

Г. А. Зон, к.вет.н., професор, Сумський НАУ

Є. В. Ващик, к.вет.н., Балаклійська районна державна лабораторія ветеринарної медицини

*В статті представлений комплекс сучасних методів діагностики псевдомонозу птиці на підставі вивчення епізоотологічної, клінічної, патологоанатомічної, гістологічної, бактеріологічної, серологічної, імунологічної, молекулярної діагностики псевдомонозної інфекції. Розглянуті сучасні експрес-методи (ПЛР, МФА) та класичні методи діагностики.*

**Ключові слова:** псевдомоноз, *P. aeruginosa*, курчата-бройлери, епізоотологічний, патологоанатомічний, гістологічний, бактеріологічний, серологічний, імунологічний, молекулярний методи діагностики, ПЛР, МФА.

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** Нові економічні умови господарювання в аграрному секторі, реорганізація господарських відносин на селі, а також реорганізація самої служби ветеринарної медицини в країні потребують нових розробок щодо прогнозування та профілактики заразних захворювань в цілому та інфекцій, що викликаються умовно патогенними мікроорганізмами. Серед останньої групи помітне місце посідає грамнегативна мікрофлора і, зокрема, мікроорганізм *Pseudomonas aeruginosa* [2].

Впродовж останніх десятиріч псевдомонозна інфекція набуває все більшого поширення в Україні та світі. Висока стійкість бактерії до умов зовнішнього середовища, антагоністична активність, резистентність до багатьох сучасних хіміотерапевтичних препаратів та антибіотиків, а також порушення зоогігієнічних і ветеринарних правил сприяє широкому розповсюдженню псевдомонода, підвищує їх роль у виникненні різних патологічних процесів у тварин і птиці. Тому виявлення, виділення та ідентифікація *P. aeruginosa* є одним з найважливіших моментів у вивченні екології збудника та етіології псевдомонозу.

**Зв'язок проблеми з важливими науковими і практичними завданнями.** Робота виконана у відповідності до наукової тематики кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ в рамках теми: «Вивчити розповсюдження потенційно небезпечних для людини інфекційних хвороб тварин у Північно-Східній Україні та розробити вдосконалені методи з їх діагностики, профілактики та лікування» - номер державної реєстрації 0108U010978 від 11. 12. 2008 р.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми.** Вивченням псевдомонозу птиці та удосконаленням методів діагностики в Україні займалися Зон Г.А., Скрипка М.В. [4], особливості перебігу псевдомонозу у перепелів встановлювали Панікар І.І., Рисованій В.І. [6]. Епізоотичний моніторинг псевдомонозної інфекції та впровадження нових методів діагностики проводили Мандигра М.С., Бойко О.П. [2]. Ми продовжили вивчення псевдомонозу птиці у контексті вивчення основних аспектів патогенезу та розробки екологічно безпечних методів профілактики захворювання [3].

**Мета роботи** – узагальнення комплексу сучасних методів діагностики псевдомонозу птиці на підставі вивчення епізоотологічної, клінічної, патологоанатомічної, гістологічної, бактеріологічної, серологічної, імунологічної, молекулярної діагностики псевдомонозної інфекції.

**Матеріали та методи.** Для реалізації поставленої мети ми проводили оцінку всіх існуючих методів діагностики псевдомонозу птиці, в т.ч. результатів власних досліджень, проведених експериментальним шляхом протягом 2007-2011 р.р. в умовах кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці ім. професора І. І. Панікара Сумського національного аграрного університету та Балаклійської районної державної лабораторії ветеринарної медицини Харківської області.

**Результати власних досліджень.** Встановлення діагнозу на псевдомоноз ґрунтується на результатах епізоотологічних, клінічних, патологоанатомічних та комплексу лабораторних досліджень.

