



СибАК

www.sibac.by

ISSN: 2308-6009

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ИННОВАЦИИ В НАУКЕ

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИСТЕРИОЗА ПТИЦ

Киркимбаева Жумагуль Слямбековна

*д-р ветеринар. наук, проф. КазНАУ,
Республика Казахстан, г. Алматы*

Сарсембаева Нуржан Билтебаевна

*д-р ветеринар. наук, проф. КазНАУ,
Республика Казахстан, г. Алматы*

Мустафина Шолтан Акановна

*канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. Казахстанско-Японского
инновационного центра,
Республика Казахстан, г. Алматы*

Бектурова Найля Жомартовна

*докторант 1 курса КазНАУ,
Республика Казахстан, г. Алматы
E-mail: nailyaalem@mail.ru*

Болатбекова Динара Болатбековна

*магистрант 1 курса КазНАУ,
Республика Казахстан, г. Алматы*

BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS OF LISTERIOSIS OF BIRDS

Zhumagul Kirkimbaeva

*dr. prof. of Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty*

Nurzhan Sarsembayeva

*dr. prof. of Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty*

Sholpan Mustafina

*candidate of veterinary Science, a senior fellow
at the Kazakhstan-Japan Innovation Center,
Kazakhstan, Almaty*

Nailya Bekturova

*doctoral student Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty*

Dinara Bolatbekova

*master student Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty*

АННОТАЦИЯ

Проведено бактериологическое исследование патологического материала от павших птиц. Результаты анализа клиники, патологоанатомических признаков, а также биологических свойств выделенной культуры доказывает принадлежность их к виду *Listeria monocytogenes*. Культура *Listeria monocytogenes* обладала типичными биологическими свойствами: культуральные свойства на жидкой, твердой и дифференциально-диагностической питательных средах, морфология бактериальных клеток на окрашенных по Граму мазках, характерное сбраживание углеводов, каталазная активность суточной культуры.

ABSTRACT

A bacteriological examination of pathological material from dead birds has been conducted. The results of the analysis of clinic, pathological features, as well as the biological properties of the selected culture proves that they belong to the species – *Listeria monocytogenes*. Culture of *Listeria monocytogenes* had the typical biological properties: cultural properties on the liquid, solid and differential diagnostic nutrient media, morphology of bacterial cells on Gram-stained smears, characterized by the digestion of carbohydrates, catalase activity of daily culture.

Ключевые слова: листериоз, токсикоинфекция, диагностика, клинические признаки, бактериологическое исследование, питательные среды.

Keywords: listeria, toxicoinfection, diagnosis, clinical signs, bacteriological research, culture media.

Современное птицеводство является высокодоходной отраслью, оно дает народному хозяйству и населению страны ценное сырье и продукты питания. Поставлены задачи по обеспечению возрастающих потребностей населения в мясе и доведение уровня производства мяса и продукции из него до уровня потребления сравнимого с развитыми европейскими странами [1, с. 192].

Приоритетными должны стать показатели конкурентоспособности отечественной продукции, соответствия их качества международным требованиям, что обеспечит эффективность отрасли в условиях открытой мировой системы торговли, в области птицеводческой деятельности.

При этом пристальное внимание уделять безопасности получаемых продуктов птицеводства, так как пищевые токсикоинфекции в птицеперерабатывающей промышленности по-прежнему представляют весьма актуальную проблему. Эта задача остаётся не менее важной в связи с созданием Таможенного союза и вступлением Казахстана в ВТО.

Наибольшую опасность для потребителя представляет продукты птиц, больной инфекционными болезнями, в том числе листериозом. К настоящему времени листериоз птиц зарегистрирован в более чем 50 странах мира, где он наносит весьма существенный экономический ущерб и осложняет эпидемиологическую обстановку [4].

Листерия – это грамположительная факультативно-анаэробная палочка, не образующая спор, она выделяется из почвы, воды, пыли, сточных вод и др. широко распространены в природе и носителями являются десятки видов домашних животных и диких млекопитающих, птиц. Большинство носителей листерий по внешним признакам выглядят вполне здоровыми.

