

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования «Саратовский государственный  
аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Л.С.Назарова

**КЛИНИЧЕСКАЯ  
МИКРОБИОЛОГИЯ  
С ОСНОВАМИ  
ИММУНОЛОГИИ**

**Учебное пособие**

**для студентов старших курсов,  
обучающихся по специальности  
111201 «Ветеринария», аспирантов по  
ветеринарным наукам и специалистов**

**Саратов 2011**

УДК 619:57.083.3(075)

ББК 48.73я73

Н 19

**Рецензенты:**

доктор медицинских наук, профессор В.А. Федорова (ГНУ «Саратовский НИВИ Росакадемии с.-х. наук»); доктор ветеринарных наук, профессор В.С.Авдеенко (ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»)

**Назарова Лариса Степановна**

Клиническая микробиология с основами иммунологии: учебное пособие / ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ» – Саратов, 2011. – 282 с.

В учебном пособии представлено теоретическое обоснование изучения и контроля над неконтагиозными инфекционными болезнями животных, вызванных условно-патогенными микроорганизмами. Указаны основные причины активизации условно-патогенной микрофлоры и роста числа оппортунистических инфекций. Приведены биологические характеристики часто встречающихся возбудителей этих болезней при поражении кожи и ее производных, дыхательной, мочеполовой систем, болезней ушей и глаз, пищеварительного тракта, сепсиса, госпитальных инфекциях. Описаны методы профилактики и лечения незаразных болезней микробной этиологии у молодняка, взрослых животных и хирургических болезнях. Описана техника безопасности при взятии патологического материала от животного, инфицированного условно-патогенными микроорганизмами, и правила его сбора и лабораторной диагностики. Дана характеристика некоторых травматических заболеваний, могущих возникнуть у сотрудников ветеринарных специальностей и их лечение.

Предназначено для студентов старших курсов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 111201 «Ветеринария», аспирантов кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии и специалистов.

УДК 619:57.083.3(075)

ББК 48.73я73

ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2011

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЗУЧЕНИЯ И КОНТРОЛЯ НАД НЕКОНТАГИОЗНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ ЖИВОТНЫХ.....	11
ГЛАВА 2. ЗАЩИТНЫЕ БАРЬЕРЫ ОРГАНИЗМА ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	20
2.1. Особенности защитных барьеров у взрослых животных.....	20
2.2. Особенности иммунной системы новорожденных животных.....	21
2.3. Кожный покров млекопитающих как фактор защиты.....	22
2.4. Слизистые оболочки и связанная с ними лимфоидная ткань. Иммуноглобулины слизистых оболочек.....	24
2.5. Неспецифические клеточные факторы защиты покровных тканей. Клетки доиммунного воспаления. Интерлейкины. Апоптоз.....	26
2.6. Микробные биопленки.....	33
2.7. Гнотобиотические животные, роль микрофлоры в жизнедеятельности организма хозяина.....	38
ГЛАВА 3. ПРИЧИНЫ АКТИВИЗАЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ И РОСТА ЧИСЛА ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ.....	45
3.1. Иммунодефициты.....	45
3.2. Стрессы как факторы развития вторичных иммунодефицитов.....	48
3.3. Селекция условно-патогенной микрофлоры под влиянием антибиотиков.....	51
ГЛАВА 4. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ КОЖИ И ЕЁ ПРОИЗВОДНЫХ.....	54
4.1. Раны.....	54
4.2. Маститы.....	57
4.3. Пододерматиты.....	59
4.4. Схема исследования гноя, раневого отделяемого, биоптатов.....	61
4.5. Схема бактериологического исследования молока на наличие возбудителей мастита.....	63
4.6. Схема микробиологического исследования при пододерматите....	64
ГЛАВА 5. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ.....	67
5.1. Защитные барьеры дыхательной системы.....	67
5.2. Оппортунистические инфекции дыхательной системы.....	69
5.3. Правила взятия и лабораторного исследования патологического материала из дыхательных путей.....	70
ГЛАВА 6. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ.....	75
6.1. Защитные барьеры мочевой системы.....	75
6.2. Защитные барьеры половой системы.....	76
6.3. Нормальная микрофлора половых органов.....	76

6.4. Оппортунистические инфекции мочеполового тракта .....	78
6.5. Правила взятия и лабораторного исследования мочи.....	81
6.6. Правила взятия и лабораторного исследования выделений из полового тракта самок .....	86
6.7. Правила взятия и лабораторного исследования выделений из .....	89
полового тракта самцов .....	89
<b>ГЛАВА 7. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ УШЕЙ И ГЛАЗ.....</b>	<b>91</b>
7.1. Защитные барьеры органа слуха .....	91
7.2. Гнойно-воспалительные инфекции ушей.....	92
7.3. Правила взятия патологического материала и лабораторного исследования при оппортунистических инфекциях ушей .....	93
7.4. Защитные барьеры органа зрения .....	94
7.5. Гнойно-воспалительные инфекции глаз.....	95
7.6. Правила взятия патологического материала и лабораторного исследования при оппортунистических инфекциях глаз .....	96
<b>ГЛАВА 8. НЕКОНТАГИОЗНЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА .....</b>	<b>99</b>
8.1. Защитные барьеры слизистой оболочки пищеварительной системы .....	99
8.2. Микрофлора пищеварительного тракта животных .....	100
8.3. Отдельные представители нормальной микрофлоры кишечного тракта млекопитающих .....	106
8.4. Оппортунистические инфекции пищеварительного тракта.....	114
8.5. Дисбактериозы .....	117
8.6. Диагностика дисбактериозов .....	123
<b>ГЛАВА 9. СЕПСИС .....</b>	<b>129</b>
9.1. Особенности сепсиса как инфекции .....	129
9.2. Правила взятия крови и ее лабораторное исследование при сепсисе.....	133
<b>ГЛАВА 10. ГОСПИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ПРИЧИНЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ, КОНТРОЛЬ .....</b>	<b>137</b>
10.1 Особенности госпитальных инфекций .....	137
10.2. Диагностика госпитальных инфекций.....	140
10.3. Травматические инфекционные болезни у персонала ветеринарных клиник .....	143
<b>ГЛАВА 11. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЗЯТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ ЖИВОТНОГО, ИНФИЦИРОВАННОГО УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ, И ПРАВИЛА ЕГО СБОРА.....</b>	<b>145</b>
11.1. Техника безопасности.....	145
11.2. Правила сбора патологического материала при оппортунистических инфекциях и его транспортировка в клиническую лабораторию .....	147
<b>ГЛАВА 12. МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЯХ .....</b>	<b>151</b>

