Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ЗОЦЕНКО ЛЮДМИЛА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 619:616.612.017.33

**РОЗПОВСЮДЖЕННЯ СЕРЕД ВРХ І СВИНЕЙ ШИГОТОКСИНПРОДУКУЮЧИХ ЕШЕРИХІЙ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ**

16.00.03 - ВЕТЕРИНАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ ТА ВІРУСОЛОГІЯ

# АВТОРЕФЕРАТ

## дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

КИЇВ – 2003

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті ветеринарної медицини Української академії аграрних наук

**Науковий керівник** − доктор ветеринарних наук,

старший науковий співробітник

**Волинець Леонід Кузьмич**,

Інститут ветеринарної медицини УААН,

завідувач лабораторії ветеринарно-

санітарної експертизи

**Офіційні опоненти**:

доктор ветеринарних наук, академік **Завірюха Анатолій Іванович**, Інститут ветеринарної медицини УААН, завідувач лабораторії бактеріології;

кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник **Скрипник Валерій Григорович**, Науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, завідувач відділу біотехнології і контролю бактеріальних препаратів

**Провідна установа** − Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, лабораторія вивчення хвороб молодняка, м. Харків

Захист дисертації відбудеться “18” червня 2003 року о 12 00 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 в Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв оборони, 15, навчальний корпус 3, ауд. 65.

З дисертацією можна ознайомитись у бібіліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв оборони, 13, навчальний корпус № 4, к.41.

Автореферат розісланий “21” квітня 2003 р.

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради Міськевич С.В.

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Висока напруженість епідемічної ситуації у світі з ентерогеморагічних ешерихіозів зумовила необхідність всебічного й глибокого вивчення розповсюдження та біологічних особливостей збудників цих захворювань – шиготоксинпродукуючих ешерихій (STEC).

Дослідження циркуляції шиготоксинпродукуючих ешерихій має важливе епізоотологічне значення. Висока частота екскреції STEC у популяціях тварин розглядається як основний фактор ризику можливого інфікування населення (Pai C.H., Kelly J.K., Meyers G.L., 1998). Беручи до уваги збільшення впливу цих мікроорганізмів на здоров’я людей, Всесвітня організація охорони здоров’я акцентувала увагу на всебічному й детальному вивченні джерел, факторів передачі й характеристик штамів STEC у кожній географічній зоні. Основним фактором передачі збудника є продукти харчування тваринного походження, а сільськогосподарські тварини є носіями цих небезпечних патогенів (Wray C., Mc Laren I., 1995). Дослідження з вивчення поширення STEC серед поголів’я сільськогосподарських тварин у багатьох країнах проводяться систематично. Оскільки жуйні ідентифіковані як основне джерело STEC, то саме вони, а також продукти харчування – сире м’ясо й молоко, отримані від цієї групи тварин, вважаються потенційно контамінованими й обстежуються найбільш інтенсивно.

На сьогоднішній день багато питань стосовно шиготоксинпродукуючих ешерихій залишаються нез’ясованими. Особливо це стосується не-О15:Н7 STEC. На даний момент патогенний потенціал STEC остаточно не оцінено, адже захворювання у людей і тварин можуть викликати штами з неповним набором факторів патогенності EHEC. Невідомо, наскільки патогенними для людей можуть бути штами ешерихій даної групи, виділені не від ВРХ.

Особливо важливе значення на сучасному етапі досліджень має вивчення закономірностей прояву епізоотичного процесу, що дозволить контролювати поширення STEC у популяціях тварин і своєчасно розривати ланцюг передачі цих патогенів від тварин до людей. Фактично відсутня інформація про вплив різних факторів на рівень носійства та екскреції цих бактерій різними віковими групами окремих видів тварин. ВОЗ наголошує на необхідності ретельних досліджень щодо встановлення особливостей циркуляції бактерій даної патогрупи у їхніх природних господарів. Ці дані необхідні для розробки оперативних методів розриву епізоотологічної ланки при STEC-ешерихіозах людей − попередження контамінування продуктів харчування.

Контроль за циркуляцією цих соціально небезпечних патогенів повинен бути обов’язковим компонентом епізоотологічного нагляду, а їх результат – основою для епідеміологічного прогнозування STEC-інфекцій на контрольованій території й розробки програм забезпечення стабільного епідеміологічного благополуччя та ветеринарно-санітарної безпеки продуктів харчування (Ратинер Ю.А., Бондаренко В.М., Siitonen A., 1998, Brunder W., Schmidt H., Karch H., 1999).

Питання поширення й лабораторної діагностики STEC є актуальними для нашої країни і мають теоретичне й практичне значення. В Україні відсутня інформація щодо епізоотичної ситуації із шиготоксинпродукуючих ешерихій, не визначені їх антигенна структура й шляхи циркуляції, не встановлена їх роль у виникненні захворювань у тварин різних видів і не досліджені клініко-епізоотологічні характеристики ешерихіозів, викликаних STEC. Оскільки збудник локалізується в організмі сільськогосподарських тварин, то своєчасна діагностика є ключовим заходом у попередженні можливого контамінування продуктів харчування й інфікування споживачів. Результати епізоотологічних досліджень господарств України в подальшому стануть науковим підґрунтям для розробки програм попередження інфекційних захворювань людей, викликаних шиготоксинпродукуючими ешерихіями, і забезпечення населення якісними та безпечними продуктами харчування тваринного походження. В Україні не розроблені методи діагностування штамів STEC у різних зразках матеріалів від тварин, у продуктах харчування та об’єктах навколишнього середовища, відсутні методики, не розроблені схеми виділення й дослідження ешерихій даної патогенної групи, немає ефективних диференційно-діагностичних середовищ.

**Зв,язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною державного завдання № 0101U000820 Інституту ветеринарної медицини УААН із тематики “Дослідити поширення й антигенну структуру шиготоксинпродукуючих Escherichia coli, виділених від тварин і з продуктів харчування тваринництва, розробити методи діагностики та заходи профілактики ” на період 2001−2005 року.

