

Автори: Н.Ю. Неверковець, Д.М. Масюк, О.І. Сосницький, А.В. Кокарев, С.Г. Коляда  
Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ

# Досвід використання класичних та сучасних методів діагностики для оцінки статусу свиногоголів'я щодо сальмонельозу

Проблематика сальмонельозу, епізоотологічні та епідеміологічні дані цього інфекційного захворювання є, ймовірно, одними з найбільш вивчених і описаних багатьма дослідниками та вченими. Тим не менш, не зважаючи на обізнаність спеціалістів в питаннях профілактики та лікування сальмонельозу, проблема зараженості поголів'я та збитків від хвороби у господарствах не знижується роками.



**Б**актерії роду *Salmonella* широко розповсюджені серед людей і тварин. Деякі з них викликають захворювання у свиней, розмножуючись здебільшого в кишечнику молодих тварин на вирощуванні, а також свиноматок.

Від заражених тварин збудник може виділятися в оточуюче середовище з фекаліями впродовж декількох місяців без клінічного прояву інфекції. Особливу небезпеку складає висока імовірність контамінації туш свиней в процесі забою, що становить потенційний ризик для здоров'я населення

внаслідок розповсюдження токсикоінфекції [1].

Серед багатьох серотипів сальмонел, найбільше епізоотологічне значення серед свиногоголів'я мають *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*. Інші серотипи сальмонел можуть інфікувати свиней і виділятися з фекаліями впродовж доволі короткого періоду часу та не викликати клінічний перебіг інфекції.

Хазяїн-адаптовані сальмонели (*S. choleraesuis*) можуть циркулювати серед поголів'я свиноматок доволі

тривалий час і при певних умовах викликати клінічний прояв інфекції: лихоманка, депресія, сепсис, пневмонія, діарея та аборти [1].

В більшості випадків, інфекція викликана *Salmonella typhimurium* у свиней перебігає без симптомів і викликає латентну інфекцію в стаді. Бактерії, проникаючи в лімфатичні брижові лімфовузли та інші внутрішні органи, на тлі дії стресу, посилено розмножуються та екскретують в оточуюче середовище. Тому латентно інфіковані є постійним джерелом інфекції.

Тим не менш, бактерії роду *Salmonella* здатні викликати прояв клінічної форми хвороби, що супроводжується важкими клінічними ознаками, які можуть загрожувати господарству значними економічними збитками. В гострій септицемічній формі бактерії потрапляють в загальний кровоток організму уражених тварин. На початку дорощування клінічні ознаки є подібними до набрякової хвороби поросят. Така форма сальмонельозу характерна не тільки для відлучених поросят, а й для інших статевих-вікових груп тварин (відгодівельні свині, ремонтний молодняк, основні свиноматки тощо).

Тип прояву захворювання залежить від багатьох факторів, у тому числі від серотипу сальмонели, віку тварин (найбільш тяжкі ураження виникають у 12-14 тижневих поросят) і кількості бактерій, що потрапляють в

сприйнятливий організм (дозо залежна інфекція) та рівня їх вірулентності.

За гострої форми летальність перевищує 20 %. Клінічні ознаки гострої форми супроводжуються появою характерного пурпурно-синюшого кольору шкіри в ділянці рила, вух, підгруддя та черевної стінки. Через декілька днів розвивається жовтувато-сіра водяниста діарея. Поросні свинюматки можуть абортувати [3].

Хронічна форма характеризується неспецифічною пастоподібною або кривавою діареєю, постійним кашлем.

Таким чином, основним джерелом інфекції в господарстві є тварини-сальмонелозні після перехворювання. На благополучні ферми збудник потрапляє із завезенням клінічно здорових свиней-латентних носіїв. Іншими найбільш розповсюдженими причинами та сприяючим факторами для виникнення на фермі захворювання є порушення санітарно-гігієнічних норм утримання і догляду свиней, підвищена концентрація поголів'я в приміщеннях, технологічні стреси, що виникають внаслідок переміщення та перегрупування тварин, відсутність принципу «все пусто – все зайнято», забруднені фекаліями спецодяг, взуття працівників, контаміновані сальмонелами корми при зберіганні (гризунами та птицею) або виготовлені із забруднених мікроорганізмами складових, низька якість дезінфекції, тощо [4].

