



УДК 619:579.852.13

**ВОЗБУДИТЕЛИ И ВОЗРАСТНАЯ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА К КЛОСТРИДИОЗАМ**

**Т.И. ГЛОТОВА, доктор биологических наук, заведующая лабораторией,
Т.Е. ТЕРЕНТЬЕВА, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
А.Г. ГЛОТОВ, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией**

*Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН
630501, Россия, Новосибирская область, пос. Краснообск*

e-mail: t-glotova@mail.ru

Представлены результаты бактериологических исследований проб биоматериала, отобранных от животных разного возраста и половой принадлежности, вынужденно убитых или павших по причине острых кишечных инфекций или внезапной гибели. Изучения выполнены с 2010 по 2016 г. в Новосибирской области. Исследовали пробы биоматериала от 305 гол. крупного рогатого скота разных возрастных групп и половой принадлежности. Изучена этиологическая структура возбудителей клостридиозов и определена возрастная восприимчивость крупного рогатого скота к клостридиозам на молочных комплексах Сибири. В этиологии крупного рогатого скота основная роль принадлежит спорообразующим бактериям семейства Clostridiaceae рода *Clostridium*: *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. novyi*, *Cl. histolyticum* и *Cl. sordellii*. В результате бактериологических исследований 3620 проб биоматериала, отобранного от крупного рогатого скота разных возрастных групп (мёртвоорожденные телята, абортёрванные плоды, телята до 6 мес, телки, нетели, коровы), выделено 317 анаэробных культур бактерий рода *Clostridium*. Бактерии выделены в среднем из 8,8 % исследованных проб биоматериала разного вида (кусочки печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, тонкого кишечника с содержимым, мышечной ткани, сычуга, влагалищные выделения, суставная жидкость, молоко). Наибольшее количество положительных проб получено из сычуга (60 %), наименьшее – из лимфатических узлов (5 %). Бактерии рода *Clostridium* чаще выделяли от коров первого и второго отела (47,6 %) и реже от телят в возрасте от 3 до 6 мес (8,2), мёртвоорожденных телят и абортёрванных плодов (16,1) и телят до 60 дней (16,1 %). Проблема распространения клостридиозов в Российской Федерации в последние годы обусловлена ростом интенсификации животноводства, направленным на увеличение молочной продуктивности коров, проводимой часто на фоне несбалансированных рационов кормления, приводящих к нарушению обмена веществ, в частности развитию ацидозов. В данной ситуации наиболее восприимчивыми к заболеванию являются высокопродуктивные животные после первого и второго отела, а также телята до 6 мес.

Ключевые слова: клостридиозы, анаэробные бактерии, крупный рогатый скот, бактериологические исследования.

Клостридиозы – тяжело протекающие заболевания разных видов животных и человека, вызываемые грамположительными анаэробными спорообразующими бактериями семейства Clostridiaceae рода *Clostridium*. Эти бактерии широко распространены в объектах внешней среды: почве, навозе, пресной и

сточной воде, сене и др. Они могут присутствовать в продуктах разложения (гниения) белковых веществ, но чаще всего являются представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Присутствуя в ЖКТ в качестве комменсалов, бактерии приобретают патогенность

под воздействием определенных факторов (после кормового стресса, травм, изменений условий содержания и состояния организма животного – нарушения обмена веществ, кетозов, ацидоза рубца), на фоне которых нарушается принцип взаимоотношения макро- и микроорганизмов и создаются благоприятные условия для быстрого их размножения и выработки токсинов [1, 2]. В некоторых случаях возникновению клостридиозов способствует бесконтрольное применение антибиотиков [3, 4].

В процессе своего размножения на слизистой оболочке органов ЖКТ эти бактерии способны вызывать некроз клеток эпителия, что способствует проникновению в кровь продуцируемых ими токсинов и ведет к развитию тяжелых патологических процессов в организме животного. Степень тяжести заболевания зависит от количества токсинов, вырабатываемых этими патогенами. Кроме того, снижение защитной реакции организма при клостридиозах способствует размножению условно-патогенной микрофлоры, вызывающей у животных вторичные бактериальные инфекции (пастереллез, сальмонеллез, колибактериоз и др.), сопровождающиеся тяжелыми формами бронхопневмонии или диареи [5].

