

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ПТИЦ

Балашкова Н. В.³, Гласкович А. А.¹, Аль Акаби Аамер Рассам Али^{1,2},
Красочко П. П.¹, Медведев А. П.¹, Капиготова Е. А.¹, Гласкович М. А.³,
Кузнецов Н. А.⁴, Лосева Е. О.¹, Римашевская Н. А.¹, Овчинникова А. Р.¹

¹ – УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»,

г. Витебск, Республика Беларусь

² – Аль-Кадисиский университет, факультет ветеринарной медицины,

г. Эд-Дивания, Республика Ирак

³ – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,

г. Горки, Республика Беларусь

⁴ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,

г. Гродно, Республика Беларусь

Аннотация. Для прижизненной диагностики сальмонеллеза птиц необходимо применять реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) с эритроцитарным сальмонелла энтеритидис-антигеном, РА с цельноклеточным антигеном и полимеразную цепную реакцию (ПЦР), обладающие чувствительностью и специфичностью. В процессе бактериологической диагностики для культивирования различных видов микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл, предлагаем использовать усовершенствованные и экономически выгодные питательные среды из некондиционного сырья, на которых культуры бактерий сохраняют свои морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические и другие свойства.

Summary. For diagnosis salmonella necessary conduct indirect agglutination reaction with the using erythrocyte salmonella enteritidis – antigen, agglutination reaction with the using of whole antigen, also by high sensitive, specific PCR. For culture difference bacteria suggest using economic and cheap media, cultured bacteria on this media keep its morphology, cultural, biochemical and other its character.

Введение. Эффективность развития животноводства в значительной мере зависит от эпизоотической ситуации по инфекционным болезням, особенно вызываемым условно-патогенной микрофлорой, на долю которых в Республике Беларусь приходится 89,9% от количества неблагополучных пунктов. Среди этих заболеваний особое место занимает сальмонеллез, наносящий значительный экономический ущерб животноводству [1]. Также, одной из важных проблем ветеринарии являются бактериальные болезни птиц, вызываемые различными видами микроорганизмов, в т.ч. *Salm. enteritidis*, *Salm. typhimurium*, *Salm. pullorum-gallinarum*, *E. coli*, *Cl. perfringens*, *Bordetella avium*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. iow* и другие микоплазмы (*Mycoplasma* spp.). Однако самую важную роль, бесспорно, играют смешанные инфекции.

Одной из современных особенностей сальмонеллеза является повсеместный рост его распространения и увеличение числа сероваров, выделенных от

сельскохозяйственных животных, птиц и людей, из пищевых продуктов и других объектов [1, 4].

Расширился спектр типов бактерий, циркулирующих среди поголовья различных видов животных и птиц [1].

Борьба с сальмонеллезом птиц заключается в организации санитарно-противоэпизоотических мероприятий, проведении лечебно-профилактических действий по ликвидации инфекции, клиническому оздоровлению поголовья и ликвидации бактерионосительства [6]. Микробиологические мониторинговые исследования необходимы для эффективного проведения ветеринарно-санитарных и лечебно-профилактических мероприятий в птицеводческих хозяйствах [2].

Реализуемые мясо птицы и птицепродукты, обсемененные патогенными сальмонеллами, представляют опасность для здоровья покупателей и могут служить источником распространения инфекции. Поэтому очень важен постоянный микробиологический контроль непосредственно в местах реализации [5]. В последние годы в лабораторную практику для диагностики инфекционных болезней животных и людей внедряют новые тест-системы, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и другие [3, 7].

Метод полимеразной цепной реакции обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционным бактериологическим методом выявления сальмонелл, так как сочетает в себе быстроту и простоту исполнения, а также потенциально высокую специфичность и чувствительность при выявлении патогенных микроорганизмов [7].

Цель работы – усовершенствование системы диагностических мероприятий при сальмонеллезе птиц.

Материалы и методы исследований. «Ветлактофлор» – ветеринарный пробиотический препарат, изготовленный из штамма ацидофильных бактерий – *Lactobacillus acidophilus* EP 317/402 «Нарине».

Вакцина против сальмонеллеза птиц инактивированная «CEVAK SET K» изготовлена из инактивированной формалином культуры штаммов *Salmonella typhimurium* и *Salmonella enteritidis* с добавлением жидкого парафина и сорбит-моноолеата в качестве масляного адьюванта, а также раствора фосфатного буфера и этилмеркуритсалицилата натрия (изготовитель – фирма «Фатра S.p.A.», Италия).

