

УДК: 619:616-07:619:616.98:579.843.95

МЕТОД РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Т.Р. Гайнутдинов, кандидат биол.наук, ведущий научный сотрудник;

Р.Н. Низамов, доктор вет.наук, профессор;

А.М. Идрисов, кандидат вет.наук, старший научный сотрудник;

К.Н. Вагин, кандидат биол.наук, старший научный сотрудник;

Р.Н. Низамов, аспирант

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань (420075, г. Казань Научный городок-2, тел.:(843)239-53-26, e-mail: vnivi@mail.ru)

Ключевые слова: *Пастереллез, диагностика, бактериология, питательные среды, среда 199.*

Работа посвящена поиску усовершенствования методов диагностики пастереллеза крупного рогатого скота, апробированы питательные среды, в том числе среда 199 при бактериологическом методе выделения пастерелл. Авторами установлено, что после часового культивирования пастерелл на среде 199 появляется рост культуры, при микроскопии обнаруживается чистая культура пастерелл, патогенная для лабораторных животных.

Введение. Болезнь широко распространена во всех странах земного шара. По количеству очагов и частоте возникновения выделяются Индия, Пакистан, Иран, Ирак. В Европе болезнь наиболее часто регистрируется в Италии, Германии, Франции, и др. странах [5].

Диагноз на пастереллез ставят на основании анализа комплекса эпизоотических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений с обязательным бактериологическим исследованием патологического материала. Для бактериологического исследования в лабораторию посылают отдельные органы (сердце, селезенку, печень и др.). Патологический материал лучше посылать свежий или замороженный, либо в консервирующей жидкости - 30%-ный водный раствор глицерина, среда 199 [1].

Однако поставить точный диагноз на пастереллез бывает трудно [6]. Это касается, в первую очередь, выделения возбудителя, так как животных при появлении первых признаков поражения органов дыхания лечат антибиотиками. Результаты бактериологического исследования материала от таких животных часто бывают отрицательными [2, 3].

Однако поставить прижизненно точный диагноз на основе одних только клинико-эпизоотических показателей не всегда возможно и не удастся, так как клинические признаки и патологоанатомические изменения при этом заболевании во многом сходны с признаками при ряде других инфекционных заболеваний [4].

С учетом изложенного целью настоящих исследований явилось усовершенствование методов диагностики пастереллеза.

Материал и методы исследования. Для лабораторного исследования брали пробы из органов павших животных (кусочки селезенки, печени, легких с лимфатическими узлами, трубчатую кость), не подвергавшихся лечению антибиотиками и сульфаниламидными препаратами, а также у здоровых и переболевших животных отбирали материал на диски из фильтровальной бумаги из носовой и ротовой полости. Во всех случаях выделенные культуры вначале изучали микроскопически с окраской мазков по Романовскому-Гимза и синькой Леффлера. Для получения чистой культуры пастерелл, ее очищали общепринятыми методами: дробными посевами исследуемого патологического материала, а для разделения смешанных культур – использованием биологического метода, путем подкожного заражения белых мышей.

Биохимическую активность выделенных пастерелл по отношению к углеводам проводили на плотных питательных средах с добавлением до 1% углеводов – глюкозы, сахарозы, мальтозу, манита и сорбита, а также на образовании индола и сероводорода. К изучению подвергали 17 из 48 выделенных культур, в том числе 5 от переболевших, 5 – от павших, 3 – от здоровых животных, 2 культуры от голубей и 2 от воробьев.

Вирулентность культур пастерелл определяли путем постановки биологической пробы на 42 белых мышах и голубях с расчетом по 3 особи на каждую изучаемую культуру. Белых мышей заражали подкожно в дозе по 0,2 мл 24 – часовой культурой пастерелл, а голубей – той же культурой, внутримышечно в грудные мышцы в дозе по 0,5 мл.

Результаты исследований и их обсуждение. В условиях лаборатории из патологического материала приготовили мазки-отпечатки и окрашивали их синькой Леффлера или по Романовскому-Гимза. В поле зрения микроскопа обнаруживали биполярно окрашенные закругленными концами палочки.

Изучаемую культуру возбудителя пастереллеза высевали на МПА, МПБ, на среду 199, в целях определения способности пастерелл усваивать цитратные и аммонийные соли на среду Симмонса, а для определения образования сероводорода на среду Клигlera. Результаты изуче-

Таблица 1 – Динамика роста пастерелл из патологического материала на различных питательных средах

Питательные среды	Время учета появления пастерелл							
	8 ³⁰	9 ³⁰	10 ³⁰	11 ³⁰	13 ³⁰	14 ³⁰	15 ³⁰	7 ³⁰
МПА	—	—	—	—	—	—	+	+++
МПБ	—	—	—	—	—	—	+	+++
Среда Симмонса	—	—	—	—	—	—	—	+
Среда Клиглера	—	—	—	—	—	—	—	—
Среда 199	—	+	+	+++*	+++	+++	+++	++++

Условные обозначения: «—» – роста нет; «+» – появление роста; «+++*» – сделан мазок.

ния роста пастерелл на различных питательных средах представлены в таблице 1.

