

Key words: *human factors, toxic load, cytogenetic homeostasis, bio-indication.*

*An assessment of the state of *Rana ridibunda* Pall. in populations exposed to anthropogenic impact of varying intensity. Condition individuals in populations assessed using cytogenetic (micronucleus test) method. In populations exposed to anthropogenic factors found in violation of cytogenetic homeostasis, indicating a change of state of the organism.*

УДК 619:616

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *V.BRONCHISEPTICA*

*Семанин А.Г., Скорик А.С., Суркова Е.И., Пирюшова А.Н., студенты 4 курса факультета ветеринарной медицины
Научный руководитель – Васильева Ю.Б., кандидат ветеринарных наук, доцент
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

Ключевые слова: *бордетеллёз, диагностика, детекция возбудителя, инфекции кошек и собак, домашние животные*

Аннотация. *В работе приводятся результаты изучения чувствительности тест-системы индикации и идентификации бактерий *V.bronchiseptica* (ТСИИ ББР). ТСИИ ББР включает бактериологический, иммунологический, молекулярно-генетический и фаговый компоненты, обеспечивает раннюю и точную диагностику бордетеллёза. Аналитическая чувствительность бактериологического и иммунологического компонентов тест-системы составляет не менее 10^4 м.к. в мл, молекулярно-генетического и фагового - не менее 10^3 м.к. в мл. Срок проведения лабораторной диагностики составляет от 1 до 4 суток.*

Несмотря на то, что микроорганизм *V.bronchiseptica* был открыт в начале XX века многие вопросы, связанные с патогенностью, метода-

ми индикации и идентификации возбудителя остаются недостаточно изученными. Опасность усугубляется чрезвычайной распространённостью возбудителя в природе. Фактически все теплокровные животные являются носителями или восприимчивы к инфицированию бронхисептикозными бактериями. В литературе описано более 100 случаев инфицирования людей. Анамнестические данные показывают, что во многих случаях наблюдался предварительный контакт зараженных людей с больными собаками, кроликами, свиньями, кошками [1-23].

Возможность передачи возбудителя от сельскохозяйственных и домашних животных людям и перемещения очага из природных в антропоургические зоны имеет крайне важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение [1-23].

С 90-х годов прошлого века во многих странах мира ежегодно регистрируют массовые вспышки бордетеллёза животных. Установить точный уровень распространения инфекции достаточно сложно, так как чаще массово болеют и являются носителями уличные животные [1-23].

Ареал распространения бактерий данного вида, по-видимому, повсеместен. Однако строгий учет вспышек инфекции среди животных ведется только в странах Западной Европы и США [24-25].

В России отсутствуют официальные статистические данные по распространению бордетеллёза животных и бронхосептикоза людей. Незвестность истинной заболеваемости обусловлена недооценкой патогенности возбудителя и отсутствием эффективных мер его детекции [24-25].

Работа проводилась на базе научно-исследовательского центра микробиологии и биотехнологии кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ. Для работы использовали тест-систему индикации и идентификации бактерий вида *B. bronchiseptica*, разработанную сотрудниками кафедры.

Компоненты тест-системы мы апробировали на искусственно контаминированных мазках из носоглотки животных. Для искусственной контаминации проб использовали суточные культуры *B. bronchiseptica* в концентрации от 10^9 до 10^2 м.к./мл. Исходная концентрация культуры была определена по стандарту мутности. Последовательные разведения высевали на селективный агар для учета бактериологического компонента. Далее проводили реакцию агглютинации на стекле (иммунологический компонент). Для проверки молекулярно-генетического компонента ставили ПЦР в мультиплексном формате с детекцией в электрофорезе и ПЦР в режиме «реального времени». Фаговый компонент тестировали в РНФ и СПОТ-тесте.

Таблица 1 – Чувствительность компонентов ТСИИ ББР при исследовании искусственно контаминированных культурой *V.bronchiseptica* проб

№	Количество м.к./мл	Результаты детекции <i>V.bronchiseptica</i> компонентами ТСИИ ББР			
		Бактериологический (селективный агар)	Иммунологический (РА на стекле)	Молекулярно-генетический (ПЦР)	Фаговый (РНФ)
1	10 ⁹	сплошной рост	+	+	+
2	10 ⁸	сплошной рост	+	+	+
3	10 ⁷	сплошной рост	+	+	+
4	10 ⁶	Тесно расположенные колонии	+	+	+
5	10 ⁵	Тесно расположенные колонии	+	+	+
6	10 ⁴	Изолированные колонии	+	+	+
7	10 ³	Отсутствие видимого роста	-	+	+
8	10 ²	Отсутствие видимого роста	-	±	-

Результаты исследований чувствительности компонентов тест-системы приведены в таблице 1.

Оценка аналитической чувствительности компонентарно-генетического и фагового компонентов с выявлением бактерий в концентрациях 10³ м.к./мл и выше и допустимый диагностический уровень бактериологического и иммунологического компонентов – 10⁴ м.к./мл и выше.

Библиографический список:

1. Бордетеллэз животных: характеристика заболевания и возбудителя, разработка методов диагностики / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Е.Н. Семанина, О.Ю. Борисова, С.Н. Золотухин, И.Г. Швиденко // Монография. - Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. – 2014. – 206 с.

2. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 233-235.

3. Васильев, Д.А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Bordetella bronchiseptica*, выделенных методом индукции / Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, С.Н. Золотухин, Ю.Б. Васильева [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - №1 (13). - С. 59–62.

4. Васильев, Д.А. Индикация *Bordetella bronchiseptica* из объектов внешней среды и клинических образцов / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин // Материалы V-й Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути решения». – Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина. - 2013. - Т.II. – С. 18-22.

