

УДК 619:616.98-036.22-07:579.852.13.083.1:636.22/28(477)

DOI 10.36016/VM-2020-106-7

## ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ ТА ПЕРЕБІГУ КЛОСТРИДІОЗІВ У ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2019 РОЦІ

**Дунаєв Ю. К., Гадзевич О. В.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [dunaev2975@gmail.com](mailto:dunaev2975@gmail.com)

**Дунаєва О. В.**

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

Метою роботи було проаналізувати поширення та етіологічну роль клостридій у спричиненні захворювань ВРХ в Україні. Дослідження проведені у 16 скотарських господарствах України впродовж 2019 року з використанням епізоотологічного, клінічного, патологоанатомічного, бактеріологічного та статистичного методів дослідження. Бактеріологічному дослідженню піддавали біологічний матеріал від ВРХ, хворої на респіраторну патологію, ендометрит, мастит, шлунково-кишкові захворювання, з патологією суглобів та копит. Ідентифікацію ізольованих культур здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи». За результатами досліджень було селекційоновано 3 епізоотичні культури *Clostridium perfringens*, вивчено їхні культурально-морфологічні та вірулентні властивості. Клострідії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназну активність, продукували гемолізину, володіли токсигенними властивостями, патогенними для тварин, були виділені у 35,8 % випадків (у 76 зразках біологічного матеріалу). *Clostridium perfringens* було ізольовано від 23 хворих на ендометрит і від 15 хворих на мастит корів, 14 тварин з респіраторною патологією, 20 тварин з патологією шлунково-кишкового тракту та від 4 тварин з патологією суглобів і копит. Виділені збудники клостридіозів були полірезистентними до антибактеріальних препаратів, зокрема до пеніцилінів, тетрациклінів, амфеніколів макролідів, аміноглікозидів та деяких хінолонів. *Clostridium perfringens* найменшу резистентність мала до енрофлоксацину та цефотаксиму. До метронідазолу були резистентними 48,1 % виділених культур, до офлоксацину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину — 59,2 % збудників клостридіозу. Установлено, що збудники клостридіозів є широко розповсюдженими у скотарських господарствах України та мають епізоотичне значення в етіології шлунково-кишкових захворювань. Захворюванню сприяють багато факторів, а вакцинація є не завжди ефективною

**Ключові слова:** *Clostridium perfringens*, велика рогата худоба, антибіотики

Клострідіози завжди були та залишаються актуальною проблемою як у гуманній, так і у ветеринарній медицині [1–6]. Захворювання часто характеризуються важким перебігом і несприятливим прогнозом. Діагностика утруднена, а засоби специфічної профілактики є не завжди ефективними через наявність великої кількості видів і серотипів клостридій [1, 2]. Бактерії *Clostridium perfringens*, які мають етіологічне значення в інфекційній патології як тварин, так і людей, продукують багато типів токсинів і спричиняють різні за характером прояви захворювань. Клострідії, які синтезують токсини типів А, В, С, D і Е можуть бути як етіологічним фактором токсикоінфекцій у телят, ягнят і поросят, так і збудником інфекційних захворювань, характерних для кожного виду тварин. Токсини *Clostridium perfringens* практично всіх типів можуть спричиняти харчові токсикоінфекції у людей і бути етіологічним чинником бактеріємії. Багато антибіотиків і засобів дезінфекції є природно неефективними проти клостридій, зокрема їхніх спорових форм. Більш того, дані щодо етіологічної ролі клостридій у патології тварин часто є суперечливими [2, 3] у зв'язку з тим, що більшість видів клостридій можуть входити до складу мікробіоценозу кишечника здорових тварин і людей, а звідки потрапляти та акумулюватися у

навколишньому середовищі, кормах, воді та ґрунті [1, 4]. Тому, інфекційні захворювання можуть бути ендogenous характеру, коли несприятливі умови посилюють розмноження та накопичення *Clostridium perfringens* у кишечнику. Наприклад, у результаті порушення гігієни годівлі (неповноцінному та раптовому зміні раціону) або умов утримання тварин, у разі використання кормів, контамінованих *Clostridium perfringens*, застосуванні антибактеріальних препаратів до яких збудники захворювань є нечутливими [1, 5].