12.1. Меры по профилактике и борьбе с микробным загрязнением на животноводческих объектах .....	151
12.2. Лечение животных при оппортунистических инфекциях .....	154
12.2.1. Основы рациональной химиотерапии. Антибактериальная терапия .....	155
12.2.1.1. Антибиотики, понятие, мишени для антибиотиков в микробной клетке .....	160
12.2.1.2. Классификация антибиотиков .....	162
12.2.1.3. Сульфаниламидные препараты .....	169
12.2.1.4. Производные 8-оксихинолина, нафтиридина. Хинолоны.....	170
Производные нафтиридина и хинолоны родственны 8-оксихинолонам. ....	170
12.2.1.5. Производные хиноксалина .....	171
12.2.1.6. Производные нитрофурана .....	172
12.2.1.7. Противотуберкулезные препараты .....	172
12.2.1.8. Противогрибковые препараты .....	173
12.2.2. Иммунотерапия. Иммуностропные препараты .....	174
12.2.2.1. Иммуномодуляторы и показания к их применению .....	177
12.2.2.2. Пробиотики. Пребиотики. Синбиотики .....	182
12.2.3. Вакцины против условно-патогенных микроорганизмов .....	188
12.3. Профилактика и лечение гнойных осложнений хирургических ран .....	189
12.3.1. Профилактика гнойных осложнений .....	189
12.3.2. Лечение животных при раневом процессе .....	191
12.4. Лечение животных при мастите .....	193
12.5. Лечение животного с гнойным пододерматитом .....	194
12.6. Лечение животного при дисбактериозе кишечника .....	195
12.7. Лечение увеита .....	196
12.8. Лечение укушенных и других ран, нанесенных ветеринару животными .....	196
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ У ЖИВОТНЫХ, ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ДИАГНОСТИКА.....</b>	<b>199</b>
1.1. Морфологические, культуральные и биохимические характеристики некоторых условно-патогенных бактерий, вызывающих гнойно-септические, раневые инфекции у животных и дисбактериозы. Микробиологические методы идентификации .....	199
1.2. Морфологические, культуральные и биохимические характеристики некоторых условно-патогенных грибов, вызывающих гнойно-септические, раневые инфекции у животных и дисбактериозы. Микробиологические методы идентификации .....	226
1.3. Возбудители псевдомикозов .....	232
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ТРАНСПОРТНЫЕ И ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ .....</b>	<b>234</b>

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ.....	253
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ.....	260
ЛИТЕРАТУРА .....	269

## ВВЕДЕНИЕ

Клинической микробиологией, согласно определению (Микробиологический словарь-справочник, 1999) называется «раздел медицинской микробиологии, исследующий микробиологические аспекты этиологии, патогенеза, иммунологии оппортунистических микробных заболеваний и разрабатывающий методы их микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики».

Клиническая микробиология в медицине начала развиваться несколько десятилетий тому назад и является в настоящее время самостоятельным разделом. Ее выделение из медицинской микробиологии было обусловлено необходимостью контроля за резко возросшей долей инфекционных заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами в неинфекционных клиниках или в многопрофильных больницах, особенно хирургических отделениях и отделениях интенсивной терапии.

Необходимость изучения клинической микробиологии будущими ветеринарами обоснована в двух учебных пособиях, выпущенных сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова (Зыкин Л.Ф., Хапцев З. Ю., 2003, 2006), где убедительно показана важность изучения оппортунистических инфекций, часто имеющих место у животных, изложены цели и задачи клинической микробиологии для ветеринарных врачей, вкратце описаны бактериологические методы исследования при гнойно-септических инфекциях различной локализации, дисбактериозах, нозокомиальных инфекциях, приводятся сведения о лечении животных, пораженных условно-патогенными микроорганизмами.

За время преподавания клинической микробиологии студентам ветеринарного факультета СГАУ им. Н.И. Вавилова выпущено много специалистов, знакомых с оппортунистическими инфекциями у животных

и применяющих полученные теоретические знания и практические навыки в своей трудовой деятельности.

Таким образом, можно констатировать, что клиническая микробиология выделилась из ветеринарной микробиологии в самостоятельную дисциплину.

Причины ее выделения те же самые, что и в медицинской микробиологии: частое инфицирование сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных условно-патогенными микроорганизмами, активизация данной категории микроорганизмов в животноводческих комплексах при несоблюдении гигиенических норм содержания, ухода, кормления и неоправданного применения антибиотиков в качестве ростовых и лечебных препаратов.

Вследствие этого, можно заключить, что, как и в медицине, клиническая микробиология в ветеринарии является разделом ветеринарной микробиологии, который исследует микробиологические аспекты этиологии, патогенеза, иммунологии оппортунистических заболеваний и разрабатывает методы их микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики, т.е. предусматривается постановка микробиологического диагноза прижизненно и лечение больных животных.

Объектами исследования клинической микробиологии являются условно-патогенные для животного микроорганизмы, которые поражают, прежде всего, молодняк и взрослых животных при нарушении условий их содержания и кормления, при нерациональном применении антибактериальных препаратов, а также условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие хирургические болезни.

Задачи и методы клинической микробиологии близки к задачам и методам ветеринарной микробиологии. Их специфичность вытекает из того, что возбудители оппортунистических инфекций, как правило, являются нормальными обитателями тела животных или сапрофитами



внешней среды, а их патогенное действие проявляется в особых условиях при снижении резистентности макроорганизма. Исходя из этого, клиническая микробиология должна решать следующие задачи:

1. Установление этиологии инфекционного процесса с качественными и количественными характеристиками выделенных из пораженного органа условно-патогенных микроорганизмов;

2. Определение доминирующего в количественном отношении микроорганизма и определение его видовой принадлежности с изучением его биохимических характеристик и факторов патогенности, установление его чувствительности к антибактериальным препаратам;

3. Подтверждение правильности постановки микробиологического диагноза при повторных выделениях одного и того же возбудителя;

4. Выбор рациональной схемы этиотропной терапии;

5. Выбор пробиотических, пребиотических и синбиотических препаратов при лечении дисбактериозов у животных;

6. Выбор иммуностимулирующего препарата для устранения вторичного иммунодефицита;

7. Исследование условно - патогенных микроорганизмов – возбудителей госпитальных инфекций и оппортунистических инфекций на животноводческих комплексах. Контроль за проводимыми антимикробными мероприятиями.

Настоящее учебное пособие является продолжением и дополнением к имеющимся, в нем освещены вопросы, не вошедшие в изданные прежде учебные пособия, в частности, представлены современные данные о микробных биопленках и «языке» общения между микроорганизмами, чувстве кворума, сведения о защитных барьерах организма теплокровных животных и «языке» общения между клетками доиммунного воспаления, иммуномодуляторах, причинах активизации условно-патогенных микроорганизмов, приводятся развернутые схемы бактериологической диагностики, даны рецептуры питательных сред для культивирования

возбудителей оппортунистических инфекций, описаны современные методы диагностики.

## **ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЗУЧЕНИЯ И КОНТРОЛЯ НАД НЕКОНТАГИОЗНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ ЖИВОТНЫХ**

В настоящее время резко возрос удельный вес незаразных (неконтагиозных, оппортунистических) болезней среди инфекционных заболеваний сельскохозяйственных и домашних животных. Незаразными их называют потому, что они не передаются от одного животного другому, хотя их этиологическим (причинным) фактором также являются микроорганизмы.

Оппортунистические инфекции («оппортунист», что означает «приспособленец») могут иметь экзогенное и эндогенное происхождение. В первом случае микроорганизмы поступают из внешней среды, в том числе при различных врачебных манипуляциях, при пребывании животных в госпиталях. При эндогенной инфекции, которая встречается чаще, происходит активизация условно-патогенных микроорганизмов, входящих в состав собственной микрофлоры (аутофлоры) тела животного.

К оппортунистическим относят болезни, поражающие молодняк животных и взрослых особей с вторичным иммунодефицитом, а также хирургические болезни.