**Мета й завдання досліджень.** Мета роботи − визначити ступінь розповсюдження, антигенну структуру та біологічні властивості шиготоксин-продукуючих ешерихій серед сільськогосподарських тварин у господарствах України та розробити способи індикації штамів STEC у клінічних зразках та продуктах харчування.

Для досягнення поставленої мети потрібно було вирішити наступні завдання:

− відпрацювати й провести порівняльне вивчення ефективності різних методів індикації STEC;

− з’ясувати розповсюдження ешерихій, які продукують шиготоксини, серед ВРХ, свиней, птиці в господарствах України;

− установити етіологічну роль STEC у розвитку шлунково-кишкових захворювань у різних видів тварин, дослідити продукти харчування тваринного походження на наявність штамів STEC;

− визначити культурально-морфологічні, біохімічні властивості виділених штамів STEC, дослідити їх біологічні властивості й установити наявність факторів патогенності ЕНЕС;

− розробити експрес-методи виділення та ідентифікації ЕНЕС серотипу О157:Н7 та провести його скринінг у досліджуваних матеріалах.

*Об’єкт дослідження*. Поголів’я великої рогатої худоби, свиней і птиці в різних господарствах України та продукти харчування тваринного походження.

*Предмет досліджень.* Рівень екскреції шиготоксинпродукуючих ешерихій різними віковими групами тварин; епізоотологічні особливості STEC-інфекції у ВРХ, свиней, птиці; фактори патогенності збудника та його біологічні властивості.

*Методи досліджень.* Епізоотологічний аналіз, бактеріологічні, серологічні, генетичні, біохімічні й статистичні методи.

###### Наукова новизна роботи. Уперше в Україні проведені дослідження з визначення циркуляції STEC серед поголів’я сільськогосподарських тварин господарств різних регіонів країни. Циркуляція STEC виявлена серед ВРХ у 60% обстежених тваринницьких фермах. Визначено спектр домінуючих сероварів STEC у ВРХ та свиней. Установлено здатність продукувати шиготоксини в E.coli серогруп О2, О8, О26, О111, О139, О141. За допомогою нових сучасних діагностичних методів отримано об’єктивну інформацію щодо факторів патогенності виділених штамів. Установлено етіологічну роль STEC у розвитку захворювань телят і поросят із симптомом діареї та визначена їхня антигенна структура. Виявлено пряму корелятивну залежність між наявністю еае-генів у ешерихій та проявом захворювання у телят.

**Практичне значення одержаних результатів.** Виділені провідні серогрупи STEC, які є етіологічним фактором захворювань травного каналу молодняку сільськогосподарських тварин. Отримані результати дали можливість підібрати штами і включити їх у вакцину для профілактики пастерельозу, сальмонельозу та ешерихіозу свиней “Пасако”, ТУУ 24.4.19024865.677-2002 затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини 18 грудня 2002 року. Розроблені й опубліковані Методичні рекомендації по профілактиці захворювань птиці колібактеріозом, які затверджені науково-технічною радою Головного управління ветеринарної медицини з державною-ветеринарною інспекцією Міністерства сільського господарства й продовольства України 17 грудня 1999 року (протокол №2). Отримано деклараційний патент на винахід “Селективне й диференційне живильне середовище для виділення ентерогеморагічних E.coli − О157:Н7 агар” № 53979А. Отримані наукові дані використовуються в учбовому процесі з курсу мікробіології і ветеринарної санітарії в Білоцерківському державному аграрному університеті.

**Особистий внесок здобувача.** Робота виконана здобувачем особисто. Автор самостійно розробила напрямки й схему експерименту, провела основні дослідження з виділення й вивчення культурально-морфологічних, біохімічних та патогенних властивостей виділених штамів. Отримання даних із використанням ПЛР проводились спільно з науковими співробітниками лабораторії генетики Інституту свинарства (м. Полтава) та співробітниками лабораторії бактеріології Інституту ветеринарії (м.Пулави, Польща). Отримання й концентрування токсинів, дослідження з використанням культури клітин, здійснені спільно із співробітниками відділу проблем інтерферону Інституту мікробіології й вірусології ім. Заболотного НАН України. Аналіз та узагальнення одержаних експериментальних даних проведені автором особисто. Самостійно сформульовані основні положення та висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених “Проблеми патології тварин та шляхи їх вирішення” (м.Київ, жовтень 2000 р.), міжнародній науково-практичній конференції “Біотехнологія у ветеринарній медицині” (м.Київ, 9−11 вересня 2002р.) Основні положення дисертаційної роботи обговорювалися на звітних зборах Вченої ради ІВМ УААН (1999−2001 рр.)

**Публікації.** Матеріали дисертації опубліковані у 7 статтях, у тому числі 5 − у фахових виданнях.

**Структура та обсяг дисертації.** Об’єм дисертаційної роботи складає 166 сторінок і включає: вступ, огляд літератури, результати експериментальних досліджень (6 розділів), їх аналіз та узагальнення, висновки, список використаних джерел, в т.ч. 243 іноземних, 5 додатків. Робота ілюстрована 19 таблицями, 12 діаграмами, 2 фотографіями. У додатках наведено 5 документів.

#### МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконувалась протягом 1999−2001 років у лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи Інституту ветеринарної медицини УААН, лабораторії генетики Інституту свинарства (м. Полтава), лабораторії бактеріології Інституту ветеринарії (м.Пулави, Польща), відділі проблем інтерферону Інституту мікробіології й вірусології ім. Заболотного НАН України, тваринницьких господарствах різної форми власності Київської, Вінницької, Чернігівської, Кіровоградської та Миколаївської областей.

Для проведення наукових досліджень були використані референтні та епізоотичні штами E.coli.

При вивченні поширення шиготоксинпродукуючих ешерихій, в кожному обстежуваному господарстві формували групи з 8-15-ти довільно відібраних тварин. Від кожної тварини відбирали фекалії, які досліджували в ПЛР з праймерами для визначення *stx*-генів і в культурі клітин. Спочатку з фекалій тварин одного господарства готували і досліджували збірну пробу. При отриманні позитивного результату, кожний зразок досліджували окремо. Кожну позитивну в ПЛР-аналізі пробу висівали на сердовище Ендо для виділення окремих колоній E.coli. Кожну колонію після визначення видової належності досліджували методом аналізу цитотоксичності в культурі клітин Vero. Шиготоксинпродукуючі колонії відбирали і вивчали тип шиготоксинпродукування, ентерогемолітичні властивості, синтез інтиміну, цукролітичні властивості, серогрупову належність, експресію фімбріальних адгезинів, синтез термолабільного і термостабільного ентеротоксинів, стійкість до антибактеріальних препаратів.

