

«Сейфуллин окулары–12: Ғылым жолындағы жастар - болашақтың инновациялық әлеуеті» атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения–12: Молодежь в науке-инновационный потенциал будущего». – 2016. – Т.І, ч.1. – С. 322-325

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ПАТОГЕННОСТЬ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ РОДА *CLOSTRIDIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Т.Е. Терентьева, Т.И. Глотова,
С.В. Котенева, А.Г. Глотов*

В последнее время, в связи с интенсификацией животноводства, направленной на повышение молочной продуктивности коров, все более широкое распространение получили желудочно-кишечные заболевания крупного рогатого скота. В этиологии этих болезней играют роль различные микроорганизмы (вирусы, бактерии, хламидии и др.), в том числе и возбудители почвенных инфекций, к которым относятся бактерии рода *Clostridium*. Клостридии могут обуславливать значительное число болезней сельскохозяйственных животных и птиц [6-9], однако в большинстве случаев они являются представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота (КРС) [1, 3, 5, 10].

В настоящее время признанными этиологическими агентами клостридиозов КРС являются: *Cl. tetani* (столбняк), *Cl. novyi* типа В (злокачественный отек, газовая гангрена), *Cl. perfringens* типа А (геморрагическое воспаление тонкого кишечника, язвы сычуга, тимпания, газовая гангрена, внезапная гибель), *Cl. perfringens* типа С (некротический энтерит), *Cl. perfringens* типа D (энтеротоксемия), *Cl. septicum* (злокачественный отек, газовая гангрена), *Cl. chauvoei* (эмкар), *Cl. sordellii* (энтеротоксемия, синдром внезапной гибели, злокачественный отек), *Cl. haemolyticum* (бациллярная гемоглобинурия КРС) [7-10]. В последнее время в литературе появились сообщения о новом виде – *Cl. difficile*, вызывающем заболевания у телят, ягнят и новорожденных поросят [8].

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что видовой состав бактерий рода *Clostridium*, вызывающих патологию у КРС в животноводческих хозяйствах Российской Федерации, изучен недостаточно. Из литературных данных известно, что причиной клостридиозов животных в хозяйствах Московской, Рязанской, Тюменской, Белгородской, Кировской и Псковской областей были бактерии семи видов рода *Clostridium* с преобладанием *Cl. septicum* и *Cl. sporogenes* [2]. Поэтому, чтобы повысить эффективность мер профилактики и борьбы с клостридиозами КРС,

необходимо знать видовой спектр бактерий, вызывающих данные заболевания.

В отечественной научной литературе сведений о видовом составе бактерий рода *Clostridium*, вызывающих патологию у КРС, недостаточно. Поэтому актуальным является изучение видового состава бактерий, вызывающих анаэробные инфекции у КРС, в частности, на молочных комплексах с наличием высокопродуктивных животных.

Цель работы – изучить видовой состав бактерий рода *Clostridium*, выделенных от КРС на молочных комплексах Сибири и определить их патогенные свойства на беспородных белых мышах.

Работа выполнена в 2007-2015 гг. в лаборатории биотехнологии – диагностический центр и молочных комплексах Сибири.

Пробы биоматериала отбирали у животных разного возраста, не получавших антибактериальные препараты, замораживали однократно и транспортировали в лабораторию в течение не более 4...12 ч в термосе со льдом, чтобы избежать повторного оттаивания и замораживания.

Культуры бактерий выделяли и идентифицировали согласно ГОСТ 26503-85 «Методы лабораторной диагностики клостридиозов». Использовали искусственные питательные среды: кровяной МПА, тиогликолевую среду и МППА с 1% глюкозы. Для определения патогенности выделенных культур бактерий использовали беспородных белых мышей (n=288) массой 18...20 г.

Исследовали 18-24 часовые агаровые культуры бактерий рода *Clostridium*, выделенные из внутренних органов животных. Видовую идентификацию чистых культур бактерий рода *Clostridium* проводили при помощи набора «RAPID ANAIIPanel», Remel, США.

Всего в результате бактериологических исследований выделили 280 культур, которые по культурально-морфологическим признакам отнесли к роду *Clostridium*. В дальнейшем для видовой идентификации и определения патогенности использовали 96 культур [4].

При идентификации культур микроорганизмов с применением набора «RapID ANAII» суспензию вносили в плашку, содержащую 18 тестов, равномерно распределяли по лункам и культивировали в термостате при 37°C в течение 4-6 часов. Далее в соответствии с инструкцией в лунки вносили соответствующие реактивы.

По результатам изучения биохимических свойств идентифицировали следующие виды бактерий рода *Clostridium*: *Cl. histolyticum* – 52 культуры, *Cl. septicum* – 38, *Cl. sporogenes* – 3, *Cl. perfringens* – 3 культуры.