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты изучения динамики титра антител в крови цыплят-бройлеров, вакцинированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза птиц «CEVAK SET K» на фоне применения ветеринарного пробиотического препарата «Ветлактофлор-М» (как по отдельности, так и при совместном их использовании)

Титр гемагглютининов и агглютининов изучали путем постановки РНГА и РА с использованием цельноклеточного и эритроцитарного сальмонелла энтеритидис-антигенов. Диагностическая ценность метода прижизненной диагностики с использованием РНГА и РА при сальмонелла энтеритидис-инфекции, как и при любой инфекционной болезни, определяется ее чувствительностью и специфичностью.

Полученные данные показывают, что РНГА с эритроцитарным сальмонелла энтеритидис антигеном по своей эффективности и чувствительности значительно превосходит РА с цельноклеточным антигеном во все сроки исследования.

Ценность метода прижизненной диагностики сальмонеллеза птиц характеризуется не только чувствительностью, но и ее специфичностью, так как чувствительность метода приобретает диагностическое значение лишь при достаточно высоком уровне специфичности его показаний.

Специфичность РНГА с эритроцитарным сальмонелла энтеритидис-антигеном определяли с монорецепторными агглютинирующими О- и Н-сальмонеллезными сыворотками О1, О3, О4, О5, О9, О10, О12, О19 и Н1, Н2, Н5, Н7, Нм, Нг; гипериммунными сыворотками к сальмонелла энтеритидис и сальмонелла тифимуриум; нормальными куриными сыворотками, а также с О-копи сыворотками О2, О20, О78, О149; монорецепторными агглютинирующими О- и Н-сальмонеллезными сыворотками О1, О3, О4, О5, О9, О10, О12, О19 и Н1, Н2, Н5, Н7, Нм, Нг.

РНГА была положительной только с сыворотками, имеющими антитела к гомологичным антигенам сальмонелла энтеритидис, т.е. монорецепторными сальмонеллезными О- и Н-сыворотками к сальмонелла энтеритидис и гипериммунным сывороткам к сальмонелла энтеритидис.

С нормальными куриными сыворотками, а также с О-копи сыворотками (рецепторы О2, О20, О78, О148), монорецепторными агглютинирующими сальмонеллезными О-сыворотками (рецепторы О3, О4, О5, О10, О19), монорецепторными агглютинирующими сальмонеллезными Н-сыворотками (рецепторы Н2, Н5), гипериммунными сыворотками к сальмонелла тифимуриум, нормальными куриными сыворотками РНГА и РА была отрицательной, что указывает на высокую специфичность этой реакции при диагностике сальмонелла энтеритидис-инфекции птиц.

Таким образом, РНГА с использованием эритроцитарного сальмонелла энтеритидис-антигена при сальмонеллезе птиц высокоактивна в сравнении с РА с цельноклеточным антигеном, специфична и может быть использована для прижизненной диагностики сальмонелла энтеритидис-инфекции птиц.

Введение пробиотика «Ветлактофлор-М» в рацион птиц для профилактики сальмонеллеза способствовало накоплению и длительному сохранению у них более высокого уровня титров сальмонеллезных антител после иммунизации инaktivированной вакциной «СЕВАК SET К» против сальмонеллеза.

В сыворотке крови цыплят-бройлеров и молодняке птиц, получавших отдельно вакцину и вакцину с пробиотиком в комплексе, закономерно выявлялся в РНГА более высокий титр гемагглютининов, чем агглютининов в РА. При вакцинации птицы против сальмонеллеза на фоне пробиотика «Ветлактофлор-М» в РА наблюдалось аналогичное, но в несколько меньшем титре, нарастание титров агглютининов. РНГА с использованием эритроцитарного сальмонелла энтеритидис-антигена является высокоактивным, чувствительным и специфичным методом прижизненной диагностики сальмонелла энтеритидисинфекции птиц в сравнении с РА с использованием цельноклеточного сальмонелла энтеритидис-антигена.

Результаты выявления *Salmonella enteritidis* в мясе цыплят-бройлеров молекулярно-генетическим методом с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для постановки ПЦР использовали пробы мяса цыплят-бройлеров, полученные из рынка, продовольственных магазинов, частного сектора, а также от опытных цыплят-бройлеров, экспериментально зараженных *Salmonella enteritidis* в процессе проведения научно-лабораторных опытов. Отбор образцов проводили с соблюдением условий асептики и хранили в стерильном контейнере.