Серогрупову належність виділених культур E.coli встановлювали в реакції аглютинації з типоспецифічними аглютинуючими О-сироватками для ідентифікації ентеропатогенних типів кишкової палички Армавірської біофабрики. Наявність фімбріальних адгезинів К99, F41, Att25, 987P, K88ac, K88ab, K88ad визначали в РА з набором сироваток ешерихіозних антиадгезивних аглютинуючих (ІЕКВМ).

Визначення шиготоксинпродукування виділеними штамами ешерихій в культурі клітин Vero здійснювали за методом Konovalchuk L (1976). Культуру клітин Vero отримували в Біо-тест-лабораторії у вигляді суспензії на ростовому поживному середовищі.

Для визначення наявності *stx*- та *еае-*генів застосовували полімеразну ланцюгову реакцію. Використовували праймери MK1/MK2 (*stx*), LP30/ LP31 (Stx-1) і LP43/ LP 44 (Stx-2), SK1/SK2 (*еае*), синтезовані “DNA-Gdansk”, Польща.

Оцінку експресії EHEC-гемолізину проводили за методом А. Lehmacher et al. (1994).

Здатність продукувати термолабільний ентеротоксин виділеними штамами E.coli визначали в Бікен-тесті. Визначення термостабільного ентеротоксину проводили на мишенятах-сисунах за методом Романенкової із співавторами (1986).

Методом дифузії в агар було вивчено чутливість виділених штамів STEC до слідуючих антибіотиків і хіміотерапевтичних препаратів: пеніцилін, стрептоміцин, тетрациклін, левоміцетин, еритроміцин, мономіцин, канаміцин, поліміксин, флумексин, гентаміцин, цефазолін, енрофлоксацин 5%, тромексин.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

**Розповсюдження STEC серед здорової ВРХ**

З метою вивчення поширення шиготоксинпродукуючих E.coli було досліджено 440 голів ВРХ з 15-ти господарств 6-ти областей України, із них 245 – дорослі і 195 − молодняк. Усі тварини були клінічно здоровими, а господарства − благополучні щодо колібактеріозу. Культури шиготоксинпродукуючих ешерихій були виділені з фекалій 41 тварини (9,3%) з 9 обстежених господарств (60 %). Інтенсивність виділення STEC-позитивних тварин варіювала від 2,9 до 30,6% (рис.1).

Частота виявлення збудника у фекаліях тварин різних вікових груп у всіх господарствах була неоднаковою. У наших дослідженнях інтенсивність виділення STEC-позитивних тварин серед молодняку була у 1,8 раз вищою порівняно з дорослим поголів’ям. При дослідженні фекалій від 195 телят виявлено 24 тварини, які виділяли шиготоксинпродукуючі ешерихії, що становило 12,3% від загальної кількості обстеженого молодняку. В той же час культури STEC були виділені з фекалій 17 з 245 обстежених голів дорослих тварин − 6,94%. У більшості господарств токсигенні ешерихії виділялись одночасно і від дорослих, і від молодняку. У ряді господарств рівень екскреції STEC молодняком значно перевищував рівень екскреції дорослим поголів’я.

**Визначення питомої ваги шиготоксинпродукуючих ешерихій в етіологічній структурі шлунково-кишкових хвороб телят**

Одним з головних завдань даної роботи було визначення патогенетичної ролі E.coli, які володіють здатністю продукувати шиготоксини, у виникненні й розвитку шлунково-кишкових захворювань телят і оцінка ступеня їх поширення. З цією метою були проведені бактеріологічні дослідження фекалій 78 хворих телят з симптомом діареї і патологічного матеріалу від 34 телят з 16 господарств України, неблагополучних щодо масових шлунково-кишкових захворювань. В результаті бактеріологічних досліджень шиготоксинпродукуючі ешерихії були виділені зі шлунково-кишкового каналу 22 хворих телят і 7 зразків патологічного матеріалу, відібраного від тварин з симптомом діареї. Наявність STEC-інфекціїї встановлено в 5 (29,4%) із 17 обстежених неблагополучних щодо масових шлунково-кишкових захворювань телят господарствах. В середньому рівень виділення ешерихій, які належать до даної патогенної групи, від телят становив 12,9%.

**Циркуляція STEC у свинарських господарствах**

При дослідженні 94 зразків патологічного матеріалу з 17 товарних свинарських господарств, де реєструвались захворювання поросят віком 0,1-2 місяці з симптомом діареї, було 29 культур ешерихій. Також, вероцитотоксичні властивості вивчали у 19 штамів ешерихій, отриманих із ряду районних державних лабораторій ветеринарної медицини, які виділили при дослідженні патолого-анатомічного матеріалу від свиней. 14 штамів виділено при обстеженні благополучних щодо ешерихіозу господарств від здорових поросят і свиноматок.

STEC були ізольовані з патологічного матеріалу від 35 захворілих гастроентеритом на протязі 1 тижня після відлучки поросят 6 господарств.

**Структура факторів патогенності STEC, виділених від дорослої ВРХ**

Від 13 дорослих корів були виділені ізоляти ешерихій, які продукували один тип токсину і мали однакові біологічні властивості, що вказує на носійство одного штаму STEC. Але в ряді випадків одна тварина екскретувала ешерихії з різними токсигенними властивостями − від 4-х дорослих корів одночасно були виділені ізоляти кількох токсигенних типів.

