

И.В. Лобанов, В.И. Плешакова, Н.А. Лещёва

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУР *HAEMOPHILUS PARASUIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ СВИНЕЙ С РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ, В ХОЗЯЙСТВАХ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

**Ключевые слова:** инфекции, гемофилез, свиньи, полисерозит, питательные среды, патологический материал, колонии, микробные клетки, микроскопирование, антибиотики, резистентность.

*В статье освещены основные биологические характеристики культур Haemophilus parasuis, выделенных от свиней клинически здоровых и с патологией. Выявлено, что ряд культур H. parasuis формируют крупные колонии, культуры, изолированные от поросят-бактерионосителей, как правило, образуют мелкие колонии. Установлено, что культуры H. parasuis в большинстве случаев обладали одинаковой ферментативной активностью и представляли собой довольно однородную группу микроорганизмов. Некоторые культуры не ферментировали сахарозу, более половины не образовывали сероводород, около трети ферментировали мальтозу, арабинозу и галактозу с образованием кислоты.*

*Все культуры были чувствительны к драксину (тулатромицин), К окситетрациклину, пенициллину, ампициллину, хлоромфениколу, мономицину чувствительность проявляли немного более половины культур, к неомицину и к линкомицину – менее трети, к тетрациклину менее половины от общего количества изучаемых культур. Наибольшую резистентность культуры возбудителя гемофилезного полисерозита показали к линкомицину и тетрациклину. Выявлено, что более половины тестированных культур обладали высокой антилизоцимной активностью. При этом выраженность антилизоцимной активностью культур H. parasuis, выделенных от больных свиней была выше по сравнению с культурами, полученных от здоровых животных. У трети культур средняя степень антилизоцимной активности. И у небольшой части культур H. parasuis отмечали слабо выраженную антилизоцимную активность. Часть культур возбудителя гемофилезного полисерозита в Омской области отличается, по сравнению с выделяемыми культурами гемофилезного полисерозита в других регионах, определенными особенностями ферментативных свойств. Выявленные изменения биохимических свойств бактерии не зависели от биологического материала, а также от клинического состояния животного. Кроме этого, большинство выделенных культур возбудителя гемофилезного полисерозита обладали высокой антилизоцимной активностью, в особенности культуры, полученные из патологического материала свиней с респираторной патологией, что позволяет прогнозировать течение болезни при появлении первых признаков инфекционного процесса.*

I. Lobanov, V. Pleshakova, N. Lescheva

## BIOLOGICAL PROPERTIES OF *Haemophilus parasuis* CULTURES SEPARATED FROM PIGS WITH RESPIRATORY PATHOLOGY IN FARMS OF OMSK REGION

**Keywords:** infections, Glasser's disease, pigs, polyserositis, growth media, pathological material, colonies, microbial cells, microscopy, antibiotics, resistance

*The article highlights the main biological characteristics of cultures of Haemophilus parasuis isolated from clinically healthy pigs and with pathology. It was revealed that a number of cultures of H. parasuis form large colonies, cultures isolated from bacterial carriers, as a rule, form small colonies. It was established that H. parasuis cultures, in most cases, had the same enzymatic activity and represented a fairly homogeneous group of microorganisms. Some cultures did not ferment sucrose, more than half did not form hydrogen sulfide, about a third fermented maltose, arabinose,*