Диагностика листериоза представляет значительные трудности в связи из-за полиморфизма клинических проявлений и невозможности в ряде случаев выявить источник инфекции, поэтому решающее значение приобретает лабораторная диагностика. Установить диагноз «листериоз» можно только бактериологическим методом. Для выделения листерии из стерильных биологических субстратов не требуется каких-либо специальных сред или условий культивирования: листерии хорошо растут на кровяном и шоколадном агаре. Другие виды клинического материала контаминированы разнообразной микрофлорой, а количество листерий в них может быть

незначительным, и выделить их удаётся лишь с помощью селективных питательных сред или процедуры обогащения [5, с. 849].

В настоящее время экспресс-диагностика листериоза основана на ПЦР. При определении специфических антител доступными в настоящее время методами имеют место как ложноотрицательные, так и ложноположительные результаты исследований [2].

Цель исследований: изучить ситуацию по листериозу в Алматинской области на птицефабриках путем выделения и идентификации возбудителя болезни, вызвавшей гибель птиц.

Материалы и методы исследования. Работа по мониторингу листериоза бактериологическими методами выполнена в Казахстанско-Японском инновационном центре, а также на птицефабриках Алматинской области РК, проводили исследования по обнаружению возбудителя листериоза за период 12.12.2015 по 12.02.2016 г.

Диагностические исследования проводились с использованием бактериологических методов. Материалом для бактериологического исследования служили грудные и бедренные мышцы, мозг, а также внутренние органы (печень, сердце) и корм. Микробиологические показатели определяли в образцах мяса, а также печени и мозге в свежем виде сразу после убоя. Микробиологический анализ проводили согласно СТ РК ГОСТ Р 51921-2002 и методическому пособию.

В лабораторию микробиологической безопасности Казахстанско-Японского инновационного центра КазНАУ были доставлены трупы павших птиц в количестве 15. Заболевание протекало в острой и подострой форме и характеризовалось следующими клиническими признаками: у больных птиц отсутствовал аппетит, были малоподвижны, наблюдался конъюнктивит, учащение дыхания, прогрессирующая слабость, судороги и параличи ног, крыльев, мускулатуры шеи («мягкая шея»), истощение.

В паренхиматозных органах павших птиц наблюдались характерные патологоанатомические изменения: изменен цвет паренхимы печени, мягкой консистенции; селезенка кровенаполнена, темного цвета; паренхима почки мягкой консистенции, цвет изменен, сосуды серозной оболочки мозга инъецированы, сами оболочки разрыхлены, тусклые, местами на них видны кровоизлияния.

Для бактериологического исследования пробы были в соответствии с ГОСТ 21237-75.

Посевы суспензии из головного мозга и паренхиматозных органов на физиологическом растворе в соотношении 1:5 делали на питательные среды МПБ (мясо-пептонный бульон), МПА (мясо-

пептонный агар). Посевы культур выращивали в термостате при 25°C. Из головного мозга и печени готовили мазки-отпечатки. Мазки из суточных колоний листерий и мазки-отпечатки окрашивали по Граму [3, с. 90].

Предназначенные для идентификации 24 – часовые бульонные культуры, выращенные при 25°C, бактериологической петлей заседали частым штрихом на 2 пробирки МПА, так, чтобы получить рост по всей поверхности агара, выращивали при комнатной температуре 24–30 часов.

Через 24 ч культивирования посевов в термостате при 25°C в МПБ наблюдалось легкое равномерное помутнение бульона, на МПА выросли колонии мелкие, росинчатые, блестящие, вязкой консистенции, в проходящем свете наблюдали нежный рост колоний – мелкие выпуклые беловатые колонии как беловатый налет на агаре (Рис. 1).



Рисунок 1. Рост листерий на МПА



Рисунок 2. Рост листерий на кровяном агаре

Через 24 ч при появлении сплошного роста колоний бактериологической петлей производили пересев на селективную диагностическую среду Palkat и кровяной агар. Через 24 часа инкубирования на селективной среде Palkat отмечался обильный рост мелких, серовато-зелёных или зелёных колоний, диаметром 0,5–1,0 мм. При появлении сплошного роста колоний листерий производили пересев бактериологической петлей из зон наибольшего почернения среды штрихами на 2–3 чашки Петри с селективной дифференциально-диагностической средой для получения изолированных колоний. На кровяном агаре у выделенных культур обнаруживали зону гемолиза различной интенсивности (Рис. 2). Бактериальную массу из выросших изолированных колоний использовали для приготовления препаратов и окрашивания по Граму.