Епізоотологічна діагностика. Вивчають епізоотичну ситуацію в регіоні та безпосередньо в даному об'єкті (птахофабриці). Так, за результатами епізоотологічного моніторингу псевдомонозної інфекції в Україні (1991-2006 р.р.) встановлено, що захворювання, спричинені *P. aeruginosa*, реєструються в Україні щорічно, причому, найчастіше (у середньому по 13,4 спалахів на рік) псевдомоноз реєстрували у птиці [2]. Необхідно проводити аналіз бактеріологічних досліджень кормів та води в господарстві, контролюю якості дезінфекції (приміщень, обладнання інкубаторіїв) як вірогідних джерел інфекції в умовах порушення ветеринарно-санітарних вимог. Враховують показники виводу та виводимості, збереженості (1-30 діб), тому що псевдомоноз характеризується високою смертністю молодняку, а також ембріонів переважно в останні дні інкубації.

Клінічна діагностика. Загибель ембріонів відбувається в будь-який період інкубації, але частіше у другій половині та на виводі. Це може супроводжуватись розривом шкаралупи, що викликає масовий відхід, порушується "дружний" вивід молодняку. У молодняка перших десяти днів життя хвороба перебігає гостро з проявами септицемії, характеризується загальним

пригніченням, відсутністю апетиту, малорухомістю. Кількість захворівших досягає 70%, летальність – 30 - 40%, загибель - на 2-4 добу. З 3 місячного віку у птиці перебіг хвороби може бути в підгострій та хронічній формі з ознаками токсикозу, ураження печінки, тонкого кишечника, появою перитонітів. У хворої птиці спостерігають діарею, кульгавість, порушення координації рухів, набряк та посиніння шкіри голови, сережок та підочних синусів, подушечок лап, виткання з носових отворів, кон'юнктивіт. Зареєстрований перебіг псевдомонозу з ознаками ураження опорно-рухового апарату, а також у формі кормової токсикоінфекції.

Патологоанатомічна картина при псевдомонозі молодняка є характерною для септичного процесу. Так, нами при розтині загиблих курчат-бройлерів кросу Гібро, інфікованих у віці 7-ми діб *P. aeruginosa*, було виявлено: катаральне запалення та набряк легенів, набряк підшкірної клітковини; катар кишечника. Крововиливи спостерігали на епікарді і серозній оболонці залозистого шлунка, в паренхімі печінки та легенів, виявляли дистрофічні зміни у печінці [3]. Ембріони в першу половину інкубації гинуть з патологоанатомічними змінами, що характерні для геморагічної септицемії та дистрофії печінки. Виникає застій крові в судинах алантоїсу та крововиливи в підшкірну сполучну тканину, жовток забарвлюється в зелено-жовтий колір. Загибель дорослої птиці від псевдомонозу часто супроводжується холециститом, ентероколітом, дистрофією печінки, перитонітом, пневмонією.

Гістологічна діагностика проводиться за загальноприйнятою методикою. Ми виявляли в тканинах внутрішніх органів альтеративні та дистрофічні процеси на фоні клітинної реакції у відповідь на присутність збудника, а також явища делімфотизації в органах імунної системи.

Диференційний діагноз. Псевдомоноз сільськогосподарської птиці диференціюють від хвороб, перебіг яких супроводжується розвитком сепсису та інфікуванням легенів, серця та інших паренхіматозних органів. При гострій формі картина хвороби є найяскравішою. При блискавичній формі ці зміни є слабо вираженими, а при підгострій та хронічній формах перебігу захворювання патологоанатомічні ознаки у значному ступеню варіюють, супроводжуючись підвищеною частотою виникнення омфалітів, артритів, міокардіосклерозів, гнійно-фібринозних пневмоній та ін. Відповідно, аналогічні зміни можуть виявлятися при пастерельозі, актинобацилльозі, орнітобактеріозі, ешерихіозі, хворобі Ньюкасла, клебсіельозі, стрептококовій септицемії, гемофільозі та орнітозі.