5. Васильев, Д.А. Применение полимеразной цепной реакции при идентификации возбудителя бордетеллеза животных / Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 230-232.

6. Васильев, Д.А. Разработка методов выделения и селекции бактериофагов *Bordetella bronchiseptica* / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Е.Н. Семанина // Материалы Международной научно-практической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». - Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. – 2013. - Т.І. – С. 28-32.

7. Васильев, Д.А. Технология конструирования диагностического биопрепарата на основе бактериофагов *Bordetella bronchiseptica* и перспективы его применения / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Е.Н. Семанина // Материалы Международной научно-практической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». - Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. - 2013. - Т.ІІ. – С. 99-104.

8. Васильева, Ю.Б. Изучение чувствительности и диагностической эффективности тест-системы индикации и идентификации бактерий *B. bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, Р.Р. Бадаев, С.В. Мерчина, И.Г. Швиденко, А.С. Скорик // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/119-14770>.

9. Васильева, Ю.Б. Биотехнологический подход в разработке метода идентификации *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин // Материалы V-й Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути решения». – Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. - 2013. - Т.ІІ. – С. 15-18.

10. Васильева, Ю.Б. Конструирование биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетеллёзной инфекции / Ю.Б. Васильева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). - С. 25-29.

11. Васильева, Ю.Б. Новая тест-система идентификации возбудителя бордетеллёза – *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – Ч.2. – С. 334-338.

12. Васильева, Ю.Б. Основы подбора компонентов питательных сред для первичного выделения *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, А.Г. Семанин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. № 1 (25). С. 85-92.

13. Васильева, Ю.Б. Особенности биологии бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4. – С. 285. - URL: <http://www.science-education.ru/110-9927>.

14. Васильева, Ю.Б. Разработка методов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №3 (23). С. 46-51.

15. Васильева, Ю.Б. Разработка методов фагодиагностики бордетеллёза / Ю.Б. Васильева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С.51-56.

16. Васильева, Ю.Б. Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики бордетеллёза / Ю.Б. Васильева // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4. – С. 275. - URL: <http://www.science-education.ru/110-9751>.

17. Васильева, Ю.Б. Фаги бактерий *Bordetella bronchiseptica*: свойства и возможности применения / Васильева Ю.Б. / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 4 (24). С. 44-49.

18. Васильева, Ю.Б. Эффективность иммунохимических методов для анализа антигенного состава *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – Ч.1. – С. 100-104.

19. Мاستиленко, А.В. Разработка системы дифференциации *B. bronchiseptica* и *B. pertussis* на основе мультиплексной ПЦР в режиме «Реального времени» / А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, О.Ю. Борисова, Ю.Б. Васильева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 50-54.

20. Нафеев, А.А. Вопросы эпидемиолого-эпизоотологического надзора за зоонозными инфекциями / А.А. Нафеев, Н.И. Пелевина, Ю.Б. Васильева // Дезинфекционное дело. - 2014. - № 1. - С. 39-43.

21. Никульшина, Ю.Б. Культивирование *Bordetella bronchiseptica* на различных селективных средах / Ю.Б. Никульшина, Д.Г. Сверкалова, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Н. Хлынов // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования». – Ульяновск: УГСХА. - Т. IV. - 2008. – С. 57-59.

22. Никульшина, Ю.Б. Разработка методов индикации и идентификации *Bordetella bronchiseptica*, выделенных от домашних животных / Ю.Б. Никульшина, Д.Г. Сверкалова, Е.Н. Никулина // Ветеринарная патология. - 2007. - №4. (23). — С. 103-106.

23. Райчинец, Ю.А. Методика выделения *Paenibacillus larvae* / Ю.А. Райчинец, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, Р.Р. Бадаев, Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, С.В. Мерчина, И.Г. Швиденко // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/119-14787>

24. Сверкалова, Д.Г. Создание транспортной и накопительной сред для *Bordetella bronchiseptica* // Д.Г. Сверкалова, А.В. Мастиленко, Д.Н. Хлынов, Ю.Б. Никульшина, Д.А. Васильев / Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования». – Ульяновск: УГСХА. - Т. IV. - 2008. – С. 134-136.

25. Vasylyeva, Yu.B. Identification of *Bordetella bronchiseptica* bacteria with the help of polymerase chain reaction in monoand multyplex format / Yu.B. Vasylyeva / Вестник Орловского государственного аграрного университета. - 2013. - Т. 45. - № 6. - С. 81-85.

26. Vasylyeva, Yu.B. Selection of the complex of microbiological tests for *Bordetella bronchiseptica* typing / Yu.B. Vasylyeva / Вестник Орловского государственного аграрного университета. - 2013. - Т. 43. - № 4. - С. 44-46.

STUDY OF THE SENSITIVITY OF THE TEST SYSTEM OF INDICATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA *B.BRONCHISEPTICA*

Samanin A.G., Skorik A.S., Surkov H., Prusova A.N.

Keywords: *Bordetella, diagnosis, detection of the pathogen, infection of cats and dogs, Pets allowed*

*The paper presents results of a study of the sensitivity of the test system of indication and identification of bacteria *B.bronchiseptica* (TSII BBR). TSII BBR includes bacteriological, immunological, molecular genetics and phage components, provides early and accurate diagnosis of *Bordetella*. The analytical sensitivity of bacteriological and immunological components of the test system is not less than 104 M.K. in ml, molecular genetics and phage - not less than 103 M.K. in ml. Term laboratory diagnosis is from 1 to 4 days.*