

УДК 619:616-08+619.1:616.9(574)

ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА КОБЫЛ

Султанов А.А., Мусаева А.К., Егорова Н.Н., Досанова А.К.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алма-Ата,
e-mail: kaznivialmaty@mail.ru

В статье рассматриваются вопросы диагностики и профилактики сальмонеллезного аборта кобыл. Приводятся результаты исследований по изучению культурально – морфологических, биохимических и антигенных свойств эпизоотических штаммов сальмонелл, выделенных от абортированного плода кобыломатки.

Ключевые слова: сальмонеллез, кобыла, диагностика

DIAGNOSTICS AND PROPHYLACTICS OF SALMOLLESI ABORTION OF MARES

Sultanov A.A., Mussaeva A.K., Yegorova N.N., Dosanova A.K.

In the article it was adduced the results of investigations of pathological material abortus of mare and questions of diagnostics and preventive maintenance salmonellosis abortion of mares are resulted. On the grounds of clinical-and-epizootological data, bacteriological, biochemical investigations from the foal abortus it was defined the Salmonella abortus equi the pathogen of salmonellosis abortion of mares.

Keywords: salmonella, mare, diagnosis

В статье рассматриваются вопросы диагностики и профилактики сальмонеллезного аборта кобыл, который часто регистрируется на территории Казахстана. Мониторинговыми исследованиями установлено, что с 2010 по 2015 годы выход жеребят на 100 голов кобыломаток стабильно снижается. С целью выяснения причины снижения рождаемости жеребят, изучена эпизоотическая ситуация по сальмонеллезному аборту кобыл в хозяйствах Алматинской области. При вспышках болезни проводили выделение возбудителя инфекции от абортплодов кобыл. Приводятся результаты исследований по изучению культурально – морфологических, биохимических и антигенных свойств эпизоотических штаммов сальмонелл, выделенных от абортированных плодов кобыломаток. Авторами описаны биологические свойства аттенуированного вакцинного штамма, на основе которого изготавливается безопасная, высокоиммуногенная вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл. Вакцина прививается жеребым кобылам однократно, продолжительность иммунитета – один год.

Цель – выделение культур из абортированных плодов кобыл, их идентификация на основании изучения биологических свойств, разработка методов специфической профилактики сальмонеллезного аборта кобыл.

Сальмонеллезный аборт кобыл одна из распространенных инфекционных болезней лошадей, наносящая значительный экономический ущерб коневодству республики. Коневодство в Республике Казахстан является важнейшей отраслью животноводства

в силу исторически сложившихся условий. В настоящее время по численности поголовья лошадей (1 700 000 гол.) республика занимает одно из первых мест в СНГ. Одной из важнейших мер и основным направлением экономического развития республики является повышение эффективности научных исследований, сокращение сроков внедрения достижений науки в производство. Возникновение, распространение и течение сальмонеллезного аборта кобыл зависят от состояния иммунологической реактивности животных, так как в табунном коневодстве жеребые кобылы являются наиболее зависимыми от факторов внешней среды. В литературе этот вопрос освещен слабо и имеются лишь единичные сообщения об изучении естественной резистентности лошадей [1]. Экономический ущерб складывается из потери воспроизводительной способности конематок, недополучения приплода, снижения продуктивности кобыл и выбраковки животных. Разработка эффективного и экономически обоснованного способа специфической профилактики сальмонеллезного аборта кобыл в республике остается актуальной проблемой ветеринарной науки и практики. Для профилактики сальмонеллезного аборта кобыл имеется аттенуированный коллекционный штамм *Salmonella abortus – equi* E-841. Вакцинный штамм B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 не способен вызывать болезнь, но сохранил свойство обуславливать выработку напряженного иммунитета к инфекции. Профилактика сальмонеллезного аборта кобыл основана на вакцинации жеребых кобыл.