Таким чином, метою нашої роботи було проаналізувати розповсюдження та етіологічну роль клостридій у спричиненні захворювань ВРХ.

**Матеріали та методи.** Використовували епізоотологічний, клінічні, патологоанатомічні, бактеріологічні та статистичний методи дослідження [6–10]. Дослідження проводили у 16 скотарських господарствах України. Бактеріологічному дослідженню піддавали біологічний матеріал від ВРХ, хворої на респіраторну патологію (n = 33), ендометрит (n = 49), мастит (n = 86), шлунково-кишкові захворювання (n = 28), з патологією суглобів і копит (n = 16). Для ізоляції клостридій робили посіви з серця, печінки, кісткового мозку, кишечника полеглих телят, з ексудату з піхви та молока від хворих корів. Для ізоляції чистої культури робили багатократні пересіви культур з використанням середовища Кіта-Тароци, Вільсон-Блера та селективних середовищ для виділення клостридій виробництва фірми «HiMedia» (Індія). Чашки Петрі та пробірки з посівами інкубували в анаеробних умовах за температури  $37 \pm 0,5$  °C від 24 до 72 год. З виділених мікроорганізмів робили мазки, фарбували за Грамом і мікроскопіювали. Характерні колонії, що виростили на селективному середовищі для виділення клостридій, відсівали на середовища Кіта-Тароци. У подальшому, для отримання чистої культури *Cl. perfringens* використовували метод багаторазових пересівів з використанням середовища Кіта-Тароци (упродовж декількох пасажів проводили 2–3 пересіви). В отриманих таким чином чистих культур клостридій вивчали цукролітичні, протеолітичні та вірулентні властивості. Біохімічні властивості *Cl. perfringens* вивчали на середовищах Гіса з відповідними цукрами та 0,02 %-ю амінокислотою цистеїну. Ідентифікацію ізольованих культур здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи» [8]. Патогенні властивості визначали на морських свинках, яким підшкірно вводили 0,5 см<sup>3</sup> 24-годинної бульйонної культури *Cl. perfringens* з концентрацією  $1 \times 10^6$  м. т. Якщо культура була патогенною, то впродовж 5 діб спостерігали загибель тварин з ознаками інтоксикації та сепсису. З паренхіматозних органів від загиблих тварин робили посіви та виділення *Cl. perfringens*. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 7.0 [9, 10].

**Результати досліджень.** Клостридії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназну активність, продукували гемолізину, мали токсигенні властивості, патогенні для тварин були виділені в 76 зразках біологічного матеріалу (35,8 % випадках). *Cl. perfringens* було ізольовано від 23 хворих на ендометрит (46,9 % випадках) та від 15 хворих на мастит корів (17,4 %), 14 тварин з респіраторною патологією (42,4 %), 20 тварин з патологією шлунково-кишкового тракту (71,4 %) та від 4 тварин з патологією суглобів та копит (25,0 %) (рис.).

