

## СОВРЕМЕННАЯ КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ПСЕВДОМОНОЗА ПТИЦЫ

К.вет.н., проф. Г.А. Зон, к.вет.н. Е.В. Ващик  
Сумский национальный аграрный университет  
E-mail: [VEV0902@yandex.ru](mailto:VEV0902@yandex.ru)

*Аннотация.* В статье представлен комплекс современных методов диагностики псевдомоноза птицы на основе изучения эпизоотологической, клинической, патологоанатомической, гистологической, бактериологической, серологической, иммунологической, молекулярной диагностики. Рассмотрены современные экспресс-методы (ПЦР, МФА) и классические методы диагностики. Предложен спектр эффективных относительно *P. aeruginosa* современных экологически безопасных дезинфектантов, а также собственные разработки по профилактике псевдомоноза птицы.

*Ключевые слова:* псевдомоноз, *P. aeruginosa*, цыплята-бройлеры, эпизоотологический, бактериологический, патологоанатомический, гистологический, серологический, иммунологический, молекулярный методы диагностики, ПЦР, МФА, экологически безопасные дезинфектанты, ЕХА раствор гипохлорита натрия.

*Zon G.A., Vaschik Y.V. Modern Complex Diagnostics and Prevention of the Pseudomonas Aeruginosa Infections in Birds*

*Summary.* The complex of modern methods of diagnostics of the *P. aeruginosa* infections in birds based on the study of epizootological, clinical, postmortem, histologic, bacteriological, serological, immunological, molecular diagnostics is presented in the article. Modern express methods (PCR, IFA) and classical methods of diagnostics are reviewed. The spectrum of effective to *P. aeruginosa* ecologically safe disinfectants and own developments for the prevention of *P. aeruginosa* infections are proposed.

*Key words:* pseudomonosis, *P. aeruginosa*, broiler chicken, epizootological, postmortem, histologic, bacteriological, serological, immunological, molecular diagnostics, PCR, IFA, ecologically safe disinfectants, ECA solution of sodium hypochloride.

**Текст статьи.** Вступление. В течение последних десятилетий псевдомонозная инфекция приобретает все большее распространение в Украине и мире. Высокая устойчивость *P. aeruginosa* к условиям внешней среды, антагонистическое активностью, резистентность ко многим современным химиотерапевтических препаратов и антибиотиков, а также нарушение зоогигиенических и ветеринарных правил способствует широкому распространению псевдомоноз, повышает их роль в возникновении различных патологических процессов у животных и птицы.

Цель работы - обобщение комплекса современных методов диагностики псевдомоноза птицы на основании изучения эпизоотологической, клинической, патологоанатомической, гистологической, бактериологической, серологической, иммунологической, молекулярной диагностики, а также поиск современных эффективных экологически безопасных способов и средств профилактики псевдомонозной инфекции.

Материалы и методы. Для реализации поставленной цели мы проводили оценку всех существующих методов диагностики и профилактики псевдомоноза птицы, в т.ч. результатов собственных исследований, проведенных экспериментальным путем в условиях кафедры вирусологии, патанатомии и болезней птицы им. профессора И.И. Паникара Сумского национального аграрного университета, Балаклейской районной государственной лаборатории ветеринарной медицины Харьковской области и на производстве.

Результаты исследований. Установление диагноза на псевдомоноз основывается на результатах эпизоотологических, клинических, патологоанатомических и комплекса лабораторных исследований.

Эпизоотологическая диагностика. Изучают эпизоотическую ситуацию в регионе и непосредственно в данном объекте (птицефабрике). Необходимо проводить анализ бактериологических исследований кормов и воды в хозяйстве, контроля качества

дезинфекции (помещений, оборудования инкубатории и т.д.) как вероятных источников инфекции в условиях нарушения ветеринарно-санитарных требований. Учитывают показатели вывода и выводимости, сохранности (1-30 суток), так как псевдомоноз характеризуется высокой смертностью молодняка, а также эмбрионов преимущественно в последние дни инкубации.

