

МІКРОБІОЛОГІЯ ТА ВІРУСОЛОГІЯ

УДК 636.5/6:616-022.7

doi: 10.36359/scivp.2019-20-2.21

ПЕРСПЕКТИВА ВИКОРИСТАННЯ ФАГІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ПТИЦІ

*І. К. Авдос'єва¹, канд. вет. наук,
В. В. Регенчук¹, завідувач сектору,
В. І. Дмитроца², лікар ветеринарної медицини*

¹Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

²Консультант «Протеон Фармацеутикалс»

вул. Тильна 3А, м. Лодзь, 90-364, Польща

*У статті наведені результати бактеріологічного моніторингу матеріалу від різновікових груп птиці яєчних та м'ясних кросів із 11 птахогосподарств на наявність збудників бактеріальних інфекцій в період 2016-2018 рр. Найвищий відсоток ізольованих культур впродовж останніх трьох років становили: *E.coli* - 72,83,78 та *Salmonella* spp. - 17, 8, 12, відповідно. Встановлено, що ізольовані польові штами сальмонел від птиці при титризації зі специфічними сальмонельозними сироватками віднесені до *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. Бактеріофаг БАФАСАЛЬ, виробництва «Протеон Фармацеутикалс», Польща, що містить композицію специфічних фагів *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium*. викликав лізис 97,8 % культур сальмонел.*

Ключові слова: ПТИЦЯ, БАКТЕРІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИКИ, ЛІЗИС, БАКТЕРІОФАГ.

Сальмонельоз птахів продовжує залишатися гострою проблемою для ветеринарної та гуманної медицини. За висновком експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я сальмонельоз, як зоонозна інфекція, не має собі рівних за складністю епізоотології, епідеміології та труднощів боротьби з нею. Розвиток птахівничої промисловості неминуче супроводжується концентрацією поголів'я птиці і збільшенням захворюваності на інфекційні хвороби, в тому числі і на сальмонельоз. Сальмонельоз птахів завдає значних економічних збитків, які складаються із зниження несучості курей, кількості запліднених яєць, високої летальності ембріонів, втрати приростів молодняку, значних витрат на діагностичні та лікувально-профілактичні заходи. Відомо, що основними збудниками сальмонельозу птахів є *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. Однак, спектр збудників в різних господарствах може змінюватися. Переважання тих чи інших штамів визначається різними шляхами занесення інфекції, наприклад з кормом.

В останні роки стався серйозний дрейф у бік розвитку у польових штамів сальмонел множинної резистентності до антибіотиків. Проте, застосування антибіотиків не дозволяє позбавити птицю від сальмонелозності, а запобігає лише масовому клінічному прояву

захворювання. Крім нанесення шкоди птахівничій галузі, сальмонельоз має велику соціальну значимість - збільшується епідеміологічна роль таких продуктів харчування, як м'ясо курей і яйця. Широке поширення серед людей і тварин, відсутність тенденції до зниження захворюваності в більшості країн світу, збільшення інфікованості сальмонелами різних об'єктів середовища показує необхідність пошуку нових ефективних заходів боротьби із захворюванням. Таким чином, ситуація по сальмонельозу в даний час не може вважатися благополучною, що робить необхідним застосування в практиці ветеринарії та охорони здоров'я ефективних заходів боротьби із захворюванням. Профілактика та боротьба з цією інфекцією у птиці в промисловому птахівництві зводяться до проведення організаційних і ветеринарно-санітарних заходів, виявлення бактеріологічними або серологічними методами зараженої птиці і її ліквідації, застосування антибіотиків і інших хіміокотерапевтичних препаратів. Однак, ефективність цих заходів не забезпечує благополуччя птахівничих господарств з сальмонельозу. На думку комітету експертів ВООЗ, проблема не може бути вирішена без застосування ефективних засобів специфічної імунпрофілактики сальмонельозу курей. У різних країнах були запропоновані живі, інактивовані та хімічні вакцини проти сальмонельозу курей, однак тільки їх застосування не вирішувало проблеми захисту курчат перших днів життя і санацію птахопоголів'я від бактеріоносійства. Саме з цієї причини останнім часом зростає інтерес до фагів - препаратів, які мають лікувальний ефект і забезпечують санування птахопоголів'я від бактеріоносійства.

Необхідно зазначити, що повернення препаратів на основі активних бактеріофагів у практику ветеринарної медицини для боротьби із сальмонельозом птахів є перспективним напрямком протиепізоотичної роботи, особливо в умовах антибіотикорезистентності збудника та обмеженню і забороні щодо застосування їх для профілактики і лікування хвороб у птахівництві.

