

прогулок и применение современных акарицидных препаратов (таблетированные формы, спреи, ошейники) позволили существенно снизить риск заражения и обеспечить благополучный исход.

Заключение. Полученные данные подтверждают высокую эффективность комплексного подхода к лечению и профилактике пироплазмоза у собак. Своевременная лабораторная диагностика в сочетании со специфической противопаразитарной терапией и патогенетическим лечением позволяет минимизировать осложнения и снизить летальность. Регулярное применение современных акарицидных средств и тщательный осмотр животных после контакта с природной средой являются надежными мерами профилактики. Ветеринарным специалистам рекомендуется включать комплексные схемы профилактики и ранней диагностики в стандарты работы с собаками в энзоотичных по пироплазмозу регионах.

Литература.

1. Альбикова, Г. М. Сравнительный анализ эффективности препаратов против клещей для собак / Г. М. Альбикова, Э. Ж. Апиева // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 02–04 ноября 2023 года. – Витебск : УО ВГАВМ, 2023. – С. 6-9.

2. Эпизоотология с микробиологией [Электронный ресурс] : учебник / А.С. Алиев [и др.]; под ред. В. А. Кузьмина, А. В. Святковского. - Электрон. дан. - Санкт-Петербург : Лань, 2019. - 432 с. - Режим доступа : [https://e.lanbook.com/book/112071\](https://e.lanbook.com/book/112071).

3. Мараканова, К. К. Профилактика бабезиоза (пироплазмоза) у собак / К. К. Мараканова, Л. Л. Ошкина // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России : сборник материалов Всероссийской (национальной) научно-практической конференции молодых ученых, Пенза, 20–21 октября 2021 года. Том I. – Пенза : Пензенский государственный аграрный университет, 2021. – С. 173-175.

УДК 618.19-002-02:579.842.1/.2:636.2

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ КАК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ МАСТИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Жинжикова А.А., Хайтембу Р.Н.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский университет ветеринарной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Инфекционный мастит крупного рогатого скота часто вызывается энтеробактериями. Традиционное бактериологическое исследование имеет ограничения: длительность, ложноотрицательные результаты.

*Проведена идентификация возбудителя мастита полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ). В пробе молока, отрицательной по результатам посева, обнаружена ДНК E. coli. Показано, что ПЦР-РВ позволяет выявлять генетический материал патогена даже при отсутствии жизнеспособности бактерий. Рекомендовано включать ПЦР-РВ в комплексную диагностику маститов для повышения точности детекции возбудителя. **Ключевые слова:** мастит коров, инфекционный мастит, энтеробактерии, Escherichia coli, ПЦР-РВ.*

POLYMERASE CHAIN REACTION FOR IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIA AS CAUSES OF INFECTIOUS MASTITIS IN CATTLE

Zhizhikova A.A., Haitembu R.N.

St. Petersburg University of Veterinary Medicine, St. Petersburg,
Russian Federation

*Infectious mastitis in cattle is often caused by enterobacteria. Traditional bacteriological research has limitations: duration, false-negative results. The causative agent of mastitis was identified by real-time polymerase chain reaction (qPCR). DNA of E. coli was detected in a milk sample that was negative according to the results of the culture. It was shown that qPCR allows detecting the genetic material of the pathogen even when the viability of the bacteria is suppressed. It is recommended to include qPCR in the complex diagnostics of mastitis to increase the accuracy of the identification of the causative agent. **Keywords:** mastitis in cows, infectious mastitis, enterobacteria, Escherichia coli, qPCR.*

Введение. Инфекционный мастит – это воспаление паренхимы молочной железы, развивающееся в ответ на проникновение микроорганизмов из-за различных факторов [3].

Энтеробактерии являются одними из основных возбудителей мастита у крупного рогатого скота. К энтеробактериям, которые могут вызывать инфекционный мастит, относятся: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.* Так, например, кишечной палочкой вызвано около 18% случаев маститов [2].

Бактериологическое исследование – современный метод диагностики мастита у крупного рогатого скота. Однако, ограничения данного метода включают задержку в 24-48 часов для получения результатов. Кроме того, примерно в 25% случаев в образцах молока при клинических случаях мастита бактерии не обнаруживаются при посеве. Это может быть результатом применения антибиотиков без предварительной лабораторной диагностики, так как наличие остаточных количеств антибиотиков в

исследуемом молоке может привести к отсутствию роста возбудителя мастита [4].