В этиологии клостридиозов крупного рогатого скота могут участвовать следующие виды бактерий: *Clostridium perfringens*, *Cl. chauvoei*, *Cl. septicum*, *Cl. sordellii* и *Cl. novyi*. Они чаще всего бывают возбудителями злокачественного отека. Энтеротоксемию у крупного рогатого скота связывают с *Clostridium perfringens* типов А, С и D. У новорожденных телят чаще всего ее вызывает *Cl. perfringens* типа А, и она протекает в тяжелой острой форме, характеризующейся токсемией и кишечными расстройствами. От телят старшего возраста чаще выделяют *Cl. perfringens* типа С, от взрослого крупного рогатого скота – типа D. *Cl. septicum* может принимать участие в развитии злокачественного отека, газовой гангрены и энтеротоксемии. *Cl. chauvoei* является возбудителем эмкара. *Cl. sordellii* чаще связывают с синдромом внезапной гибели, но также с энтеротоксемией и злокачественным отеком.

Cl. hemolyticum вызывает бациллярную гемоглобинурию крупного рогатого скота [3, 4, 6–11]. В последние годы выявлен новый вид бактерии – *Cl. difficile*, который вызывает заболевания у телят, ягнят и новорожденных поросят [7, 12].

Клостридиозы у крупного рогатого скота может вызывать любой из перечисленных видов бактерии рода *Clostridium* как в моно-варианте, так и в различных сочетаниях.

Выделение анаэробных бактерий и их видовая идентификация – достаточно трудоемкие и затратные диагностические мероприятия, требующие соблюдения специальных правил отбора и доставки проб биоматериала, высокой квалификации исследователей. По этим причинам в диагностических ветеринарных лабораториях их осуществляют крайне редко. Сведения о видовом составе возбудителей клостридиозов, вызывающих патологию у крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Российской Федерации, а также о половой и возрастной восприимчивости животных носят ограниченный характер [1, 13–15].

Цель работы – изучить этиологическую структуру возбудителей и определить возрастную восприимчивость крупного рогатого скота к клостридиозам на молочных комплексах Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2010–2016 гг. в лаборатории биотехнологии – диагностический центр Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН.

Для бактериологических исследований отбирали пробы биологического материала (кусочки печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, тонкого кишечника с содержимым, мышечной ткани, сычуга, влагалищные выделения, суставную жидкость, молоко) от 305 гол. павших или вынужденно убитых животных разного возраста и половой принадлежности, не получавших антибактериальные препараты. Пробы замораживали однократно и транспортировали в ла-

бораторию в течение не более 4–12 ч в термосе со льдом, чтобы избежать повторно-го оттаивания и замораживания.

Выделение и идентификацию культур бактерий, изучение их патогенности проводили согласно ГОСТ 26503–85 «Методы лабораторной диагностики клостридиозов». В работе использовали искусственные питательные среды: кровяной МПА, тиогликолевую среду и МППА, содержащий 1 % глюкозы.

Для получения чистой культуры выделенные анаэробные бактерии в пробирках с тиогликолевой средой выдерживали в темном месте при комнатной температуре в течение 10–14 сут, после чего прогревали на водяной бане при 90 °С в течение 15 мин. При этом споровые формы бактерий сохраняли жизнеспособность, а посторонняя сопутствующая микрофлора погибала. Затем пересекали бактерии на МППА с 1 % глюкозы в пробирки и на две чашки Петри с кровяным МПА (одну инкубировали в анаэробных условиях, другую – в аэробных при температуре 37 °С). При изучении культурально морфологических свойств бактерий обращали внимание на характер их роста, микроморфологию в мазках, окрашенных по Граму. Видовую идентификацию бактерий осуществляли при помощи набора «RAPID ANAIPPanel».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всего исследовали 3620 проб биоматериала от мертворожденных телят, абортированных плодов, телят до 6-месячного возраста (кусочки селезенки, печени, мышечной

ткани) и коров (кусочки селезенки, печени, мышечной ткани, влагалищные выделения и молоко). Вычисляли процент положительных проб от числа исследованных (табл. 1).