Аналізуючи частоту виділення ешерихій (рис.2), продукуючих різні типи шиготоксинів, слід відмітити, що частота виділення Stx2-позитивних тварин у 1,4 рази більша, ніж Stx1. Із 17 STEC-позитивних тварин культури лише Stx1-продукуючих ешерихій були виділені тільки від 1 тварини і ще двоє корів експресували Stx1-продукуючі ешерихії у комбінації з E.coli − продуцентами Stx2 чи Stx1/2. У тварин решти господарств домінували STEC, які продукували Stx2 і Stx1/2 (Р<0,05). 7 голів ВРХ екскретували *stx2* E.coli і 5 – *stx*1/2. Загальна частка виділення Stx2 і Stx1/2-продукуючих E.coli склала 70%, тоді як Stx1 та Stx1/2 – 35%.

При серологічному вивченні О-групової належності виділених штамів E.coli установлено, що більшість культур не типувалися О-колі аглютинуючими сироватками. Із 367 ізолятів, виділених від дорослої ВРХ, було встановлено серогрупу у 38. Ідентифіковані штами належали до чотирьох серогруп – О111, О8, О26 і О2. В ряді господарств від групи STEC-позитивних тварин виділяли ешерихії, які типувалися і які не типувалися в РА зі стандартними сироватками − О111 *stx2*  і ОНТ *stx1/2*, а також від 3 тварин одночасно були виділені STEC з різною антигенною структурою і типом шиготоксинів − ОНТ *stx1/2*, і ОНТ *stx2*, ОНТ *stx1/2*, і ОНТ *stx1*.

1 - Stx1, 2 - Stx2, 3 - Stx1/2, 4 - Stx1+ Stx2, 5 - Stx1+ Stx1/2, 6 - Stx1/2+ Stx2

# Рис. 2 Структура носійства різних типів STEC

**Дорослою великою рогатою худобою**

Наступним етапом дослідження було визначення у виділених штамів специфічних факторів патогенності ентерогеморагічних ешерихій – еаеА-генів, які входять до складу хромосомного локусу ентероцитного прикріплення (LEE). Ці гени кодують синтез інтиміну – білку, за рахунок якого бактеріальна клітина тісно прикріплюється до поверхні ентероцитів, обумовлюючи початок секреції 111 типу й розвиток А/Е пошкодження. Штами STEC, які мають цей додатковий фактор патогенності, є потенційними збудниками інфекцій у людей. Результати ПЛР із праймерами SK1/ SK2 показали наявність у семи культур STEC (35%), виділених від ВРХ 3-х господарств, еаеА-генів. Ці культури належали до серогруп О26 (СВК “Правда”), О111 (ЗАТ “Гайсинське”), Онт (СВК ім. Б.Хмельницького) і Онт (ЗАТ “Агросвіт”). Три культури E.coli О111 і 1 культура E.coli Онт (СВК ім. Б.Хмельницького) були *stx2*-позитивні, E.coli серогрупи О26 - *stx1*і E.coli Онт (ЗАТ “Агросвіт”) несли *stx1/2* гени.

Третім основним фактором патогенності шиготоксинпродукуючих ешерихій, який свідчить про їх вірулентність для людей і характеризує належність STEC до групи ЕНЕС, є здатність продукувати ентерогемолізин. Тому для повної оцінки патогенного потенціалу виділених від ВРХ штамів STEC, важливим було визначення їх ентерогемолітичних властивостей. У всіх *stx*-позитивних E.coli, виділених від кожної тварини було визначено продуквання ентерогемолізину ентерогемолізин-агарі. Із 16 виділених від дорослої ВРХ шиготоксинпродукуючих культур ешерихій, ентерогемолізин продукувало 2 (12,5%) ізоляти.

**Властивості штамів STEC, виділених від клінічно здорових телят**

Штами шиготоксинпродукуючих ешерихій виділені з фекалій від 24 телят у 8 господарствах. Виділені ізоляти належали до кількох серогруп, але на відміну від дорослих тварин, більшість культур типувалися О-колі аглютинуючими сироватками. Зокрема, у культур E.coli від 14 тварин (71,4%) було визначено групову належність соматичного антигену (табл.1)

Таблиця 1

**Характеристика штамів STEC, виділених із фекалій молодняку**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Господарство | Виділено STEC-позитивних | Кількість позитивних ізолятів в культурі | О серогрупа | Тип токсинопро-дукування |
| 1 | КСП “Україна” | 1 | 5 | Онт | *stx2 еае* |
| 2 | КСП “Прогрес” | 5 | 4,5 | Онт | *stx*-2 |
| 3 | ЗАТ “Гайсинське” | 2 | 7,5 | О111 | *stx*-2 еае |
| 4 | ПП Войтенко Л.І. | 2 | 8 | О2 | *stx*-1/2 |
| 5 | ЗАТ “Агросвіт” | 3 | 5,3 | Онт | *stx*-2 |
| 6 | СВК “Зоря Поділля” | 1 | 9 | Онт | *stx*-1 |
| 7 | СВК “Правда” | 7  1 | 7,6 | О26  Онт | *stx*-1еае  *stx*-2 |
| 8 | ВАТ “Колос” | 2 | 6 | О8 | *stx*-1/2 еае |
|  | Всього | 24 | 6,8 |  |  |

Основна частка типованих ізолятів припадала на одне господарство (СВК “Правда”), де при дослідженні фекалій від 16 телят 7−210-денного віку у 8 (50%) виділено E.coli О26. При порівнянні серогрупової належності ізолятів ешерихій, виділених від окремих тварин різних вікових груп обстежених господарств, серед молодняку відмічено менш різноманітний серологічний пейзаж О-груп. Так, ешерихії кількох серогруп і кількох токсигенних типів виявлені лише в одному господарстві − СВК “Правда”. Від 7 тварин було виділено О26 *stx*1, а від 1 – О26 *stx*1 і Онт *stx*2. В той же час у дорослих тварин циркуляція ешерихій двох серогруп і кількох патотипів відмічена в 4-х господарствах. У всіх господарствах, де було встановлено О-серогрупу ешерихій, циркулюючих серед молодняку, ешерихії таких самих серогруп виділені й у дорослих корів. Можливо, що серогрупи ешерихій ВРХ різних вікових груп співпадали і в решті господарств, але при відсутності повного набору діагностичних О-колі сироваток і обмеженої кількості досліджень, ми не можемо стверджувати про ідентичність циркуляціїї STEC певних серогруп у межах однієї ферми чи стада ВРХ.

