

**PATHOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF SKIN CANCER IN RATS**

Skorik A.S., Surkov E.I.

Key words: *tumor, chancroid, epithelial tissue, rodents, rats, cancer.*

The article describes the clinical and morphological research of tumors in rats.

When pathomorphological studies found that the tumor is malignant in nature and is squamous non- squamous with transition in chancroid.

УДК 619:616

**АКТУАЛЬНОСТЬ РАЗРАБОТКИ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО
НАБОРА «БРОНХО-ТЕСТ»**

*Скорик А.С., Суркова Е.И., Семанин А.Г., 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: *бордетеллез, подбор компонентов, диагностический набор, диагностика.*

*Работа посвящена оценке роста бактерий *B.bronchiseptica* на различных питательных средах с целью подбора компонентов для диагностического набора «БРОНХО-ТЕСТ».*

Предложенные в настоящее время методы лабораторной диагностики бордетеллёза имеют ряд существенных недостатков:

- диагностическая эффективность бактериологического метода редко превышает 40%, а длительность анализа занимает до 8 суток.
- питательные среды существующие на сегодняшний день пригодны только для первичного выделения возбудителя с последующей

многоэтапной дифференциацией по биохимическим свойствам.

- выпускаемые зарубежными производителями коммерческие среды и селективные добавки достаточно дороги и не находят широкого применения в лабораториях нашей страны.

Низкая высеваемость возбудителя бордетелллёза также связана со слабой устойчивостью бордетелл во внешней среде, медленным ростом возбудителя, несвоевременным и неполным обследованием животных с затяжным кашлем, нарушением правил забора и транспортировки материала, несовершенной рецептурой питательных сред, в частности неудовлетворительным выбором селективных компонентов [1-22].

Целью исследования явилось изучение роста бактерий вида *B.bronchiseptica* на различных питательных для подбора необходимых компонентов диагностического набора «БРОНХО-тест».

Набор «БРОНХО-тест» необходим для забора материала и лабораторной диагностики бордетелллёза в лабораторных и полевых условиях. С помощью данного набора, сроки поставки диагноза на бордетелллёз (бронхосептикоз) должны сократиться с 6-8-ми до 2-4 дней.

Мы изучили показатели роста бактерий *B.bronchiseptica* на коммерческих агаровых питательных средах. Для этого готовили микробные взвеси эталонных штаммов *B.bronchiseptica*, содержащие 10 м.к./мл (по стандарту мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича). Из исходных взвесей готовили нисходящие десятикратные разведения, для посевов использовали концентрацию 10^4 м.к./мл. По 0,1 мл взвеси каждого штамма рассеивали шпателем по поверхности чашек с плотными средами (по 3 чашки каждой среды на один штамм). Изучение колоний производили при визуальном осмотре и при микроскопии с увеличением 6X.

Результаты оценки ростовых свойств бордетелл представлены в таблице 1.

Анализ лабораторных штаммов *B.bronchiseptica* показал, что оптимальная температура культивирования составляет $36 \pm 1^\circ\text{C}$, при pH $7,0 \pm 2$ в аэробных условиях. Штаммы *B.bronchiseptica* хорошо культивируются на обычных агаровых средах, обильнее - на средах обогащенных питательными веществами, витаминами, ферментами и микроэлементами, также растут на большинстве селективных сред, не предназначенных для их культивирования и содержащих ингибиторы роста и другие агрессивные вещества. Ингибирование роста бордетелл регистрировали на мясопептонном агаре с 0,03% цетримидом и стафилококкагаре. Через 16 часов микроскопией регистрировали колонии *B.bronchiseptica* на всех средах, кроме МПА с цитримидом и стафилококкагаре. Через 24 ч колонии диаметром до 1 мм определялись при визуальном осмо-

тре. Через 48 часов колонии на вышеуказанных средах достигали диаметра $1,0-3,0 \pm 0,5$ мм, соответственно. При более длительном культивировании колонии значительно увеличивались в размере до $5,6 \pm 7,7$ мм. Количество выросших на указанных средах колоний достоверно не отличалось. На всех средах колонии имели характерный вид: мелкие, полупрозрачные, выпуклые, гладкие, блестящие, с ровными краями и характерную маслянистую консистенцию.