Из данных таблицы видно, что первоначальный рост на среде 199 уже был отмечен после часового культивирования при 37°C, который характеризовался в виде поверхностного белого кольца. В мазках, сделанных из этого кольца, после 3 – часового культивирования было установлено наличие пастерелл. После 24 – часового культивирования среда приобретала интенсивно красный цвет с осадком на дне пробирки.

Первоначальный рост, видимый на глаз, в виде мелких росинчатых колоний, стал появляться на поверхности МПА после 6 – часового культивирования, а на МПБ – в виде легкого помутнения среды.

Культуральные свойства выделенных штаммов *P. multocida* характеризовались тем, что штаммы, выделенные от переболевших, начиная от 4 до 6 месяцев после переболевания и павших животных, на МПА образовывали сухой беловато-серый налет, прочно как бы вставшего в агар. В бульоне рост характеризовался в виде умеренного равномерного помутнения среды с образованием слизистого осадка на дне пробирки, который при встряхивании поднимался облачком и расходился, создавая помутнение. Через некоторое время среда опять немного светлела, хотя полного просветления не наступало.

Культуры пастерелл, выделенные от здоровых животных – носителей, на поверхности агара образовывали гладкие колонии с синеватым оттенком, которые после 24 – часового культивирования они сливались. При росте на бульоне наблюдали равномерное помутнение среды с образованием слизистого осадка.

На среде Симмонса первичный рост появлялся после 24 – часового культивирования с изменением среды в ярко-синий цвет.

Все выделенные культуры сбраживали глюкозу, сахарозу, сорбит, маннит, но не ферментировали мальтозу. Они образовали индол, но не образовывали сероводород.

Оставление без внимания вирулентные свойства выделенных культур пастерелл из материалов, подвергнутых исследованию, может привести к ошибочному проведению противопастереллезных мероприятий, так как вирулентность пастерелл, в зависимости от объекта выделения может быть различна: от высоковирулентных до слабовирулентных.

При этом было установлено, что штаммы пастерелл, выделенные из биоматериала павших животных и переболевших со сроком после переболевания до 6 месяцев, вызывали гибель зараженных животных в 100% случаев через 24, 48 и 72 часа после заражения.

Для определения вирулентности выделенных культур от синантропных птиц и здоровых животных, находящихся в ранее оздоровленных от пастереллеза хозяйствах 24 – часовую культуру белым мышам вводили в дозе по 0,3 мл подкожно, а голубям – по 1,0 мл внутримышечно.

Белые мыши погибали через 16-30 часов, голуби – через 48-72 часа после заражения, причем из трупов, зараженных лабораторных животных, каждый раз выделяли чистую культуру пастерелл.

Резюмируя полученные экспериментальные данные, можно отметить, что все выделенные культуры пастерелл ферментировали глюкозу сахарозу, сорбит и маннит, на основании этого указанный показатель можно считать видовым признаком.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что важной особенностью выделенных культур *P. multocida* явилось то, что при культивировании их на среде 199 уже после часового культивирования посевов при 37°C, при наличии в исследуемом материале пастерелл, на поверхности среды появляется серовато-белое пристеночное кольцо. При микрокопировании окрашенных мазков из содержимого кольца обнаруживается чистая культура пастерелл. Сказанное дает основание считать, что в дальнейшем использовать этот тест как экспресс – метод для индикации пастерелл в лабораторно-производственных условиях.

Библиографический список:

1. Гайнутдинов, Т.Р. Использование питательной среды 199 для транспортировки контаминированного возбудителем пастереллеза биоматериала

- /Т.Р.Гайнутдинов //Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2018. - Том 235 (III). – С. 25-29.
2. Гайнутдинов, Т.Р. Пастереллез у телят, течения и эффективность лечения больных /Т.Р.Гайнутдинов, М.В.Харитонов //Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2006. - Том 189. – С. 33-42.
 3. Гайнутдинов, Т.Р. Терапевтическая эффективность различных методов лечения телят больных пастереллезом /Т.Р.Гайнутдинов, М.В.Харитонов //Ветеринарный врач. – Казань, 2007. - № 3. – С. 254-256.
 4. Муллакаев, О.Т. Пастереллез животных проблемы, пути их решения: учебное-производственное пособие /О.Т.Муллакаев, Т.Р.Гайнутдинов, И.И.Идиятов, М.В.Харитонов. – Казань, 2013. – 103с.
 5. Русалев, В.С. Пастереллезы животных /В.С.Русалев //Промышленное и племенное свиноводство. - № 2, 2006. – С. 41 – 42.
 6. Урбан, В.П. Болезни молодняка в промышленном животноводстве /В.П. Урбан, И.Л. Найманов; – М., «Колос», 1984.

METHOD FOR EARLY DIAGNOSIS OF PASTEURELLOSIS IN CATTLE

***Gaynutdinov T.R.; Nizamov R.N., Idrisov M.A.,
Vagin K.N., Nizamov R. N.***

Key words: *Pasteurellosis, diagnostics, bacteriology, culture media, medium 199.*

The work is devoted to finding improved methods of diagnosis of pasteurellosis of cattle tested culture media, including medium 199 with bacteriological method of separation of Pasteurella. The authors found that after hour-long cultivation of pasteurell on medium 199 there is a growth of culture, microscopy reveals a pure culture of pasteurell, pathogenic for laboratory animals.