Ветеринары зачастую не отправляют патологический материал при незаразных болезнях для бактериологического исследования, чтобы выделить и идентифицировать микроорганизмы, которые вызвали эти болезни. В результате в хозяйствах начинают циркулировать условно-патогенные микроорганизмы, и этим хозяйствам наносится гораздо больший экономический вред, чем при заболевании животных инфекционными болезнями, которые относительно просто диагностировать, лечить или проводить профилактические мероприятия в виде вакцинаций.

Микроорганизмы, вызывающие оппортунистические болезни являются условно-патогенными, т.е. потенциально опасными. Известно

около 200 видов условно-патогенных микробов, к которым относят аэробные, факультативно анаэробные, неспорообразующие облигатные анаэробные бактерии, простейшие, а также грибы. По систематическому положению они очень разнородны и находятся с макроорганизмом в различных отношениях: симбиотических, нейтральных, могут выступать как комменсалы или конкуренты.

Условно-патогенные микроорганизмы являются нормальными представителями микробиоценоза кожи и слизистых оболочек животных, а также сапрофитами, обитающими во внешней среде: почве, воде, пищевых продуктах, кормах, на оборудовании, в воздухе и на стенах помещений, где содержатся животные, в том числе в госпиталях, на инструментах, руках персонала, ухаживающего за животными или оказывающими ему ветеринарную помощь, в медикаментах.

На здоровый организм они не оказывают вредного воздействия, но при определенных обстоятельствах могут вызывать заболевания. Это бывает при:

- нарушении защитных барьеров, которыми является кожа и слизистые оболочки, сообщающиеся с внешней средой,
- наличии незрелой иммунной системы у молодняка,
- первичном (врожденном) или вторичном иммунодефиците, развившемся у взрослых животных в силу разных причин,
- массивном поступлении в макроорганизм условно-патогенных микроорганизмов из внешней среды и кормов.

Условно-патогенные микроорганизмы могут проявить свое патогенное действие за счет выделения эндотоксина и различных ферментов, вызывая тяжелые болезни, вплоть до смертельного исхода. Вследствие этого невозможно провести резкую границу между инфекционными болезнями, вызванными условно-патогенными микроорганизмами и болезнями, этиологическим фактором которых являются вирулентные микроорганизмы, из-за того, что обычная

микрофлора изменяет свои свойства, повышает агрессивность и вирулентность.

Все заболевания, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, независимо от их вида, проявляются однотипно: либо гнойно-септическими процессами, либо дисбактериозами, развивающимися на слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта и влагалища.

Один и тот же вид микроорганизма может вызвать поражения различных органов: бронхиты, пневмонии, отиты, сепсис, конъюнктивиты, раневую инфекцию и т. д. Кроме того, воспалительные изменения в одном и том же органе могут вызывать различные виды условно-патогенных микроорганизмов. Часто инфекции протекают как смешанные: из очага повреждения вначале выделяют один вид, а затем к нему присоединяются другие виды условно-патогенных микроорганизмов, т.е. имеет место их ассоциация.

Оппортунистические инфекции имеют хроническое течение за счет ослабления защитных сил макроорганизма с тенденцией к развитию сепсиса и могут приводить к летальному исходу. Это связано с тем, что у современных микроорганизмов имеется устойчивость к антибактериальным препаратам, которыми лечат животных. Со временем они приобретают множественную лекарственную устойчивость, а факторы патогенности, имеющиеся в их геноме или приобретаемые с плазмидами, уподобляют их истинным патогенам. Вследствие этого антимикробная терапия оказывается мало или совсем неэффективной.

В этих случаях для лечения необходимо использовать антибиотики резерва, альтернативные антисептики, препараты-иммунокорректоры или иммуномодуляторы для замещения недостающих звеньев защиты или стимуляции клеток доиммунного воспаления, а также применять вакцины, полученные из аутоштаммов или нескольких видов условно-патогенных

микроорганизмов, циркулирующих в помещениях, где содержатся животные или где им оказывается ветеринарная помощь.

Для качественного лечения оппортунистических инфекций у животных обязательным является проведение микробиологического исследования с определением видовой принадлежности микроорганизма-возбудителя, его биологических характеристик, установление количества доминирующего микроба и его чувствительности к антибактериальным препаратам, видового состава сопутствующей микрофлоры.

Оппортунистические микроорганизмы у животных, как было сказано выше, поражают в первую очередь молодняк с незрелой иммунной системой и взрослых животных с вторичными иммунодефицитами, причинами которых могут быть различные факторы. Среди таких факторов на первое место следует поставить неправильное кормление (авитаминозы, микроэлементозы, дача кормов плохого качества, в том числе пораженных микотоксинами), плохие санитарно-гигиенические условия содержания, а также длительное или нерациональное лечение антибактериальными средствами (массивные дозы антибиотиков и сульфаниламидов).

При назначении антибактериальных препаратов у микроорганизмов аутофлоры происходит многократное увеличение на их поверхности белков теплового шока, вследствие этого организм животного начинает воспринимать собственную микрофлору как «не свое», т.е. происходит срыв толерантности (терпимости) к представителям аутофлоры. Например, у устойчивых к антибиотикам стафилококков обнаружено увеличение в клеточных стенках липидов и пептидогликанов. При этом клеточная стенка уплотняется и утолщается, вследствие чего антибиотики перестают быть эффективными.

Часто к болезням, вызванным условно-патогенными микроорганизмами, при которых пока еще не исследуется микрофлора тела животного, относят авитаминозы и микроэлементозы, т.е.

недостаточное поступление в организм витаминов и микроэлементов. Вместе с тем, при этих состояниях развиваются воспалительные изменения в различных системах и органах, сообщающихся с окружающей средой и покрытых биопленкой из микробной аутофлоры: стоматиты, фарингиты, риниты, ларингиты, бронхиты, ангина, воспаления желудочно-кишечного тракта и т.д.

Между витаминами и химическими элементами, в том числе микроэлементами имеется очень тесная связь. Витамины способствуют их усвоению, а микроэлементы, входя в состав ферментов, обеспечивают работу каждой клетки и макроорганизма в целом, включая эндокринную и иммунную системы, от которых зависит устойчивость животного к инфекции. Для микроорганизмов аутофлоры в условиях авитаминозов и микроэлементозов экологическая ниша резко изменяется, т.е. макроорганизм отторгает полезную микрофлору, а на ее месте развивается условно-патогенная.

Хорошо известно, насколько важны химические элементы в жизни микроорганизмов, поскольку даже простые питательные среды для их культивирования должны содержать продукты растительного и животного происхождения – источник не только белков, аминокислот, углеводов, но витаминов и минеральных веществ. При создании искусственных питательных сред в них обязательно включают (в зависимости от потребностей бактерий и грибов) различные соли цинка, молибдена, меди, кобальта, селена, железа, магния и других микро- и макроэлементов, которые обеспечивают рост и метаболизм микроорганизмов. Аналогичная, но более сложная потребность микроорганизмов аутофлоры в минеральных веществах и витаминах имеется и в организме животного.