Патологоанатомічні зміни при сальмонельозі характеризуються виразково-некротичними ураженнями товстого відділу кишечника. За хронічного перебігу захворювання у порослят реєструється виснаження і наявність на шкірі маленьких бурих або чорних лусочок. Дифтеритичне запалення кишечника може бути дифузним або вогнищевим типу. Здебільшого типові вогнищеві ураження відмічаються в товстому відділу кишечника, оскільки місцем локалізації їх є лімфатичні угруповання кишечника, що підверглися гіперплазії (Пейєрові бляшки, лімфатичні фолікули). У свіжих струпів поверхня гладенька, у старих – нерівна, що складається з м'яких крихтоподібних нашарувань. Окрім струпів, в глибині складок слизової оболонки нерідко знаходять фолікулярні виразки. В тонкому кишечнику на ранніх стадіях та підгострих формах хвороби дифтеритичні ураження часто відсутні,

слизова оболонка потовщена і забарвлена в сіро-білий колір (салоподібна) та зібрана в грубі складки з фібрином на поверхні. Лімфатичні судини кишечника і брижі мають вигляд товстих сіро-білого кольору тяжів, внаслідок розширення і тромбозу. Мезентеріальні лімфатичні вузли збільшені з нечітким малюнком. Селезінка збільшена, щільна вишневого кольору. Печінка дряблуватої консистенції, сіруватого або глинистого кольору. В багатьох випадках відмічають запалення легень та плеври, уражуються здебільшого верхівкові та середні долі [4].

Незважаючи на широке розповсюдження сальмонельозу в свиногосподарствах України та складність боротьби з ним внаслідок позначених епізоотологічних особливостей (латентне сальмонеланосійство і т.д.), на сьогоднішній день основними інструментами боротьби з захворюванням є метафілактика та санітарно-протиепізоотичні заходи, в той час, як вакцинопрофілактика менше вживана. Комбінаційне застосування цих заходів дає змогу подолати та профілактувати це захворювання в межах господарства.

Застосування антибіотиків з профілактичною метою (метафілактика) є популярною практикою в сучасному свинарстві. Так, наприклад, антибіотики додають в корма при переводі з однієї технологічної ланки на іншу для профілактики бактеріальних діарей. Це обумовлює зниження клінічних проявів сальмонельозу, відсутність характерних патологоанатомічних ознак та перебіг інфекції здебільшого в латентній формі, що значно ускладнює діагностику сальмонельозу у свиногосподарствах, адже за впливу антибактеріальних препаратів формуються L-форми бактерій, внаслідок чого неможливо ідентифікувати збудника класичними бактеріологічними методами.

Таким чином, найбільш нагальна проблема – це лабораторна діагностика сальмонельозу, що ускладнюється, з одного боку, низьким рівнем і неоптимальною виділення збудника з фекаліями, а з іншої сторони, впливом антибіотика на бактеріальні клітини.

На теперішній час існує ряд сучасних методів діагностики сальмонельозу, серед яких широкого розповсюдження набули імуноферментний аналіз (ІФА) та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Слід зауважити, що за-

стосування лише одного лабораторного методу для детекції збудника інфекційного захворювання є малоінформативним, адже жоден з цих лабораторних інструментів не враховує всі особливості перебігу захворювання, внаслідок чого можна отримати хибні результати, які ускладнюють діагностичний процес.

Впродовж останніх років серологічні методи дослідження, а саме ІФА, використовуються для виявлення розповсюдження сальмонел у свинарських господарствах та були прийняті декількома країнами, такими як Данія і Німеччина, у якості складової частини національної програми контролю за сальмонельозом.