При аналізі токсигенних властивостей E.coli, виділених від телят, встановлено, що більшість із них були носіями *stx*2 генів і, відповідно, продуцентами Stx2 токсину. Із 24 STEC-позитивних телят, 11 (45,8%) були носіями *stx*2 E.coli, 4 (16,7%) − *stx*1/2, 8 (33,3%) − *stx*1, 1 (4,2) − *stx*1 і *stx*2. Частота виділення *stx*1 E.coli від молодняку значно більша, ніж від дорослих тварин (рис.3).

1 -*stx*1, 2 – *stx2,* 3 – *stx 1/2,* 4 – *stx ½ + stx1 ,* 5 – *stx ½ + stx2,* 6 – *stx*1 + *stx*2

Рис.3 **Порівняльна характеристика екскреції різних типів STEC великою рогатою худобою**

Від 13 (52,2%) телят з 4-х господарств (50% із обстежених) були виділені культури STEC, які були позитивні в ПЛР з еае-генними послідовностями (див.табл.1). Наявність еае-гену у STEC, виділених від телят, є вірогідно частіша (Р<0,01), ніж у культур ешерихій даної патогрупи, виділених від дорослих. Ентерогемолізин продукували лише культури E.coli О26, виділені від 8 телят у СВК “Правда”.

**Властивості STEC, виділених від хворих телят із симптомом діареї**

При визначенні серогрупи виділених штамів шиготоксинпродукуючих E.coli встановлено, що вони належали до серогруп О111 (5 культур), О26 (11), О8 (5), О5 (7), Онт (1), ОR (1). У двох господарствах від хворих телят виділені ешерихії серогрупи О26 і у двох господарствах у телят встановлена наявність STEC кількох серогруп. При аналізі типу шиготоксинопродукуванння було встановлено, що в групі шиготоксинпродукуючих ешерихій, виділених від хворих телят, домінують продуценти Stx1 (рис. 4).

Дослідження з вивчення синтезу ТЛ і ТС й експресії фімбріальних адгезинів дали негативні результати.

Результати ПЛР з праймерами для визначення *еае*-гену показали, що всі штами були здатні продукувати інтимін і таким чином викликати А/Е пошкодження. У той же час, продукування ентерогемолізину було властиве лише штамам серогрупи О26, виділеним в обох господарствах.

При дослідженні штамів виділених від хворих на діарею телят виявилось, що значна частина штамів була менш чутливою до більшості антибактеріальних препаратів (Р <0,05). Дані штами, як і штами виділені від здорових тварин, також не були чутливі до стрептоміцину, тетрацикліну, пеніциліну, тромексину. Але серед них були штами, резистентні до таких потужно діючих препаратів як амоксицилін, гентаміцин, цефазолін, левоміцетин.

**Властивості STEC, виділених від свиней**

При бактеріологічному дослідженні проб, отриманих від хворих і загиблих поросят з ознаками діареї було виділено 48 штамів E.coli. Вони належали до серогруп: О149 – 13 штамів (27,1%), О139 – 10 (20,8%), О141 – 7 (14,6%), О101 – 4 (8,3%), 14 (29,2%) не типувалися в РА. Шиготоксин продукували 6 штамів, які ізолювали від хворих на діарею поросят 2-місячного віку в 6 свинарських господарствах (див. табл. 2). Слід відмітити, що загалом синтез ентеротоксинів було встановлено у 42 (87,5%) ізолятів. Найбільше виділених культур продукували термолабільний ентеротоксин – 18 штамів (42,9% від загальної кількості всіх токсигенних штамів). Здатність до продукування цього ентеротоксину була

1-Stx1 2-Stx1/2 3 – Stx2

Рис. 4 **Структура типів STEC виділених від хворих телят із симптомом діареї**

більше виражена у E.coli серогрупи О149 – 77% виділених штамів цього серотипу продукували термолабільний токсин окремо або в комбінації з термостабільним. 10 штамів (23,8%) продукували лише термостабільний, а 8 штамів (19%) – термолабільний і термостабільний токсини ( табл.2).

Таблиця 2

#### Токсигенність штамів ешерихій, виділених від свиней

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Серогрупа | Кількість виділених штамів, які продукували токсини (%) | | | | | Усього токсигенних штамів (%) |
| ТЛ | ТС | Stx2v+ТЛ | ТС+ТЛ | Stx |
| О149 | 9 (69,2) | 3 (23,1) |  | 1 (7,7) |  | 13 (30,9) |
| О139 | 2 (20) | 2 (20) | 3 (30) | 2 (20) | 1 (10) | 10 (23,8) |
| О141 | 2 (28,6) | 2 (28,6) | 1 (14,3) | 1 (14,3) | 1 (14,3) | 7 (14,3) |
| О101 | 2 (50) | - |  | 2 (50) |  | 4 (9,5) |
| Онт | 3 (37,5) | 3 (37,5) |  | 2 (25) |  | 8 (19,1) |
| Всього | 18 (42,9) | 10 (23,8) | 4 (9,5) | 8 (19) | 2 (4,8) | 42 (100) |

Із 42-х штамів ешерихій, у яких встановлено здатність до продукування ентеротоксинів, 6 продукували шиготоксин, що складає 14,3% від загальної кількості токсигенних штамів. З них 4 (66,7%) одночасно продукували Stx2v і ТЛ і 2 (33,3) – лише Stx2v.

###### Скринінг штамів серогрупи О157

При бактеріологічному дослідженні 758 зразків фекалій, вмісту кишечника та внутрішніх органів загиблих тварин, отриманих від тварин із різних регіонів України, а також продуктів харчування, відібраних із ринків м.Києва, виділяли різноманітну мікрофлору. Escherichia coli ізольовані з 96% проб. У зв’язку з тим, що серогрупа О157 представлена не тільки сорбіт-негативним шиготоксинпродукуючим серотипом O157:H7, а й іншими серотипами, які також можуть належати до класу STEC, в РА із сироваткою на ліпополісахаридний антиген О157 типували всі виділені культури.