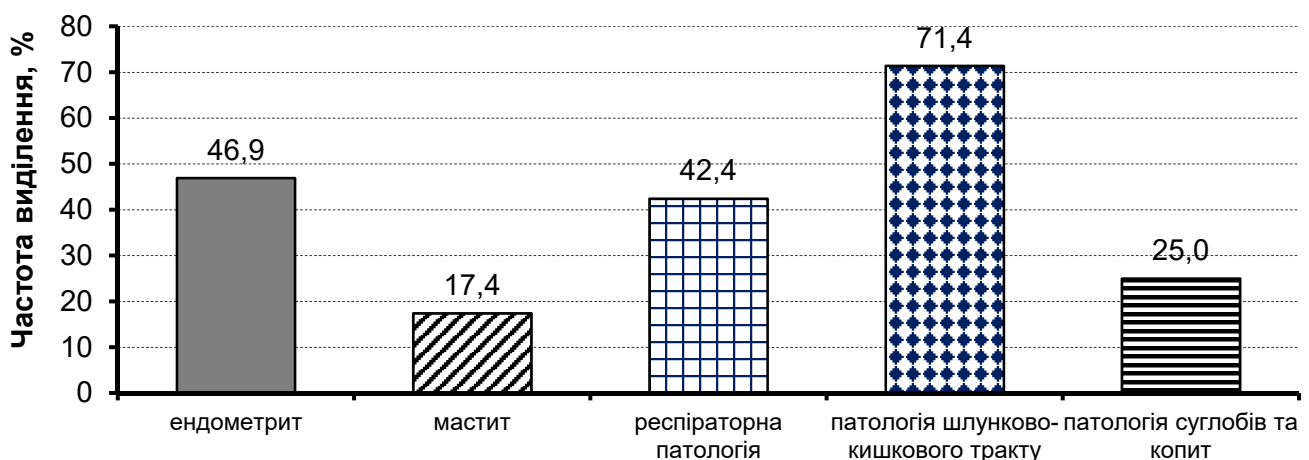


Рис. Частота виділення *Cl. perfringens* з біологічного матеріалу від ВРХ (n = 212).

Високий рівень захворюваності телят і корів у господарствах співпадав з порушенням ветеринарно-санітарних вимог утримання тварин (7 господарств, 43,7 % випадків), відсутністю системного підходу до лікування тварин (10 господарств, 62,5 % випадків), використанням неякісних кормів для відгодівлі (6 господарств, 37,5% випадків), наявністю порушення обміну речовин та імунodefіцитів у тварин, зокрема зрушення лужного резерву в бік ацидозу (11 господарств, 68,7% випадків). Три господарства (18,7% з усіх обстежених) були стаціонарно неблагополучними з клостридіозу, характеризувалися високим рівнем захворюваності, бактеріоносійством серед тварин та всіма перерахованими факторами, які сприяли виникненню та поширенню захворювання. Застосування вакцинації у цих господарствах було малоефективним.

Виділені збудники клостридіозів були полірезистентними до антибактеріальних препаратів, зокрема до пеніцилінів, тетрациклінів, амфеніколів макролідів, аміноглікозидів та деяких хінолонів. *Cl. perfringens* найменшу резистентність мала до енрофлоксацину та цефотаксиму. До метронідазолу були резистентними 48,1 % виділених культур, до офлоксацину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину — 59,2 % збудників клостридіозу.

За результатами досліджень було селекційоновано 3 епізоотичні культури *Clostridium perfringens*, вивчено їхні культурально-морфологічні та вірулентні властивості (табл.).

Таблиця — Біологічні властивості *Clostridium perfringens*

№	Характеристика показників	Позначення штамів <i>Clostridium perfringens</i>			
		№ 8	T164	№ 13	
1	Патогенність для лабораторних тварин	Загибель упродовж 48 год	Загибель упродовж 48 год	Загибель упродовж 48 год	
2	Лецитіназа	+	+	+	
3	Гемолізину	+	+	+	
4	Наявність токсинів	+	+	+	
	Альфа-токсин	+	+	Не визначали	
	Ентеротоксин	+	+	Не визначали	
	Бета-токсин	–	–	Не визначали	
5	Утворення кислоти (К) та газу (Г) з	арабінози	–	–	
6		інозитулу	+(К)	+(К)	–
7		ксилози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
8		цукрози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
9		сорбітолу	+(КГ)	+(КГ)	–
10		мальтози	+(К)	+(К)	+
11		манітолу	–	–	–
12		рамнози	–	–	–
13		глюкози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
14		лактози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
15		манози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
16		дульцитулу	–	–	–
17	Проведення молекулярно-генетичного аналізу. Визначення родових та видових ознак, підтвердження наявності токсинів	+	+	–	

**Висновки.** 1. Установлено, що збудники клостридіозів є широко розповсюдженими у скотарських господарствах України та мають етіологічне значення за шлунково-кишкових захворювань (71,4 % від загальної кількості випадків), пневмоній (42,4 %), ендометритів (46,9 %), маститів (17,4 %). Захворюванню сприяють багато факторів, а засоби специфічної профілактики у стаціонарно неблагополучних щодо клостридіозу господарствах є малоефективними.