К незаразным болезням относят, кроме того, хирургические инфекции, которые возникают при нанесении животным друг другу ран при укусах, переломах, при повреждении поверхностей тела и полых органов инородными телами, при врачебных манипуляциях: кастрации,

родовспоможении, инъекциях, выполненных с нарушением асептики, и оказании хирургической помощи. При этом могут развиваться гнойные процессы: абсцессы, фурункулы, карбункулы, флегмоны, перитониты, плевриты, перикардиты, маститы, эндометриты. В этиологии гнойных процессов играет роль преимущественно кокковая микрофлора (стафилококки, стрептококки), а также протей, кишечная палочка, синегнойная палочка, некоторые анаэробы (бактероиды, фузобактерии и другие).

Гнойные дерматиты, абсцессы, фурункулы бывают преимущественно у свиней. Перитониты у этих животных являются следствием послекастрационных осложнений.

Флегмоны конечностей, поражения в области хвоста, свищи на голове, спине, в области груди чаще встречаются у крупного рогатого скота. У этих животных нередко перитониты, возникающие в результате проколов рубца при тимпаниях.

У половозрелых кур и индеек перитонит протекает с одновременным воспалением яичников и яйцеводов.

У молодняка, как правило, заболевание протекает по типу общих болезней с поражением всего организма, развитием сепсиса, диспепсии и дисбактериоза. Особенно часто регистрируют диспепсию новорожденных, которая может быть вызвана различными причинами, но с одинаковой клиникой и патологоанатомической картиной. Болезней новорожденных неинфекционной этиологии не существует. Нарушение нормальных физиологических функций создает условие для развития дисбактериоза, изменяются взаимоотношения макроорганизма и микроорганизма, нарушаются защитные барьеры.

Наличие мастита (стафилококковый, стрептококковый, коли-мастит, грибной – кандидозный мастит) у кормящих самок с выделением условно-патогенных микроорганизмов с молозивом и молоком неизбежно приводит к заселению желудочно-кишечного тракта новорожденных животных



этими видами и развитию диспепсии. В этом случае отмечается дисбактериоз кишечника с преимущественным размножением гнилостной микрофлоры.

У взрослых животных оппортунистические инфекции протекают чаще в виде гнойно-воспалительных заболеваний различной этиологии (на первом месте в животноводческих хозяйствах нашей страны находятся послеродовые гнойно-воспалительные инфекционные заболевания, в том числе, эндометрит), а при выраженном вторичном иммунодефиците, особенно при нерациональном лечении антибиотиками, так же как и у молодняка может развиваться сепсис и дисбактериоз.

Чаще всего при диарее и маститах у крупного рогатого скота выделяют кишечную палочку с множественной лекарственной устойчивостью (до 30% всех выделенных штаммов), золотистый или коагулазоотрицательный стафилококк, в ряде случаев (5%) - клебсиеллу. Преимущественно выделяется какой-то один вид микроорганизмов. Обнаружено, что ДНК бактерий из фекалий животных (свиней) содержит гены устойчивости к тетрациклину.

Заражение животных массивной дозой условно-патогенных микроорганизмов может происходить в животноводческих помещениях, где имеется, по крайней мере, три фактора, снижающие резистентность макроорганизма: загрязнение окружающей среды, шум, который является стрессорным фактором, а также корма плохого качества.

В воздухе этих помещений обнаруживается пыль преимущественно органического происхождения. Запыленность в летний период выше, чем зимой. На расстоянии всего 25 метров от коровника общее количество бактерий в воздухе было на 97-98% меньше, чем в помещении, а грибов – на 85-99%. В состав пыли входят различные микроорганизмы с преобладанием грамположительных: стрептококки и стафилококки. Грамотрицательная микрофлора представлена в основном энтеробактериями (кишечная палочка и другие представители кишечной

микрофлоры, в том числе патогенной), моракселлами и псевдомонадами. Из плесневых грибов имелись *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* и дрожжи.

В крупных свиноводческих комплексах (на 108 тыс. голов) в атмосферу каждый час выбрасывается 200-600 млрд. микробов, 40-60 кг аммиака, 30-90 кг пыли.

В крупных птицеводческих хозяйства помимо аммиака и других дурно пахнущих газов в атмосферу также попадают микроорганизмы. В 1 м<sup>3</sup> воздуха количество энтерококков составляет от 50 до 130 тыс., имеется большое количество стафилококков, кишечной палочки, грибов.

В воздухе небольших свинарников число микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> бывает от 25 тысяч до 600 тысяч, на молочных фермах – от десятков до сотен тысяч, а спор грибов – от сотни до нескольких тысяч. Среди бактерий также преобладает грамположительная микрофлора (стафилококки и стрептококки). Грамотрицательная микрофлора представлена бактериями семейства кишечной палочки и псевдомонадами. Грибная микрофлора состоит из представителей родов *Aspergillus*, *Rhizopus* и дрожжей.

По ГОСТ допускается общая микробная обсемененность воздуха в коровниках до 70 тыс., родильных отделениях – до 20 тыс., в свинарниках - откормочниках – от 50 до 80 тыс. в 1 м<sup>3</sup>, в свинарниках - репродукторах - от 40 до 60 тыс. в 1 м<sup>3</sup>.

При исследовании большого числа кормов (1203 пробы 16 видов кормов), в 19,9 - 25,6% они не отвечали ветеринарным требованиям по микробиологическим показателям. Преобладающими были энтеробактерии: *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, хотя в Правилах бактериологического исследования кормов от 1975 года регламентированы другие бактерии (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Clostridium perfringens*). Сырье, используемое для изготовления комбикормов, грубых и сочных кормов, в 100% случаев обсеменено плесневыми грибами родов:

*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* и рядом других, а также дрожжеподобными грибами.

#### Вопросы для самоконтроля.

1. Какие инфекции называются оппортунистическими, и при каких условиях они могут возникнуть у животных?
2. Какие микроорганизмы относятся к условно-патогенными?
3. Почему необходимо установление этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов, поражающих животных или циркулирующих в помещениях, где содержатся животные или где им оказывается ветеринарная помощь?
4. Какие виды животных поражаются условно-патогенными микроорганизмами?
5. Какие проявления оппортунистических инфекций у животных вы знаете?
6. Какие бактерии и микроскопические грибы встречаются в животноводческих помещениях?

## **ГЛАВА 2. ЗАЩИТНЫЕ БАРЬЕРЫ ОРГАНИЗМА ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ**

### **2.1. Особенности защитных барьеров у взрослых животных**

Организм взрослого животного надежно защищен от неблагоприятных факторов внешней среды различными барьерами. К таким барьерам относят:

- механическую защиту покровных тканей – кожу и слизистые оболочки органов, сообщающихся с внешней средой и покрытых эпителием;

- химическую защиту: жирные кислоты и секреты желез с бактерицидной активностью;

- нормальную микрофлору, покрывающую в виде биопленок кожу и слизистые оболочки и осуществляющую колонизационную резистентность макроорганизма;

- доиммунное воспаление;

- лимфоцитарный иммунитет, секреторные иммуноглобулины, входящие в состав слизи, покрывающей слизистые оболочки.

При нарушении целостности покровных тканей развивается воспалительная реакция, направленная на недопущение проникновения микроорганизмов и их метаболитов во внутреннюю среду. В очаг воспаления выходят микро- и макрофаги, вырабатываются провоспалительные цитокины, развивается сосудистая реакция, имеет место фагоцитоз микробов, т.е. развивается доиммунное воспаление с последующим апоптозом лейкоцитов. В случае если все вышеперечисленные барьеры будут микроорганизмами преодолены, то на защиту макроорганизма становится лимфоцитарный иммунитет.