Із 758 культур типоспецифічними сироватками, які входять до набору, типувалося 362 культури (47,8 %). Було виділено два штами Е.coli О157. При вивченні поширення шиготоксинпродукуючих ешерихій в одному з господарств Вінницької області було відібрано групу дорослої ВРХ. З фекалій однієї тварини виділили E.coli O157:HР. При обстеженні всіх тваринферми культури Е.coli О157 виділили ще від 3-х дорослих тварин. Серед телят і ВРХ на відгодівлі даних Е.coli не було виділено, хоча більш характерною є їх циркуляція серед тварин молодшого віку. Усі виділені в даному господарстві культури серотипу О157 були ідентичними. Вони не мали джгутиків, були сорбіт-негативними і не токсичними для культури клітин. Дослідження цих штамів в ПЛР із праймерами LP30/LP31 показали наявність у них генів, які відповідають за продукування шиготоксину-2 та прояв А/Е пошкодження. Виділені культури продукували ентерогемолізин на агарі з відмитими овечими еритроцитами. Аналізуючи частку виділення культур ешерихій даної серогрупи від ВРХ різних господарств і регіонів України, слід відмітити, що ці ешерихії представлені незначною кількістю ізолятів. У наших дослідженнях, із 552 культур E.coli, виділених від ВРХ різних вікових груп і з різним клінічним статусом, E.coli O157:HР становили 0,54%.

Другий штам E.coli серогрупи О157 виділили від хворих на діарею поросят господарства ,,Авангард” Чернігівської області. Він типувався в реакції аглютинації до титру 1:3200, мав фімбрії К88ас, β-гемолізин.

Культури цього штаму мали джгутики, але він не належав до серогрупи Н7, оскільки всі культури ферментували сорбіт на протязі 24 год при 37°С і колонії цього штаму на О57 агарі були червоного кольору. Цей штам виділили від 11 з 14 (78,6%) хворих поросят, 3-х з 54 (5,6%) здорових і 2-х (1,3%) свиноматок, а також мезентеріальних лімфатичних вузлів 1-го загиблого поросяти з ознаками враження шлунково-кишкового каналу. Проведені скринінгові дослідження штамів ешерихій, виділених у свиногосподарствах України на протязі періоду виконання даної роботи, показали, що E.coli серогрупи О157 становлять 2% від загальної кількості мікроорганізмів даного виду. Виділені E.coli не продукували шиготоксин − культуральні супернатанти і бактеріальні лізати даного штаму не були цитотоксичні для лінії Vero. Негативні результати отримані також при проведенні гібридизації з відповідними нуклеотидними праймерами, але даний штам був здатний продукувати термолабільний ентеротоксин.

Проведені дослідження показали, що дані штами належать до двох різних патогруп ешерихій. Штам О157:НР, виділений від ВРХ, належить до групи STEC, оскільки має *stx*-гени, а штам О157:К88ас належить до групи ЕТЕС, оскільки йому властива експресія фімбріальних адгезинів і синтез термолабільного ентеротоксину.

Таким чином, виходячи з результатів досліджень щодо виділення культур ешерихій на протязі 1999-2001 року, можна константувати, що E.coli серогрупи О157 складають 2 % загальної кількості епізоотичних ізолятів мікроорганізмів даного виду.

### ВИСНОВКИ

1. Проведеними дослідженнями вперше в Україні вивчено розповсюдження шиготоксинпродукуючих ешерихій у тваринницьких господарствах, оцінено антигенну структуру та визначено спектр домінуючих сероварів STEC у різних видів сільськогосподарських тварин. У виділених штамів вивчені фактори патогенності та встановлені ознаки належності до групи ентерогеморагічних ешерихій – збудників геморагічного коліту, гемолітичного уремічного синдрому й тромбоцитопенічного акроангіотромбозу.

2. Шиготоксинпродукуючі E.coli широко розповсюджені в господарствах різних адміністративних регіонів України – циркуляція STEC виявлена серед ВРХ у 60% обстежених тваринницьких фермах. Носіями ешерихій даної патогенної групи є 9,3% ВРХ, кількість STEC-позитивних телят вища порівняно з дорослим поголів’ям у 1,8 рази.

3. E.coli., що мають здатність продукувати шиготоксини, можуть відігравати патогенетичну роль у виникненні й розвитку шлунково-кишкових захворювань телят і поросят. STEC виділені від 12,9% хворих на діарею телят та 9,68% поросят.

4. Носійство ешерихій, які мали властивість продукувати Stx2 встановлено у 41 % від загальної кількості дослідженої ВРХ, у 6% − Stx1, у 29% − Stx1/2. 24% тварин характеризувалися одночасною екскрецією штамів STEC із різними токсигенними властивостями: у 6% обстеженого поголів’я ВРХ циркулювали E.coli, продуценти Stx1 та Stx2 токсинів, у 6% − Stx1 та Stx1/2, у 12% − Stx2 та Stx1/2.

5. Наявність еае-гену, відповідального за синтез інтиміну – фактору колонізації макроорганізму, встановлено у 18,8% виділених від дорослої ВРХ і 52,2% від здорових телят штамів STEC. Цей ген був присутній у 100% штамів STEC, виділених від хворих тварин (р<0,05). 12,5% штамів STEC, виділених від дорослої великої рогатої худоби і 29% штамів, виділених із фекалій здорового молодняку, володіюли ентерогемолітичними властивостями. У штамів STEC не виявлено продукування термолабільного й термостабільного ентеротоксинів й експресії фімбріальних адгезинів.

6. Для ВРХ характерною є одночасна екскреція STEC із різною антигенною структурою й типом токсинопродукування. При дослідженні проб фекалій, отриманих від корів і телят, STEC з різними соматичними антигенами були виділені від 4-х тварин (9,7%). Більшість досліджуваних культур STEC не типувалося аглютинуючими О-колі сироватками. Було ідентифіковано серогрупу E.coli з проб фекалій 8-ми корів (47%) і 14 телят (54,2%) у 4-х господарствах. Ідентифіковані штами належали до чотирьох серогруп – О111, О8, О26 і О2.