and galactose to form acid. All cultures were sensitive to draxin (tulatromycin), slightly more than half of cultures showed sensitivity to oxytetracycline, penicillin, ampicillin, chloramphenicol, monomycin, less than a third to neomycin and lincomycin, less than half to tetracycline, of the total number of studied cultures. The highest resistance culture of the causative agent of hemophilic polyserositis was shown to lincomycin and tetracycline. It was revealed that more than half of the tested cultures had a high antilysozyme activity. At the same time, the severity of antilysozyme activity of *H. parasuis* cultures isolated from sick pigs was higher compared to cultures obtained from healthy animals. One third of cultures have an average degree of antilysozyme activity. And in a small part of the cultures of *H. parasuis*, weakly expressed antilysozyme activity was noted. A part of the cultures of the causative agent of Glasser's disease in the Omsk region differs, in comparison with the allocated cultures of this disease in other regions, by certain features of the enzymatic properties. The revealed changes in the biochemical properties of the bacteria did not depend on the biological material, as well as on the clinical condition of the animal. In addition, most of the selected cultures of the Glasser's disease pathogen had high antilysozyme activity, especially cultures obtained from pathological material of pigs with respiratory pathology, which allows predicting the course of the disease when the first signs of an infectious process appear.

**Лобанов Игорь Викторович**, аспирант, кафедра ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных; e-mail: iv.lobanov360601z@omgau.org

*Igor V. Lobanov, Graduate Student of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases Chair; e-mail: iv.lobanov360601z@omgau.org*

**Плешакова Валентина Ивановна**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней; e-mail: vi.pleshakova@omgau.org

*Valentina I. Pleshakova, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases chair; e-mail: vi.pleshakova@omgau.org*

**Лещёва Надежда Алексеевна**, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней; e-mail: lescheva@list.ru

*Nadezhda A. Lescheva, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of Veterinary Microbiology, Infectious and Invasive Diseases Chair; e-mail: lescheva@list.ru*

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», Омск, Россия

*Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russia*

**Введение.** Ветеринарное обеспечение благополучия свиноводческой отрасли в отношении инфекционных болезней разной этиологии является важной и актуальной задачей ветеринарной науки и практики. Установлено, что наиболее часто у поросят различных возрастных групп регистрируются инфекционные патологии респираторного тракта [3; 4; 5; 6; 7], вызванные целым комплексом предрасполагающих факторов, а именно: нарушением режима кормления и технологии содержания, супрессорным действием нерационального использования химиопрепаратов и антибиотиков. Все вышеуказанное при-

водит к возникновению иммунодефицитных состояний различного генеза, снижению неспецифической резистентности организма животных.

В подавляющем большинстве случаев инфекции респираторной системы свиней протекают в ассоциативной форме, что в значительной мере затрудняет их эффективную диагностику [5]. Вследствие этого детальное изучение биологических характеристик отдельных сочленов паразитоценоза респираторной патологии у свиней имеет актуальное значение [1; 2]. Между тем, гемофиллезы и в частности *Haemophilus parasuis*, в ряде случаев

остаются за пределами внимания ветеринарных специалистов, что связано, на наш взгляд, с недостаточностью сведений о биологических характеристиках возбудителя и его идентификации. В связи с вышеизложенным целью настоящей работы - изучить основные биологические характеристики культур *Haemophilus parasuis*, выделенных от свиней с респираторной патологией и клинически здоровых животных в хозяйствах Омской области.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена в Институте ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО Омский ГАУ, в Омской областной лаборатории и промышленных свиноводческих хозяйствах Омской области.

Анализ эпизоотологического состояния по респираторной патологии свиней проводили согласно методическим рекомендациям (Бакулов И.А. и др., 1975; Джупина С.И., 1991).

Объектами исследований являлись пробы паренхиматозных органов свиней, в частности, сердца, легких, содержимое (экссудат) из внутренних полостей, средостенные, бронхиальные, брызжеечные лимфоузлы. Указанный патологический материал был получен от больных поросят с клиническими симптомами патологии респираторного тракта, животных, подвергнутых убою с диагностической целью, и павших поросят. Кроме того, у клинически здоровых животных из носовой полости были получены мазки-отпечатки с целью установления микробиоценоза слизистых оболочек верхнего отдела респираторной системы.

Патогенность выделенных культур *H. parasuis* изучали на морских свинках массой 300-350 г. Суспензию чистой культуры *H. parasuis* вводили интрабрюшинно в концентрации 2 млрд мк/см согласно стандарту бактериальной мутности.