## 2.2. Особенности иммунной системы новорожденных животных

Все сельскохозяйственные животные относятся к зрело рождающим (матуронатным), мелкие непродуктивные животные (кошки, собаки), а также кролики – к незрело рождающим (имматуронатным). Между матуронатными и имматуронатными имеется большая разница. У матуронатных больше выражена физиологическая зрелость. У имматуронатных все системы организма менее развиты, поэтому они мало защищены от неблагоприятных факторов.

Физиологическая зрелость больше выражена у жеребят, меньше у телят, ягнят и козлят и самая низкая у поросят. В период новорожденности способность организма отвечать на раздражители специфическими реакциями не выражена у всех сельскохозяйственных животных и тем более, у незрело рожденных.

У новорожденных животных не вырабатывается интерферон, не обнаруживаются плазматические клетки до 2,5 месячного возраста. Отсутствуют аллергические реакции. Антитела представлены только иммуноглобулинами класса М (IgM) и они не обладают строгой специфичностью. Эти иммуноглобулины сохраняются в организме непродолжительное время.

У молодняка имеется колостральный иммунитет, т.е. защиту организма обеспечивают антитела, полученные от матери из молозива и молока. Высокой активностью обладают лактоглобулины, получаемые из первых порций молозива. Больше всего иммуноглобулинов летом и зимой, меньше всего весной. Количество молозивных иммуноглобулинов у молодняка постепенно уменьшается из-за их распада. Иммуноглобулины к ряду антигенов исчезают из организма к 3-х недельному возрасту, к отдельным антигенам сохраняются в течение 2-3х месяцев.

### **2.3. Кожный покров млекопитающих как фактор защиты**

Кожа является самым крупным органом млекопитающих, который непосредственно контактирует с внешней средой и постоянно испытывает антигенную нагрузку. Кожный покров является мультифункциональной системой, одевающей поверхность тела животного. Кожный покров может значительно изменять свою структуру в зависимости от образа жизни животного. Он состоит из собственно кожи, куда входит эпидермис, дерма и подкожная клетчатка, волосяного покрова, желез (потовых, сальных, специфических, млечных) и различных ее производных (ногтей, когтей, копыт, рогов).

Поверхность кожи покрыта тонкой пленкой, состоящей наполовину из воды, наполовину из жиров, которые друг с другом образуют эмульсию. Поверхностная пленка предохраняет кожу от намокания, высыхания, резкой смены температуры и экзогенной инфекции.

Эпидермис и особенно его роговой слой служат барьером для болезнетворных микроорганизмов, предохраняют от потери влаги. Проникшие в поверхностные слои микроорганизмы удаляются при постоянном слущивании эпидермиса. Однако есть микроорганизмы, приспособившиеся к жизни в толще эпителия, например, грибы.

Благодаря меланоцитам - клеткам, вырабатывающим меланин, эпидермис защищает тело животного от избытка ультрафиолетовых лучей, которые губительно действуют на аутофлору. Эпидермис и дерма вместе с волосяным покровом и подкожно-жировой клетчаткой регулируют температуру тела, поддерживая тем самым, необходимый температурный оптимум для микроорганизмов, обитающих на коже и волосяном покрове.

Кожный покров, участвуя в обмене веществ, за счет выделения воды и различных продуктов обмена, в частности, мочевины, обеспечивает аутофлору необходимыми продуктами питания.

Млечные железы продуцируют молоко для вскармливания потомства. Помимо антител, которые обеспечивают у потомства колостральный иммунитет, в молоке имеется лактоферрин. Это вещество связывает железо, тем самым ингибируя рост микроорганизмов. В секретах потовых желез содержится лизоцим, губительно действующий на микроорганизмы, а выделения сальных желез являются питанием для микроорганизмов сапрофитов, изменяют рН кожи в кислую сторону, что является неблагоприятным фактором для многих паразитов.

Кожа является периферическим лимфоидным органом. В ней постоянно циркулируют лимфоциты со скоростью  $10^4$ - $10^5$  клеток в час на 1 г ткани. Лимфоциты постоянно группируются вокруг мелких венул поверхностного сосудистого сплетения и придатков кожи.

В коже содержатся также резидентные макрофаги и дендритные клетки.

Колонизационная защита кожи от патогенных микроорганизмов обусловлена наличием на ней нормальной микрофлоры, которая развивается особенно хорошо в присутствии пота и себума, кислого рН (3-5), достаточно высокой температуры тела и влажности. Особенно обильно заселены микробами те области кожного покрова, которые защищены от действия света и высыхания. Количество микробов зависит и от условий содержания животного. При плохом уходе на 1 см<sup>2</sup> может приходиться 1-2 млрд. микробных клеток.

Среди постоянной (резидентной) микрофлоры кожи обнаруживают, прежде всего, кокковую микрофлору: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus* spp., *Sarcina* spp., коринеформные бактерии, *Actinomyces* spp., *Propionibacterium* spp.

Транзиторная, т.е. непостоянная микрофлора представлена *Streptococcus* spp., *Peptococcus* spp., микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. и

др.), грамотрицательными кокками (*Moraxella* spp.), бактериями семейства *Pseudomonadaceae*, *Lactobacillus* spp., *Nocardia* spp., грибами (*Aspergillus* spp., *Candida albicans* и др.). В зонах, где имеется скопление сальных желез (гениталии, наружное ухо) встречаются непатогенные кислотоустойчивые микобактерии.

У здоровых коров из секрета вымени выделяются, прежде всего, грампозитивные кокки: стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*) и стрептококки (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*).

Удалить или существенно повлиять на нормальную микрофлору кожи не могут ни обильное потоотделение, ни мытье. Она быстро восстанавливается в результате выхода микроорганизмов из различных желез. Увеличение обсемененности кожи микроорганизмами может служить показателем снижения иммунологической реактивности организма.

#### **2.4. Слизистые оболочки и связанная с ними лимфоидная ткань. Имуноглобулины слизистых оболочек**

Лимфоидная ткань слизистых оболочек, соприкасающихся с внешней средой, представляет собой особый и самостоятельный компонент иммунной защиты, где реализуются неспецифические механизмы (цитокины, НК-клетки и другие гуморальные и клеточные факторы) и специфические механизмы (цитотоксические лимфоциты, антитела).

В лимфоидной ткани слизистых оболочек выделяют зоны, где происходит распознавание антигена, его фагоцитоз, презентация антигенов Т- и В-лимфоцитам (индукторные зоны), и есть зоны эффекторные, где иммунокомпетентные клетки выполняют свои функции. Под действием Т-хелперов часть В-клеток превращается в клетки памяти, а основная часть мигрирует в эффекторные зоны: собственную пластинку слизистой



оболочки кишечника, дыхательных путей, мочеполовой системы, слезных, слюнных и молочных желез, где они трансформируются в плазматические клетки, вырабатывающие IgA.

