

УДК 57.083.1

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО И ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА С ПТИЦЕФАБРИК АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ НА САЛЬМОНЕЛЛЕЗ**

*Широбокова Д.С., магистрант 1 курса  
Боровиков С.Н., кандидат биологических наук, и.о. профессора  
Казахский агротехнический исследовательский университет им  
С.Сейфуллина  
г. Астана*

Сальмонеллез широко распространен во многих странах мира [1,2] и наносит значительный ущерб промышленному птицеводству, включая потери в результате смертности птицы, снижения производства мяса и яиц, а также привлекает дополнительные расходы на профилактические мероприятия и лечение [3]. У молодняка сальмонеллез часто протекает остро, приводя к гибели до 70-80% цыплят, в то время как у взрослых кур заболевание чаще принимает хроническую форму. При ослаблении иммунитета или инфицировании высоковирулентными штаммами возбудителя болезни, особенно у молодняка, сальмонеллез может протекать тяжелее и приводить к массовой гибели птицы. Сальмонеллезная инфекция наносит не только значительный ущерб птицеводству, но и является одной из наиболее распространенных причин болезней пищевого происхождения у людей [4,5,6].

Исследования антибиотикорезистентности бактерий рода *Salmonella* в настоящее время является актуальным в связи с рядом факторов. Во-первых, сальмонеллы продолжают быть одним из основных патогенов, вызывающих пищевые отравления и инфекционные заболевания у людей. Во-вторых, постоянное появление новых штаммов сальмонелл, обладающих антибиотикорезистентностью, создает серьезные вызовы для общественного здравоохранения и это показывает, что стандартные схемы лечения инфекций могут оказаться неэффективными [7].

Кроме того, многолетние исследования антибиотикорезистентности сальмонелл позволяют выявлять тенденции в изменении уровня чувствительности к различным антимикробным препаратам, что помогает при разработке стратегии для предотвращения распространения резистентных штаммов и оптимизации лечения инфекций [8].

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы является исследование образцов биологического и патологического материала с птицефабрик Акмолинской области, а также изучение микробиологических,

биохимических свойств и уровня антибиотикорезистентности у выделенных изолятов бактерий рода *Salmonella*.

Материалы и методы. Для исследований провели отбор проб на птицефабрике А и птицефабрике Б из Акмолинская области. Патологический (паренхиматозные органы павшей птицы) и биологический материал (фекалии кур, смывы с клеток, кормушек и поилок) отбирали в одноразовую стерильную посуду, с соблюдением всех требований безопасности под руководством ветеринарных врачей птицефабрики. Полученный клинический материал в кратчайшие сроки был доставлен в Казахстанско-Китайскую лабораторию по биологической безопасности Казахского агротехнического исследовательского университета (КАТИУ) им. С. Сейфуллина для дальнейших исследований.

Питательные среды разливали в заранее приготовленные одноразовые стерильные чашки Петри. Посев всех проб проводили в стерильных условиях на дифференциально-диагностические среды: агар Плоскирева, среда Эндо и висмут-сульфит агар.

После инкубации в термостате в течение 24 и 48 часов проводился учет выросших колоний и отбор типичных колоний бактерий рода *Salmonella*.

Микроскопию и окрашивание по методу Грама выделенных из биологического материала типичных колоний бактерий рода *Salmonella* проводили согласно общепринятым методикам.

Типичные колонии бактерий рода *Salmonella* пересевали для дальнейшего определения биохимических свойств в соответствии с ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода *Salmonella* [9].

Для изучения биохимических свойств изолятов бактерий рода *Salmonella* был проведен посев на VRBL-агар с применением индикаторной бумаги для определения продукции сероводорода и индола.

Для идентификации сальмонелл проводились биохимические тесты на оксидазу и каталазу. Реакция с каталазой: исследуемый материал (2-3 колонии) с помощью бактериальной петли помещали на предметное стекло и наносили 2 капли 3% перекиси водорода непосредственно на бактериальный мазок. Реакция с оксидазой: на деревянные одноразовые ватные палочки с помощью бактериальной петли помещали исследуемый материал (2-3 колонии) и наносили 2-3 капли реагента оксидазы (N-гидрохлорид тетраметил-п-фенилендиамин) непосредственно на бактерии.