2. Клостридії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназу активність, продукували гемолізину, володіли токсигенними властивостями, патогенними для тварин, були виділені у 35,8% випадків (у 76 зразках біологічного матеріалу).

**Перспективи подальших досліджень.** Так як клостридіози залишаються актуальною проблемою у скотарських господарствах України, виділені культури можна буде використати для подальших наукових досліджень, зокрема для розробки імунобіологічних препаратів. Тому в майбутньому планується вивчити етіопатогенез захворювання та селекціонувати епізоотичну культуру *Clostridium perfringens*, що дасть можливість удосконалити лікувально-профілактичні засоби та заходи боротьби з клостридіозами.

#### Список літератури

1. Терентьева Т. Е. и др. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2016. № 1. С. 5–8. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25506030>.
2. Бусол В. О. та ін. Еволюція патогенності *Clostridium chauvoei*. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18, № 2. С. 24–29. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvlvet6606>.
3. Savva C. G. et al. The pore structure of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. *Nature Communications*. 2019. Vol. 10, No. 1. P. 2641. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10645-8>.
4. Rumah K. R. et al. The myelin and lymphocyte protein MAL is required for binding and activity of *Clostridium perfringens* ε-toxin. *PLoS Pathogens*. 2015. Vol. 11, No. 5. P. e1004896. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004896>.
5. Wagley S. et al. Evidence of *Clostridium perfringens* epsilon toxin associated with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 2019. Vol. 25, No. 5. P. 653–660. DOI: <https://doi.org/10.1177/1352458518767327>.
6. Головка А. Н. и др. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справ. пособие. Харьков: HTMT, 2007. 512 с.
7. Биргер М. О. и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е изд. Москва: Медицина, 1982. 464 с.
8. Rainey F. A., Hollen B. J., Small A. Genus I. *Clostridium* Prazmowski 1880. In: *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology*. 2 ed. New York: Springer, 2009. Vol. 3: The Firmicutes. P. 738–828. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>.
9. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Государственное издательство медицинской литературы, 1962. 177 с.
10. Закс Л. Статистическое оценивание. Москва: Статистика, 1976. 598 с.

#### FEATURES OF THE SPREAD AND COURSE OF CLOSTRIDIOSES IN LIVESTOCK FARMS OF UKRAINE IN 2019

**Dunaiev Yu. K., Hadzevych O. V.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

**Dunaieva O. V.**

*Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine*

*The aim of the study was to analyze the prevalence and etiological role of clostridia in causing cattle diseases in Ukraine. The research was conducted in 16 livestock farms of Ukraine during 2019 using epizootological, clinical, pathological, bacteriological, and statistical research methods. Bacteriological examination was performed on biological material from cattle with respiratory pathology, endometritis, mastitis, gastrointestinal diseases, with pathology of joints and hooves. Identification of isolated cultures was performed by the tests recommended in the "Bergey's Manual of Systematics Bacteriology". According to the research results, 3 epizootic cultures of *Clostridium perfringens* were selected, their cultural-morphological and virulent properties were studied. Clostridia, which had pathogenic factors, in particular lecithinase activity, produced hemolysins, had toxigenic properties, pathogenic for animals, were isolated in 35.8% of cases in 76 samples of biological material. *Clostridium perfringens* was isolated from 23 animals with endometritis and 15 animals with mastitis in cows, 14 animals with respiratory pathology, 20 animals with gastrointestinal pathology and from 4 animals with joint and hoof pathology. The isolated pathogens of clostridiosis were polyresistant to antibacterial drugs, in particular to penicillins, tetracyclines, amphenicols, macrolides, aminoglycosides and some quinolones. *Clostridium perfringens* had the lowest resistance to enrofloxacin and cefotaxime. 48.1% of isolated cultures were resistant to metronidazole, and 59.2% of clostridiosis pathogens were resistant to ofloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, and levofloxacin. It has been established that the causative agents of clostridiosis are widespread in livestock farms of Ukraine and have epizootic significance in the etiology of gastrointestinal diseases. Many factors contribute to the disease, and vaccination is not always effective*

**Keywords:** *Clostridium perfringens*, cattle, antibiotics