Данные иммуноглобулины вырабатываются в виде мономеров IgA, но при прохождении через цитоплазму эпителиальных клеток их тяжелые цепи связывает в димеры полипептидная цепь J, которая называется секреторным компонентом. В таком виде они поступают на поверхность слизистых оболочек, поэтому в секретах слизистых оболочек содержатся уже димеры, называемые секреторными иммуноглобулинами - sIgA. Полипептидная цепь выполняет несколько функций: защищает IgA от переваривающего действия протеолитических ферментов и «заякоривает» их на слизистой оболочке, где они выполняют свою функцию связывания токсинов и агглютинации микроорганизмов, выполняют вируснейтрализующую функцию.

В секретах слизистых оболочек можно обнаружить и другие иммуноглобулины- IgM, которые попадают путем трансмембранного транспорта, и IgG, попавшие из кровяного русла.

T-клетки могут циркулировать между индукторными и эффекторными зонами различных слизистых оболочек, что обеспечивает феномен общей иммунной системы слизистых оболочек.

Плазматические клетки кишечника, как было установлено на безмикробных животных, начинают вырабатывать антитела (IgA и IgM), только при заселении просвета кишечной трубки живыми кишечными палочками. У стерильных, т.е. лишенных микрофлоры организмов, IgA очень мало.

В онтогенезе созревание системы синтеза IgA происходит значительно медленнее, чем IgM и IgG. Вследствие этого у взрослых особей в слизистых оболочках преобладают IgA, а у молодых- IgG. Однако при внутриутробной вирусной инфекции плод уже способен синтезировать IgA.

После рождения IgA вначале появляются в секретах слизистых оболочек, особенно быстро в пищеварительном тракте, затем в сыворотке крови.

В дыхательных путях IgA вырабатываются преимущественно в миндалинах. В верхних дыхательных путях преобладают IgA, над IgG, в полостях носа IgM отсутствуют или встречаются в следовых количествах. В секретах нижних отделов респираторного тракта начинает увеличиваться содержание IgG.

В желудочно-кишечном тракте увеличение концентрации IgA происходит от ротовой полости к кишечнику.

В слизистой оболочке мочеиспускательного канала обнаружены IgA, очень мало IgG и отсутствуют IgM.

Антителообразующие клетки найдены в молоке и молозиве. В сыворотке крови IgA встречаются в небольших количествах, но при респираторных инфекциях и инфекциях желудочно-кишечного тракта их уровень возрастает.

## **2.5. Неспецифические клеточные факторы защиты покровных тканей. Клетки доиммунного воспаления. Интерлейкины. Апоптоз**

В макроорганизме ответственными за удаление микроорганизмов, проникающих через покровные ткани, являются наряду с гуморальными факторами клеточные: естественные (натуральные) киллеры – НК- клетки, полиморфноядерные лейкоциты – ПЯЛ и макрофаги – МФ, т.е. клетки доиммунного воспаления.

Слаженная работа этих клеток зависит от их непосредственной и опосредованной кооперации с помощью выделяемых цитокинов (интерлейкинов - ИЛ). Эти вещества являются низкомолекулярными пептидами. Они вырабатываются не только клетками, участвующими в доиммунном воспалении, но и многими другими клетками организма, т.е.

эти химические сигналы – «язык» клеточного общения». В настоящее время идентифицировано более 300 интерлейкинов. В норме количество и разнообразие интерлейкинов невелико. Под влиянием какого-либо воздействия на макроорганизм их синтез резко возрастает. Наиболее активно в этом плане действуют микроорганизмы и их антигены. Усиление синтеза интерлейкинов происходит в том месте, где локализуется активирующий фактор. Вместе с тем их выработка длится недолго.

Интерлейкины очень активны, и действие их многофункционально. Их работу можно уподобить сети, так как они активируют или подавляют друг друга, а, следовательно, и работу клеток, которые через свои рецепторы воспринимают сигналы от интерлейкинов. Многие интерлейкины обладают общностью биологического воздействия на клетки, способны взаимодействовать с одними и теми же рецепторами. Поэтому, если снижен синтез одних интерлейкинов, то их действие компенсируется выработкой других.

Макрофаги являются одними из главных клеток, синтезирующих интерлейкины, вырабатывая более 100 их видов. Все известные в настоящее время интерлейкины прямо или опосредованно моделируют функцию макрофагов. В то же время интерлейкины, которые вырабатываются макрофагами, регулируют активность различных клеток, в том числе иммунокомпетентных.

В растущем организме количество клеток-продуцентов интерлейкинов больше, чем во взрослом, но функциональная активность этих клеток недостаточно сформирована.

*МФ* первыми распознают наступившее неблагополучие в пограничных тканях (коже и слизистых оболочках), где они находятся в большом количестве в виде неактивированных (резидентных). *МФ* имеют на своей поверхности большое число разнообразных рецепторов, которые распознают и/или связывают различные вещества или другие клетки организма.

Среди этих рецепторов имеются Toll-подобные, которые относятся к наиболее важным рецепторным компонентам врожденной иммунной системы, т.к. они участвуют в распознавании патогенных и непатогенных микроорганизмов. Распознавание осуществляется благодаря антигенам, которые имеются только у микробов (липополисахариды, пептидогликан и его фрагменты и др.), и отсутствуют у клеток макроорганизма.

Кроме поверхностных Toll-подобных рецепторов есть такие же рецепторы и внутри клеток, которые распознают нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) микроорганизмов, проникших в цитоплазму макрофага.

Toll-подобные рецепторы активируются при взаимодействии со структурами микроорганизмов, а также при взаимодействии с собственными белками: белками теплового шока,  $\beta$ -дефенсинами, белком А сурфактанта, которые выделяются при воспалении или повреждении тканей. Активация Toll-подобных рецепторов приводит к выработке в макрофагах различных интерлейкинов. Одни группы интерлейкинов вызывают воспаление и поэтому называются провоспалительными (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18, фактор некроза опухоли - ФНО). Другие интерлейкины тормозят воспаление и поэтому называются противовоспалительными (ИЛ-4, ИЛ-13 и др.).

ИЛ-1 и ИЛ-8 привлекают в очаг воспаления ПЯЛ, ИЛ-6 дополнительно вызывает их адгезию и дегрануляцию, кроме того он вызывает выработку белков острой фазы в печени. ИЛ-12 и ИЛ-18 активирует НК-клетки. ИЛ-12 является связующим звеном между врожденным и специфическим иммунным ответом. ФНО активирует моноциты и макрофаги. Перечисленные интерлейкины вырабатываются на ранних стадиях воспалительного процесса.

Характер, течение и исход многих инфекционных болезней зависят от способности возбудителя, его компонентов и продуктов метаболизма вызывать синтез ИЛ-12. В частности, такие возбудители как листерии индуцируют синтез этого интерлейкина, поэтому защитные механизмы

против них эффективны, а туберкулезные микобактерии – нет, что приводит к длительной персистенции данного возбудителя в макроорганизме.

Нельзя исключить, что при заболеваниях, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, не выделяется достаточных количеств ИЛ-12 или стимулируется выработка в макрофагах ИЛ-10, который является антагонистом ИЛ-12 и провоспалительным фактором.

При воспалении в течение первых 2-х суток МФ усиленно выделяют ИЛ-12. Через 4 дня его выработка может либо усилиться, либо тормозиться. В зависимости от этого инфекционный агент будет уничтожен или будет персистировать в очаге.