На сьогодні у світі існують комерційно доступні ІФА набори, які використовуються для визначення специфічних імуноглобулінів IgG до антигенів *Salmonella* в біологічних рідинах свиней. Оскільки ці антитіла зберігаються в організмі тварин тривалий час після зараження, даний метод дозволяє діагностувати тварин, які контактували з антигенами збудника сальмонельозу протягом усього періоду циркуляції імуноглобулінів. Вирощування тварин з високим рівнем серопревалентності до сальмонельозу являє собою значний ризик розповсюдження цього захворювання серед населення. На даний момент ІФА, як високотехнологічний та високоспецифічний серологічний метод, використовується для моніторингових досліджень сальмонельозу свиней, в якості стадного тесту. Оцінка рівня антитіл окремих тварин при репрезентативній вибірці, дає змогу прийняти рішення щодо серологічного статусу стада.

Для оцінки статусу свинопоголів'я щодо сальмонельозу на фермі дуже важливо враховувати, як серологічні дослідження корелюють з культуральними методами, адже саме бактеріологічні дослідження є «золотим стандартом» діагностики сальмонельозної інфекції. Зокрема, як результати ІФА в сироватках тварин чи м'ясному соку після забою корелюють з наявністю сальмонел в тушах тощо. Слід зауважити, що лише наявність самого збудника в тушах може викликати спалах захворювання серед населення. Виявлення вмісту специфічних антитіл свідчить лише про контакт організму цієї тварини з антигенами збудника сальмонел.

льозу, що не завжди супроводжується сальмонелозом.

Відомо, що культуральний метод володіє низькою чутливістю, яка може варіювати в залежності від типу матеріалу для дослідження, розміру вибірки зразків та особливостей самого дослідження (процедура накопичення культур) [3]. Багато дослідників [4], вивчаючи це питання, встановили чітку кореляцію між серологічним і культуральним методом при індивідуальному дослідженні, але попереджають про неможливість вибірки окремих тварин тільки на підставі позитивних результатів ІФА. На їх думку ІФА є «предиктором ризику, а не абсолютною мікробіологічною негативністю або позитивністю». Слід відзначити, що дуже важливу роль в адекватній оцінці статусу поголів'я відіграють технічні можливості дослідницької лабораторії та рівень кваліфікації персоналу.

Отже, імуноферментний аналіз є базовим дослідженням для оцінки розповсюдження сальмонел серед поголів'я та ризику контамінації ними туш на забої. Позитивні результати тестів є підставою для проведення прямих досліджень (бактеріологічних та ПЛР) щодо виділення сальмонел з біоматеріалів.

Навіть зараз, на тлі широкого розповсюдження сучасних методів лабораторної діагностики, бактеріологічні дослідження є основними при діагностиці сальмонельозу. Майже в усіх моніторингових дослідженнях, присвячених вивченню розповсюдженості сальмонели серед поголів'я, використовується еталонний культуральний метод. Така висока вживаність методу пов'язана з його унікальними перевагами серед інших: виділення чистої культури живих бактерій, можливість встановити серотип збудника та отримати дані з резистентності до антибіотиків. Бактеріологічні дослідження є одним з небагатьох лабораторних методів, що дозволяють виявляти наявність сальмонел в різноманітних об'єктах та матеріалах. Так, вітальна бактеріологічна діагностика включає дослідження проб фекалій та ректальних мазків, посмертна – трупів, аборт-плодів. Особливу увагу приділяють дослідженням зовнішніх об'єктів: кормів, води, змивів з поверхонь кормушок та поїлок, поверхонь приміщень та обладнання, змивів після проведеної де-

зінфекції. В основі лабораторного дослідження щодо виділення сальмонел лежать методи збагачення (накопичення) бактеріальних культур та посліду-юча ідентифікація до виду, що здійснюється шляхом вивчення біохімічних властивостей та антигенного складу в реакції аглютинації зі специфічними сироватками. Стада з маніфестною клінічною формою сальмонельозу можуть бути легко ідентифіковані безпосередньо й без попереднього збагачення, тоді як зразки фекалій від хронічно або латентно інфікованих свиней та від тварин реконвалесцентів, або змиви з предметів оточуючого середовища завжди потребують попереднього збагачення і селективного накопичення [5].


