

УДК 636.09:616.98:579.62

ВИЯВЛЕННЯ ОЗНАК ПАТОГЕННОСТІ У ШТАМІВ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

Ушкалов А. В., Виговська Л. М., Мачуський О. В., Дерябін О. М., Бортнічук В. А.
Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,
м. Київ, Україна, e-mail: nstrains@mail.ru

Наведено результати вивчення патогенних властивостей культур *Yersinia pseudotuberculosis*, виділених з об'єктів ветеринарно-санітарного нагляду. Патогенні властивості визначали в досліджах на мурчаках, шляхом внутрішньошкірного та кератокон'юнктивального введення досліджуваних культур наступних штамів: *Yersinia pseudotuberculosis* №№ 20, 150, 631, 229, 197, 630, 755, 108, 213, 121, 369, 404, 477. У досліджених (100 %) штамів *Yersinia pseudotuberculosis* виявлено патогенні властивості, а саме – спроможність до спричинення кератокон'юнктивіту та некрозу шкіри у місці введення, з подальшим виділенням вихідної культури збудника з патологічного матеріалу.

Ключові слова: псевдотуберкульоз, біопроба, мурчаки.

Рід *Yersinia* включає 11 видів бактерій, з яких 3 види — являються збудниками інфекційних хвороб тварин і людини. Захворювання, зумовлені патогенними для людини та тварин *Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* відносяться до особливо небезпечних (*Y. Pestis*) та широко розповсюджених захворювань. Біологічне споріднення збудників псевдотуберкульозу й кишкового ієрсиніозу забезпечує подібність клінічних форм прояву захворювання [1, 2].

У мікроорганізмів, що відносяться до виду *Y. pseudotuberculosis* патогенність контролюється генами, розташованими на хромосомі, культури мають інвазивні та цитотоксичні властивості [3]. Тому виділення чистої культури та ідентифікація *Y. pseudotuberculosis* до певного серовару є підставою для постановки діагнозу на псевдотуберкульоз. Проте, в певних випадках (зокрема з метою розслідування епізоотичних спалахів, формування колекції штамів, тощо) існує необхідність для постановки біопроби та визначення патогенності [4].

Мета роботи. Вивчити патогенні властивості штамів *Yersinia pseudotuberculosis* з колекції Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ.

Матеріали та методи. У дослідженнях використовували штамів: *Yersinia pseudotuberculosis* № 20, № 150, № 631, № 229, № 197, № 630, № 755, № 108, № 213, № 121, № 369, № 404, № 477, які були виділені з об'єктів ветеринарно-санітарного нагляду. Використовували лабораторних тварин – мурчаків вагою 300–350 г. Патогенність досліджуваних штамів визначали за результатами дермонекротичної проби (внутрішньошкірне введення 0,5 мл добової бульйонної культури) та кератокон'юнктивальної проби (інтракон'юнктивального внесення у кон'юнктивальний мішечок 1 бактеріологічної петлі добової агарової культури). Спостереження за тваринами проводили 7–9 діб. Бактеріологічні дослідження з метою виділення вихідних культур з патологічного матеріалу проводили відповідно до МУ 5-1-14/971 [6].

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті проведених досліджень було виявлено ознаки патогенності у штамів *Yersinia pseudotuberculosis*. Так, встановлено, що введення добової агарової культури в кон'юнктивальну порожнину спричинює розвиток кератокон'юнктивіту у дослідних тварин. Зареєстровано розвиток гіперемії кон'юнктиви, набряк повік і звуження очної щілини протягом 48–72 годин, а в подальшому спостерігали серозно-гнійне витікання. Встановлено, що патогенну ознаку мали 100 % досліджених штамів *Y. pseudotuberculosis* (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати дослідження патогенних властивостей штамів *Yersinia pseudotuberculosis*

Назва та позначення штаму	Ознаки патогенності	
	Дермонекротична проба	Тест Шереня
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> № 20	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №150	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №631	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №229	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №197	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №630	+	+

Розділ 3. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №755	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №108	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №213	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №121	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №369	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №404	+	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> №477	+	+

Також, встановлено у 100 % досліджених штамів спроможність до індукції некрозу шкіри в місці внутрішньошкірного введення. Запалення шкіри реєстрували вже на третій день після введення, а з шостого дня утворювався абсцес та некроз уражених тканин (рис. 1).