Учитывая комменсальную, условно-патогенную природу большинства видов бактерий рода *Clostridium*, значительный интерес представляло определение их патогенных свойств на беспородных белых мышах путем внутрибрюшинного введения им 0,5 мл 18-24-х часовой бактериальной суспензии с концентрацией 3 Ед по McFarland.

Таблица 1 – Патогенность культур бактерий рода *Clostridium* для беспородных белых мышей

| Вид бактерии | Число изолированных культур бактерий | Число культур бактерий/% от числа исследованных | |
|-------------------------|--------------------------------------|---|--------------|
| | | патогенные | непатогенные |
| <i>Cl. histolyticum</i> | 52 | 37/71,15 | 15/28,85 |
| <i>Cl. septicum</i> | 38 | 38/100 | - |
| <i>Cl. sporogenes</i> | 3 | 3/100 | - |
| <i>Cl. perfringens</i> | 3 | 3/100 | - |
| Всего: | 96 | 81/84,37 | 15/15,63 |

Согласно результатам, представленным в таблице 1, всего выявили 84,37% патогенных культур, причем все бактерии видов *Cl. septicum*, *Cl. sporogenes* и *Cl. perfringens* были патогенными для белых мышей и вызывали их гибель в течение 24...48 ч после заражения. Также 71,15% культур бактерии *Cl. histolyticum* были патогенными.

Патогенные культуры *Cl. sporogenes* и *Cl. perfringens*, как правило, выделяли из некротизированной мышечной ткани, селезенки и печени коров, что характерно для септического процесса, а *Cl. histolyticum* – из печени, селезенки телят и коров. Гибель мышей наблюдали через 18-48 часов после заражения с характерными для клостридиоза признаками. При вскрытии трупов павших мышей учитывали характер патологоанатомических изменений. В случае заражения патогенными культурами кожа в области введения бактериальной суспензии легко отслаивалась от мышц, которые имели серовато-грязный цвет, в кишечнике выявляли геморрагическое воспаление слизистой оболочки и вздутие, сосуды были кровеносными.

Непатогенные культуры бактерий *Cl. histolyticum* изолировали из проб молока и влагалищных выделений. *Cl. histolyticum* при заражении не вызывала гибели мышей. В этом случае у мышей выявляли красно-фиолетовое окрашивание кожи в области инъекции и расплавленность мышечной ткани.

Из-за большого видового разнообразия бактерий рода *Clostridium*, обитающих в желудочно-кишечном тракте клинически здорового КРС, сам факт их изоляции не имеет диагностического значения. Важным является обнаружение бактерий в пробах биоматериала от больных, вынужденно убитых или павших животных, с последующим выделением культуры на питательных средах, идентификацией и изучением патогенности для лабораторных животных. Следует также иметь в виду, что процесс выделения анаэробных культур бактерий достаточно трудоемкий, требующий высокой квалификации исследователей, а также строгого выполнения правил отбора и доставки проб биоматериала в диагностические ветеринарные лаборатории.

Список литературы

1. Борисович, Ю.Ф. Инфекционные болезни животных. – М.: Агропромиздат, 1987. – 288 с.
2. Капустин, А.В. Видовой состав клостридий крупного рогатого скота / А.В. Капустин, А.В. Моторыгин, Н.К. Букова // Вестник ветеринарии. – 2013. – №1. – Вып. 64. – С. 71-73.
3. Сидорчук, А.А. Клостридиозы животных: учебное пособие./ А.А. Сидорчук, В.Л. Крупальник. – М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2004. – 140 с.
4. Терентьева, Т.Е. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах / Т.Е. Терентьева, Т.И. Глотова, С.В. Котенева, А.Г. Глотов // Российский ветеринарный журнал. СХЖ. – 2016. – №1. – С. 5-8.
5. Ургуев, К.Р. Клостридиозы животных. – М.: Россельхозиздат, 1987. – 183 с.
6. Barker, I.K. The alimentary system, disease associated with enteric clostridial infection / I.K. Barker, A.A. Van Dreumel, N. Palmer // Pathology of Domestic Animals. – 1993. – Vol 2. – P. 213-221.
7. Berghaus, R.D. Risk factors associated with hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle/ R.D. Berghaus, B.J. McCluskey, R.J. Callan // J. of the Amer. Vet. Med. Assoc. –2005. – Vol. 226. – P. 1700-1706.
8. Dahms, C. Epidemiology and zoonotic potential of multiresistant bacteria and *Clostridium difficile* in livestock and food / C. Dahms, N.O. Hubner et al. // GMS Hyg. Infect. Control. – 2014. – Vol. 9(3). – P. 1-16.
9. Hathewey, C.L. Toxigenic clostridii / C.L. Hathewey // Clinical Microbiology Reviews. –1990. – Vol. 3. – P. 66-98.
10. Songer, J.G. Clostridia enteric diseases of domestic animals / J.G. Songer // Clinical Microbiology Reviews. – 1996. – Vol. 9. – P. 216-234.