Чувствительность культур *H. parasuis* к антибиотическим препаратам изучали

согласно МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузным методом».

Персистентный профиль выделенных культур *H. parasuis* определяли с учетом антилизоцимной и антикомplementарной активности, подробно изложенных в работе Бухарина О.В. [2].

Полученный цифровой материал был подвергнут биометрической обработке в соответствии с рекомендациями Лакина Г.Ф. (1990).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что при микроскопировании культуры *Haemophilus parasuis* представлены полиморфными, относительно тонкими грамотрицательными палочками. При цитометрии бактериальных клеток было выделено три группы: крупные, средние и мелкие, размер которых от 1,8 до 2,5 мкм; 0,8 до 1,5 мкм и мелкие – от 0,2 до 0,5 мкм соответственно. Установлено, что некоторые культуры *H. parasuis* образуют только крупные колонии, особенно на шоколадном агаре, часть культур формирует колонии двух типов – как крупные, так и мелкие. Культуры *H. parasuis*, изолированные из верхних дыхательных путей поросят-бактерионосителей, а также из перитониального экссудата, как правило, образуют мелкие колонии, а из головного мозга павших от инфекции животных – крупные.

Также установлено, что через 72 часа количество и размер колоний *H. parasuis* увеличивается. При пересеве культур *H. parasuis* в лабораторных условиях наблюдается уменьшение диаметра колоний, и они, в основном, формируют мелкие колонии.

Колонии *H. parasuis*, выращенные на шоколадном агаре (под лупой увел. х 10), имеют серо-белый цвет, в большинстве случаев правильную округлую форму, ровные края, гладкую выпуклую поверхность и слизистую консистенцию.

При использовании культур не гемолитического стафилококка или *E. coli* в качестве баккормилки на сывороточном агаре регистрировали рост в зоне от 1,5 до 2,5 см (от баккормилки). В этом случае сотеллитные колонии имели вид прозрачных, круглых, выпуклых с ровными краями, слизистой консистенции образований. На агаре Левинталя (24 часа) наблюдали рост в виде прозрачных флюоресцирующих в косопроходящем свете колоний. В мазках из культур, инкубированных в течение 24 час на шоколадном агаре, бактериальные клетки часто располагались в виде небольших цепочек.

Необходимо отметить, что при окраске препаратов по Нейссеру у большинства микробных клеток обнаруживали метахроматическую зернистость, выраженную в большей или меньшей степени. Так, зернистость при данной окраске имела сине-фиолетовый цвет, а сама бактерия – желтый или светло-коричневый.

Установлено, что топография участков с метахроматическим веществом в бактериальной клетке подвержена некоторой вариабельности и зависела от условий роста и метаболических особенностей исследуемых культур. Наиболее часто встречали клетки, у которых указанная субстанция располагалась на периферии, реже – в центральной части. В мазках из культур с обильным ростом, а также из патологического материала, микробные клетки имели слабовыраженную пылевидную зернистость, расположенную в центральной части клетки. В мазках культур *H. parasuis* со скудным ростом метахроматическая зернистость была более выражена, зерна волютина располагались по всей цитоплазме микробной клетки. Часть культур, инкубированных в жидких питательных средах (в бульоне Левинталя, МПБ), уже через сутки дают относительно ровное помутнение среды, а через 48-72 часа бульон обычно просветляется, при этом на дне пробирки образовывался слизи-

стый осадок, который с большим трудом разбивался при встряхивании. Отмечено, что культуры *H. parasuis*, растущие в виде мелких колоний, вызывают слабое помутнение жидких питательных сред, при этом на дне пробирки образуют рыхлый легко разбивающийся при встряхивании осадок.

Проведенные исследования показали, что выделенные культуры *H. parasuis* в большинстве случаев обладали одинаковой ферментативной активностью, то есть представляли собой довольно однородную группу микроорганизмов. Так, все 15 культур, подвергнутых биохимическому тестированию, не образовывали индол, не продуцировали уреазу и гемолизин, кроме того, ферментировали с образованием кислоты ксилозу, салицин, глицин, разжижали желатин.