Таблица 1 - Культуральные свойства лабораторных штаммов бактерий *B.bronchiseptica*

Рост на агаре через 48 ч:	Результат		
	диаметр	морфотип	реакция среды
агар Симмонса	$1,0 \pm 0,5$	S	С зеленого на синий
Ацетатный агар	$2,0 \pm 0,5$	S	С оливкового на васильковый
bacto PPLO агар	$2,5 \pm 0,5$	S, R, SR	-
Бордетелагар	$1,5 \pm 0,5$	S	-
ГРМ – агар	$1,0 \pm 0,5$	S, R, SR	-
Дифтерийная среда	$3,0 \pm 0,5$	S, R, SR	-
кровяной агар 10%	$2,5 \pm 0,5$	S	Слабый β-гемолиз
Казеиново-угольный агар	$2,0 \pm 0,5$	S	Отсутствует
Менингоагар	$3,0 \pm 0,5$	S	Отсутствует
мясо-пептонный агар	$2,5 \pm 1,0$	S, R, SR	Отсутствует
МПА с цетримидом	-	-	Отсутствует
среда Пизу	$2,5 \pm 0,5$	S, R, SR	Вокруг колоний коричневая
среда Сабуро	$2,0 \pm 0,5$	S, R, SR	С зеленого на синий, запах аммиака
среда для иерсиний и псевдотуберкулеза	$2,0 \pm 0,5$	S	Отсутствует
Стафилококкагар	-	-	Отсутствует
триптиказо-соевый агар	$2,0 \pm 0,5$	S, R, SR	Отсутствует
среда Эндо	$1,0 \pm 0,5$	S, R	С зеленого на синий
среда Борде-Жангу	$2,5 \pm 0,5$	S	слабый β-гемолиз

На ацетатном агаре наблюдал изменение цвета среды в зоне роста колоний с оливково-зеленого на васильковый, что свидетельствовало о способности штаммов *B.bronchiseptica* утилизировать ацетат натрия. На питательной среде Пизу в зоне роста бактерий выделялся коричне-

вый пигмент, показывающий наличие фермента цистиназы. Среда для иерсиний и псевдотуберкулеза изменила цвет с зеленого на синий. При открытии чашки ощущался запах аммиака, свидетельствующий о наличии фермента уреазы. На среде Симмонса также отмечали цветовую реакцию. Преимуществом данных сред является возможность оценки ферментативной активности исследуемых патогенов. Тогда как специализированные для выращивания бордетелл среды (КУА, бордетелагар) имеют черный цвет и не позволяют учитывать реакцию среды. Среды пригодны только для первичного выделения возбудителя с последующей многоэтапной дифференциацией по биологическим свойствам.

Анализ роста бактерий *B.bronchiseptica* на агаровых средах показал, что для совершенствования диагностических процедур необходима разработка диагностического набора «БРОНХО-тест». Набор должен включать питательные среды, выявляющие уникальные ферментативные и культуральные свойства бактерий, в сочетании с применением селективных добавок, обеспечивающих рост штаммов *B.bronchiseptica*, даже при наличии единичных клеток в пробе при подавлении сопутствующей носоглоточной микрофлоры.

Библиографический список:

1. Бордетеллёз 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. Мастыленко, 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.П. – С. 18-22.

5. Васильев, Д.А. Применение полимеразной цепной реакции при идентификации возбудителя бордетеллезы 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. Мастыленко, 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 бордетеллезной инфекции / Ю.Б. Васильева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С. 25-29.

11. Васильева, Ю.Б. Новая тест-система идентификации возбудителя бордетеллезы – *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. Васи-

льева, 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. Мастиленко, А.В. Разработка системы дифференциации *B. bronchiseptica* и *B. pertussis* на основе мультиплексной ПЦР в режиме «Реального времени» / А.В. Мастиленко, 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 эпизоотолого-эпидемиологического 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. Мастиленко, 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. Мاستиленко, 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 mono and multiplex 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.

THE URGENCY OF DEVELOPING A DIAGNOSTIC KIT “BRONCHO-TEST”

*Skorik A., Surkova E., Semanin A.G., Pirushova A.
FSBEI HPE “Ulyanovsk state agricultural Academy named after
P.A. Stolypin”*

Keywords: *Bordetella*, selection of components, diagnostic kit, diagnostic.

Abstract. *The work is devoted to the estimation of bacterial growth B.bronchiseptica on different nutrient media with the aim of selecting components for a diagnostic kit “BRONCHO-TEST”.*