Бактерии рода *Clostridium* выделены в среднем из 8,8 % исследованных проб биоматериала различного происхождения. Наибольшее количество положительных проб выявлено при исследовании сычуга (60 %), наименьшее – из лимфатических узлов (5 %).

Большое количество положительных проб также установлено при исследовании суставной жидкости (32,2 %), проб молока (26,4) и мышечной ткани (13,6 %).

На основании изучения культурально-морфологических, биохимических и биологических свойств выделенные анаэробные бактерии идентифицированы до вида. Всего выделили и идентифицировали 317 культур бактерий рода *Clostridium* четырех видов: *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. sporogenes* и *Cl. histolyticum* (табл. 2).

Cl. septicum и *Cl. perfringens* в тиогликолевой среде вызывали равномерное помутнение разной степени выраженности, сопровождающееся обильным выделением газа и последующим просветлением среды через 24–48 ч роста. Размножение *Cl. histolyticum* сопровождалось интенсивным помутнением среды без газообразования, *Cl. sporogenes* – образованием газа и неприятного гнилостного запаха. При культивировании на кровяном МПА в условиях микроанаэробности все бактерии формировали различных размеров (от мелких до крупных) круглые плоские колонии с неровными и изрезанными краями, окруженные зоной β-гемолиза.

Таблица 1

Частота выделения бактерий рода *Clostridium* из проб биоматериала от крупного рогатого скота ($n = 3620$)

Показатель	Вид биоматериала							
	Печень	Селезенка	Мышечная ткань	Лимфатические узлы	Суставная жидкость	Влагалищные выделения	Молоко	Сычуг
Число исследованных проб	1520	1369	140	261	90	76	144	20
Число положительных проб/% от числа исследованных	114/7,5	70/5,1	19/13,6	13/5,0	29/32,2	22/24,4	38/26,4	12/60,0

Таблица 2

Видовой состав бактерий рода *Clostridium*, выделенных из проб биоматериала

Вид бактерии	Вид биоматериала							
	Печень	Селезенка	Мышечная ткань	Лимфатические узлы	Суставная жидкость	Влагалищные выделения	Молоко	Сычуг
	Количество выделенных культур /%							
<i>Cl. perfringens</i>	1/0,3	1/0,3	1/0,3	–	–	–	–	1/0,3
<i>Cl. septicum</i>	31/9,8	25/7,9	14/4,4	4/1,3	11/3,5	2/0,6	16/5,1	6/1,9
<i>Cl. sporogenes</i>	12/3,8	8/2,5	4/1,3	–	5/1,5	–	3/0,9	5/1,6
<i>Cl. histolyticum</i>	70/22,1	36/11,4	–	9/2,8	13/4,1	20/6,3	19/6,0	–
Всего 317	114/36,0	70/22,1	19/6,0	13/4,1	29/9,1	22/6,9	38/12,0	12/3,8

Все выделенные культуры бактерий окрашивались по Граму положительно. Микроморфология их была представлена толстыми или тонкими палочками различной длины с закругленными концами, располагаемыми одиночно или цепочками (короткими или длинными).

Бактерии всех четырех видов выделены из печени и селезенки, трех видов (*Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. sporogenes*) – из мышечной ткани и сычуга. Из суставной жидкости и проб молока изолировали *Cl. septicum*, *Cl. sporogenes* и *Cl. histolyticum*, из лимфатических узлов и влагалищных выделений – *Cl. septicum* и *Cl. histolyticum*.

От крупного рогатого скота чаще выделяли бактерии двух видов: *Cl. histolyticum* (52,7 %) и *Cl. septicum* (34,5 %). Количество выделений *Cl. perfringens* составило 1,2 %, *Cl. sporogenes* – 11,6 %.

Результаты изучения видового состава клостридий, выделенных от животных разных возрастных групп, представлены в табл. 3.

Бактерии рода *Clostridium* чаще выделяли от коров первого и второго отела (47,6 %), мертворожденных телят и абортированных плодов (16,1), телят до 60 дней (16,1) и реже – от телят в возрасте от 3 до 6 мес (8,2 %). Наши данные согласуются с результатами российских и зарубежных исследователей [14–16].