Бактеріологічна діагностика. Для підтвердження діагнозу на псевдомоноз в лабораторію направляють свіжі трупи птиці та завмерлі ембріони, зразки кормів (особливо

тваринного походження), води, змиви з підлоги та стін інкубатора, поїлок та годівниць, інкубаційних та вивідних шаф, обладнання, кліток, тари для перевезення курчат, повітропроводів тощо. Проводять посів проб біоматеріалу - крові із серця, печінки, жовчного міхура, кісткового мозку, легенів птиці та жовткового мішка ембріонів на живильні середовища: МПБ, МПА та середовище Ендо, які інкубують в термостаті впродовж 24 годин при температурі +37° С.

Якщо через добу спостерігається ріст колоній зеленого, синього, коричневого або чорного кольору, із специфічним запахом жасмину, а при бактеріоскопії виявляють грамнегативні палички – в такому випадку роблять заключний висновок про виділення *Pseudomonas aeruginosa*. Якщо реєструють ріст прозорих, світло-жовтих, світло-коричневих колоній, а на середовищі Ендо блідо-рожевих колоній і при бактеріоскопії виявляють грамнегативні палички, в цьому випадку культури залишають ще на день у термостаті. Якщо пігмент піоціанін так і не виявляється, проводять ідентифікацію за морфологічними ознаками, тінкторіальними, культуральними і біохімічними властивостями: росту при +42°С і його відсутності при +5°С, гідролізу ацетаміду, відновлення нітратів в нітрити і до молекулярного азоту, здатності ферментувати глюкозу та галактозу з утворенням кислоти без газу, розріджувати желатин та проявляти гемолітичну активність та постановкою РА з діагностичними О-аглютинуючими сироватками. Вірулентність виділених культур підтверджують біопробами на білих мишах, яким внутрішньоочередовно вводять змив добової агарової культури фізіологічним розчином в дозі 0,2-0,3 мл в концентрації 500 млн - 1млрд. мікробних тіл. У разі позитивного результату - загибель впродовж 6 - 24 годин.

Визначення чутливості до антибіотиків і хімотерапевтичних препаратів проводять методом дифузії в агар відповідно до «Інструкції для медичного застосування дисків з антибіотиками для визначення чутливості мікроорганізмів до лікарських засобів» (наказ МОЗ України №30 від 10.01.2004 р).

Нами запропоновано використання в умовах виробничих лабораторій модифікованого способу визначення бактерицидних властивостей нових дезінфікуючих засобів методом «стікаючої краплі» з використанням тест-культур (на прикладі *P. aeruginosa*), що підтверджено патентом України № 69947, від 25 травня 2012 р., Бюл. № 10.

Токсигенні властивості вивчають за допомогою імунохімічного методу Елікса з метою виявлення здатності культур *P. aeruginosa* продукувати екзотоксин А.

Серологічна діагностика. Для типізації культур використовують аглютинуючі полівалентні О-сироватки *P. aeruginosa*. Типізацію проводять у

відповідності до "Настанови по застосуванню О-аглютинуючих сироваток для діагностики псевдомонозу".

Імунологічна діагностика. В Україні з 2010 р. Мандигрою М. С., Бойко О. П. та співавт. впроваджений метод флуоресціюючих антитіл (МФА) для індикації та ідентифікації збудника псевдомонозу в культурах, патологічному матеріалі та деяких об'єктах зовнішнього середовища (змиви, вода, повітря). Розроблена схема бактеріологічного дослідження біологічних матеріалів із використанням методу флуоресціюючих антитіл, що дає можливість ідентифікувати *P. aeruginosa* і скоротити термін дослідження до декількох годин [2].

ПЛР – діагностика. В. Н. Афонюшкін, В. Ю. Коптев та співавт. розробили дуплексний варіант ПЛР для детекції геномної ДНК синьогнійної палички (РАЕ) та пастерел (PAS). Мультиплексна ПЛР дозволяє контролювати наявність певного спектру мікроорганізмів в одній реакції. Для діагностики псевдомонозу важливо виявити факт септичного процесу та наявність геномної ДНК синьогнійної палички в органах і тканинах, які не контактують з оточуючим середовищем в нормі (серці, нирках, печінці). Факт виявлення геномної ДНК *P. aeruginosa* в легенях має значення при дослідженні ембріонів та добових курчат, тому що окрім діагностичного значення позитивний

результат відображає низьку санітарну культуру в інкубаторії. В системі мікробіологічних досліджень ПЛР також може використовуватись на стадії ідентифікації збудника, або на проміжному етапі культивування для визначення стратегії отримання чистої культури [1].