*ПЯЛ* (полиморфноядерные лейкоциты) циркулируют в крови и появляются в пограничных тканях только при формировании в них очагов воспаления. Под влиянием провоспалительных интерлейкинов, прежде всего, ИЛ-8, они первыми устремляются из кровеносного русла в очаг воспаления. Направленная миграция ПЯЛ происходит при взаимодействии ИЛ-8 с рецепторами на их поверхности. ИЛ-8 в очаге воспаления вызывает дегрануляцию лейкоцитов, выработку в них больших количеств активированных форм кислорода. Этот процесс называют «дыхательным, или респираторным взрывом». Из ПЯЛ выходят ферменты лизосом. Выделяемые из макрофагов ИЛ-1 и ФНО усиливают действие ИЛ-8, поглотительную способность ПЯЛ в отношении микроорганизмов, а ИЛ-6 – их киллерную функцию. Кроме того, он может вызывать апоптоз, или запрограммированную гибель ПЯЛ, но действие это в основном происходит в затухающем очаге воспаления.

Полиморфноядерные лейкоциты в очаге воспаления вырабатывают собственные интерлейкины, названные нейтрофилокинами. Под влиянием этих веществ происходит миграция в очаг воспаления моноцитов из кровяного русла, которая наступает через несколько дней после начала воспаления. При этом моноциты в очаге воспаления превращаются в

макрофаги. Нейтрофилокины, активированные бактериями, усиливают фагоцитарную и переваривающую способность макрофагов в отношении различных бактерий, в том числе *Staphylococcus aureus*. Помимо участия в реакциях воспаления нейтрофилокины оказывают и другие воздействия на макроорганизм: психотропный эффект, индуцируют стресс, стимулируют заживление ран.

ПЯЛ в норме способны взаимодействовать с нормальной микрофлорой слизистых оболочек, не оказывая на нее негативное воздействие. Установлено, что эти клетки постоянно присутствуют на слизистых оболочках генитального тракта. Мигрируя на поверхность эпителия и взаимодействуя с нормофлорой, они активируются, осуществляют свои защитные функции по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре, а затем погибают в результате апоптоза.

*НК-клетки* относятся к клеткам врожденного иммунитета. НК-клетки происходят из костного мозга, откуда они расселяются в различные органы и ткани, попадают в кожу, слизистые оболочки, печень, селезенку, в 5-15% циркулируют в крови. В крови они выглядят как большие гранулярные лимфоциты. Помимо защиты от патогенных микроорганизмов, их действие направлено на разрушение собственных клеток, пораженных вирусами, микроорганизмами, или опухолевых клеток. На поверхности эти клетки несут рецепторы CD56 и CD16, с помощью которых их можно идентифицировать. CD56 является молекулой адгезии, позволяющей НК-клетками прикрепляться к клеткам-мишеням. CD16 представляет собой рецептор для Fc-фрагмента иммуноглобулина G (IgG). Кроме этих рецепторов встречаются и другие неспецифические рецепторы: CD2, CD7, CD8, типичные для Т-клеток, а также CD11a и CD11b – молекулы адгезии. В цитоплазме НК-клетки имеют гранулы, в которых содержатся два белка с цитотоксической активностью – перфорин и гранзим.

Активаторами НК-клеток являются интерлейкины, которые вырабатываются активированными МФ и дендритными клетками (ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ФНО и другие). В очаге инфекции НК-клетки размножаются, выделяют вещества хемокины, привлекающие другие НК-клетки. При встрече с клеткой-мишенью НК-клетки образуют с ней конъюгат за счет молекул адгезии и других стимулирующих факторов. В месте контакта происходит поляризация липидов цитоплазматической мембраны НК-клетки, называемые рафтами. В эти рафты перемещаются по микротрубочкам как на салазках перфорин-содержащие гранулы с ферментами и перфорином. В клетке-мишени под действием ферментов и перфорина образуются поры, в которые проходит грамзин - другой цитотоксический белок НК-клетки. Грамзин запускает в мишени запрограммированную гибель клетки – апоптоз.

Таким образом, в очаге доиммунного воспаления с помощью интерлейкинов и подобных им веществ происходит контроль за деятельностью различных клеток, участвующих в поглощении и разрушении микроорганизмов и собственных клеток. При избыточной продукции провоспалительных интерлейкинов и недостаточной выработке противовоспалительных, избыточной секреции бактерицидных факторов, в частности, кислородных радикалов, недостатке рецепторов для интерлейкинов происходит массивное повреждение клеток и тканей, формируется очаг хронического воспаления.

При гнойной инфекции с преобладанием внеклеточно расположенных микроорганизмов (стафилококков, пневмококков, клебсиелл) главная функция в защите макроорганизма принадлежит триаде: ПЯЛ+комплемент+иммуноглобулины. При внутриклеточном паразитизме (грибы, микобактерии, вирусы) главную роль в их удалении приписывают другой триаде: МФ+НК-клетки+Т-лимфоциты.

*Апоптоз.*

В развитии хронического воспаления, которое особенно часто бывает при оппортунистических инфекциях, основную роль играют ПЯЛ и Т-лимфоциты, которые приобретают способность к усилению выживаемости и утрачивают способность к апоптозу. При этом Т-клетки характеризуются сниженными функциями, а ПЯЛ - повышенной способностью к продукции больших количеств активированных форм кислорода, которые повреждают собственные слизистые оболочки.

Апоптозом называют генетически запрограммированную гибель клеток. Морфологически это проявляется изменением клеточной мембраны с образованием пузырьков, сморщиванием и распадом клеточного ядра и его лизисом. Модуляторами апоптоза являются многие интерлейкины, в том числе ИЛ-12, ИЛ-10, ИЛ-4.

Апоптозные клетки распознаются макрофагами, которые их поглощают. Тем самым регулируется количество клеток, что немаловажно для свертывания воспаления. Более того, фагоцитоз ПЯЛ с микробами в цитоплазме позволяет предотвратить распространение инфекции из первичного очага.

На примере генитального тракта установлено, что представители нормальной микрофлоры - лактобациллы и бифидобактерии являются мощными апоптогенными факторами, а условно-патогенные кишечные палочки и золотистый стафилококк обладают гораздо менее выраженной активностью в отношении апоптоза.

Апоптоз Т-лимфоцитов и ПЯЛ несет положительную функцию, предотвращая или прекращая воспаление, не допуская его перехода в хроническое. В то же время апоптоз макрофагов приводит к тому, что микроорганизмы не будут разрушены и беспрепятственно проникнут в подлежащие ткани и кровь. Инфекция в этом случае примет генерализованный характер.



## 2.6. Микробные биопленки

Кожа и слизистые оболочки любого животного организма, сообщающиеся с внешней средой, заселены микроорганизмами различного видового состава. У каждого животного имеется собственная микрофлора тела, или аутофлора. В здоровом организме встречается микрофлора, которая благоприятствует его существованию. Поэтому такую аутофлору называют нормальной микрофлорой, или нормофлорой.

Общее количество микроорганизмов нормальной микрофлоры во много раз превосходит число собственных клеток хозяина. Сейчас ее рассматривают как самостоятельный орган макроорганизма. На безмикробных животных доказано, что организм может существовать без аутофлоры, но при этом для роста и развития ему необходим тщательно составленный рацион питания, обогащенный витаминами, микроэлементами, аминокислотами. Без аутофлоры это животное абсолютно беззащитно перед всеми микроорганизмами окружающей среды, так как у него не сформированы многие барьеры на пути инфекции.