Особенности клинического проявления и течения клостридиозов у крупного рогатого скота зависели от вида возбудителя и их ассоциаций. У животных регистрировали как острые (септические) клинические формы, заканчивающиеся внезапной гибелью, так и подострые (субклинические), характеризующиеся отставанием в росте у телят и снижением продуктивности у коров.

Таблица 3

Видовой состав бактерий рода *Clostridium*, выделенных от животных разных возрастных групп с 2010 по 2016 г. (n=317)

Вид бактерии	Количество культур, выделенных от животных разных возрастных групп, %				
	Мертворожденные телята, абортированные плоды	Телята		Телки, нетели	Коровы
		до 60 дней	от 3 до 6 мес		
<i>Cl. perfringens</i>	–	2/0,6	5/1,6	–	1/0,3
<i>Cl. septicum</i>	25/7,9	25/7,9	7/2,2	15/4,7	66/20,8
<i>Cl. sporogenes</i>	5/1,6	3/1,0	–	5/1,6	12/3,8
<i>Cl. histolyticum</i>	21/6,6	21/6,6	14/4,4	18/5,7	72/22,7
Всего культур 317	51/16,1	51/16,1	26/8,2	38/12,0	151/47,6

При острых формах инфекции от животных изолировали преимущественно *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*, при подострых – *Cl. histolyticum* и *Cl. sporogenes* в сочетании с представителями условно-патогенной микрофлоры.

ВЫВОДЫ

1. В результате бактериологических исследований 3620 проб биоматериала, отобранного от крупного рогатого скота разных возрастных групп (мёртвоорожденные телята, абортированные плоды, телята до 6 мес, телки, нетели, коровы), выделено 317 анаэробных культур бактерий рода *Clostridium*.

2. Бактерии рода *Clostridium* выделены в среднем из 8,8 % исследованных проб биоматериала разного вида (кусочки печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, тонкого кишечника с содержимым, мышечной ткани, сычуга, влагалищные выделения, суставная жидкость, молоко). Наибольшее количество положительных проб получено из сычуга (60 %), наименьшее – из лимфатических узлов (5 %).

3. Клостридиозы чаще всего регистрировали у коров первого и второго отела. Они сопровождались у них абортами и рождением мёртвых телят. У телят до 60 дней заболевания протекало в форме острых кишечных токсикоинфекций. Максимальное количество бактерий рода *Clostridium* выделили от коров первого и второго отела (47,6 %), мёртвоорожденных телят и абортированных плодов (16,1), телят до 60 дней (16,1 %), минимальное – от телят в возрасте от 3 до 6 мес (8,2 %).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Barker I.K., Van Dreumel A.A., Palmer N. The alimentary system, disease associated with enteric clostridial infection // Pathology of Domestic Animals. – 1993. – Vol 2. – P. 213–221.
2. Berghaus R.D., Mccluskey B.J., Callan R.J. Risk factors associated with hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle // J. of the Amer. Vet. Med. Assoc. – 2005. – Vol. 226. – P. 1700–1706.
3. Hathewey C.L. Toxigenic clostridia // Clinical Microbiology Reviews. – 1990. – Vol. 3. – P. 66–98.
4. Lebrun M., Mainil J.G., Linden A. Cattle enterotoxaemia and *Clostridium perfringens*: description, diagnosis and prophylaxis // Veterinary Record. – 2010. – Vol. 167. – P. 13–22.
5. Jones P.W., Watson T.S., Wallis T.S. Salmonellosis. In: Andrews A.H., Blowey R.W., Boyd H., Eddy R.G., eds. Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle. 2nd ed. – Hoboken, New Jersey: Blackwell Science. – 2004. – P. 215–230.
6. Berghaus R.D., Mccluskey B.J., Callan R.J. Risk factors associated with hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle // J. of the Amer. Vet. Med. Assoc. – 2005. – Vol. 226. – P. 1700–1706.
7. Dahms C., Nubner N.O. et al. Epidemiology and zoonotic potential of multiresistant bacteria and *Clostridium difficile* in livestock and food // GMS Hyg. Infect Control. – 2014. – Vol. 9 (3). – P. 1–16.
8. Hickey M.H., Kwan R.Y.Q., Awad M.M. et al. Molecular and cellular basis of microvascular perfusion deficits induced by *Clostridium perfringens* and *Clostridium septicum* // PLoS Pathog. – 2008. – Vol. 4. – P. 1000–1045.
9. Kennedy C.L., Krejany E.O., Young L.F. et al. The alphatoxin of *Clostridium septicum* is essential for virulence // Mol. Microbiol. – 2005. – Vol. 57. – P. 1357–1366.
10. Manteca C. Etude de l'enterotoxémie bovine en Belgique. III. Comparaison de différents protocoles d'immunisation contre la toxine de *Clostridium perfringens* // Annales de Médecine Vétérinaire. – 2004. – Vol. 148. – P. 147–152.
11. Rood J.I., Cole T. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens* // Microbiological Reviews. – 1991. – Vol. 55. – P. 621–648.
12. Rodriguez-Palacios A., Stampfli H.R. et al. *Clostridium difficile* PCR ribotypes in calves, Canada // Emerg. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 12. – P. 1730–1736.
13. Капустин А.В., Моторыгин А.В., Букова Н.К. Видовой состав клостридий крупного рогатого скота // Вестн. ветеринарии. – 2013. – № 1, вып. 64. – С. 71–73.
14. Терентьева Т.Е., Глотова Т.И., Котенева С.В., Глотов А.Г. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота // Рос. вет. журн. СХЖ. – 2016. – № 1. – С. 5–8.
15. Колесникова Ю.Н., Пименов Н.В., Капустин А.В. Этиология анаэробных инфекций у крупного рогатого скота и сравнительная характеристика выделенных штаммов клостридий // RJOAS. – 2016. – № 8, вып. 56. – С. 39–48.