Ідентифікація псевдомонад методом комп'ютерного аналізу. Коцофляк О. І. пропонує для ідентифікації псевдомонад застосувати метод поліфазного таксономічного аналізу. Автором вперше створено базу даних стосовно відомих видів роду *Pseudomonas* та їх фенотипових властивостей, яка охоплює інформацію щодо 66 видів, охарактеризовано 113 тестами [5].

**Висновок.** В статті проведено узагальнення існуючих методів діагностики псевдомонозу птиці на підставі вивчення епізоотологічної, клінічної, патологоанатомічної, гістологічної, бактеріологічної, серологічної, імунологічної, молекулярної діагностики псевдомонозної інфекції. Розглянуті сучасні експрес-методи (ПЛР, МФА) та класичні методи діагностики. Представлений комплекс сучасних методів діагностики псевдомонозу птиці викладений в «Методичних рекомендаціях з діагностики, заходів боротьби та профілактики псевдомонозу птиці», які схвалені науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол №1 від 21.12.2011р.) [4].

#### **Список використаної літератури:**

1. Афонюшкін В.Н. Разработка мультиплексной ПЦР для детекции геномной ДНК *P. aeruginosa* и микроорганизмов рода *Pasteurella* в патологическом материале сельскохозяйственной птицы [Електронний ресурс] / В.Н. Афонюшкін, В.Ю. Коптев, Ю.Г. Юшков // ГНУ Інститут експериментальної ветеринарії Сибіри і Дальнього Востока. – Режим доступу: <http://www.laboratorium.narod.ru/30/multiplex.htm>
2. Бойко О.П. Епізоотологія та діагностика псевдомонозної інфекції тварин і птиці: дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03 / Бойко Оксана Петрівна. – Одеса, 2012. – 117с.
3. Ващик С.В. Псевдомоноз птиці: основні закономірності інфекційного процесу та удосконалення заходів з профілактики хвороби: дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03 / Ващик Євгенія Володимирівна. – Одеса, 2012. – 120с.
4. Зон Г.А. Методичні рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики псевдомонозу птиці / Г.А. Зон, Є.В. Ващик, В.В. Стець. - Сумський НАУ, - 2012. – 22с.
5. Коцофляк О.І. Ідентифікація бактерій роду *Pseudomonas* методами комп'ютерного аналізу / О.І. Коцофляк, О.Н. Рева, Е.А. Киприанова, В.В. Смирнов // Мікробіологічний журнал. – 2003. – № 6. – С. 3-12.
6. Рисований В.І. Псевдомоноз перепелів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец.16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія» / В.І. Рисований – Одеса, 2005. – 15с.

*В статье представлен комплекс современных методов диагностики псевдомонозу птицы на основе изучения эпизоотологической, клинической, патологоанатомической, гистологической, бактериологической, серологической, иммунологической, молекулярной диагностики псевдомонозной инфекции. Рассмотрены современные экспресс-методы (ПЛР, МФА) и классические методы диагностики.*

**Ключевые слова:** псевдомоноз, *P. aeruginosa*, цыплята-бройлеры, эпизоотологический, бактериологический, патологоанатомический, гистологический, серологический, иммунологический, молекулярный методы диагностики, ПЦР, МФА.

*The complex of modern methods of diagnostics of pseudomonosis of avium based on the study epizo-*

otological, clinical, postmortem, histologic, bacteriological, serological, immunological, molecular diagnostics is presented in the article. Considered in the article modern express methods (PCR, IFA) and classical methods of diagnostics.

