DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-10
УДК 619:616.98.578

Экологические условия распространения иерсиниоза среди овец в Байкальском регионе

Бадмаева О.Б., старший научный сотрудник, к.вет.н.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Бурятский научно-исследовательский институт сельского хозяйства", Улан-Удэ
E-mail: badmaeva07@mail.ru

Ключевые слова. Байкальский регион, иерсиниозы, овцы, *Y. Pseudotuberculosis*, биохимические свойства, ПЦР, почва

Резюме. Республика Бурятия расположена на высоте от 500 до 3000 метров над уровнем моря, занимает южное и восточное побережье озера Байкал. Бурятия граничит с Иркутской областью, с Республикой Тува и с Забайкальским краем, образует экологическую систему Байкальского региона. На юге республики проходит государственная граница Российской Федерации с Монголией. Нозологический профиль инфекционных болезней в Байкальском регионе обусловлен эколого-географическими особенностями, возможностью переноса патогенов с речным стоком, насекомыми и дикими животными. Экологические условия окружающей среды могут стать кофакторами эпизоотической активности возбудителей.

Выявление серопозитивных на бруцеллез животных в стаде с длительным благополучием, невозможность при этом выделения культуры бруцелл стали основой для исследований и индикатором циркуляции в организме животных возбудителя иерсиниоза. Бактериологическими исследованиями из 104 проб крови овец и патологического материала было изолировано 32 культуры микроорганизмов, идентифицированных как *Y. pseudotuberculosis*. Впервые на территории Байкальского региона была зарегистрирована псевдотуберкулезная инфекция среди овец. При исследованиях почв методом ПЦР с предварительным "холодовым обогащением", наличие *Y. pseudotuberculosis* в пробах не выявлено, что требует более углубленного изучения закономерностей территориального распространения болезни.

Введение

Здоровье, продуктивность, воспроизводство животных являются важнейшими эпизоотологическими параметрами популяционной динамики животных, которые подвержены изменениям под воздействием инфекционных заболеваний или иных явлений массовой патологии [1]

В природе бактериальные популяции обладают широким диапазоном экологической толерантности к большим колебаниям температуры, влажности, активной реакции среды, содержания органических и неорганических веществ [2]. В окружающей среде формируются природные очаги

Ecological conditions of the distribution of yersiniosis among sheep in the Baikal region

Badmaeva O.B., Ulan-Ude

Key word. Baikal region, yersiniosis, sheep, *Y. Pseudotuberculosis*, biochemical properties, PCR, soil

Abstract. The Republic of Buryatia is located at an altitude of 500 to 3000 meters above sea level, occupies the southern and eastern shores of Lake Baikal. Buryatia is bordered by the Irkutsk and Trans-Baikal regions, the Republic of Tuva, forms the ecological system of the Baikal region. In the south of the republic lies the state border of the Russian Federation with Mongolia. The nosological profile of the infectious diseases in the Baikal region is determined by ecological and geographical features, the possibility of transferring pathogens from river runoff, insects and wild animals. Ecological conditions of the environment can become cofactors of the epidemic activity of pathogens.

The identification of the seropositive animals for brucellosis in a herd with long-term well-being, the impossibility of isolating brucella culture, became the basis for research and indication of circulation in the animal's organism of the causative agent of yersiniosis. The 32 cultures of the microorganisms identified as *Y. pseudotuberculosis* isolated for bacteriological studies of the 104 blood samples of sheep and pathological material. The pseudotuberculosis infection registered among sheep in the Baikal region for the first time. *Y. pseudotuberculosis* in the soil samples not revealed by studies using PCR with preliminary cold enrichment, which requires a more in-depth study of the patterns of territorial spread of the disease.

инфекционных болезней, связанные с биотическими и абиотическими эколого-географическими факторами [3]. Многие возбудители приобретают возможность сохраняться во внешней среде длительное время [4].

Иерсиниозы – группа зоонозных природно-очаговых бактериальных инфекционных болезней, включает кишечный иерсиниоз и псевдотуберкулез, которые имеют общие черты в патогенезе и клинической картине. Псевдотуберкулез характеризуется интоксикацией, образованием гнойно-казеозных очагов во внутренних органах и тканях, расстройством деятельности желудочно-кишечного тракта [5].

Возбудитель – *Yersinia pseudotuberculosis*, относится к семейству Enterobacteriaceae, распространен в природе широко [6]. Псевдотуберкулезный микроб длительно персистирует в почве и воде. При низкотемпературном культивировании индуцируется синтез "холодовых" изоферментов, сопровождающийся повышением вирулентности [7]. Иерсинии чувствительны к высушиванию и действию солнечных лучей, долгое время могут сохраняться и размножаться в воде, почве, биологических субстратах, пищевых продуктах, хранящихся на холоде [8].