**Клиническая диагностика.** Гибель эмбрионов происходит в любой период инкубации, но чаще во второй половине и на выводе. Это может сопровождаться разрывом скорлупы, что вызывает массовый отход, нарушается "дружный" вывод молодняка. У молодняка первых десяти дней жизни болезнь протекает остро с проявлениями септицемии, характеризуется общим угнетением, отсутствием аппетита, малоподвижностью. Заболеваемость составляет 70%, летальность - 30 - 40%, гибель - на 2-4 сутки. С 3 месячного возраста у птицы течение болезни может быть в подострой и хронической форме с признаками токсикоза, поражения печени, тонкого кишечника. У больной птицы наблюдается диарея, хромота, нарушение координации движений, отек и посинение кожи головы, сережек и подглазничных синусов, подушечек лап, истечение из носовых отверстий, конъюнктивит, иногда - признаки поражения опорно-двигательного аппарата.

**Патологоанатомическая картина** при псевдомонозе молодняка характерна для септического процесса. Так, нами при вскрытии погибших цыплят-бройлеров кросса Гибро, инфицированных в возрасте 7-ми суток *P. aeruginosa*, было выявлено: катаральное воспаление и отек легких, отек подкожной клетчатки; катар кишечника. Кровоизлияния наблюдали на эпикарде и серозной оболочке железистого желудка, в паренхиме печени и легких, проявляли дистрофические изменения в печени [1]. Эмбрионы в первую половину инкубации гибнут от патологоанатомических изменений, характерных для геморрагической септицемии и дистрофии печени. Выявляют застой крови в аллантаоисных сосудах и кровоизлияния в подкожную соединительную ткань, желток окрашен в зелено-желтый цвет. Гибель взрослой птицы от псевдомоноза часто сопровождается холециститом, энтероколитом, дистрофией печени, перитонитом, пневмонией.

**Гистологическая диагностика** проводится по общепринятой методике. Мы выявляли в тканях внутренних органов альтеративные и дистрофические процессы на фоне клеточной реакции в ответ на присутствие возбудителя, а также явления делимфотизации в органах иммунной системы.

**Дифференциальный диагноз.** Псевдомоноз птицы дифференцируют от болезней, течение которых сопровождается развитием сепсиса и поражением легких, сердца и других органов. При острой форме картина болезни является наиболее яркой. При молниеносной форме эти изменения являются слабо выраженными, а при подострой и хронической формах течения заболевания патологоанатомические признаки в значительной степени варьируют, сопровождаясь повышенной частотой возникновения омфалитов, артритов, миокардиосклероза, гнойно-фибринозных пневмоний и др. Соответственно, аналогичные изменения могут проявляться при пастереллезе, актинобациллезе, орнитобактериозе, эшерихиозе, болезни Ньюкасла, клебсиеллезе, стрептококковой септицемии, гемофиллезе и орнитозе.

**Бактериологическая диагностика.** Для подтверждения диагноза на псевдомоноз в лабораторию направляют свежие трупы птицы и замершие эмбрионы, образцы кормов (особенно животного происхождения), воды, смывы с пола и стен инкубатора, поилок и кормушек, инкубационных и выводных шкафов, оборудование, клеток, тары для перевозки цыплят, воздухопроводов и т.д. Проводят посев проб биоматериала - крови из сердца, печени, желчного пузыря, костного мозга, легких птицы и желточного мешка эмбрионов на питательные среды: МПБ, МПА и среду Эндо, которые инкубируют в термостате в течение 24 часов при температуре + 37° С. Если через сутки наблюдается рост колоний зеленого, синего, коричневого или черного цвета, со специфическим запахом жасмина, а при бактериоскопии обнаруживают грамтрицательные палочки - в таком случае делают заключительный вывод о выделении *Pseudomonas aeruginosa*.

