

УДК: 619.616.98.579.843.1:636.2: 636.4: 636.3:636.5

DOI : 10.17238/issn2072-2419.2021.3.15

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ

В.А. Кузьмин, д.в.н., профессор ORCID0000-0002-6689-3468, А.А. Сухинин, д.б.н., профессор orcid.org/0000-0002-1245-3440, С.А. Макавчик, к.в.н., доцент orcid.org/0000-0001-5435-8321, Д.А.Орехов, к.в.н., доцент ORCID 0000-0002-7858-1947, А.В. Цыганов к. пед. н., доцент, магистр ветеринарно-санитарной экспертизы ORCID 0000-0003-2994-6257, В.А.Гришина, ветеринарный врач. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кампилобактерии, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, птица, бактерионосительство, идентификация, эпидемиологические риски. **Key words:** campylobacter, cattle, pigs, sheep, poultry, bacterial carrier, identification, epidemiological risks.



РЕФЕРАТ

Кампилобактериоз – зоонозная инфекционная болезнь животных и человека, характеризуется различной степенью тяжести и полиморфностью проявлений: репродуктивной патологией, поражением желудочно-кишечного тракта, у людей – токсикоинфекцией. Цель работы – выявление эпизоотологической и эпидемиологической роли отдельных видов и подвидов патогенных кампилобактерий в инфекционном процессе у продуктивных животных. Работу в течение 12 лет проводили в животноводческих и птицеводческих хозяйствах на территории СЗФО РФ. Диагноз устанавливали на основании комплексных эпизоотологических, бактериоскопических, бактериологических, серологических, молекулярно-биологических исследований. Сезонность в заболевании кампилобактериозом при промышленной технологии содержания животных и птицы не установлена. При бактериологическом исследовании 4163 смешанных культур от КРС, овец, свиней, птицы выделено 67,59 % чистых культур кампилобактерий. Максимальный удельный вес носительства кампилобактерий, в среднем, выявлен у птицы – 79,49 % и КРС – 71,79 %; у свиней – 63,62 %, у овец – 52,61 %, соответственно. Установлена циркуляция у животных двух патогенных подвидов кампилобактерий в инфекционном процессе, обуславливающих эпидемиологические риски: *C. jejuni sbsp. jejuni* с максимальным уровнем у птицы — 79,03 % и *C. fetus sbsp. fetus*, соответственно, у овец — 46,79 %. ПЦР с использованием отечественной тест-системы "КАМ-БАК" выявила высокую специфичность для ДНК кампилобактерий от крупного рогатого скота подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*. Целесообразно создание базы данных по патогенным кампилобактериям и обмен информацией между ветеринарной и медицинской службами для осуществления надзора за этим зоонозом.

ВВЕДЕНИЕ

Кампилобактериоз (Campylobacteriosis, Vibriosis) — острая зоонозная инфекционная болезнь животных многих видов. Вызывается патогенными кампилобактериями, проявляется в основном поражением половых органов,

вагинитами, частыми перегулами, временным бесплодием, массовыми абортными, метритами, задержанием последа, рождением нежизнеспособного потомства, также поражением кишечника, печени; у кур – гепатитом, снижением прироста массы тела цыплят-бройлеров, яйце-

носкости кур-несушек, падежом цыплят. У человека болезнь проявляется токсико-инфекцией с преимущественным поражением ЖКТ, а у людей с ослабленным иммунитетом — генерализованным (септицемическим) процессом. Распространение кампилобактериоза вызвано интенсификацией животноводства, птицеводства, возросшей международной торговлей животными, птицей, кормами, продуктами животного происхождения. По своей распространенности кампилобактериоз не уступает сальмонеллезу [2,7,11].

Согласно современной классификации и номенклатуре бактерий возбудителей данной болезни относят к роду *Campylobacter*. Род *Campylobacter* включает в себя более 20 видов, из которых наибольшее значение в патологии животных и человека имеют *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, реже *C. lari(dis)*, *C. sputorum*, *C. concisus* и др. Внутри вида *C. fetus* различают два подвида: *C. fetus subsp. venerealis* и *C. fetus subsp. fetus*. В антигенном отношении кампилобактеры неоднородны, их антигенная структура представлена О-, К-, Н-антигенами и выявлена антигенная связь с бруцеллами. Кампилобактерии в процессе своей жизнедеятельности продуцируют энтеро- и цитотоксины. При разрушении клеток эти бактерии выделяют эндотоксины, вызывающие диарейный, болевой и интоксикационный синдромы [5,7].