7. У свиней E.coli, які здатні продукувати шиготоксини, становлять 14,3% від загальної кількості токсигенних штамів. Штами STEC, виділені від свиней, здатні одночасно продукувати ентеротоксини й шиготоксини: 66,7% культур одночасно продукують Stx2v і ТЛ і 33,3% продукують тільки Stx2v. Установлено належність ізолятів STEC від свиней до серогруп О139 і О141. У даних штамів не виявлено експресії адгезивних антигенів, сироватки до яких входять до складу діагностичного набору.

8. Уперше в Україні проведено скринінг і виділено штами E.coli серогрупи О157. Ці ешерихії складають 2% загальної кількості епізоотичних ізолятів мікроорганізмів даного виду в господарствах України, у тому числі вони становлять 0,54% від загальної кількості культур E.coli, виділених від ВРХ різних вікових груп і з різним клінічним статусом, і 1,46% від загальної кількості культур E.coli, виділених від свиней.

9. Додавання до 1л МПА 5 г жовчі ВРХ, 12 г сорбіту, 0,001 г кристал-віолету, 0,03 г нейтрального червоного, 1 г цитрату заліза, 5 г тіосульфату натрію забезпечує високу селективність та диференціацію росту ентерогеморагічних ешерихій серотипу О157:Н7. Значні інгібуючі властивості у відношенні мікробів-асоціантів забезпечують ефективність даного живильного середовища при дослідженні зразків із фекалій, патологічного матеріалу, об’єктів навколишнього середовища, продуктів харчування.

#### ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

На підставі проведених досліджень для практичного застосування пропонуються:

− вакцина для профілактики пастерельозу, сальмонельозу й ешерихіозу свиней “Пасако”, ТУУ 24.4.19024865.677-2002 затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини 18 грудня 2002 року;

− методичні рекомендації з діагностики та профілактики колібактеріозу птиці, затверджені науково-технічною радою Головного управління ветеринарної медицини з державною-ветеринарною інспекцією Міністерства сільського господарства й продовольства України 17 грудня 1999 року (протокол №2);

− селективне й диференційне живильне середовище для виділення штамів ентерогеморагічних Е. сoli − О157:Н7 агар, деклараційний патент на винахід № 53979А.

**СПИСОК ОСНОВНИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Зоценко Л.В. Токсигенні ізоляти Escherichia coli, виділені від хворих на діарею поросят // Науковий вісник Національного аграрного університету. – Вип.28. – Київ, 2000. – С. 218−219.

2. Зоценко Л.В. Аналіз цитотоксичності в культурі клітин і полімеразна ланцюгова реакція як методи дослідження шиготоксинпродукуючих E.coli // Вісник Білоцерків. держ. аграрного ун-ту. – Вип. 18. – Біла Церква, 2001. – С. 52−56.

*3. Зоценко Л.В. Вплив умов культивування на рівень продукування веротоксинів E.coli // Міжвідомчий тематичний науковий збірник “Ветеринарна медицина”. – Вип. 79, том.1. – Харків, 2001. – С. 146*−*148.*

4. Волинець Л.К., Мазур Т.В., Тарасюк Т.І., Зоценко Л.В., Яненко В.М., Яненко У.М., Москалюк В.І., Прокоп’юк О.Г. Ефективність щеплення свиней вакциною “Пасако” // Науковий вісник НАУ. – Вип.36. – Київ, 2001. – С. 111−114.

Дисертантці належать всі експериментальні дослідження, пов’язані з ешерихіозними компонентами у складі вакцини.

5. Зоценко Л.В., Волинець Л.К. Моніторинг штамів E.coli серогрупи О157 // Ветеринарна біотехнологія. – Бюлетень № 2. – Київ, 2002. – С. 83−87.

Дисертантка провела всі бактеріологічні дослідження, систематизувала та загальнила результати досліджень.

6. Волынец Л.К., Зоценко Л.В. Продуцирование веротоксинов ешерихиями, выделенными при колибактериозе телят // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных: Материалы международной научно-практической конференции 5−6 октября 2000 года, БелНии экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского. – С. 249−251.

##### Дисертантці належить основна частина бактеріологічних досліджень, систематизація та оформлення одержаних результатів.

7. Tarasiuk T., Zotsenko L., Volynets L. The use of superhigh frequency field in the control of toxicoinfections. Symposium Ukraine – Osterreich. Landwirtschaft: Wissenchaft unds Praxis. Tschernivci, 14-16 September 2000. − P.136

Дисертантка провела вивчення властивостей E.coli та узагальнила результати досліджень.

**Зоценко Л.В. Розповсюдження серед великої рогатої худоби і свиней шиготоксинпродукуючих ешерихій та вивчення їх біологічних властивостей.** – Рукопис

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія. – Національний аграрний університет, Київ, 2003.

Дисертаційна робота присвячена вивченню розповюдження шиготоксинпродукуючих ешерихій серед тварин господарств України. У результаті проведених досліджень вперше в Україні визначено ступінь поширення шиготоксинпродукуючих ешерихій серед ВРХ, свиней, птиці, оцінено їх антигенну структуру та спектр домінуючих сероварів. У виділених штамів вивчені фактори патогенності та встановлені ознаки належності до групи ентерогеморагічних ешерихій – збудників геморагічного коліту, гемолітичного уремічного синдрому й тромбоцитопенічного акроангіотромбозу. Установлено етіологічну роль STEC у розвитку захворювань телят і поросят, які супроводжуються діареєю, та визначена їх антигенна структура. Використані сучасні діагностичні методи дали змогу отримати об’єктивну інформацію щодо факторів патогенності виділених штамів. Проведено скринінг штаму О157:Н7.

***Ключові слова****: ешерихії, шиготоксинпродукування, E.coli O157:H7, stx, STEC, інтимін, ентерогемолізин.*

**Зоценко Л.В. Распространение среди крупного рогатого скота и свиней шиготоксинпродуцирующих эшерихий и изучение их биологических свойств. –** Рукопись

*Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 – ветеринарная микробиология и вирусология. – Национальный аграрный университет, Киев, 2003.*

Диссертационная работа посвящена изучению распространения шиготоксинпродуцирующих эшерихий среди сельскохозяйственных животных. В результате проведенных исследований впервые в Украине определена степень носительства шиготоксинпродуцирующих эшерихий крупным рогатым скотом, свиньями, птицами, оценена их антигенная структура и спектр доминирующих сероваров.