PATHOGENS AND AGE SUSCEPTIBILITY OF CATTLE TO CLOSTRIDIOSIS

**T.I. GLOTOVA, Doctor of Science in Biology, Laboratory Head,
T.E. TEREITYEVA, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher,
A.G. GLOTOV, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Laboratory Head**

Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, SFSCA RAS

Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia

e-mail: t-glotova@mail.ru

Results are given from bacteriological studies on biomaterial samples taken from animals of different ages and gender, which were slaughtered or died of acute intestinal infections, or due to sudden death. Studies were carried out from 2010 to 2016 in Novosibirsk Region. There were examined biomaterial samples from 305 heads of cattle of different age groups and genders. The etiological structure of pathogens was studied, and age susceptibility of cattle to clostridiosis at Siberian dairy farms was determined. Clostridiosis are caused by Gram-positive, anaerobic, spore-forming bacteria from the family Clostridiaceae, genus *Clostridium*. The following bacteria belonging to this genus play a major role in the etiology of clostridiosis of cattle: *Cl.*

perfringens, *Cl. septicum*, *Cl. novyi*, *Cl. histolyticum* and *Cl. sordellii*. Resulting from bacteriological tests of 3620 biomaterial samples taken from cattle of different age groups (stillborn calves, aborted fetuses, calves under 6 months, heifers, cows, and so on), 317 *Clostridia* anaerobic cultures were isolated. Bacteria were isolated on average from 8.8% of biomaterial samples studied (pieces of liver, spleen, mesentery lymphatic nodes, small intestine, muscular tissue, fourth stomach, vaginal discharge, articular fluid, milk). Most of positive tests (60%) were obtained from the fourth stomach, least (5%) from the lymphatic nodes. Bacteria of the genus *Clostridium* were more often isolated from cows of the first and second calving (47.6%) and less from calves aged between 3 and 6 months (8.2%), stillborn calves and aborted fetuses (16.1%), and calves at 60 days of age and under (16.1%). Actuality of clostridiosis problem in the Russian Federation in recent years is due to considerable intensification of livestock production aimed at increasing productivity of dairy cows, often carried out against the backdrop of unbalanced feed rations. It has been found that the most susceptible to the disease are high-producing cows after the first and second calving and calves up to 6 months.

Keywords: clostridiosis, anaerobic bacteria, cattle, bacteriological tests.

Поступила в редакцию 31.01.2017