Сальмонеллезный аборт кобыл – распространенная болезнь жеребых кобыл, сопровождающаяся преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода. Возбудитель *Salmonella abortus-equi* открыт в 1893 году Smith и Kilborne в Америке, в 1901 году Д.В. Поляковым в России. В литературе иногда встречается под названием *Salmonella abortiva-equina* (синоним) [2]. Аборты могут принимать массовый характер, в табуне абортируют до 80% кобыл. У больных сальмонеллезом кобыл изредка рождаются больные жеребята, у которых болезнь сопровождается бактериемией, тяжелым токсикозом, истощением, приводящим к гибели. Первые сведения по эпизоотологии болезни в республике были опубликованы в 1940 и 1950 годах, из которых вытекает, что инфекционные аборты среди кобыл в Казахской ССР регистрировались с начала 30-х годов прошлого века. В разные годы аборты кобыл достигали 6 – 30%, из них свыше 50% сальмонеллезной этиологии. В 1970 и 1971 годах в хозяйствах республики регистрировались массовые аборты сальмонеллезной этиологии: так в Енбекши-Казахском районе Алматинской области аборты отмечены у 44% конематок, Нарынколском районе – 20-40%; Чиликском районе – 30% конематок абортывало; Аксуском районе Талды-Курганской области – 43%; Капальском и Каратальском районах отмечались аборты сальмонеллезной этиологии. В 1969 – 1974 годах аборты отмечались в хозяйствах Восточно-Казахстанской (около 40%), Жамбылской (20%), Кызылординской (до 25%) областях. В 1981 году в хозяйствах Мангыстауской области из 1000 кобыл абортывало 384 (38, 4%). В декабре 1985 года в Атырауской области из 260 жеребых кобыл абортывало 155 (59, 5%).

В настоящее время в связи с тем, что основное поголовье лошадей от общего числа в республике сосредоточено в личных подворьях граждан и фермерских хозяйствах, возросла актуальность профилактики сальмонеллезного аборта кобыл, а также ведения статистического учета заболеваемости [3]. Мониторинговыми исследованиями установлено, что с 2010 по 2015 годы выход жеребят стабильно снижается – 59/100; 56/100; 53/100; 50/100; 45/100 голов кобыломаток соответственно. С целью выяснения причины такого снижения рождаемости жеребят нами изучена эпизоотическая ситуация по сальмонеллезному абарту кобыл в хозяйствах Алматинской области. При вспышках болезни проводили выделение возбудителя инфекции от плодов абортывавших кобыл.

В Алматинской области расположены 16 районов, во всех районах области разводят лошади, в том числе племенные.

На 10 июля 2015 г. в области содержатся 288592 головы лошадей. Наибольшее количество животных сосредоточено в частных подворьях населения (641 836 голов). В хозяйствах населения области находятся 150720 голов лошадей, в крестьянских и фермерских хозяйствах находятся 143404 головы, а в сельхозпредприятиях содержится 16 500 голов лошадей. Выход жеребят по области на 100 кобыломаток составляет не более 50. Ситуация осложняется тем, что наибольшее количество лошадей сосредоточено в хозяйствах и частных подворьях населения, где не ведется учет заболеваемости животных. Частные владельцы зачастую скрывают случаи абортов у кобыл.

В 2015 году в Алматинской области получено 64915 жеребят. Наибольшее количество лошадей находится в Кербулакском, Жамбылском и Райымбекском районах. Однако в них выход жеребят в среднем составляет 45%. Например, в Енбекши-Казахском районе в текущем году получено 2281 жеребенок, что составляет всего 34%, в Кербулакском районе в текущем году получено 3978 жеребят, что составляет всего 41%, в Жамбылском – 45%, в Саркандском районе – 43%, в Балхашском районе – 52%, в Райымбекском – 56%. В связи с тем, что основное поголовье лошадей от общего числа в республике сосредоточено в личных подворьях граждан и фермерских хозяйствах, возросла актуальность профилактики сальмонеллезного аборта кобыл, а также ведения статистического учета заболеваемости [4].