Если регистрируют рост прозрачных, светло-желтых, светло-коричневых, колоний, а на среде Эндо - бледно-розовых колоний и при бактериоскопии обнаруживают грамтрицательные палочки, в этом случае культуры оставляют еще на день в термостате. Если пигмент пиоцианин так и не обнаруживается, проводят идентификацию по морфологическим признакам, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам: рост при + 42°C и его отсутствия при + 5°C, гидролиз ацетамида, восстановление нитратов в нитритов до молекулярного азота, способности ферментировать глюкозу и галактозу с образованием кислоты без газа, разжижать желатин и проявлять гемолитическую активность и постановкой РА с диагностическими О-агглютинирующими сыворотками. Определение чувствительности к антибиотикам проводят методом диффузии в агар.

Вирулентность выделенных культур подтверждают биопробой на белых мышах, которым внутрибрюшинно вводят смыв суточной агаровой культуры физиологическим раствором в дозе 0,2-0,3 мл в концентрации 500 млн - 1 млрд. микробных тел. В случае положительного результата - гибель в течение 6 - 24 часов.

Токсигенные свойства изучают с помощью иммунохимического метода Эликса с целью выявления способности культур *P. aeruginosa* производить экзотоксин А.

Серологическая диагностика. Для типизации культур используют агглютинирующие поливалентные О-сыворотки *P. aeruginosa*. Типизацию проводят в соответствии с "Руководством по применению В-агглютинирующих сывороток для диагностики псевдомоноза".

Иммунологическая диагностика. В Украине с 2010 Мандигра М.С., Бойко А.П. и соавт. внедрен метод флуоресцирующих антител (МФА) для индикации и идентификации возбудителя псевдомоноза в культурах, патологическом материале и некоторых объектах внешней среды (смывы, вода, воздух). Разработана схема бактериологического исследования биологических материалов с использованием метода флуоресцирующих антител, что позволяет идентифицировать *P. aeruginosa* и сократить срок исследования до нескольких часов [2].

ПЦР - диагностика. В.Н. Афонюшкин, В.Ю. Коптев и соавт. разработали дуплексный вариант ПЦР для детекции геномной ДНК синегнойной палочки (РАЕ) и пастерел (РАS). Для диагностики псевдомоноза важно выявить факт септического процесса и наличие геномной ДНК синегнойной палочки в органах и тканях, которые не контактируют с окружающей средой в норме (сердце, почках, печени). Факт обнаружения геномной ДНК *P. aeruginosa* в легких имеет значение при исследовании эмбрионов и суточных цыплят, потому что кроме диагностического значения положительный результат отражает низкую санитарную культуру в инкубатории [3].

Идентификация псевдомонад методом компьютерного анализа. Коцофляк А.И. предлагает для идентификации псевдомонад применить метод полифазность таксономического анализа. Автором впервые создана база данных о известных видах рода *Pseudomonas* и их фенотипических свойств, которая охватывает информацию о 66 видов, охарактеризованы 113 тестами [4].

Профилактика. Специфической профилактики псевдомоноза в Украине не существует. Поэтому наилучшим способом предупреждения заражения возбудителем псевдомоноза является полное освобождение всего поголовья птицы и увеличения срока «сервис-периода», надежная дезинфекция инкубационного яйца и помещений, выращивание ремонтного молодняка в полной изоляции от взрослой птицы. Для предупреждения заноса и распространения псевдомоноза на территорию птицефабрики необходимо строго выполнять комплекс общепринятых ветеринарно-санитарных мероприятий: комплектация племенного стада птицей из благополучных хозяйств; размещение различных возрастных групп птицы в территориально обособленных зонах с необходимыми санитарными разрывами; создание оптимальных зоогигиенических условий содержания; строгий контроль кормов и кормовых добавок животного происхождения на бактериальное загрязнение; тщательная подготовка

объектов перед размещением новых партий птицы; контроль качества дезинфекции объектов птицеводства.