Цель данной работы заключалась в определении циркуляции возбудителя иерсиниоза в популяции овец и

Для цитирования / For citation

Бадмаева, О.Б., Экологические условия распространения иерсиниоза среди овец в Байкальском регионе // Ветеринария и кормление. – М., 2019. - №4 – С.34-36.

Badmaeva, O.B., Ecological conditions of the distribution of yersiniosis among sheep in the Baikal region // Veterinaria i kormlenie - M., 2019. - Vol.4. - P.34-36.

Рисунок 1 - Схема лабораторных исследований на иерсиниоз

Figure 1 - Scheme of the laboratory tests for yersiniosis

выявлении наличия ДНК возбудителей псевдотуберкулеза в пробах почвы.

Материал и методы исследований

Кровь и патологический материал от овец были исследованы в ветеринарной лаборатории Кяхтинского филиала Бурятской станции по борьбе с болезнями животных. Серологические и бактериологические исследования, выделение чистых культур, их идентификация производили по общепринятым методикам [9; 10].

Исследования проб почв были проведены в Иркутском научно-исследовательском противочумном институте Роспотребнадзора Сибири и Дальнего Востока. Было исследовано 30 проб почвы из Джидинского, Кяхтинского и Селенгинского районов Республики Бурятия. Отбор проб почв производили согласно ГОСТ 17.4.4.02-84 [11; 12; 13].

Детекция специфического фрагмента генома *Y. pseudotuberculosis* осуществлялась методом ПЦР, с использованием набора для амплификации "Ампли Сенс *Yersinia pseudotuberculosis*-EPH", в соответствии с инструкциями производителя. Учет результатов ПЦР осуществлялся методом электрофоретической сепарации в 1,5%-ном агарозном геле, с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Результаты исследований

Республика Бурятия расположена в центре евроазиатского континента, на высоте от 500 до 3000 метров над уровнем моря, в южной части Восточной Сибири, занимает южное и восточное побережье озера Байкал. Площадь республики составляет 351,3 тыс. км². На северо-западе и

севере Бурятия граничит с Иркутской областью, на юго-западе – с Республикой Тува, на востоке – с Забайкальским краем. На юге республики проходит государственная граница Российской Федерации с Монголией. Республика включает 21 административный район, 6 городов, 29 поселков городского типа и 611 сельских населенных пунктов.

В Бурятии климат резко континентальный. Лето короткое жаркое, в первой половине сухое. Зимы малоснежные, продолжительные, температура нередко опускается ниже сорока градусов.

Территория республики образует экологическую систему Байкальского региона. Гидрологическая сеть достаточно развита, однако большая часть естественных источников воды в засушливые годы пересыхает. Ландшафт представлен на западе высокими горами с гольцами, которые к востоку переходят в горы, покрытые хвойными лесами, на востоке – лесистыми плоскогорьями, степями и долинами. Преобладают каштановые, песчаные почвы, плодородный слой составляет не более 5 см. В сельскохозяйственном пользовании республики находится 4,691 млн гектаров земель, из которых 2,612 млн составляют сенокосы, 321 тысяча – сенокосы и пастбища – 1,975 млн га. Земли естественных кормовых угодий составляют 62%.

Объекты окружающей среды являются резервуаром для сохранения и персистенции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней. Эпизоотическая обстановка в овцеводстве Бурятии связана с типом ведения отрасли. Нозологический профиль инфекционных болезней в большей степени обусловлен эколого-географическими особенностями, обладающими условиями для сохранения патогенных микроорганизмов в окружающей среде, наличием факторов передачи возбудителя инфекций. Сохраняется возможность переноса патогенов с речным стоком, насекомыми и дикими животными. Экологические условия окружающей среды могут стать кофакторами эпизоотической активности возбудителей.

В ООО "Буян" Кяхтинского района были отмечены аборты у 30 овец. При серологическом исследовании 37 проб сывороток крови овец были получены положительные реакции на иерсиниозный антиген в 7 пробах. При бактериологическом исследовании 104 проб крови и патологического материала были изолированы 32 культуры микроорганизмов, идентифицированные в дальнейшем как *Y. pseudotuberculosis*. Бактериологическим исследованиям на иерсиниозы предшествовало выявление серопозитивных на бруцеллез животных в стаде с длительным эпизоотическим благополучием. Однако, культуры бруцелл выделить не удалось, что является индикатором циркуляции в организме животных возбудителя другой инфекции, сходной по антигенным признакам с бруцеллезом послужило основанием для проведения исследований на иерсиниозы.