Болезнь зарегистрирована в РФ и многих странах мира. Эпизоотические вспышки обуславливают значительный экономический ущерб за счет повторных осеменений, увеличения сроков сервис-периода, недополучения приплода и молока, аборт, финансовых затрат для осуществления противоэпизоотических мероприятий.

В естественных условиях чаще заболевают КРС и овцы, реже — свиньи, козы и куры. Основным источником возбудителей у КРС (*C. fetus ssp. venerealis*, *C. fetus ssp. fetus* и *C. jejuni*) — инфицированные быки-производители с пожизненным сохранением данных микробов в органах репро-

дуктивного тракта и выделяющие их с секретом предстательной железы, спермой и препуциальной слизью. Важное значение в эпизоотологии кампилобактериоза имеет технология воспроизводства стада с искусственным осеменением или вольной случкой инфицированными быками. Передача возбудителя инфекции осуществляется, главным образом, половым путем при естественном спаривании или искусственном осеменении [8,11]. Не исключены алиментарный и контактный пути заражения молодняка животных от больных матерей. Факторы передачи возбудителя — некачественно продезинфицированные акушерский инструментарий, спецодежда персонала, подстилка и др.

В распространении возбудителя кампилобактериоза в поголовье наибольшее значение придается клинически здоровым животным, выращенным в неблагополучном стаде, но являющимся бактерионосителями длительное время (до полутора лет). Резервуарами и переносчиками возбудителя болезни могут быть свиньи, собаки, лисицы и дикие птицы, которые поедают инфицированные плоды и после-ды и выделяют возбудителя с фекалиями длительное время (до 45 дн).

У птиц кампилобактерии являются комменсалами желудочно-кишечного тракта птиц, что обуславливает бессимптомное течение инфекции и возможность реализации населению контаминированной птицеводческой продукции. Возбудитель кампилобактериоза *C. jejuni* передается от бактерионосителей с помётом и быстро распространяется по всему поголовью. Клинически болезнь у птиц проявляется в виде признаков гепатита, особо выраженных при наличии паразитарных, вирусных и других бактериальных болезней [5,6].

Кампилобактериоз в животноводческих и птицеводческих хозяйствах проявляется в виде спорадических случаев. При осложнении секундарными инфекциями может иметь место летальный исход. в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).

Особую проблему в настоящее время кампилобактериоз приобретает в здраво-

охранении, что связано с его возрастающей ролью в качестве пищевой токсикоинфекции в виде диарейной формы у человека, вызванной потреблением продукции животноводства и птицеводства, контаминированной *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli* прижизненно или при разделке. Гематогенно-диссеминированную форму инфекции у людей вызывают *C. fetus* и *C. lari* [2,6,11].

Обращает на себя внимание, что больные коровы и нетели, выделяющие кампилобактерий в течение от трех до десяти месяцев с секретами и экскрементами, в том числе с молоком, представляют собой эпидемиологическую опасность для потребителей подобной контаминированной продукции животного происхождения. Аналогичный эпидемиологический риск представляет и птицеводческая продукция, зараженная патогенными кампилобактериями [2,5,6,8,11].

Цель работы — выявить эпизоотологическую и эпидемиологическую роль отдельных видов и подвидов патогенных кампилобактерий в инфекционном процессе у продуктивных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили в животноводческих, свиноводческих, птицеводческих, фермерских и личных подсобных хозяйствах на территории Северо-Западного Федерального округа РФ (СЗФО РФ) в течение 12 лет.

Эпизоотическую ситуацию изучали согласно общепринятым методам эпизоотологического обследования [9]. Диагноз на кампилобактериоз ставили на основании комплексных эпизоотологических, бактериологических и серологических исследований [6]. В работе использованы методы доказательной эпизоотологии [1].

Объектами исследований являлись: крупный рогатый скот (быки, коровы, тёлки, телята в возрасте до 3-4 мес), свиньи (хряки, свиноматки, поросята в возрасте до 2 мес), овцы, с/х птица в условиях промышленного содержания. Бактериологические и серологические исследо-

вания проводили в ПНИЛ СПбГАВМ, исследования на ПЦР - в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).