В профилактике псевдомоноза птицы важным является недопущение инфицирования яиц и эмбрионов в период инкубации и молодняка на выводе. Особое внимание обращают на установление образцового ветеринарно-санитарного порядка в инкубаториях неблагополучных с псевдомоноза хозяйств. В каждой партии инкубационных яиц необходимо анализировать спектр эмбриональной смертности. При уровне 1,5-2% и выше "кровяных телец", 2-3% "замерших", 4-5% "задохликов" в партии, которая инкубируется, проводят бактериологическое исследование с целью исключения бактериозов и, в частности, псевдомоноза. В изолированных культурах *P. aeruginosa* определяют чувствительность к антимикробным препаратам, что учитывается при профилактических и терапевтических целях в случаях появления спонтанного псевдомоноза у молодняка в первые дни жизни, а также для профилактики в виде аэрозольных аппликаций в выводных шкафах.

Цыплят на выводе можно обрабатывать аэрозолем гипохлорита натрия или гексахлорофеном, в выводном шкафу - распылять растворы антибиотиков. Чаще всего возбудитель псевдомоноза чувствителен к следующим антибиотикам: цефтазидим, энрофлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин, гентамицин, амикацин.

Мы разработали малозатратный и экологически безопасный способ профилактики псевдомоноза птицы путем использования электрохимически - активированного (ЭХА) раствора поваренной соли, что подтверждено патентом Украины № 63347, от 10. 10. 2011, Бюл. №19. В качестве дезинфектанта и антимикробного средства используются экологически чистые растворы гипохлорита натрия, полученные путем электролиза раствора поваренной соли: для дезинфекции инкубационного яйца - раствор в концентрации 600 мг/л по активному хлору при экспозиции 30 мин, для обработки инкубационного шкафа перед закладкой яиц - в аналогичной концентрации при экспозиции 2 часа ( $100 \text{ мл/м}^2$ ), для выпойки цыплят вместо воды первые трое суток - в концентрации 150 мг/л по активному хлору, для аэрозольной обработки воздуха птичника на 3, 6, 9 сутки после размещения цыплят из расчета  $100 \text{ мл/м}^3$  воздуха ( $300 \text{ мг/л}$  активного хлора) [5].

Для осуществления надежной санации объектов птицеводства с целью профилактики псевдомоноза используются как классические дезинфекционные препараты, так и современные добавки: пробиотики, подкислители кормов на основе органических кислот и другие новейшие противоионфекционные вещества.

Для дезинфекции инкубационного яйца как один из наиболее эффективных и экономически выгодных, несмотря на запрет, продолжают использовать метод дезинфекции парами формальдегида. Но наряду с высокой эффективностью доказана его аллергенность, канцерогенность, дерматотоксичность и астмогенность для человека. Поэтому актуальным является поиск современных эффективных экологически безопасных дезинфектантов.

Нами предложено использование в условиях производственных лабораторий модифицированного метода определения бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств методом «стекающей капли» с использованием тест-культур (на примере *P. aeruginosa*), что подтверждено патентом Украины № 69947, от 25.05.2012, Бюл. № 10 [6]. Эффективность дезинфицирующих средств устанавливается по наличию или отсутствию линии задержки роста культуры на скошенном агаре на месте предварительно нанесенной стекающей капли дезинфектанта.

Современными эффективными против возбудителя псевдомоноза препаратами для дезинфекции инкубационного яйца являются: Virkon S (перекисные соединения), бактерицид (АТМ), препараты из группы ЧАС (четвертичные аммонийные соединения): Вет-амин, Бровадес-плюс, препарат ББ; Полидес (полиалкиленгуанидины (ПАГ) в комплексе с ЧАС), Монклавит (йод-полимерный антисептик), Жавель-Клейд (хлорактивных соединения органической и неорганической природы, производные циануровой кислоты), митомин и эмицидин (экологически чистые дезинфектанты на основе янтарной кислоты). Для санации воздуха, выводных шкафов инкубаториев - препараты байфамил, полисепт, катапол,

сепустин, полидез, Вет-амин, Жавель-Клейд, Бровадез-плюс, гипохлорит натрия. Также предлагают использовать современные эффективные пробиотики - Моноспорин ПК, Олл-Лак ХСL, Бифидум - СЖХ, Зоонорм и др.