Для изучения способности изолятов бактерий рода *Salmonella* ферментировать сахара был проведен посев на среды Гисса с сахарозой и маннитом.

Для точной идентификации изучаемых бактерий рода *Salmonella* были проведены метод латексная агглютинация с использованием готового набора латексной агглютинации для идентификации *Salmonella* («Оксид Лимитед», Великобритания).

Также для точной идентификации изолятов бактерий использовали метод матричной лазерной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS).

Для определения чувствительности к антибиотикам применили диско-диффузионный метод в соответствии с МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам и рекомендациями EUCAST. Учет результатов определения чувствительности провели через 24 часа после посева на среду Мюллера-Хинтона.

Результаты. Типичные колонии бактерий рода *Salmonella* были обнаружены в пробах материала с птицефабрики А. На среде Плоскирева бактерии рода *Salmonella* образовывали бесцветные круглые колонии с черным центром. На среде Эндо бактерии рода *Salmonella* образуют круглые бесцветные или слегка розоватые колонии. На висмут-сульфит агаре бактерии рода *Salmonella* образуют черные колонии с характерным металлическим блеском, а также зеленоватые с темно-зеленым ободком. Под микроскопом были отчетливо видны грамтрицательные палочки длиной от 3 до 7 мкм и шириной от 0,3 до 0,7 мкм.

В пробах материала с птицефабрики Б, были обнаружены бактерии *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae*, не интересующие нас в данной исследовательской работе.

По результатам посева на VRBL-агар отчетливо видно почернение свинцовой бумаги и частичное изменение цвета среды, что свидетельствует о наличии сероводорода.

Выделенные изоляты в реакции с каталазой демонстрировали немедленное и постоянное выделение пузырьков, а в реакции с оксидазой получен отрицательный результат, что подтверждает их принадлежность к бактериям рода *Salmonella*.

Изменение цвета среды Гисса с маннитом свидетельствует о наличии масляной кислоты в результате ферментации данного сахара. По характерному изменению цвета сред можно судить, что изучаемые бактерии не обладают способностью ферментировать сахарозу, но могут ферментировать маннит.

Сальмонеллы и кишечная палочка часто встречаются на птицефабриках из-за близких условий окружающей среды, таких как высокая влажность, недостаточная гигиеничность и наличие органических отходов.

На простых средах, таких как МПА и МПБ, сальмонеллы и кишечная палочка могут показать схожий рост, что делает сложным их отличие только по внешнему виду. Однако, биохимические тесты позволяют дифференцировать эти микроорганизмы.

Проведенные биохимические исследования показали, что выделенные культуры обладают способностью производить сероводород, ферментировать маннит, а также показали положительную реакцию с каталазой, что является типичным для бактерий рода *Salmonella*.

Образование хлопьев, видимых невооруженным глазом, в реакции латекс-агглютинации в результате связывания жгутиков антигенов *Salmonella* с латексными частицами, сенсibilизированными поливалентной антисывороткой, свидетельствовало о наличии бактерий рода *Salmonella*.

В результате идентификации выделенных изолятов методом матричной лазерной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS), принадлежность изучаемых бактерий к роду *Salmonella*, виду *Enterica* подтвердилась с высокой степенью достоверности.

После изучения биохимических свойств выделенных изолятов бактерий и точного подтверждения их принадлежности к роду *Salmonella*, провели дальнейшие эксперименты для определения чувствительности к антибиотикам с применением диско-диффузионного метода. Повышение резистентности штаммов бактерий к антимикробным препаратам приводит к увеличению дозировки используемого препарата. Однако, используя тесты на определение чувствительности к антимикробным препаратам можно определить антибиотики, к которым у исследуемых штаммов присутствует повышенная чувствительность.