Циркуляция STEC выявлена среди 9,3% КРС из 60% исследованных хозяйств, количество STEC-положительых телят превысило количество STEC-положительных взрослых в 1,8 раза. При исследовании фекалий от 195 телят выявлено 24 животных – носителей STEC, что составило 12,3% от общего количества исследованного молодняка. Из 245 иследованных проб фекалий от взрослых голов, культуры STEC выделены из 17 образцов (6,94%).

При изучении биологических свойств выделенных штаммов использованы высокочуствительные и высокоспецифические методы исследований (полимеразная цепная реакция, культура клеток), благодаря чему была получена объективная информация о биологических свойствах выделенных штаммов STEC.

Результаты проведенных исследований по исседованию типа шиготоксинпродуцирования показали, что 41% культур STEC, выделенных от взрослого крупного рогатого скота, продуцировали Stx2. Із 17 STEC-положительных животных культуры Stx1-продуцирующих эшерихий были выделены только от 1-го животного и еще двое коров экскретировали Stx1-продуцирующие эшерихии в комбинации с E.coli − продуцентами Stx2 или Stx1/2. У остальных животных доминировали STEC, которые продуцировали Stx2 і Stx1/2 (Р<0,05). 7 голов КРС екскретировали *stx*2 E.coli і 5 − *stx*1/2. При анализе токсигенних свойств E.coli, выделенных от телят, установлено, что большинство из них были также носителями *stx*-2 гена и, соответственно, продуцентами Stx2 токсина. Из 24 STEC-положительных телят, 11 (45,8%) были носителями *stx*2 E.coli, 4 (16,7%) − *stx*1/2, 8 (33,3%) − *stx*1, 1 (4,2) − *stx*1 і *stx*2.

У выделенных штаммов изучены факторы патогенности и установлены признаки энтерогеморагических эшерихий – возбудителей геморрагического колита, гемолитического уремического синдрома и тромбоцитопенического акроангиотромбоза. Изучение наличия еае-гена, отвечающего за синтез интимина – фактора колонизации макроорганизма, показало его присутствие у 18,8% выделенных от взрослых КРС і 52,2% выделенных от здоровых телят штаммов STEC. Наши результаты показали, что наличие еае-гена у STEC, выделенных от телят, было вероятно выше (Р<0,05), чем у культур эшерихий данной патогруппы, виделенных от взрослых. Этот ген имели все штаммы STEC, выделенные от больных телят.

12,5% штаммов STEC, выделенных от взрослых КРС и 29% штаммов, выделенных из фекалий здорового молодняка, обладали энтерогемолитическими свойствами.

При изучении О-серогруппы выделенных штаммов E.coli установлено, что большинство культур не типировалось О-коли аглютинирующими сыворотками. Идентифицированные штаммы принадлежали к четырем серогруппам – О111, О8, О26 і О2. В ряде хозяйств от группы STEC-положительных животных выделено эшерихии, которые принадлежали к определенной серогруппе и которые не типировались в реакции аглютинации со стандартными сыворотками. Трое животных были носителями 2-х штаммов STEC с разной антигенной структурой и типом токсинопродуцирования.

При определении серогруппы выделенных шиготоксинпродуцирующих штаммов E.coli от телят, установлена их принадлежность к серогруппам О111, О26, О8, О5, ОR, ОНТ, причем основную долю культур STEC составили E.coli серогруппы О26. При исследовании проб фекалий телят, STEC с разными соматическими антигенами были выделены от одного животного. При анализе типа токсинопродуцирования было установлено, что в группе шиготоксинпродуцирующих эшерихий, выделенных от боьных телят доминируют продуценты Stx1.

Проведенный анализ полученных в диссертационной работе данных дает основание предположить что в хазяйствах Украины циркулюют штаммы шиготоксинпродуцирующих эшерихий, которые обладают факторами патогенности ентерогеморрагических E.coli.

Установлена этиологическая роль STEC в развитии заболеваний поросят, сопровождающихся диареей. У свиней E.coli, способные продуцировать шиготоксины, составили 14,3% от общего количества токсигенных штаммов. Из них 4 (66,7%) одновременно продуцировали Stx2v и ТЛ и 2 (33,3) – только Stx2v. Штаммы STEC, выделенные от свиней, одновременно продуцировали шиготоксин и энтеротоксины: 66,7% культур одновременно продуцировали Stx2v и ТЛ и 33,3% продуцировали только Stx2v. Штаммы, которые продуцировали шиготоксин, принадлежали к серогруппам О139 и О141.

Впервые в Украине проведен скрининг и выделены штаммы E.coli, принадлежащие к серогруппе О157. Эти ешерихии составили 2% общего количества эпизоотических изолятов микроорганизмов данного вида, выделенных в хозяйствах Украины, в том числе, они составили 0,54% культур E.coli, выделенных от КРС и 1,46% E.coli, выделенных от свиней.

**Ключевые слова**: эшерихии, шиготоксинпродуцирование, E.coli O157:H7, stx, STEC, интимин, энтерогемолизин.

**Zotsenko L.V. Distribution shigotoxinproducing E.coli among cattle and pigs and study they biological behaviour. – Manuscript**

*The thesis for candidate degree of veterinary sciens, specialized field 16.00.03 – veterinary microbiology and virusology. – National agrarian university, Kijv,2003.*

The thesis is devoted to studing the distribution shigotoxinproducing E.coli among animals of farms of Ukraine. As a result of conducted investigation have determined degree of distribution shigotoxinproducing E.coli among cattle, pigs, fowl, appreciate their antigenic structure and spectrum of dominating serovares. It has been established factors of pathogenicity of isolates E.coli and establishmented showings that belongs them to group enterohemorrhagic escherichia – pathogene of hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome. It has elucidate etological role STEC in development illness cattle and pigs, which acompanning diarrhoea. Using modern diagnostic methods make possibility take objective informations about factors of pathogenicity of isolates E.coli. It has conducted screening E.coli O157:H7.

***Key words:***escherichia, shigotoxinproducing, E.coli O157:H7, stx, STEC, intimin, enterohemolysin.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>