Также для диагностики мастита проводят ПЦР, позволяющую обнаружить в материале нуклеиновую кислоту патогенов. В последние годы появилась такая модификация ПЦР, как ПЦР-РВ, позволяющая осуществлять количественную оценку содержания ДНК в исследуемом материале [1].

Таким образом, для наиболее точного выявления возбудителя мастита наряду с классическим бакпосевом будет эффективно использовать молекулярно-генетические методы диагностики, в частности ПЦР-РВ.

Целью работы является применение полимеразной цепной реакции для идентификации энтеробактерий как возбудителей инфекционных маститов крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования являлась проба маститного молока (n=5), отобранная от коров голштинской породы в Псковской области. Для выявления ДНК была проведена ПЦР-РВ.

Для выделения нуклеиновых кислот был использован «Комплект реагентов для выделения ДНК из биопроб «ДНК-сорбент-ВЕТ»» (ООО Научно-производственная фирма «Литех», Россия).

Амплификация проводилась с использованием набора реагентов для обнаружения ДНК бактериальных патогенов «ВЕТСЕПТОСКРИН»» (ООО Научно-производственная фирма «Литех», Россия) с применением амплификатора CFX Opus 96 (BioRad).

Результаты исследований. Результаты молекулярно-генетического анализа пробы молока представлены в таблице.

Амплификация ДНК во всех положительных контролях прошла успешно, что подтверждает корректную постановку эксперимента.

Таблица - Анализ и интерпретация результатов

Возбудитель	Положительный контроль	Проба молока				
		(n=1)	(n=2)	(n=3)	(n=4)	(n=5)
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter spp., Klebsiella spp.</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Proteus spp.</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Serratia spp.</i>	+	-	-	+	-	-

Примечание: «+» – наличие ДНК в пробе молока; «-» – отсутствие ДНК.

В результате ПЦР *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* не были выявлены. Однако, были детектированы *Escherichia coli* (n=5) и *Serratia spp.* (n=1). Это показывает преимущество ПЦР перед

бактериологией. Несмотря на то, что по результатам бактериологии энтеробактерии были не выявлены, ПЦР детектирует их генетический материал. Это значит, что они являются соучастниками инфекционного процесса, даже если их жизнеспособность подавлена.

Заключение. Бактериологическое исследование не всегда позволяет получить полную этиологическую картину мастита. В представленном случае возбудители (*E. coli*, *Serratia spp.*) не были выявлены бактериологическим методом, однако их наличие было установлено при проведении ПЦР-РВ.

В отличие от бактериологического метода, ПЦР детектирует нуклеиновые кислоты возбудителя независимо от его физиологического состояния (включая инаktivированные антибиотиками формы), что снижает долю ложноотрицательных результатов. Таким образом, включение ПЦР в план диагностики при мастите обеспечивает более высокую точность идентификации возбудителей, особенно на фоне предшествующей антимикробной терапии, и служит основой для назначения адекватного лечения.

Литература.

1. Макавчик, С. А. Анализ результатов микробиологического ветеринарного мониторинга антибиотикорезистентности энтеробактерий / С. А. Макавчик, А. Л. Кротова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25, № S1. С. 39-40.
2. Макавчик, С. А. Клиническая ветеринарная микробиология : учебное пособие / С. А. Макавчик, Л. И. Смирнова. – СПб : Издательство MBV, 2022. – 228 с.
3. Review on Current Diagnostic Methods of Bovine Mastitis / G. D. Dahesa, I. A. Kebede, T. Nigussie, A. A. Jibril // Veterinary Medicine – Open Journal. – 2023.
4. Goulart, D. B. Escherichia coli Mastitis in Dairy Cattle: Etiology, Diagnosis and Treatment Challenges / D. B. Goulart, M. Mellata // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Т. 13.
5. A practical guide to diagnosing bovine mastitis: a review / M. Ramuada, T. L. Tyasi, L. Gumede, T. Chitura // Frontiers in Animal Science. – 2024. – Т. 5.