В то же время установлено, что все культуры *H. parasuis* проявляли каталазную активность. Вместе с тем, проведенные биохимические исследования показали, что некоторые культуры (6,6%) не ферментировали сахарозу, 60% не образовывали сероводород, только 26,6% ферментировали мальтозу, арабинозу и 40% – галактозу с образованием кислоты.

Культивирование *H. parasuis* на кровяном агаре не вызвало альфа- и бета-гемолиза эритроцитов и в то же время установлено, что подавляющее большинство тестируемых культур *H. parasuis* проявляли ту или иную степень гемолитической активности при взаимодействии с гемолизином *S. aureus* (СAMP-тест). Так, 13 из 15 (87%) исследуемых культур, выделенных из легких больных поросят, имели положительную реакцию в СAMP-тесте.

Установлено, что зона просветления кровяного агара на границе роста двух культур *H. parasuis* и *S. aureus* остается однородной. Зона гемолиза состоит из периферического и центрального участка, при этом периферический имел более интенсивную степень гемолиза.

Проведенное нами биохимическое тестирование выделенных культур *H. parasuis* показало, что они имеют ряд стабильных характеристик, позволяющих проводить их идентификацию. Вместе с тем, установлено, что часть культур отличается определенной вариабельностью ферментативных свойств. Указанная разнохарактерность биохимических свойств не зависела от биологического материала, из которого была выделена культура *H. parasuis*, а также клинического состояния животного. Считаем, что выявленные особенности необходимо учитывать при проведении лабораторных диагностических исследований.

Чувствительность культур *H. parasuis* к некоторым антибиотическим препаратам изучали на 12 изолятах, выделенных из биологического материала клинически здоровых и больных гемофилезным полисерозитом свиней. В частности, из носовых ходов клинически здоровых поросят – две культуры, из перикардальной жидкости больных павших поросят

– четыре культуры, головного мозга и легких – по три культуры соответственно.

В качестве исследуемых препаратов применяли ряд антибиотиков как традиционно используемых в ветеринарной практике, так и появившихся недавно на ветеринарном фармакологическом рынке.

Проведенные тесты показали, что все культуры были чувствительны к драксину (тулатромицин), при этом средний показатель зоны задержки роста культур *H. parasuis* составил 19,6 мм. К окситетрациклину чувствительность проявляли 58,3% тестированных культур, к пенициллину – 66,7%, ампициллину – 50%, хлоромфениколу – 58,3%, неамицину – 16,7%, мономицину – 58,3%, тетрациклину – 41,6% и линкомицину – 25%.

Необходимо отметить, что наибольшую резистентность культуры возбудителя гемофилезного полисерозита показали к линкомицину (75%) и тетрациклину (58,3%) (табл.1).

**Таблица 1** – Чувствительность выделенных культур *H. parasuis* к некоторым химиотерапевтическим препаратам

Культуры	Химиотерапевтические препараты											
	драксин	окситетрациклин	пенициллин	ампициллин	хлоромфеникол	стрептомицин	неомицин	гентомицин	эритромицин	монолицин	тетрациклин	линкомицин
1Н	+	+	+	+	+	Х	+	Х	Х	+	-	-
2Н	+	Х	+	Х	+	-	Х	Х	Х	Х	-	-
3Н	+	+	-	+	+	-	+	Х	Х	+	-	-
4Н	+	+	+	+	Х	Х	Х	Х	Х	-	-	-
7Н	+	+	+	+	+	Х	-	Х	Х	Х	+	-
12Н	+	Х	-	-	+	-	Х	Х	Х	+	+	-
20Н	+	+	+	Х	-	Х	-	Х	Х	+	-	+
13Н	+	Х	+	+	+	-	-	Х	Х	-	+	+
14Н	+	+	+	-	+	Х	Х	Х	Х	+	+	-
22Н	+	-	Х	+	-	Х	Х	Х	Х	Х	+	+
19Н	+	+	-	-	Х	Х	Х	Х	Х	+	-	-
29Н	+	+	+	Х	-	-	Х	Х	Х	+	-	-

