

Work is devoted to the study of ticks in Barnaul. Ticks pose a serious threat as carriers and keepers of many viral, bacterial, fungal and parasitic diseases of animals and humans. The basic members of the family Ixodidae.

УДК 619:616

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *V. BRONCHISEPTICA*

*Суркова Е.И., Пирюшова А.Н., Семанин А.Г., Скорик А.С., 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: *бактерии вида *V.bronchiseptica*, тест-система, бактериологический метод, иммунологический анализ, молекулярно-генетическая диагностика, фаги.*

Аннотация. *В работе приводятся результаты изучения диагностической эффективности тест-системы индикации и идентификации бактерий *V.bronchiseptica* (ТСИИ ББР).*

Согласно традиционной схемы для учета штаммов *V.bronchiseptica* используют бактериологический метод с иммунологическим подтверждением в реакции агглютинации. Данные методы имеют ряд существенных недостатков. Бактериологическая детекция занимает неделю, при этом её эффективность редко превышает 20-40%. Долгосрочность исследований и низкая высеваемость возбудителя связаны со слабой устойчивостью бордетелл во внешней среде, их медленным ростом, несвоевременным и неполным обследованием животных и людей с затяжным кашлем, нарушением правил забора и транспортировки материала, несовершенной рецептурой питательных сред, в частности неудовлетворительным выбором селективных компонентов [1-23].

Серологическая диагностика не является высокоспецифичной, даёт нарастание титров антител в поздние сроки заболевания, неинформативна для молодняка первого года жизни [6, 7].

Следовательно, бактериологические методы недостаточно чувствительны, а серологические – слабо специфичны. В клинической практике неэффективность и длительность диагностики инфекции отражается в том, что большинство заболевших не может своевременно пройти курс антибактериальной терапии, которая эффективна только в начальный период [5,9].

Новые возможности детекции бордетелл появились в последние годы в связи с внедрением современных методов: полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа, фагодиагностики [1-25].

Многие исследователи отмечают перспективность использования молекулярно-генетических методов, которые позволяют провести раннюю и более точную детекцию возбудителя, по сравнению с фенотипическими методами [23]. Однако в настоящее время широкое применение ПЦР для идентификации *B.bronchiseptica* ограничено в связи с отсутствием стандартизированных праймерных систем, позволяющих проводить точную внутривидовую диагностику. В связи с этим, перспективным направлением является разработка методических приемов постановки ПЦР в моно- и мультиплексном формате, а также ПЦР с регистрацией в режиме «реального времени» для идентификации бактерий *B.bronchiseptica* [4, 7, 9, 12, 13, 15, 22].

На сегодняшний день выделено и охарактеризовано более 10 фагов бактерий *B.bronchiseptica*. Однако их практическое применение не описано, несмотря на то, что фагодиагностика позволяет быстро и точно провести индикацию и идентификацию искомым бактерий при минимальных затратах [6-8, 16, 18, 19].

Для медицинской практики важна внутривидовая дифференцировка *B.bronchiseptica*, *B.pertussis* и *B.parapertussis* [22].

Таким образом, на сегодняшний день крайне актуальными остаются совершенствование классических и разработка современных методов детекции бактерий вида *B.bronchiseptica*, обладающих высокой чувствительностью, специфичностью и экономической эффективностью [1-23].

В связи с этим целью наших исследований явился анализ диагностической эффективности тест-системы индикации и идентификации *B.bronchiseptica* (ТСИИ ББР), включающей бактериологический, иммунологический, молекулярно-генетический и фаговый компоненты.

Мы провели оценку диагностической эффективности компонентов ТСИИ ББР на клиническом биоматериале.

Материал отбирали от подозреваемых в заражении животных. Мазки со слизистой носоглотки брали сухим стерильным назофарингеальным тампоном на пластиковом аппликаторе.

Оценивали диагностическую эффективность компонентов в зависимости от сроков заболевания, наличия или отсутствия антибиотикотерапии (таблица 1).

Таблица 1 – Эффективность компонентов ТСИИ ББР

Компоненты ТСИИ ББР	1-2 неделя от начала заболевания		3-4 недели от начала заболевания		Более 4 недель
	Без лечения АБ	на фоне АБ	без лечения АБ	на фоне АБ	без лечения или с ним
Б	+	±	+	-	-
И	+	+	+	-	-
М-Г	+	±	+	+	+
Ф	+	±	+	-	-

Примечание. Компоненты тест-системы: Б – бактериологический, И – иммунологический, М-Г – молекулярно-генетический, Ф - фаговый

Результаты исследований показали, что бактериологический, иммунологический, фаговый компоненты следует использовать на ранних сроках заболевания (не позднее третьей недели), до начала терапии антибактериальными препаратами. В более поздние сроки и на фоне антибиотикотерапии высеваемость резко снижается.

Обследование методом ПЦР нередко оказывается эффективнее бактериологического метода в более поздние сроки заболевания и на фоне лечения антибиотиками, однако максимальная эффективность метода приходится на ранние сроки (1 - 3 недели от начала заболевания), прием антибиотиков может привести к ложноотрицательному результату анализа.

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. Мاستиленко, 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.II. – 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. II. – 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 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.

EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC EFFICACY OF THE COMPONENTS OF THE TEST SYSTEM OF INDICATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA *B. BRONCHISEPTICA*

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

Key words: *bacteria species B.bronchiseptica, the test system, bacteriological method of immunological analysis, molecular diagnostics, the phages.*

The paper presents results of a study of diagnostic efficacy of the test system of indication and identification of bacteria B.bronchiseptica (TSII BBR).