Як було зазначено вище, складність лабораторної діагностики сальмонельозу пов'язана з латентною формою інфекційного процесу або коротким терміном гострої фази, що швидко переходить до хронічної або латентної. Таке явище супроводжується низьким та переривчастим виділенням збудника в оточуюче середовище з фекаліями. Отже, індикація та ідентифікація збудника в зразках фекалій за допомогою прямих методів діагностики є основою для оцінки рівня розповсюдженості сальмонели в стаді. Виявлення сальмонел при низькому рівні мікробного навантаження методом ПЛР оптимально проводити після стадії накопичення культури (до рівня приблизно  $10^3$ - $10^4$  живих мікробних клітин на  $1 \text{ cm}^3$  збагаченого бульйону). Стратегія накопичення клітин *Salmonella* в фекаліях свиней в поєднанні з посліду-ючим ПЛР-тестуванням повинна відповідати певним умовам. Оптимальне накопичення повинне запобігати росту фонові мікрофлори, але одночасно відновлювати і впливати розмноженню сублетально пошкоджених мікробних клітин. Остання умова особливо актуальна по причині постійної негативної зовнішньої дії на бактерії: антибіотики, дезінфектанти та ін. Особлива увага приділяється стандартній процедурі накопичення: не всі поживні середовища підходять для посліду-ючого тестування методом ПЛР. Так, середовище Раппопорт-Василіадіс і тетратіонатні бульйони володіють інгібуючою дією на реакцію. Термін інкубації посівів також може відрізнятися від стандартного бактеріо-

логічного дослідження (від 6 годин). За даними дослідників, чутливість і специфічність такого комбінаторного методу сягає 100% [2].

## Резюме

Різноманітність методів діагностики пов'язана зі специфікою і складністю інфекційного процесу за сальмонельозу, особливості перебігу якого можуть відрізнятися в кожному господарстві. Зважаючи на це, при складанні плану моніторингу щодо оцінки рівня розповсюдження сальмонел на фермі та вибору діагностичних інструментів необхідно враховувати індивідуальні дані господарства.

## Висновок

Отже, сальмонельоз є багатофакторним захворюванням, яке характеризується різноманітними формами перебігу інфекційного процесу. З огляду на це, стає очевидною нагальна необхідність комплексного підходу в лабораторній діагностиці, який поєднує одночасне застосування класичних бактеріологічних досліджень з сучасними методами (ІФА, ПЛР). 

## Перелік літератури:

1. *Инфекционные болезни животных / Б. Ф. Бессарабов, Е. С. Воронин и др.; Под ред. А. А. Сидорчука. — М.: КолосС, 2007. — 671 с*
2. *Malorny B., Hoorfar J. Toward standardization of diagnostic PCR testing of fecal samples: lessons from the detection of Salmonellae in pigs. Journal of Clinical Microbiology, 2005 Jul; 43 (7): 3033-3037*
3. *Šišák F., Havlíčková H., Matiašovic J. and Karpíšková R. Serological and bacteriological evaluation of Salmonella status in swine herds. Czech J. Food Sci Vol. 29, 2011, Special Issue: S102–S108*
4. *Turney Harris I., Serologic basis for assessment of subclinical Salmonella infection in swine: Part 1- Journal of Swine Health and Production, 2003, P. 247-251*
5. *Wilkins W., Waldner C., Rajik A., McFall M., Mukle A., Mainar-Jaime RC. Comparison of bacterial culture and real-time PCR for the detection of Salmonella in grow-finish pigs in Western Canada using a Bayesian approach. Zoonosis Public health, 2010 Nov; 57*