Материалы и методы исследования

В январе – феврале 2014 года для диагностических исследований поступило 9 абортыванных плодов кобыломаток, принадлежащих частным фермерским хозяйствам (К/Х «Бес-Агаш» и К/Х «Курты-Саяхат») Алматинской области. Кобыломатки абортывали в стадии глубокой жеребости, все плоды были сформированы, имели шерстный покров и копыта. В лаборатории генофонда микроорганизмов и в последующем в бактериологическом отделе Института нами выделены эпизоотические штаммы *Salmonella abortus-equi* из абортыванных плодов кобыломаток. Для выделения культур и изучения их культуральных свойств от абортплодов кобыл исследовали паренхиматозные органы с учетом наибольшей локализации сальмонелл (печень, лимфатические узлы, селезенку, измененные участки легких, почку, трубчатую кость с костным мозгом), проводили посевы жидкие, плотные и дифференциально-диагностические питательные среды: МПБ, МПА, МПЖ, на висмут-сульфитный агар, среды Эндо и Клигlera. У выделенных культур сальмонелл изучали тинкториальные и морфологические свойства путем окрашивания по Граму и микроскопированием мазков. Биохимические свойства определяли по способности сальмонелл ферментировать углеводы в среде Гисса. Подвижность микробов определяли по росту на полужидком агаре (ПЖА). Для выявления протеолитической способности испытываемые

штаммы засевали на МПЖ. Культуры, типичные для сальмонелл, не ферментирующие лактозу и сахарозу, не образующие индола, испытывали в реакции агглютинации на стекле сначала с поливалентной сальмонеллезной сывороткой серологических групп А, В, С, Д и Е. Антигенную структуру тестируемых штаммов сальмонелл изучали с монорецепторными О- и Н- агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками (использовали сыворотки производства Краснодарской биофабрики и Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток и предприятия по производству бактериальных препаратов). При положительной реакции определяли принадлежность сальмонелл к серологической группе с помощью О-агглютинации сывороток соответствующих групп, а затем с монорецепторными Н-сыворотками диагностику доводили до типа.

Отбор проб из паренхиматозных органов аборт-плода кобылы приведен на рис 1.

Результаты исследования и их обсуждение

Диагностика заболевания осуществляется на основании клинико-эпизоотологических, патологоанатомических данных, а также результатов бактериологического и серологических исследований. Посевы из патологического материала делали на МПА, МПБ, среды Клигера и Эндо, висмут – сульфитный агар из печени, сердца, селезенки, костного мозга из бедренной кости плода. От всех абортированных плодов выделили культуру сальмонелл, которую затем дифференцировали по культурально – морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам [4]. На питательных средах отмечался обильный рост сальмонелл. На МПА росли круглые, блестящие,

выпуклые влажные колонии с голубоватым оттенком, на среде Клигера – ярко-желтые круглые колонии, на агаре Эндо – типичные колонии светло-розового цвета, на висмут-сульфитном агаре – бесцветные блестящие колонии. При микроскопии окрашенных по Граму мазков наблюдались полиморфные грамотрицательные мелкие палочки с закругленными концами. Культура агглютинировалась в РА (реакции агглютинации) на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики. Все выделенные культуры агглютинировались сыворотками О – IV (++++), XII (+++), Н – enx (++++ [5].

При посеве культур уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Выделенные культуры идентифицировали методом изучения биохимических свойств путем культивирования на среде Гисса. Все культуры были идентичны и не изменяли инозит, глицерино – фулкиновый бульон, раффинозу, салицин; сероводород не образовывали (этот признак отличает *Salmonella abortus-equi* от других сальмонелл) и не продуцировали индола; ферментировали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу, галактозу. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засевали на МПЖ. В пробирках, где под действием ферментов бактерий происходил протеолиз желатина, среда разжижалась. При постановке биопробы на белых мышах гибель животных наступала на 3-4 сутки после заражения.



Рис. 1. Отбор проб от абортплода кобылы для бактериологических исследований

На основании клинико-эпизоотологических данных, изучения культурально – морфологических, тинкториальных, биохимических и антигенных свойств выделенные эпизоотические штаммы сальмонелл отнесены к *Salmonella abortus-equi*. Во всех случаях возбудителем аборта у кобыл являлась *Salmonella abortus-equi*. По культурально – морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам штаммы были идентичны выделенным эпизоотическим изолятам сальмонелл, выделенным ранее и эталонному коллекционному штамму *Salmonella abortus-equi* 7/1.

