

общехозяйственных показателей.

Количество задержаний последа в опытной группе на 50% меньше (у трех коров), чем в контрольной, послеродовых маститов нет (2 в контрольной), эндометритов – в 2 раза меньше (у трех коров).

Заключение. Гидроокисьалюминиевая полиштаммная формолвакцина против стрептококковых инфекций крупного рогатого скота активизирует иммунологические процессы прежде всего в организме телят, повышая, в частности, уровень общего белка и лейкоцитов, не дает осложнений; уменьшает количество задержаний последа, послеродовых маститов и эндометритов у коров.

Литература. 1. Молодняк крупного рогатого скота: кормление, диагностика, лечение и профилактика болезней: монография / Н.И. Гавриченко [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2018. – 288 с. 2. Оценка эпизоотической ситуации по инфекционным энтеритам телят в хозяйствах Витебской области / П.А. Красочко [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. Выпуск 2(9), 2018. УО ВГАВМ, 2018. – С.35-39. 3. Железко А.Ф. Государственный ветеринарный надзор : учебное пособие / А.Ф. Железко. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 568

УДК 619:579.843.95

БАЛУШ Е.А., студент

Научный руководитель - **ГВОЗДЕВ С.Н.**, ассистент

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

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ШТАММОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ СЕРОТИПОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Введение. Респираторные заболевания являются основной причиной смертности у свиней. Возбудителей, вызывающих респираторные инфекции у свиней, принято классифицировать как первичные патогены, способные разрушать защитные механизмы организма и самостоятельно вызывать инфекцию, либо как условно-патогенные микроорганизмы, которые используют механизмы вирулентности первичных патогенов для установления инфекций. Рядом авторов [1, 2] считается, что наиболее распространенным условно-патогенным агентом является *Pasteurella multocida*. Экспериментально трудно заразить свиней чистыми культурами *P. multocida*, хотя возбудитель обычно переносится в миндалинах свиней, в результате чего пастереллезная инфекция считается оппортунистической. Другие авторы [3] рассматривают данный микроорганизм как первичный респираторный агент. В последнее время поступают сообщения [2] об увеличении числа случаев тяжелой бронхопневмонии, часто с плевритом, ассоциированной с единичной инфекцией *P. multocida* типа А или типа D, поэтому некоторые изоляты могут быть более вирулентными и должны рассматриваться как первичные патогены. Диагноз на пастереллез ставят на основании комплекса эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов бактериологического исследования патологического материала с обязательным определением патогенности выделенной культуры на лабораторных животных. При этом срок лабораторного исследования на пастереллез составляет до 10 суток. Использование молекулярно-генетического метода диагностики пастереллеза свиней позволит значительно ускорить постановку диагноза.

Материалы и методы исследований. Исследования по разработке метода диагностики пастереллеза свиней и оценке возможности штаммовой дифференциации серотипов возбудителя молекулярно-генетическими методами, проводились в условиях отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ. Анализ генома и подбор праймеров к консервативным участкам генома *P. multocida* проводился с использованием банка нуклеотидных последовательностей GenBank

Национального центра биотехнологической информации, США. Выравнивание последовательностей проводили, используя программное обеспечение AlleleID, а подбор праймеров с помощью SnapGene. Оценку специфичности праймеров и зондов проводили с использованием ДНК пастерелл, полученных ранее из патологического материала от павших свиней с подтвержденным общепринятыми лабораторными исследованиями диагнозом на пастереллез. Выделение ДНК/РНК проводили с помощью наборов «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп»» и «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб»» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкциями к наборам. Постановку ПЦР проводили общепринятым методом, используя реактивы производства ООО «АртБиоТех», РБ.

Результаты исследований. По литературным данным установлено, что для пастерелл всех серотипов видоспецифическим геном является ген *kmt1*, кодирующий белок клеточной стенки. Используя последовательности KX449352.1, DQ233649.1, DQ233648.1, MK802880.1, AY225347.1, AY225346.1, KP212391.1, KP212389.1, KP212387.1, FJ986389.1 вышеназванного гена и другие были подобраны 4 разновидности комплементарных им праймеров (KMT1-1F, KMT1-1R, KMT1-2F, KMT1-2R) с длиной ампликона от 208 до 258 пар нуклеотидов. При оценке специфичности праймеров была поставлена ПЦР с имеющимся штаммом пастереллы с соответствующими параметрами реакционной смеси и условий проведения реакции. Электрофорез проводили по стандартной методике в 2% агарозном геле с напряжением 5 В/см.

В результате постановки реакции нами определено, что специфичностью к искомому гену обладает первая пара праймеров (KMT1-1F и KMT1-1R), которая дает четкую полосу на уровне 208 п.н. К данной паре праймеров был подобран олигонуклеотидный зонд технологии Taqman PMT, имеющий следующую последовательность: 5(FAM)-ACCGGCAAATAACAATAAGCTGA-3(BHQ1).

Проверку специфичности отжига проверяли постановкой ПЦР в режиме «реального времени». Зонд PMT вносили в количестве 10 пмоль на реакцию с аналогичными условиями проведения реакции и температурно-временными циклами. Детекцию флуоресценции проводили после этапа элонгации. Постановка ПЦР показала специфичность полученного зонда PMT к гену *kmt1*.

Заключение. 1. Полевые изоляты микроорганизма *Pasteurella multocida* отличаются высокой фенотипической изменчивостью, в частности, по антигенным свойствам, однако на геномном уровне характеризуются наличием видоспецифического гена *kmt1*, кодирующего белок клеточной стенки.

2. В результате собственных исследований нами были подобраны праймеры и зонды к специфическим участкам ДНК *P. multocida*, которые являются высоко видо- и серотипоспецифическими по результатам ПЦР.

Литература. 1. *Effects of atrophic rhinitis and climatic environment on the performance of pigs* / P. M. Van Diemen, J. W. Schrama, W. Van Der Hel [et al.] // *Livestock Production Science*. – 1995. – Vol. 43. – No 3. – P. 275-284. 2. *Kielstein P. On the occurrence of toxin-producing Pasteurella multocida strains in atrophic rhinitis and in pneumonias of swine and cattle*. *J. Vet. Med. Ser. B*. 1986;33:418–424. 3. *Phenotypic and genetic characterization of NAD-dependent Pasteurellaceae from the respiratory tract of pigs and their possible pathogenetic importance* / P. Kielstein, H. H. Wuthe, O. Angen [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2001. – Vol. 81. – No 3. – P. 243-255.