Эффективным средством борьбы с патогенными бактериями в готовом комбикорме и сырье являются добавки к кормам, которые обладают антибактериальным эффектом, на основе муравьиной кислоты, пропионовой и сорбиновой кислот - «ХамекоСал», а также подкислители кормов, например, «Асид-Пак», «Амазил», «Лупрозил», содержащие муравьиную, пропионовую и молочную кислоты на носителе из алюмосиликатов.

В системе профилактических мероприятий предусматривается также введение в корма таких экологически чистых препаратов, которые предупреждают колонизацию кишечника патогенной микрофлорой и снижают вредное воздействие токсинов растительного и микробного происхождения, абсорбируя их и выводя из организма: флавофосфолипид Флавомицин 80 (Intervet, Голландия), Микосорб, маннанные олигосахариды Био-Мос, Молд-зап, Сал-зап, Асид-Пак (Alltech, США), средства для улучшения перевариваемости и абсорбции питательных веществ кормов Оллзайм ПО, Оллзайм Вегпро.

Вывод. В статье проведено обобщение существующих методов диагностики псевдомоноза птицы на основании изучения эпизоотологической, клинической, патологоанатомической, гистологической, бактериологической, серологической, иммунологической, молекулярной диагностики псевдомонозной инфекции птицы. Рассмотрены современные экспресс-методы (ПЦР, МФА) и классические методы диагностики. Представленный комплекс современных методов диагностики псевдомоноза птицы изложен в «Методичні рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики псевдомонозу птиці» [7]. Предложен спектр эффективных относительно *P. aeruginosa* современных экологически безопасных дезинфектантов, а также собственные разработки по профилактике псевдомоноза птицы.

#### **Использованная литература:**

1. Ващик Є.В. Псевдомоноз птиці: основні закономірності інфекційного процесу та удосконалення заходів з профілактики хвороби: дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03 / Ващик Євгенія Володимирівна . – Одеса, 2012. – 120с.
2. Бойко О.П. Епізоотологія та діагностика псевдомонозної інфекції тварин і птиці: дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03 / Бойко Оксана Петрівна . – Одеса, 2012. – 117с.
3. Афонюшкин В.Н. Разработка мультиплексной ПЦР для детекции геномной ДНК *P. aeruginosa* и микроорганизмов рода *Pasterella* в патологическом материале сельскохозяйственной птицы [Электронный ресурс] / В.Н. Афонюшкин, В.Ю. Коптев, Ю.Г. Юшков // ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. – Режим доступа: <http://www.laboratorium.narod.ru/30/multiplex.htm>.
4. Коцофляк О.И. Идентификация бактерий рода *Pseudomonas* методами компьютерного анализа / О.И. Коцофляк, О.Н. Рева, Е.А. Киприанова, В.В. Смирнов // Мікробіологічний журнал. – 2003. – № 6. – С. 3-12.
5. Пат. 63347 Україна, МПК (2011.01) А61D/00. Спосіб профілактики псевдомонозу птиці електро-хімічно-активними розчинами кухонної солі / Зон Г.А., Ващик Є.В.; заявник та патентовласник Сумський національний аграрний університет. - № u 201102014; заявл. 21.02.2011; опубл. 10.10.2011, Бюл. №19.
6. Пат. 69947 Україна, МПК (2012.01) А61L 12/00. Модифікований спосіб визначення бактерицидних властивостей нових дезінфікуючих засобів / Зон Г.А., Ващик Є.В.; заявник та патентовласник Сумський національний аграрний університет. - № u 2011 10753; заявл. 07.09.2011; опубл. 25.05.2012, Бюл. №10.
7. Зон Г.А. Методичні рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики псевдомонозу птиці / Г.А. Зон, Є.В. Ващик, В.В. Стець. - Сумський НАУ, - 2012. – 22с.