Сучасна ситуація зниження ефективності антибіотикотерапії дуже складна внаслідок підвищення стійкості патогенних і умовно-патогенних бактерій до антибактеріальних препаратів. Хороші перспективи в якості антимікробної терапії мають бактеріофаги, які ефективні як чутливих, так і резистентних до антибіотиків бактерій.

Бактеріофаги мають ряд переваг: специфічність дії, відсутність пригнічення нормальної мікрофлори і алергічної реакції, стимуляція факторів специфічного та неспецифічного імунітету, застосування бактеріофагів разом з антибіотиками та імунпрепаратами. Крім того, вагомим аргументом щодо користі доцільності клінічного застосування бактеріофагів є практично повна відсутність побічних ефектів, а отже, і протипоказів.

Фаги – це бактеріальні віруси, які здатні проявляти бактеріоцидну дію лише на певний вид бактерій. Це означає, що птиця захищена від бактерій *Salmonella*, при чому природня мікрофлора кишківника не руйнується, як це відбувається при використанні антибіотиків. Крім цього, застосування бактеріофагів не призводить до появи резистентних штамів сальмонел. У порівнянні з вакцинами, бактеріофагам властивий інший механізм дії, який не залежить від імунної системи тварини.

Метою нашої роботи було проведення бактеріологічного моніторингу патматеріалу від різновікових яєчних та м'ясних кросів, проведення типізації ізольованих сальмонел та визначення лізису виділених штамів сальмонел до БАФАСАЛЬ, що містить композицію специфічних фагів *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium*.

Матеріал і методи. Матеріал від різновікових груп птиці яєчних та м'ясних кросів; прості та селективні живильні середовища; антигенну структуру сальмонел визначали в РА на склі із сироватками сальмонельозними О-комплексними і монорецепторними О- і Н-аглютинуючими, бактеріофаг БАФАСАЛЬ, виробництва компанії «Протеон Фармацевтікалс», Польща.

Результати й обговорення. Результати бактеріологічних досліджень трупів птиці різного віку яєчного та м'ясного напрямків із 11 птахогосподарств впродовж 2016-2018 рр. наведені на рисунках 1-3.

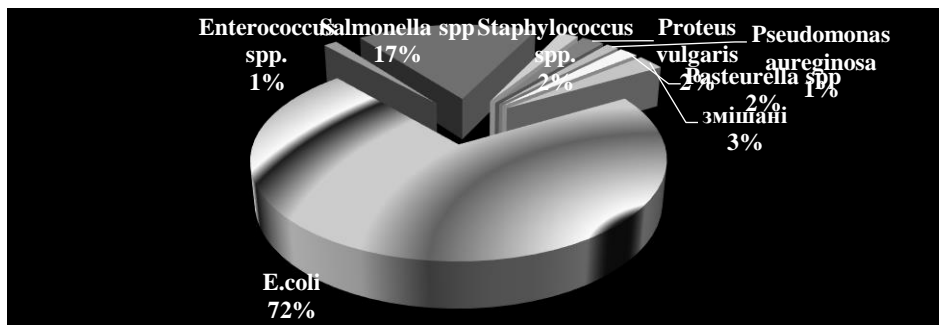


Рис. 1. Співвідношення різних штамів мікроорганізмів ізолюваних із патматеріалу птиці, % ,2016 р.

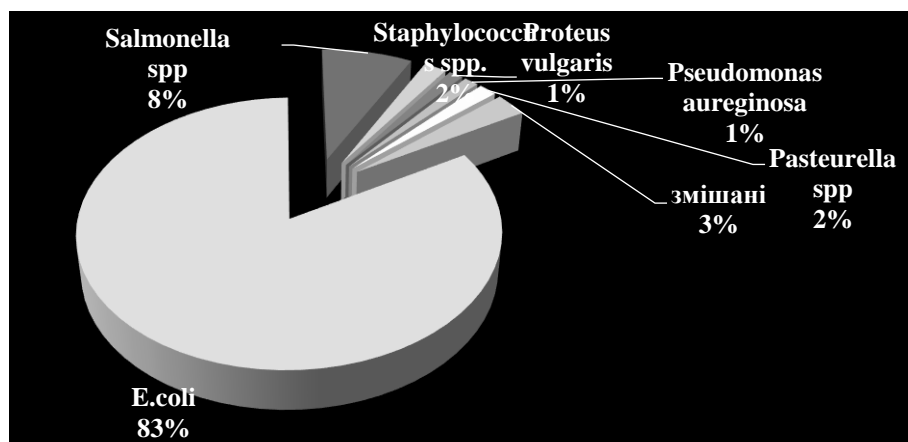


Рис. 2. Співвідношення різних штамів мікроорганізмів ізолюваних із патматеріалу птиці, % , 2017 р.