В окрашенных по Граму препаратах бактерии рода листерия установлены в виде коротких палочек, располагающихся одиночно и попарно. Возбудитель листериоза представляет собой грамположительные с закругленными концами палочки, которые могут быть полиморфными. Характерной особенностью листерий является то, что некоторые бактерий располагаются по отношению друг к другу в виде римской цифры V или параллельно. Суточная культура листерий, выделенная от бройлера, представлена на рис. 3.

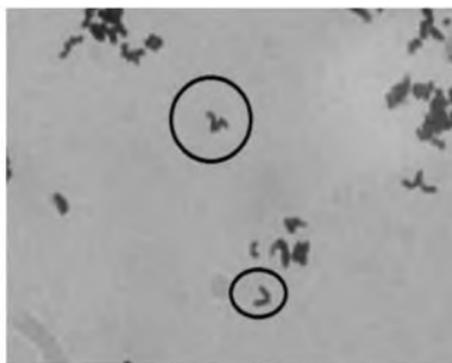
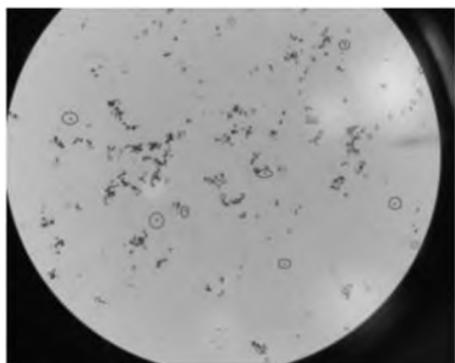


Рисунок 3. Культура листерий в мазке, окрашенном по Граму

При посеве выделенных культур на углеводные среды получены следующие результаты.

Таблица 1.

Биохимические свойства выделенных культур листерий

№ культуры	Источник выделения	Реакция на β-гемолиз	Ферментация углеводов					
			Маннит	Ксилоза	Манноза	Рамноза	Оксидаза	Каталаза
1	печень	+	-	-	+	+	-	+
6	мозг	+	-	-	+	+	-	+
11	мозг	+	-	-	+	+	-	+
14	печень	+	-	-	+	+	-	+
17	селезенка	+	-	-	+	+	-	+

Как видно из таблицы 1, реакция на β-гемолиз положительны. Культура листерий обладает сахаролитическими свойствами. Листерии ферментируют маннозу и рамнозу, но не ферментирует маннит и ксилозу. Обладают каталазной активностью, оксидазо-отрицательны.

Заражение лабораторных животных. Патогенность культур определяли постановкой кератоконъюнктивальной пробы на морских свинках. Для этого на конъюнктиву глаза животного наносили 1–2 капли бактериальной суспензии. За морскими свинками наблюдали в течение 10 сут. Патогенными признавали культуры, которые вызывали формирование гнойного кератоконъюнктивита в течение 2–5 сут. после инокуляции возбудителя.

Заключение. Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение:

1. Листериоз птиц, как инфекционное заболевание имеет распространение на территории Республики Казахстан.
2. Клинические признаки, патологоанатомические признаки свойственны для подострой формы смешанной формы листериоза.
3. Выделенные культуры листерий имеют характерные морфологические, культурально-биохимические, патогенные свойства, характерные для патогенных штаммов листерий и могут быть причиной гибели птиц.

Список литературы:

1. Агеев В.Н. и др. Кормление птицы / В.Н. Агеев, Н.А. Егоров, Т.М. Околелова, П.Н. Паньков. – М.: Агропромиздат, 1987. 192 с.

2. Быкова Н.И. Симптомы, диагностика и лечение. – [Электронный ресурс] // ПЦР диагностика-анализ на инфекции: сайт. – URL: <http://medicalj.ru/diacrisis/d-immunology/1018-pcr-diagnostika-analiz-na-infekcii> (Дата обращения: 26.01.2016).
3. Омарова С.М. Биологические свойства листерий, культивируемых на новых средах для накопления и выделения / С.М. Омарова // Журнал микробиологии. 2007. № 3. С. 90–92.
4. Цюрина И.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза и оценка мяса цыплят-бройлеров при листериозе: Автореф. дис. канд. вет. наук. – Москва, 2012. – 25 с.
5. Glaser P., Frangeul L., Buchrieser C. et al. Comparative genomics of *Listeria* species // Science. 2006. Vol. 294. P. 849–852.