосадочной жидкости готовили адгезивные антигены, которые после приготовления двукратных разведений вносили в периферические лунки агарозного геля. Все эксперименты сопровождали необходимыми контролями (2,3).

Микробиологическому исследованию был подвергнут патологический материал от 47 телят, павших с симптомами диареи, из хозяйств, стационарно неблагополучных по инфекционным энтеритам. При этом был выделен 61 штамм E.coli. Все изученные штаммы представляли собой полиморфные, грамотрицательные палочки, обладающие различной интенсивностью движения. Их культуральные, ферментативные и протеолитические свойства практически были идентичными и характерными для рода эшерихий, независимо от консистенции питательной среды. В подавляющем большинстве случаев энтеропатогенные штаммы E.coli выделялись из кишечника (48,9%), брыжеечных лимфоузлов (17,02%) и печени (8,5%).

При изучении антигенной структуры изолированных штаммов E.coli в РА с ОК-сыворотками были получены негативные результаты, свидетельствующие об отсутствии капсульных К-антигенов. При использовании О-козисывороток были идентифицированы следующие сероварианты: 08(5,7%), 09(8,5%), 020(11,4%), 0101(20%), 0115(23,8%). В процессе выявления адгезивных антигенов было установлено, что большинство энтеропатогенных штаммов E.coli имели в своем составе адгезивный антиген K99(54,3%), K88(25,7%) и 17,1% случаев были выявлены одновременно K99+K41. Присутствие ротавирусов и коронавируса в организме больных телят при смешанном течении болезни существенно не влияло на синтез адгезивных антигенов у энтеропатогенных штаммов эше-

рихий. Следует отметить, что у телят первых 5 дней жизни при септической форме эшерихиоза адгезивный антиген K99 установлен в 10% случаев, при энтеритной - в 36%. Еденичные штаммы E.coli содержали в своем составе адгезивные антигены 987P, Ф4I, A20 и их различные сочетания. Все штаммы эшерихий, содержащие адгезивные антигены, обладали выраженной патогенностью в отношении белых мышей. Концентрация адгезивных антигенов в РДП была не высокой и колебалась от 1:2 до 1:4.

З а к л ю ч е н и е. Анализ полученных результатов свидетельствует о циркуляции в организме новорожденных телят с признаками патологии желудочно-кишечного тракта эпизоотических штаммов E.coli, относящихся к 08;09;020;010I;0115 серогруппам и содержащих адгезивные антигены K99 и K88, что является показателем их патогенности. Выделенные штаммы эшерихий, имеющие в своем составе адгезивные антигены характеризуются выраженной патогенностью. Наличие в организме новорожденных телят рота- и коронавируса значительно осложнило течение болезни, хотя и не оказывало влияния на состав адгезивных антигенов.

Л и т е р а т у р а:

1. Головки А.Н. Адгезивный антиген K99 у патогенных для телят эшерихий и его иммуногенные свойства: Автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.03.-Минск, 1989. -24 с.-/БелНИИЭВ/
2. Методические рекомендации по определению адгезивных антигенов K99, Ф4I, АТТ25 у патогенных эшерихий и выявлению антиадгезивных антител у крупного рогатого скота /ВАСХНИЛ; ВНИИЭВ; УНИИЭВ/ -М., 1989.-19 с.
3. Методические рекомендации по получению, очистке энтеротоксинов эшерихий и изготовлению антитоксических сывороток /Украинская Академия аграрных наук; Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины/. - Харьков, 1993. - 23 с.
4. Тугаринов О.А., Пирожков М.К., Исхакова Т.И. Факторы вирулентности энтеропатогенных эшерихий и оптимальные питательные среды// Профилактическая эффективность специфических средств защиты животных и методы контроля качества биологических препаратов:Сб.науч. тр./ВГНКИ вет.препаратов.-М., 1991.-С.32-40