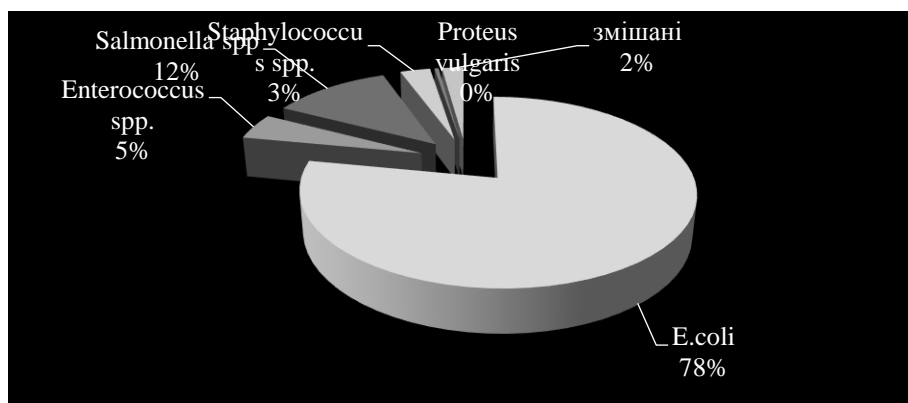


Рис. 3. Співвідношення різних штамів мікроорганізмів ізолюваних із патматеріалу птиці, % ,2018 р.

При дослідженні матеріалу впродовж 2016-2018 рр., виділені штами культур становили : *E. coli* –72, 83, 78 %; *Salmonella spp.* - 17, 8, 12 %, відповідно (рис. 4).

Ізолювані польові штами сальмонел від птиці типізували зі специфічними сальмонельозними сироватками та визначали чутливість до бактеріофагу, що містив композицію специфічних фагів *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium*.

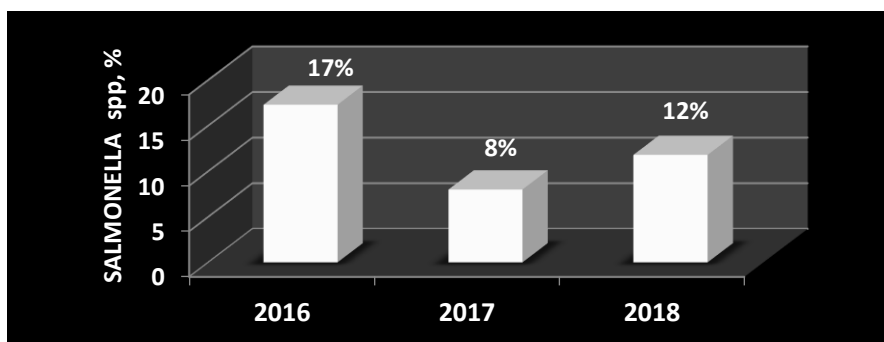


Рис. 4. Ізоляція сальмонел із патологічного матеріалу птиці,% (2016-2018 рр.)

Так, перед використанням бактеріофагу визначали чутливість (лізис) польових штамів сальмонел до фагу за такою методикою.

При виконанні досліджень у лабораторії повинні бути дотримані такі умови:

Бокс

Температура повітря $(20 \pm 5)^{\circ}\text{C}$

Атмосферний тиск $(630 - 800)$ мм рт.ст.

Вологість повітря 80 %

Підготовка до проведення досліджень

- *Готування чашок із середовищем*

Розплавлене та охолоджене за температури $(50 - 60)^{\circ}\text{C}$ середовище МПА розливають рівним шаром, товщиною 0,3 см і не більше 0,5 см по 20 см^3 у чашки Петрі, діаметром 90 мм і по 25 см^3 у чашки Петрі, діаметром 100 мм, розкладені на горизонтальній поверхні. Поверхню застиглому середовища з ледь відкритою кришкою підсушують протягом (30-40) хв за кімнатної температури. Допускається розлив агару в день проведення досліду, але з обов'язковим підсушуванням в термостаті протягом 2-3 год для видалення конденсату. Агар повинен бути прозорим без осаду. Готові чашки можна зберігати за температури 10°C не довше 7 днів; перед застосуванням їх необхідно підсушити, як вказано вище.