Примечание: + – чувствительны; - - резистентны, Х – от 10% до 80% культур резистентны

Известно, что оценка персистентного потенциала микроорганизмов имеет большое значение для диагностики, профилактики и лечения инфекционного заболевания. К важным персистентным факторам микроорганизмов относится антилизоцимная активность, то есть способность специфически супрессировать лизоцим хозяина и обеспечить сохранность возбудителя в макроорганизме [1, 2].

Проведенные нами исследования показали, что из 15 тестированных культур высокой антилизоцимной активностью (АЛА) обладали 8 (53,3%) культур. При этом выраженность АЛА культур *H. parasuis*, выделенных от больных свиней, была достоверно выше по сравнению с изолятами, полученными от здоровых животных. У 5 культур (33,3%) *H. parasuis* степень АЛА в среднем  $1,2 \pm 0,03$  мкг/мл ОП. В то же время у (13,3%) изолятов *H. parasuis* отмечали слабовыраженную антилизоцимную активность, в среднем на уровне  $0,6 \pm 0,01$  мкг/мл ОП.

**Заключение.** Таким образом, проведенные исследования показали, что выделенные от свиней с респираторной патологией культуры *H. parasuis* обладали типичными культурально-морфологическими характеристиками, в основном совпадающими с данными других авторов [5; 6; 7]. Также установлена определенная вариабельность выделенных культур в отношении ряда биохимических свойств, устойчивости к антибиотическим препаратам, что необходимо учитывать при проведении лабораторных диагностических исследований. Отмечено, что большинство выделенных культур возбудителя гемофильного полисерозита обладало высокой антилизоцимной активностью, в особенности изоляты, полученные из патологического материала больных респираторной патологией свиней, что, на наш взгляд, позволяет прогнозировать течение болезни уже на ранних стадиях инфекционного процесса.

### Библиографический список

1. Акжигитов А.С., Пашкова Т.М., Карташова О.Л. Антилизоцимная активность микроорганизмов-возбудителей отитов собак // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т.17. – №2. – С. 35.
  2. Бухарин О.В., Валышев А.В., Черкасов С.В. Персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов // Журнал «Эпидемиологии и вакцинопрофилактика». – 2005. – № 4. – С.43-48.
  3. Баранова Н.А., Крысенко Ю.Г. Гемофильный полисерозит свиней // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы II Сибирского ветеринарного конгресса. – Новосибирск, 2010. – С. 301-302.
  4. Моисеева Н.В. Гемофильный полисерозит свиней / Биотика 6(7). – 2015. – С. 157-159.
  5. Толяронок Г.Е. Об этиологии полисерозитов у поросят на промышленных комплексах / Ветеринарная наука – производству: Сб. науч. трудов БелНИИЭВ. – Минск: Ураджай, 1990. – Вып. 28. – С.90-95.
  6. Nedbalcova K. Haemophilus parasuis and Glasser's disease in pigs: a review Veterinarni Medicina, 51. – 2006 (5). – P. 168-179.
  7. Oliveira S., Pigoan C. Haemophilus parasuis: vet trends on diagnosis, epidemiology and control // Vet Microbiol. – 2004 (26). – P. 1-12.
1. Akzhigitov A.S., Pashkova T.M., Kartashova O.L. Antilysozyme activity of dog otitis microorganisms. *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2015. Vol 17. No 2. pp. 35.
  2. Bukharin O. V., Valyshev A. V., Cherkasov S. V. The persistent potential of opportunistic microorganisms. *Zhurnal Epidemiologii i vaksino profilaktiki*. 2005. No 4. pp. 43-48.
  3. Baranova N.A. Krysenko Yu.G. Hemophilous polyserositis of pigs. Proc. of II Siberian Veterinary Congress "Actual issues of veterinary medicine".