Был определен алгоритм лабораторных исследований крови животных и патологического материала, который представлен на рисунке 1.

В мазках из чистых культур были обнаружены грамотрицательные, подвижные, мелкие палочки, окрашиваются биполярно, спор не образуют, располагаются одиночно и в виде цепочек. Интенсивный рост всех 32 культур отмечали при 28–30 °C на обычных питательных средах,

Рисунок 2 - Результаты электрофоретической детекции продуктов ПЦР, полученных в процессе исследования образцов почв

Figure 2 - Results of the electrophoretic detection of PCR products, obtained during the study of the soil samples

половина из них обладала хорошим ростом на среде Левина. На пластинчатом агаре образуют круглые, выпуклые, маслянистые, сероватые с перламутровым оттенком колонии. Край колоний ровные, центр колоний приподнятый. Результаты изучения биохимических свойств культур приведены в таблице 1.

Интенсивный рост всех 32 культур отмечали при 28–30 °С на обычных питательных средах, культуры обладали хорошим ростом на среде Левина. 16 культур вызывали помутнение мясо-пептонного бульона с дальнейшим осветлением среды. 31 культура характеризовалась образованием осадка. Все культуры отличались биохимической активностью, каталазоположительны, расщепляли глюкозу, обладали хорошим ростом на голодном агаре. Индол и сероводород не образовывали. При определении биохимических свойств культур отмечалась вариабельность некоторых культур в расщеплении рамнозы, лизина, оксидазы и уреазной активности.

Возникновение инфекции в популяции овец обусловлено сохранением резервуаров возбудителя инфекции в окружающей среде и наличием факторов передачи возбудителя, что требует более углубленного изучения закономерностей территориального распространения болезни и связи с факторами внешней среды. Активный поиск и детекция возбудителя псевдотуберкулеза в образцах почв представляет достаточно важную научно-исследовательскую и практическую задачу. При содержании возбудителя в образцах в низких концентрациях, при наличии некультивируемых форм традиционные микробиологические подходы недостаточно эффективны. Большое значение в этом случае приобретают новые молекулярно-генетические подходы детекции, основанные на специфическом обнаружении фрагментов генома микроорганизма. Высокая чувствительность (несколько микробных клеток в образце), специфичность, простота, скорость выполнения анализа, а также наличие доступных тест-систем делают ПЦР методом выбора для скрининговых и мониторинговых исследований, направленных на поиск возбудителя, как в биологическом материале, так и в объектах внешней среды.

Результаты исследований методом ПЦР представлены на рисунке 2. (1 – 30 – номера образцов; М – маркер молекулярного веса GeneRuler™ 100 bpDNA Ladders, Fermentas; К+ – положительный контрольный образец (527 п.о.); К- – отрицательный контрольный образец)

В исследованных образцах почв специфического генома возбудителя псевдотуберкулеза методом ПЦР не обнаружено. Учитывая высокую чувствительность ПЦР, а также то, что анализу предшествовал этап "холодового" обогащения, можно сделать вывод, что на момент исследования возбудитель псевдотуберкулеза в исследуемых почвах отсутствовал.

Выводы

1. Бактериологическими исследованиями из 104 проб крови овец и патологического материала было изолировано 32 культуры микроорганизмов, идентифицированных как *Y.pseudotuberculosis*.
2. Впервые на территории Байкальского региона была зарегистрирована псевдотуберкулезная инфекция среди овец.
3. Выявление серопозитивных на бруцеллез животных в стаде с длительным благополучием, невозможность при этом выделения культуры бруцелл являются индикатором циркуляции в организме животных возбудителя иерсиниоза.
4. При исследованиях почв методом ПЦР с предварительным "холодовым обогащением", наличие *Y.pseudotuberculosis* в пробах не выявлено, что требует более углубленного изучения распространения инфекции с учетом факторов окружающей среды.