При диагностике кампилобактериоза использовали бактериоскопический, бактериологический, серологический, молекулярно-генетический методы [2,3,4,6,7,8,11]. Диагностику и индикацию *C. jejuni.subsp.jejuni* четырёх культур кампилобактерий, изолированных от КРС, проводили в ПЦР в режиме «горячего старта» с помощью отечественной тест-системы "КАМ-БАК" согласно Наставления....., 2004 г. в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).[4]. Микроскопические исследования осуществляли для прижизненной и посмертной диагностики кампилобактериоза. Бактериологически исследовали периферическую кровь, молоко, вагинальную и препуциальную слизь, внутренние органы абортированных плодов, мертворожденных и павших животных, фекалии. При невозможности использования элективных питательных сред с антибиотиками для обнаружения кампилобактерий в материалах с высокой степенью микробной обсемененности (фекалии, помёт) применяли метод фильтров.

Серологические исследования осуществляли согласно Наставления по применению кампилобактериозного (вибриозного) антигена для реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС) и Наставления по применению кампилобактериозных (вибриозных) люминесцирующих сывороток при лабораторной диагностике кампилобактериоза (вибриоза) животных [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении эпизоотической ситуации в хозяйствах на территории СЗФО РФ было установлено, что за 12-летний период исследований сезонность в заболевании кампилобактериозом КРС, свиней, овец, птицы при промышленной технологии содержания не выявлена.

У с/х животных и птицы кампилобактериоз обычно протекает бессимптомно, поэтому в основе диагностики лежат лабораторные методы детекции возбудите-

лей, которые характеризуются значительными трудностями, обусловленными отсутствием патогномических клинических и патологоанатомических признаков.

Изоляцию культур кампилобактерий из проб био- и патологического материала проводили в течение 50-60 ч в микроаэрофильных условиях с использованием специальных устройств – анаэроостатов, в комплект которых включены газогенерирующие пакеты. Часть культур кампилобактерий, которые плохо росли в этих условиях, культивировали в полужидком агаре (ПЖА) при температуре 25-30°C [3].

Результаты бактериологического, серологического и молекулярно-биологического исследований на кампилобактериоз био- и патматериала от с/х продуктивных животных показали следующее. Всего бактериологически исследованы 4163 смешанные культуры микроорганизмов от КРС, овец, свиней, птицы, из них выделено 2814 (67,59%) чистые культуры кампилобактерий.

Анализ результатов проведенных бактериологических исследований отобранных проб био- и патматериала даёт основание говорить о значительном (в среднем, 66,87%) уровне носительства кампилобактерий в организме с/х животных на территории СЗФО РФ за весь 12-летний период исследований. Максимальный удельный вес циркуляции кампилобактерий за этот период, в среднем, установлен у птицы - 79,49% и КРС - 71,79%. У свиней уровень бактерионосительства за тот же период составлял, в среднем, 63,62%, у овец – 52,61%.

Бактериологическое исследование молока от абортировавших и больных маститных коров показало высокий уровень (около 40%) микроскопического обнаружения бактериальных форм, сходных в поле зрения микроскопа с типичными кампилобактериями: в препаратах, приготовленных из биоматериала, грамотрицательный возбудитель имел вид изогнутой палочки в виде запятой или S-образную форму. Следует отметить особые трудности при культивировании кампилобакте-

рий, о чем свидетельствуют литературные данные отечественных и зарубежных авторов [3,7,8,11]. В наших экспериментах в связи со сложностями очистки первичных загрязненных культур, из 136 бактериологически исследованных проб молока были изолированы только 18 чистых культур подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*. Из литературы известно, что именно данный подвида кампилобактерий может являться одним из этиологических агентов мастита у коров [2,5,6], что обуславливает его эпидемиологическое значение при попадании такого молока в розничную сеть от недобросовестных поставщиков. Отечественными авторами установлено, что эпидемиологическую опасность представляет также мясо кур, содержащее *C. jejuni sbsp. jejuni* [5].