Novosibirsk. 2010 . pp. 301-302.

4. Moiseeva N.V. Hemophilic polyserositis in pigs. *Biotica* 6 (7). 2015 . pp. 157-159

5. Tolyaronok G.E. On the etiology of polyserosites in piglets in industrial complexes. *Veterinarnaya nauka – proizvodstvu: Sb. nauch. trudov BelNIIEV*. Minsk. Urajay. 1990. Issue 28. pp.90-95.

6. Nedbalcova K. Haemophilus parasuis and Glasser's disease in pigs: a review *Veterinarni Medicina*, 51. 2006 (5). pp 168-179.

7. Oliveira S., Pigoan C. Haemophilus parasuis: vet trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet Microbiol*. 2004 (26). pp. 1-12.

УДК 636.2.034

DOI: 10.34655/bgsha.2020.58.1.009

**И.В. Миронова, Р.Р. Исламов, А.А. Нигматьянов, И.Р. Газеев,  
Е.Н. Черненко**

### **МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО МОЛОКА КОРОВ, ПОТРЕБЛЯЮЩИХ СЕНАЖ, ЗАГОТОВЛЕННЫЙ С ПРЕПАРАТАМИ «БИОСИБ» И «СИЛОСТАН»**

**Ключевые слова:** коровы, закваска, «Биосиб», «Силостан», удой, молоко, сенаж, жир

*В статье приводятся данные среднесуточного удоя, удоя за 100 и 120 дней лактации, а также, массовой доли жира и его количества по месяцам лактации коров, потребляющих злаково-бобовый сенаж, заготовленный с применением заквасок «Биосиб» и «Силостан». Научно-хозяйственный опыт проводился в ООО «Агрофирма Байрамгул» Учалинского района Республики Башкортостан с 2016 по 2017 г. на 36 коровах, разделенных на три группы. Состав рациона коров контрольной группы включал только основной рацион, содержащий сенаж без консервантов. Животные I опытной группы получали сенаж, консервированный закваской «Биосиб», а II опытной группы – «Силостан». В ходе опыта установлена эффективность проведения консервации сенажа при закладке, поскольку величина среднесуточного удоя у животных опытных групп была выше на 1,21-2,04 кг (4,30-7,26%;  $P \leq 0,001$ ); удоя за 100 дней лактации – на 104,3-171,8 кг (3,79-6,24%;  $P \leq 0,001$ ); удоя за 120 дней лактации – на 145,8-244,3 кг (4,32-7,24%;  $P \leq 0,001$ ); содержания жира за 100 дней лактации – на 0,05-0,06 п.п.; за 120 дней – на 0,05-0,07 п.п.; масса жира за 100 дней лактации – на 6,48-10,09 кг (6,07-9,45%;  $P \leq 0,01$ ); масса жира за 120 дней лактации – на 7,61-12,43 кг (5,91-9,65%;  $P \leq 0,01$ ). Более высокий уровень продуктивных качеств демонстрировали животные, потребляющие сенаж, заготовленный с закваской «Силостан», что можно объяснить более разнообразным набором микроорганизмов, а также содержащимся в его составе комплекса аминокислот, ферментов, витаминов и микроэлементов.*

**Mironova, R. Ismagilov, A. Nigmatyanov, I. Gazeev, E. Chernenkov**

### **MILK PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY OF COWS FEEDED BY SILAGE WITH DRUGS «BIOSIB» AND «SILOSTAN»**

**Keywords:** cows, fermentation starter, «Biosib», «Silostan», milk productivity, milk, silage, fat  
*The article presents the data of mean daily milk yield, milk yield over 100 and 120 days of lactation and average daily milk yield, mass fraction of fat and the number of months of lactation*