**Key words:** *pseudomonosis, P. aeruginosa, broiler chicken, epizootological, postmortem, histologic, bacteriological, serological, immunological, molecular diagnostics, PCR, IFA.*

Дата надходження в редакцію: 24.01.2013 р.  
Рецензент: д.вет.н., професор Т. І. Фотіна

УДК: 619:614.48:616.98:579.873.21

## РІВЕНЬ КОНТАМІНАЦІЇ ПРОДУКТІВ ПТАХІВНИЦТВА СУЛЬФІТРЕДУКУВАЛЬНИМИ КЛОСТРИДІЯМИ

**Л. С. Купрієнко**, аспірант, Сумський НАУ  
**Г. А. Зон**, к.вен.н., професор, Сумський НАУ  
**Н. В. Стеценко**, зав.віддулу ветсанекспертизи, Сумська РДЛВМ  
**О. С. Безвершенко**, аспірант СНАУ

*В статті викладені результати мікробіологічних досліджень продукції птахівництва на рівень контамінації сульфітрeredукувальними клостридіями (СРК). Встановлена залежність розвитку анаеробної мікрофлори від умов зберігання та способів пакування м'яса птиці та напівфабрикатів, питома вага якої серед інших видів мікрофлори була найбільшою у продуктах вакуумного пакування і складала 2,4%.*

**Ключові слова:** *сульфітрeredукувальні клостридії, м'ясо птиці, напівфабрикати.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** З удосконаленням діагностики клостридіозів в останні роки все частіше встановлюють токсикоінфекції у людей клостридіального походження. У патогенезі цих токсикоінфекцій основне місце належить ентеротоксинам СРК, які утворюються при інтенсивному обміненні харчових продуктів [1, 2].

Особливої уваги заслуговують продукти птахівництва, роль яких у виникненні харчових токсикоінфекцій з року в рік зростає у зв'язку із порушенням санітарно-гігієнічних правил на підприємствах м'ясопереробної промисловості а також зростанням спалахів клостридіозів у птахо господарствах [5].

В держстандартах України норми гранично допустимих рівнів щодо вмісту СРК у м'ясі птиці та напівфабрикатах не регламентуються і така продукція не контролюється за даними показниками щодо безпечності для здоров'я людини і загострює проблему спалахів харчових анаеробних токсикоінфекцій у населення [3].

**Постановка завдання.** Метою досліджень було визначити рівень контамінації м'яса птиці і напівфабрикатів з нього СРК та визначити їх питому вагу у загальній кількості мікрофлори продуктів птахівництва.

**Матеріали і методи.** В роботі використовували зразки м'яса птиці і напівфабрикатів з нього, які досліджували загальноприйнятими методами мікробіологічних досліджень відповідно

до ГОСТ 29185-97[6], ДСТУ ISO 4833:2006[9], ГОСТ 30518-97[7], ДСТУ EN 12824:2004[10], ДСТУ ISO 11290:1-2003[8].

На базі Сумської РДЛВМ проводили дослідження 120 зразків м'яса птиці та напівфабрикатів з нього охолоджених та заморожених, у звичайній та вакуумній упаковках. Визначали мікробіологічні показники: кількість мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ), бактерії групи кишкової палички (БГКП (коліформи)), сальмонели, *Listeria monocitogenes*, регламентовані у «Обов'язковому мінімальному переліку» [4]. і ТУ на напівфабрикати з м'яса птиці. Крім того проводили додаткові дослідження зразків на вміст СРК, які не передбачені у НД на дану продукцію.

Виділення СРК у зразках здійснювали шляхом висіву вихідного розведення продукту у середовище Вільсон-Блера, інкубацію посівів проводили при температурі 37<sup>0</sup>С протягом 24-72 годин в анаеробних умовах. Ріст СРК встановлювали в разі почорніння середовища Вільсон – Блера.

**Результати досліджень.** За результатами мікробіологічних досліджень всі зразки м'яса птиці та напівфабрикатів за мікробіологічними показниками: КМАФАнМ, БГКП, сальмонели, *Listeria monocytogenes* відповідали вимогам НД. Проте, 73% (88 зразків) продуктів з м'яса птиці були контаміновані СРК (Рис.1).