Рис. 1. Некроз уражених тканин (8-а доба)

З метою підтвердження одержаних результатів, проводили бактеріологічні дослідження патологічного матеріалу (ексудат кон'юнктиви, некротизовані тканини) від дослідних тварин, який висівали на поживні середовища (МПБ, МПА), та проводили їх інкубування при 25 °С протягом 24 години з подальшим пересівом на селективне поживне середовища (агар Ендо), на якому після інкубації при 25 °С протягом 24 годин утворювалися колонії округлої форми, опуклі, блискучі з рівними краями, безбарвні зі злегка рожевим відтінком, діаметром від 0,1 до 1,0 мм, тобто спостерігали ріст вихідної культури *Y. pseudotuberculosis*.

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що за результатами дермонекротичної та кератокон'юнктивальної проби на мурчаках, було виявлено ознаки патогенності у штамів *Yersinia pseudotuberculosis* № 20, № 150, № 631, № 229, № 197, № 630, № 755, № 108, № 213, № 121, № 369, № 404, № 477. Необхідно зазначити, що ознаки патогенності було виявлено у штамів збудника псевдотуберкульозу в не залежності від джерела виділення. Важливо мати на увазі, що тварини, від яких було ізолювано *Y. pseudotuberculosis*, не мали клінічних ознак захворювання (тобто були безсимптомними носіями збудника).

Висновок. У результаті проведених досліджень отримано дані стосовно патогенності штамів *Y. pseudotuberculosis* № 20, № 150, № 631, № 229, № 197, № 630, № 755, № 108, № 213, № 121, № 369, № 404, № 477, які використано з метою розширення паспортних характеристик вказаних штамів з колекції Національного центру штамів ДНКІБШМ.

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення інших ознак патогенності *Yersinia spp.* та розробки засобів експрес-індикації ознак патогенності у штамів ієрсиній.

Список літератури

1. Руководство по инфекционным болезням [Текст] / Ред. Ю. В. Лобзина. - С-Петербург, «Фолиант», С. 2000. - 932
2. Данні з інтернет видання / Спосіб доступу <http://hvoroby-tvaryn.ru/>.
3. Бакулов И.А., Вишняков И.Ф., Власов Н.А. и др. Особо опасные болезни животных. Покров.: ВНИИВВиМ, 1998.
4. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2011 [Text] // The EFSA Journal. – 2011. – Vol. 3.5. – P. 117 -119.
5. *Yersinia enterocolitica*: Epidemiological Studies and Outbreaks [Електроний ресурс] // Journal of Pathogens Vol. 2011/ - Vol 2011 – P 4, 6 / Спосіб доступу <http://www.hindawi.com/journals/jpath/2011/239391>.
6. Методические указания по лабораторной диагностике иерсиниозов животных и обнаружение возбудителя болезни в мясном сырье и растительных кормах// Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии; ФГУ

- «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»; ЗАО «Инфамед»; Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, от 3 октября 2005 г. N 5-1-14/971
7. Диагностика иерсиниозов животных Учебное пособие, // А.А. Шевченко, О. Ю. Черных, Л.В. Шевченко, Г.А. Джаилиди, Д.Ю. Зеркалев. Е.А. Горпинченко, А.В. Скориков // Кубанский государственный аграрный университет // г. Краснодар, 2013, 27 с.
 8. Ветеринарная микробиология и иммунология: Учебник /Под ред. проф. Н. А. Радчука. - М. Агропромиздат 1991.
 9. Скородумов Д.И, В.В. Субботин, Сидоров М.А, Костенко Т.С. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных. – М.: ИзографЪ, 2005.

IDENTIFICATION PATHOGENIC PROPERTIES IN STRAIN YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Ushkalov A.V., Vigovska L.M., Machusky O.V., Deryabin O.M., Bortnichuk V.A.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and strains of microorganisms, Kyiv, Ukraine

The results of the study of the pathogenic properties of cultures Yersinia, isolated from objects veterinary and sanitary supervision. Pathogenic properties were determined in experiments on guinea pigs by intradermal administration of the test and keratokonyunktivalnogo cultures: 13 strains Yersinia pseudotuberculosis. In 13 strains of Yersinia pseudotuberculosis identified pathogenic properties – namely, the ability to induce keratoconjunctivitis and skin necrosis at the injection site, followed by isolation of the causative agent of the original culture pathological material .

Keywords: pseudotuberculosis, bioassay, guinea pig.