Проводили электронную микроскопию сальмонеллезной культуры, приготовленную из суточной агаровой культуры *Salmonella abortus-equi*. Бактериальную взвесь (концентрация 500 млн микробных клеток/см³ по оптическому стандарту ГИСК (Государственный институт стандартизации и контроля им. Л.А. Тарасевича) наносили пастеровской пипеткой на парафин в чашке Петри. При нанесении на парафин капля взвеси принимала округлую форму и не растекалась (всего 2–3 капли). Затем методом флотации погружали специальную золотистую сеточку в каплю суспензии сальмонелл на 1 минуту. Чашку Петри с сеточкой, на которой находилась бактериальная взвесь, закрывали на 24 часа и оставляли для высушивания. Через сутки капля микробной суспензии высыхала. Высохшую каплю контрастировали следующим образом: через сутки на парафин в чашке капали каплю контрастера – 2% раствор фосфорно – вольфрамовой кислоты (ФВК) пастеровской пипеткой, сеточку топили в капле подложкой вверх. Контрастировали 1,5–2 минуты. Затем сеточку пинцетом аккуратно вынимали, удаляли лишнюю жидкость прикосновением фильтровальной бумаги. Сеточку промывали от контрастера дистиллированной водой из шприца (очень осторожно). Сеточку с бактериальной взвесью сушили в контейнере 7 суток. После высушивания препарат был готов для просмотра под электронным микроскопом.

Электронный снимок *Salmonella abortus-equi* представлен на рис. 2.

На рис. 2 представлена бактериальная клетка из одного клона (популяция из одной клетки без предварительной конъюгации). Стационарная фаза. На цельной клетке сальмонелл виден обрывок перитрихияльно расположенного жгутика. Также видна трехслойная клеточная мембрана (наружный слой клеточной стенки). В центральной части клетки расположен нуклеоид большой величины. Зона нуклеоида заполнена фибриллярным компонентом. Вблизи

нуклеоида локализованы клеточные включения округлой формы. Включения имеют мелкозернистое строение и ограничены от цитоплазмы мембраной. По всей цитоплазме расположены мелкие внутриклеточные включения. Увеличение $\times 80\,000$.



Рис. 2. Электроннограмма штамма *Salmonella abortus-equi*

Таким образом, выделенная культура сальмонелл была идентифицирована как *Salmonella abortus-equi*.

Профилактика Патентный поиск показал, что в Америке и в странах Европы не разработаны и не применяются вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл. В Якутии применяется инактивированная формолквасцовая инактивированная вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл с иммуномодулятором, адаптированная для местной породы лошадей [6, 7]. В Якутии также разработана и применяется ассоциированная убитая вакцина против ринопневмонии и сальмонеллезного аборта кобыл [8, 9]. Для повышения эффективности ассоциированной вакцины и повышения иммунобиологической реактивности организма к вакцине в качестве иммуномодулятора добавляют культуральную жидкость бульонной культуры штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 ДЕП, выделенного из мерзлотно-переходной почвы [9]. Нами разработана и успешно апробирована на жеребых кобыломатках вакцина сухая живая против сальмонеллезного аборта кобыл из штамма *Salmonella abortus – equi* E-841. Вакцинный штамм был получен методом отбора клонов, аттенуированных под влиянием химического мутагена- нитрофуранов с последующей селекцией мутантов. Штамм В-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 утратил abortогенные свойства, имеет умеренную остаточную вирулентность (вирулентность штамма снижена в 20 раз по сравнению с природным прототипом), обладает высокой иммуногенностью. Вакцинный аттенуированный штамм обладает типичными

для *Salmonella abortus – equi* культуральными, биохимическими и антигенными свойствами. Существенным отличием штамма B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 от вирулентного прототипа является аукоотрофность в отношении тиамина и никотиновой кислоты; штамм образует аргинин – декарбоксилазу и слабо – лизин–декарбоксилазу.

Вакцинный штамм B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 депонирован нами в Республиканской коллекции микроорганизмов (РКМ) в Национальном референтном центре по ветеринарии (коллекционный номер B-0088), г. Астана. В РКМ депонирован также контрольный (вирулентный) штамм *Salmonella abortus – equi* коллекционный номер B-0099), выделенный нами из абортрованного плода – жеребенка в 2005 году в Алматинской области. Штамм применяется для контроля иммуногенной активности вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл.