- *Приготування бактеріальної суспензії*

Бактеріальну суспензію готують з чистої 24-годинної культури *Salmonella spp.*, що виросла на поверхні агарового поживного середовища. Для цього (5-10) ізольованих колоній суспендують у стерильному фізіологічному середовищі і розводять до 10 ОД оптичного стандарту мутності НДІ імені Тарасевича.

- *Нанесення бактеріальної суспензії на середовище*

Після приготування бактеріальну суспензію в об'ємі (1-2) см^3 наносять на поверхню агарового середовища і рівномірно розподіляють по всій поверхні шляхом похитування чашки Петрі чи розтирають за допомогою шпателя. Потім чашку нахилиють для стікання надлишку суспензії, яку видаляють піпеткою. Чашку з баккультурою підсушують 5 хв.

- *Нанесення бактеріофага на бактеріальну культуру на середовище*

За допомогою пастерівської піпетки наносять з краю агару 1-2 краплі нерозведеного бактеріофагу, обережно чашку нахилиють у вертикальне положення і дають стікати краплі по поверхні агару з засіяною культурою. Чашку залишають на рівній поверхні при кімнатній температурі 10-15 хв і потім переносять в термостат за температури 37°C .

- *Облік результатів*

Облік результатів проводять через 4-6 год, а потім через 12-24 год неозброєним оком.

Результати досліджень оцінюють по наявності лізису (ріст відсутній).

Позитивний результат:

- Лізис досліджуваної культури на ділянці з бактеріофагом.
- Суцільний ріст культури без обробки фагом (контроль).

Від'ємний результат:

- Однаковий ріст досліджуваної культури як з бактеріофагом, так і в контролі.

При дослідженні польових штамів сальмонел на чутливість до бактеріофагу було встановлено, що він викликає лізис 97, 8% штамів *S. enteritidis* (рис. 5).

В Україні впродовж 2027-2018 рр. кормова добавка Бафасаль була застосована на поголів'ї яєчних кросів в кількості 700 тис. гол курей-несучок та бройлерах 200 тис. гол. Доведена ефективність при застосуванні у дозі 1 л на 50 тис. гол через день протягом трьох тижнів. Встановлено позитивний вплив на економічні показники у птахівництві, а саме: підвищення збереження птиці, покращення продуктивності та якості м'яса, захист від сальмонели, зменшення конверсії корму.

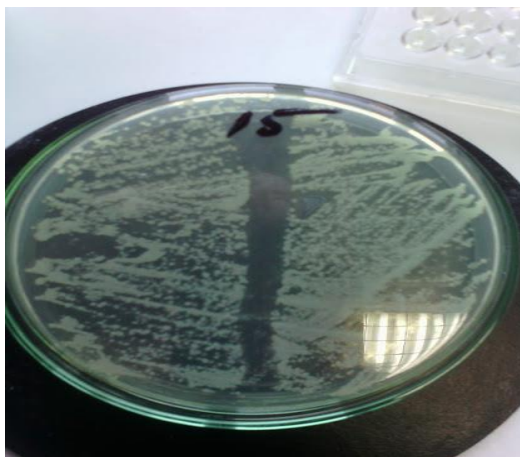


Рис. 5. Лізис сальмонели під дією бактеріофага.

При застосуванні бактеріофаг розподіляється переважно в кишечнику. При відсутності специфічних бактеріальних клітин через 20 годин бактеріофаг практично повністю виводиться з організму. При наявності в організмі чутливої до нього культури *Salmonella spp.* відбувається активний лізис бактеріальних клітин і збільшення концентрації бактеріофага, що обумовлює можливість його практичного застосування для лікування сальмонельозу птиці.

В И С Н О В К И

1. В період 2016-2018 рр. проведений бактеріологічний моніторинг матеріалу від різновікових груп птиці яєчних та м'ясних кросів із 11 птахогосподарств на наявність збудників бактеріальних інфекцій

2. При дослідженні матеріалу впродовж 2016-2018 рр. виділені штами культур становили : *E.coli* - 72, 83, 78 %, *Salmonella spp.* – 17, 8, 12 %, відповідно.

3. Встановлено, що ізольовані польові штами сальмонел від птиці при типізації з специфічними сальмонельозними сироватками віднесені до *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*.