Сотрудниками ФГУ «ВГНКИ» в предоставленных нами четырёх образцах культур кампилобактерий (кровь КРС – три культуры и маститное молоко – одна культура) в ПЦР с помощью отечественного набора "КАМ-БАК" продемонстрирована высокая специфичность для ДНК кампилобактерий подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*.

Идентификацию изолированных от животных штаммов кампилобактерий проводили согласно определителя микробов Берджи на основе изучения их культурально-морфологических, биохимических и антигенных свойств.

При серологическом исследовании периферической крови в организме продуктивных животных установлен значительный уровень циркуляции двух основных подвида патогенных кампилобактерий: 1) *C. jejuni sbsp. jejuni*, в среднем, 59,88% (максимальный у птицы – 79,03% и минимальный у овец – 35,90%) и 2) *C. fetus sbsp. fetus*, в среднем, 24,47% (максимальный у овец – 46,79% и минимальный у свиней – 11,28%; у КРС – 28,58%). Только у КРС из всех продуктивных животных было установлено носительство подвида *C. fetus sbsp. venerealis* – 12,62% [3]. Два других вида кампилобактерий – *coli* (обуславливающий эпидемиологический риск) и *lari* с максималь-

ным уровнем обнаружены у свиней: *C. coli* — в 20,08 %, *C. lari* — в 5,93 % случаев от числа изолированных кампилобактерий.

Особо следует обратить внимание на публикации отечественных и зарубежных авторов [5,6,7,11] о циркуляции вышеназванных двух подвидов патогенных кампилобактерий в организме не только животных, птицы, но и людей с острой кишечной инфекцией при пищевом и водном пути заражения, что является неоспоримым свидетельством эпидемиологической проекции кампилобактериоза. Исходя из вышеизложенного, в настоящее время целесообразно установление взаимного обмена результатами бактериологического и серологического мониторинга патогенных штаммов кампилобактерий и создание общей базы данных ветеринарной службы и службы здравоохранения для профилактики возникновения пищевых токсикоинфекций у людей.

ВЫВОДЫ

Сезонности в заболевании кампилобактериозом продуктивных животных на территории СЗФО РФ в течение 12 лет наблюдения не выявлено. Установлен значительный уровень носительства кампилобактерий у с/х животных на данной территории, в среднем, 66,87%. Выявлено доминирование в инфекционном процессе у КРС, овец и свиней подвидов *C. jejuni sbsp. jejuni* и *C. fetus sbsp. fetus*, а у с/х птицы - *C. jejuni sbsp. jejuni*, которые могут вызывать репродуктивную и кишечную патологию в организме животных и человека, создавая эпидемиологические риски. ПЦР с использованием отечественной тест-системы "КАМ-БАК" (г.Москва, ФГУ «ВГНКИ») продемонстрировала на наших образцах чистых культур кампилобактеров от крупного рогатого скота высокую специфичность для ДНК кампилобактерий подвида *C. jejuni sbsp. jejuni* и рекомендована для практического применения в ветеринарных лабораториях для постановки диагноза на кампилобактериоз. Правомерно осуществление системы обмена между медицинской и ветеринарной службами

взаимной информацией на базе бактериологического и серологического мониторинга патогенных штаммов кампилобактерий, как основы эпизоотологического и эпидемиологического надзора за данным зоонозом.

Выражаем благодарность сотрудникам отдела препаратов против хронических болезней животных и сотрудникам лаборатории молекулярной диагностики Всероссийского государственного Центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГУ «ВГНКИ»), г. Москва, при содействии которых проводилось молекулярно-генетическое исследование.

Публикация подготовлена в рамках реализации заказа МСХ России за счет средств федерального бюджета на 2021 год.
Epizootological features and laboratory diagnostics of campylobacteriosis of productive animals and poultry. Kuzmin V.A. - doctor of Veterinary Sciences, professor, Sukhinin A.A. - doctor of Biological sciences, professor, Makavchik S.A. - candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Orekhov D.A - candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Tsyganov A.V - candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor, master's degree of Veterinary and Sanitary Expertise, Grishina V.A. - veterinary doctor, "St. Petersburg state University medicine"