Вакцинный аттенуированный штамм сохраняет слабую остаточную вирулентность и не реверсирует при пассировании на восприимчивых животных (белые мыши, куриные эмбрионы). Утрата штаммом абортотропных свойств подтверждается опытами вакцинопрофилактики лиофилизированной культурой глубоко жеребых кобыл (за 2-3 месяца до выжеребки) в дозе 1,2–1,5 млрд живых м. к. (микробных клеток). Вакцинация жеребых кобыл в период 4-7 месячной жеребости проводится с профилактической целью однократно. Жеребят и молодняк прививаются по показаниям. Вакцина сообщает привитым животным иммунитет высокого напряжения. Поствакцинальная реакция у лошадей характеризуется образованием агглютининов в высоких титрах (1: 3200) и повышением количества лейкоцитов в крови.

Местная реакция проявляется в виде болезненного отека на месте введения вакцины, который рассасывается в течение 3-5 суток. Общая реакция у части кобыл характеризуется кратковременным повышением температуры и умеренным угнетением в течение первой половины суток. Аппетит у всех животных в период наблюдения сохраняется.

Вакцинальная культура высевается из органов и крови белых мышей в течение 20 суток, из селезенки и лимфатических узлов до 25 суток; от морских свинок в течение двух недель. Подкожная иммунизация морских свинок не вызывает микроскопических изменений. Сухая вакцина

соответствует современным отечественным и международным стандартам: малые дозы, умеренная реактогенность, высокая иммунизирующая активность, экономичность, эффективность, удобство при транспортировке.

Отзывы специалистов опытных хозяйств свидетельствуют о безопасности и высокой эффективности вакцинации жеребых кобыл.

Заключение

На основании бактериологических, биохимических, серологических (антигенной структуры) исследований культур, выделенных из абортплодов кобыломаток, установлено, что причиной абортов у кобыл явился сальмонеллезный аборт кобыл, вызванный *Salmonella abortus-equi*. Систематические прививки живой вакциной из штамма B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 обеспечивают защиту животных от абортов сальмонеллезной этиологии, увеличивают выход жеребят, надой молока, в результате чего хозяйства получают большой экономический эффект. Вакцина в 100% случаев защищает опытных кобыл от сальмонеллезного аборта. Иммунитет у привитых животных сохраняется в течение года.

Список литературы

1. Матвиенко Б.А. Характеристика живой сухой вакцины против паратифозного аборта кобыл из штамма E-841 // Вестн. с.-х. науки Казахстана. 1973. – № 4. – С. 107–110.
2. Юров К.П., Амирбеков М.А. Поствакцинальный иммунитет при вакцинации у жеребых кобыл // Тр. ВИЭВ. Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии. 1984. – Т. 61. – С. 72–76.
3. Матвиенко Б.А., Бияшев К.Б., Жанузаков Н.Ж. Вакцинопрофилактика сальмонеллезного аборта кобыл // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 1977. – № 5. – С. 77–80.
4. Шустер Б.Ю. Вакцины из аттенуированных штаммов сальмонелл: дисс....докт. Вет. наук. – М.: 1988. – С. 103–115.
5. Определитель Bergey's Manual of Systematic Bacteriology /Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005, Volum 2. Part B. p. 764–799.
6. Бутковский В.Ф., М.П. Неустроев и др. Профилактика и лечение болезней лошадей в Якутской АССР: Методические рекомендации. – Якутск, 1987. – 12 с.
7. Бутковский В.Ф. Изучение сальмонеллеза лошадей в Республике Саха (Якутия) // Эпизоотология и профилактика болезней животных в условиях Якутии. – Новосибирск, 1994. – С. 28–34.
8. Петрова С.Г. Иммунопрофилактика абортов лошадей сальмонеллезной и ринопневмонийной этиологии в условиях Якутии: Автореферат дисс....канд. Вет. наук. – Якутск, 2006. – С. 23–25.
9. Неустроев М.П., Тарабукина Н.П. Разработка новых ветеринарных препаратов в условиях крайнего севера // Эпизоотология и профилактика болезней животных в условиях Якутии. – Новосибирск, 1994. – С. 41–45.