4. Бактеріофаг БАФАСАЛЬ, виробництва компанії «Протеон Фармацевтікалс», Польща, що містить композицію специфічних фагів *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium*, викликав лізис 97,8 % культур сальмонел.

Перспективи досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на застосування фагів не тільки з питною водою, але аерозольні обробки підстилки та птиці.

THE PERSPECTIVE OF THE USE OF SUBJECTS FOR PREVENTION AND TREATMENT OF BOVINE SALMONELLOSIS

I. K. Avdosjeva¹, V. V. Regenchuk¹, V. I. Dmitrotsa²

¹State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products
and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

²Proteon Pharmaceuticals
3A, Tilna str., Lodz, 90-364, Poland

S U M M A R Y

The article presents the results of bacteriological monitoring of material from the age-old groups of eggs and meat crosses from 11 poultry farms for the presence of pathogens of bacterial infections in the period 2016-2018. The highest percentage of isolated crops during the last 3 years was: *E. coli* -72, 83.78 and *Salmonella spp.* 17,8,12 respectively. It was established that isolated field strains of salmonella from poultry with typing with specific salmonella serum from the *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. Bacteriophage BAFASAL produced by Proteon Pharmaceuticals, Poland, containing a composition of the specific phages of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. caused lysis of 97.8% of salmonella cultures.

Ukraine introduced the year 2027-2018. The feed supplement of Bafasal was used on egg crosses in 700 thousand heads of chickens and broilers 200 thousand heads. Proven effectiveness in the application of a dose of 1 liter per 50,000 head a day, for three weeks. The positive impact on the economic parameters of birds, as well as the conservation of birds, improved productivity and quality of meat, protection against salmonella, and a decrease in the number of feed programs have been established.

When applied, the bacteriophage is distributed predominantly in the intestine. In the absence of specific bacterial cells, after 20 hours, the bacteriophage is almost completely excreted from the body. In the presence of an organism susceptible to it, the culture of *Salmonella spp.* there is an active lysis of bacterial cells and an increase in the concentration of bacteriophage, which causes the possibility of its practical application for the treatment of bird salmonellosis.

The aim of the work was to carry out bacteriological monitoring of pathological material from aged-age egg and meat crosses, the typing of isolated salmonella and to determine the lysis of isolated strains of salmonella to BAFASAL, containing the composition of the specific phages of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*.

Keywords: BIRDS, BACTERIOLOGICAL STUDIES, METHOD, LISIS, BACTERIOPHAG.

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАГОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ПТИЦЫ

И. К. Авдосьева¹, В. В. Регенчук¹, В. С. Дмитроца²

¹Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

²«Протеон Фармацевтикалс»
ул. Тыльна 3А, г. Лодзь, 90-364, Польша

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты бактериологического мониторинга материала от разновозрастных групп птицы яичных и мясных кроссов с 11 птицеводческих хозяйств на наличие возбудителей бактериальных инфекций в период 2016-2018 гг. Высокий процент изолированных культур в течение последних 3-х лет составляли: *E. coli* - 72, 83, 78 и *Salmonella spp.* - 17, 8, 12, соответственно. Установлено, что изолированные полевые штаммы сальмонелл от птицы при типизации со специфическими сальмонеллезными сыворотками отнесены к *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. Бактериофаг БАФАСАЛЬ, производства компании «Протеон Фармацевтикалс», Польша, содержащий композицию специфических фагов *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*, вызвал лизис 97,8 % культур сальмонелл.

Ключевые слова: ПТИЦА, БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ, МЕТОДИКА, ЛИЗИС, БАКТЕРИОФАГ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bacteriophage therapy to reduce salmonella colonization of broiler chickens / Atterbury R. J., Van Bergen M. A., Ortiz F. et al. // *Appl Environ Microbiol.* - 2007. - 73: P. 4543-4549.
2. Grant A. Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry/ Grant A., Hashem F., Parveen S. // *Sood Microbiol.* - 2016. - 53. - P. 104-109.

References

1. Atterbury R. J., Van Bergen M. A., Ortiz F., Lovell M. A., Harris J. A., De Boer A., Wagenaar J. A., Allen V. M., Barrow P. A. Bacteriophage therapy to reduce salmonella colonization of broiler chickens // *Appl Environ Microbiol.* - 2007. - 73: P. 4543-4549.
2. Grant A., Hashem F., Parveen S. Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry // *Sood Microbiol.* - 2016. - 53. - P. 104-109.

Рецензент – Т. Р. Левицький, к. с.-г. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.