ABSTRACT

Campylobacteriosis is a zoonotic infectious disease of animals and humans, characterized by various degrees of severity and polymorphism of manifestations: reproductive pathology, damage to the gastrointestinal tract, in humans -toxicoinfection. The aim of the work is to identify the epizootological and epidemiological role of certain species and subspecies of pathogenic campylobacteria in the infectious process in productive animals. The work was carried out for 12 years in livestock and poultry farms on the territory of the Northwestern Federal District of the Russian Federation. The diagnosis was established on the basis of complex epizootological, bacterioscopic, bacteriological, serological, molecular bio-

logical studies. Season prevalence of the disease in animals husbandry wasn't been established and poultry revealed such prevalence. During the bacteriological study of 4163 mixed cultures from cattle, sheep, pigs, poultry, 67.59% of pure campylobacter cultures were isolated. The maximum specific part of campylobacter host, on average, was detected in poultry — 79.49% and cattle — 71.79%; in pigs — 63.62%, in sheep — 52.61%, respectively. The circulation of two pathogenic subspecies of campylobacteria in the infectious process that cause epidemiological risks in animals has been established: *C. jejuni* sbsp. *jejuni* with the maximum level in poultry — 79.03 % and *C. fetus* sbsp. *fetus*, respectively, in sheep — 46.79 %. PCR using the russian test system "CAM—BAC" revealed a high specificity for the DNA of campylobacteria from cattle of the subspecies *C. jejuni* sbsp. *jejuni*. It is advisable to create a database on pathogenic campylobacteria and exchange information between veterinary and medical services for surveillance of this zoonosis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доказательная эпизоотология (методология научных исследований): монография / В.В. Сочнев, Ю.В. Пашкина, О.В. Козыренко и др. // Н. Новгород: БИКАР.-2016.-160 с.
2. Ефимочкина, Н.Р. Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя / Н.Р. Ефимочкина // Вопросы питания.- 2015.-Том.84.-№ 6.-С. 5-18.
3. Кузьмин, В.А. Серологическая вариабельность культур кампилобактерий, изолированных от животных и людей / В.А. Кузьмин, В.А. Гришина, А.В. Гришина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.-2016.-№ 4.- С. 68-71.
4. Наставление по применению тест-системы для диагностики и идентификации возбудителя кампилобактериоза *C.jejuni* методом полимеразной цепной реакции «КАМ-БАК». Утверждено Департаментом ветеринарии МСХ РФ 3 февраля 2004 г. № 13-5-02/0943.
5. Новикова, О.Б. Усовершенствование методов контроля эпидемиологически опасных и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от птиц: дисс. ... канд. вет. наук.- Санкт-Петербург, 2004.-168 с.
6. Сборник Санитарных правил СП 3.1.087-96 и Ветеринарных правил ВП 13.4.1307-96 «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных». Кампилобактериоз.- Утв.Госсанэпиднадзор и Деп. ветеринарии МСХ РФ, 1996.
7. Скларов, О.Д. Разработка и совершенствование средств и методов диагностики бруцеллеза и кампилобактериоза животных: дисс. ... докт. вет. наук.- Москва, 2006.-271с.
8. Сухинин, А.А. Кампилобактерии в этиологической структуре бактериальных инфекций репродуктивного тракта крупного рогатого скота Северо-Западного региона / А.А. Сухинин, С.А. Макавчик, С.В. Герасимов //Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2017.-№ 4.-С. 40-42.
9. Эпизоотологический мониторинг инфекционных болезней животных. Современные геоинформационные технологии в эпизоотологии и эпидемиологии: методические рекомендации / Ю.Ю. Данко, А.В. Кудрявцева, В.А. Кузьмин, Д.А. Орехов и др.// Санкт-Петербург: изд-во СПбГАВМ, 2015 г. – 38 с.
10. Sukhinin, A.A. Method for inactivating infectious of *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* by teotropina compounds / A.A. Sukhinin, S.V. Gerasimov, V.A. Grishina, S.A. Makavchik //International Conference «Global Science and Innovation».- USA, Chicago, March 23-24.-2016.-P. 278-280.
11. Scotter, S.L. Methods for the detection of thermotolerant *Campylobacters* in foods: results of an interlaboratory study / S.L. Scotter, T.J. Humphery, A. Henley // J. Appl. Bacteriol.-1993.-V. 74.- N 2.-P. 155-163.