Литература

1. Макаров В.В., Святковский А.В., Кузьмин В.А., Сухарев О.И. Эпизоотологический метод исследования: Учебное пособие. - СПб: Изд-во "Лань", 2009. - С. 16-17.
2. Mazel D. Agents of bacterial evolution // Nat Rev Microbiol. 2006. 4:608-620.
3. Барышников П.И. Природноочаговые инфекционные болезни

Таблица 1 - Биохимические свойства культур
Table 1 - Biochemical properties of microbial cultures

Наименование теста	Культуры		
	<i>Y.pseudotuberculosis</i>	<i>Y.pseudotuberculosis</i>	<i>Y.enterocolitica</i>
	Изолят	Контроль	
Рамноза	-	+	-
Сахароза	-	-	+
Целлюбиоза	-	-	-
Мелибиоза	-	+	-
Сорбоза	-	-	+
Сорбит	-	-	+
Рафиноза	+	+	-
Сероводород	-	-	-
Фенилаланин	+	-	-
Арбитол	-	+	+
Ксилоза	-	-	+
Мочевина	+	+	+
Аргинин	+	+	-
Орнитин	+	-	+
Каталаза	+	+	+
Оксидаза	+	-	-
Глюкоза	+	+	-
Арабиноза	+	+	+
Лизин	+	-	-
Уреаза	-	+	+
Цитрат Симонса	+	-	-
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	+	-
Адонит	-	-	-
Индол	-	-	-

животных в Алтайском крае: монография /П.И. Барышников, З.М. Резниченко, Г.А. Федорова, К.М. Андрейцев. - Барнаул: Изд-во АГАУ, 2013. - С. 10-17.

4. Кисленко В.Н. Общая и ветеринарная экология. М. 2006. С. 160-161.

5. Кирьянов Е.А. Природно-очаговые болезни животных. Владивосток, 1990. С. 202-208.

6. Багрянцев, В.Н. Потенциально патогенные бактерии в природе. М. 1989. С. 25-30.

7. Варвашевич Т.Н. Теоретическое обоснование потенциально-патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды. М. Гигиена и санитария. 1986. №10. С. 51-55.

8. Hawkey P.M. The changing epidemiology of resistance // J. Antimicrob Chemother. 2009. 64(1). 3-10.

9. Бердж Д. Определитель бактерий // Ред. Дж. Хоулта. - М.: Мир, 1997.

10. Сборник санитарных и ветеринарных правил. Санитарные правила 3.1.094-06. Профилактика и борьба с заразными болезнями животных. 1.1. Иерсиниозы. - М.: Госкомэпиднадзор России, 1996. - С. 176-188.

11. ГОСТ 17.4.3.01-83 (СТ СЭВ 3847-82) "Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб".

12. ГОСТ 17.4.4.02-84 "Охрана природы. Почва. Методы отбора и подготовки проб почвы для химического, бактериологического и гельминтологического анализа".

13. Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы N 2293-81. Утв. МЗ СССР 19.02.81.

Bibliography

1. Makarov V.V., Svyatkovsky A.V., Kuzmin V.A., Sukharev O.I. Epizootological method of the investigation: textbook. - SPb: Publishing House "LAN", 2009. - P. 16-17.

2. Mazel D. Agents of bacterial evolution // Nat Rev Microbiol. 2006. 4:608-620.

3. Baryshnikov P.I. Natural focal infectious diseases of animals in Altai region: monograph /P.I. Baryshnikov, Z.M. Reznichenko, G.A. Fedorova, K.M. Andreytsev. - Barnaul: Publishing of ASAU, 2013. - P. 10-17.

4. Kislenco V.N. General and veterinary ecology. - M., 2006. - P. 160-161.

5. Kiryanov E.A. Natural focal diseases of animals. - Vladivostok, 1990. - P. 202-208.

6. Bagryantsev V.N. Potentially pathogenic bacteria in nature. - M. 1989. - P. 25-30.

7. Varvashevich T.N. Theoretical substantiation of the potentially pathogenic microorganisms in environmental objects. - M.: Hygiene and sanitation, 1986. - No. 10. - P. 51-55.

8. Hawkey P.M. The changing epidemiology of resistance // J. Antimicrob. Chemotherapy. 2009. - 64(1). 3-10.

9. Berge D. Determinant of the bacteria // Ed. J. Holt. - M.: World, 1997.

10. Collection of the sanitary and veterinary rules. Sanitary rules 3.1.094-06. Prevention and control of the animal infectious diseases. 1.1. Yersiniosis. - M.: State Committee of Russia, 1996. - P. 176-188.

11. GOST 17.4.3.01-83 (ST SAV 3847-82) "Nature protection. Soil. General requirements for sampling".

12. GOST 17.4.4.02-84 "Nature protection. Soil. Methods of the sampling and preparation of the soil samples for chemical, bacteriological and helminthological analysis".

13. Methodological guidelines for sanitary-microbiological study of the soil N 2293-81. Approved. MINISTRY OF HEALTH OF THE USSR 19.02.81.