Изоляты бактерий рода *Salmonella*, выделенные с птицефабрики А показали чувствительность к антибиотикам: ампициллин, цефаклор, амоксициллин, офлоксацин. При этом, данные изоляты характеризовались множественной лекарственной устойчивостью, поскольку зафиксирована их резистентность к антибиотикам: доксициклин, кларитромицин, рифампицин, клиндамицин, эритромицин. Также у всех изолятов была отмечена умеренная резистентность к антибиотикам: азитромицин, тетрациклин.

Таким образом, при исследовании образцов материала, отобранного на птицефабрике А из Акмолинской области, были выделены изоляты бактерии рода *Salmonella*, подтвержденные биохимическими методами и идентифицированные методом матричной лазерной масс-спектрометрии как *S. enterica*. Изучение антибиотикорезистентности выделенных изолятов показало чувствительность к антибиотикам (ампициллин, цефаклор, амоксициллин, офлоксацин). При этом, данные изоляты характеризовались множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам: доксициклин, кларитромицин, рифампицин, клиндамицин, эритромицин. Полученные данные вызывают тревогу, поскольку бактерии рода *Salmonella* могут служить источником контаминации продуктов птицеводства. В этой связи, рекомендуем ветеринарным специалистам обращать внимание на выбор эффективных противомикробных препаратов для применения.

#### Список литературы

- 1 Habing, GG, Kessler, SE, Mollenkopf, DF, Wittum, TE, Anderson, TC, Barton Behravesh, C., Joseph, LA, Erdman, MM. (2015). Distribution and Diversity of *Salmonella* Strains in Shipments of Hatchling Poultry. *Zoonoses Public Health*, 62(5), 375-380. DOI: 10.1111/zph.12157
- 2 Oastler, CE, Nichols, C., Newton, K., Cawthraw, S., Gosling, RJ, Martelli, F, Wales, AD, Davies, RH. (2022). Observations on the distribution and control of *Salmonella* in commercial broiler hatcheries in Great Britain. *Zoonoses Public Health*, 69(5), 487-498. DOI:10.1111/zph.12938

- 3 El-Saadony, MT, Salem, HM, El-Tahan, AM, Abd El-Mageed, TA, Soliman, SM, Khafaga, AF, Swelum, AA, Ahmed, AE, Alshammari, FA, Abd El-Hack, ME. (2022). The control of poultry salmonellosis using organic agents: an updated overview. *Poult Sci.*, 101(4):101716. DOI: 10.1016/j.psj.2022.101716
- 4 Abd El-Tawab, AA, Fatma, EH, Ahmed, MA, Soad, AN, Nehal, MN. (2015). Studies on different *Salmonella* serotypes isolated from poultry in different governorates in Egypt. Benha. *Veterinary Medical Journal*, 28, 169-175. doi.org/10.21608/BVMJ.2015.32498
- 5 Chousalkar, KK, Willson, NL. (2022). Nontyphoidal *Salmonella* infections acquired from poultry. *Curr Opin Infect Dis.*, 35(5), 431-435. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000876
- 6 Бармак, С., Султанкулова, Г., Жолдыбаева, Е. (2023). Выявление бактерии *Salmonella enterica* в продуктах питания, *GBJ*, 3(72), 246–255.
- 7 Ansari-Lari, M, Hosseinzadeh, S, Manzari, M, Khaledian, S. (2022). Survey of *Salmonella* in commercial broiler farms in Shiraz, southern Iran. *Prev Vet Med.*, 198:105550. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2021.105550
- 8 Kipper, D, Mascitti, AK, De Carli, S, Carneiro, AM, Streck, AF, Fonseca, ASK, Ikuta, N, Lunge, VR. (2022). Emergence, Dissemination and Antimicrobial Resistance of the Main Poultry-Associated *Salmonella* Serovars in Brazil. *Vet Sci.*, 9(8):405. DOI: 10.3390/vetsci9080405
- 9 ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) с ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода *Salmonella*. Москва.