Целью исследований явилось – выявление микроорганизмов рода *Salmonella* в опытных образцах мяса птиц. В процессе бактериологической диагностики из некоторых проб птицепродуктов были выделены и идентифицированы сальмонеллы. Результатами этого исследования установлено, что микроорганизмы рода *Salmonella* были обнаружены с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) только в мясе птиц, экспериментально зараженной возбудителем *Salmonella enteritidis*.

Доказано, что применение ПЦР для диагностики сальмонелл в мясе птиц приобретает особую важность в связи с возможностью ускоренной диагностики сальмонеллеза и перспективой определения ПЦР-анализом серотипа возбудителя сальмонеллеза.

Усовершенствование бактериологической диагностики сальмонеллеза и других бактериальных инфекций птиц путем использования качественных питательных сред, приготовленных из некондиционного сырья для культивирования производственных штаммов сальмонелл и различных видов микроорганизмов.

В процессе бактериологической диагностики от трупов и вынужденно убитых с диагностической целью птиц, принадлежащих птицеводческим хозяйствам Республики Беларусь, были выделены относящиеся к разным систематическим группам патогенные и условно-патогенные микроорганизмы – *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum - gallinarum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella pneumonia*, *Yersinia enterocolitica*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Bordetella avium* и др.

В настоящее время основным сырьем для приготовления питательных сред в промышленных масштабах является качественное говяжье мясо – ценный пищевой продукт высокой стоимости. Получение из него питательных сред экономически не выгодно. Поэтому замена мяса дешевым непищевым сырьем и получение из него качественных питательных сред для культивирования производственных штаммов сальмонелл – важная научная и практическая задача.

Мясо выбракованных волов и овец представляет собой непищевое сырье, из которого изготавливали питательные среды для микроорганизмов. Затем определяли пригодность приготовленных питательных сред для культивирования различных видов микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл. О качестве сред судили по уровню концентрации бактерий, выращенных в этих средах, характеру рос-

та и степени диссоциации тест – штаммов микроорганизмов, по их биологическим свойствам.

При этом были получены положительные результаты и доказана пригодность питательных сред из непищевого сырья для культивирования вышеуказанных различных видов бактерий. Нами также установлено, что при росте на этих средах культуры сальмонелл сохраняли свои морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические и другие признаки.

Заключение. Реакция непрямой гемагглютинации с эритроцитарным сальмонелла энтеритидис-антигеном является более чувствительным и специфичным методом прижизненной диагностики сальмонеллеза птиц в сравнении с РА с цельноклеточным антигеном. Для ускоренной экспресс-диагностики сальмонеллеза птиц необходимо использовать молекулярно-генетический метод исследования с помощью ПЦР. При культивировании на усовершенствованных и экономически выгодных питательных средах из некондиционного сырья культуры различных видов микроорганизмов, в т.ч. сальмонеллы, сохраняли свои морфологические, тинкториальные, физиологические, культуральные, биохимические и другие свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даровских, С. В. Сыворотка поливалентная антитоксическая против сальмонеллеза телят, поросят и птиц (получение и контроль) / С. В. Даровских // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» – Витебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 29–32.
2. Добрина, М. Нужен постоянный контроль сальмонеллеза / М. Добрина // Животноводство России. – 2011. – № 3. – С. 11–12.
3. Мустафин, Т.Р. Получение полиспецифической флуоресцирующей ботулинической сыворотки для экспресс - диагностики и индикации возбудителя ботулизма методом флуоресцирующих антител (МФА) / Т. Р. Мустафин // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2013. – Т. 213. – С. 156-158.
4. Особенности пищевой вспышки сальмонеллеза энтеритидис / А. Д. Усенко [и др.] // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 107–110.
5. Очирова Л.А. Выявление сальмонелл при мониторинге пищевых продуктов в республике Бурятия / Л. А. Очирова, А. Б. Будаева // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана.– Казань, 2012. – Т. 210. – С. 151-154.
6. Пименов, Н. В. Сальмонеллез птиц: перспективные направления в лечебно оздоровительных мероприятиях / Н. В. Пименов // Ветеринария и кормление. – 2010. – № 3. – С. 24–25.
7. Яцышина, С. Б. Выявление и типирование возбудителей сальмонеллеза молекулярно-генетическими методами / С. Б. Яцышина // автореф. канд. ... биол. наук. -М., 2003. - 29 с.