Нормальная микрофлора обладает следующими характеристиками:

- представлена многими видами микроорганизмов с преобладанием некоторых из них;
- преобладающими являются анаэробы, число которых относится к аэробам и факультативным анаэробам как 10:1 или 100: 1;
- состав ее достаточно стабилен;
- она образует биопленку.

Особенно полно изучена нормальная микрофлора у человека. Подсчитано, что на коже и слизистых оболочках обитает около 35 тысяч видов различных микробов. Установлено, что 20% всех микроорганизмов обитает в полости рта, где имеется более 200 видов. В ротоглотке сосредоточено 15-16% всех микроорганизмов тела. В желудочно-кишечном тракте имеется 40% всех микроорганизмов тела человека. Там

обитает около 1500 видов, причем, основная масса сосредоточена в толстом кишечнике, где на нее приходится более 2,5 кг. В 1г содержимого у взрослого человека имеется  $10^{12}$ - $10^{14}$  колониобразующих единиц (КОЕ), т.е. живых микроорганизмов. Подавляющее большинство микробов (80%) не растет на питательных средах. В урогенитальном тракте мужчин имеется 2-4%, а в вагине женщин- 10% нормальной микрофлоры. На коже обитает 18-20% нормофлоры.

У животных также исследован видовой состав микрофлоры кожи и слизистых оболочек и тоже отмечено, что далеко не все микроорганизмы еще изучены. Различные условия проживания (в природе или в животноводческих помещениях), соблюдение правил зоогигиены оказывает на микрофлору животного определенное воздействие в плане большего или меньшего их содержания. Имеют значение и особенности питания: травоядное, плотоядное или всеядное животное. Тем не менее, очевидно, общий план строения и функционирования организма теплокровных животных определяют у них те же взаимоотношения макроорганизма с аутофлорой, что и у человека.

Аутомикрофлора тела составляет микробиоценоз, который является единой экологической системой, сохраняющейся за счет непрерывного динамического баланса между макроорганизмом и микроорганизмами.

Аутомикрофлора входит в состав биопленок, создание которых является непременным условием, позволяющим бактериям выживать в макроорганизме.

Образование биопленок начинается сразу после рождения. Вначале к тканям, контактирующим с внешней средой, прикрепляются (адгезируют) единичные микробы за счет пилей адгезии. При благоприятных условиях происходит их размножение и образование небольших по размеру колоний – микроколоний. Одновременно микроорганизмы выделяют комплекс полисахаридов, которые образуют матрикс. Этот матрикс

представляет собой губчатый слой в виде плотной сети, состоящий на 97% из воды. На остальные 3% приходится сухое вещество, включающее полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, фосфаты и сульфаты. Матрикс пронизан каналами, наполненными жидкостью. Постепенно микроколонии оказываются внутри матрикса, на долю которого приходится 85% объема биопленки и удерживаются экзополисахаридами.

У целого ряда бактерий индол является сигнальной молекулой, влияющей на образование биопленки. Он вызывает избыточную экспрессию генов, участвующих в продукции полисахарида, необходимого для образования биопленки. Кроме того он влияет на экспрессию других генов, определяющих подвижность, потребление железа, транспорт ионов.

Напротив, фермент дезоксирибонуклеаза угнетает образование биопленок грамположительных и грамотрицательных бактерий и усиливает антимикробное действие антибиотиков. Она действует на кооперацию между клетками, разрушая ДНК матрикса биопленок.

Микроколонии со временем сливаются и образуют многослойные структуры. Подавляющее большинство микроорганизмов в биопленках пребывает в покоящемся состоянии. На них практически не действуют защитные силы макроорганизма, дезинфектанты, антибиотики, антисептики, детергенты из-за защитного эффекта матрикса, который является малопроницаемым материалом.

Периодически бактерии в микроколониях делятся и поступают в окружающую среду, в частности, в кровоток, просвет кишечника, дыхательных, мочевыводящих путей. Такие клетки называются планктонными.

В биопленках микробы постоянно и активно общаются между собой посредством выделения сигнальных молекул – низкомолекулярных химических гормоноподобных соединений: ацилированных лактонов

гомосерина (АГА) и олигопептидов. АГА выделяют грамотрицательные микроорганизмы, а олигопептиды – грамположительные.

Феномен взаимодействия между бактериями называют «чувством кворума» («quorum-sensing») - QS. Чувство кворума обеспечивает межвидовые и внутривидовые отношения между бактериями, позволяет на популяционном уровне регулировать поведение и отвечать на изменения в окружающей среде. Этот феномен проявляется при достижении определенной плотности популяции, т.е. бактерии ведут себя как многоклеточные организмы.

У грибов также обнаружены соединения, играющие роль аутоиндукторов и выполняющих функцию регуляции поведения при образовании биопленок. Чувство кворума отмечено, например, у кандид.

Все бактерии синтезируют сигнальные молекулы и рецепторные белки, имеют системы для передачи этих сигналов и соответствующие гены-мишени, которые их воспринимают. Чувство кворума регулирует многие процессы жизнедеятельности микробных клеток: симбиоз, вирулентность, компетентность, конъюгацию, образование антибиотиков, споруляцию, формирование биопленок.

Многие бактерии имеют две и больше QS - системы. Ацилированные лактоны гомосерина свободно перемещаются из клетки в клетку, а олигопептиды не способны диффундировать из клетки. Они вначале представляют собой длинные цепи, которые затем расщепляются на более короткие из 8-9 аминокислот фрагменты, модифицируются и только после этого способны выделиться из микробной клетки в окружающую среду. Эти пептиды определяют выделение факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, споруляцию у *Bacillus subtilis*. Они активизируют вирулентность у собственного штамма и подавляют ее во всех других штаммах бактерий этого же вида. Вследствие этого при смешанной инфекции штаммы, принадлежащие к вирулентному виду, вытесняют все штаммы неvirulentные.

При наличии двух QS – систем у грамотрицательных микроорганизмов одна из них, которая называется «автоиндуктор-1» (АИ-1) обеспечивает внутривидовые контакты, а вторая - «автоиндуктор-2» (АИ-2) - межвидовые. Такие системы есть у *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, но у некоторых лабораторных штаммов они отсутствуют. Концентрация АИ-2 достигает наибольшей величины в середине логарифмической фазы и уменьшается при достижении культурой стационарной фазы. За синтез автоиндукторов отвечают определенные гены. Аналогичные гены обнаружены и у бактерий других родов: бацилл, иерсиний, кампилобактера, холерных вибрионов, микобактерий, различных видов стрептококков, т.е. как грамотрицательных, так и грамположительных.

АИ-2, выделяемый в окружающую среду, может использоваться бактериями в качестве питательного элемента, если другие питательные вещества, например, глюкоза, уже израсходованы при росте бактерий на питательной среде.

Сигнальные молекулы накапливаются в окружающей среде и, когда достигают определенной концентрации, активизируют гены микроорганизмов. При значительном размножении условно-патогенных микробов активизация генов приводит к продукции ими факторов патогенности и, как следствие, - к инфекционному процессу.

У микроскопических грибов, в частности, *Candida albicans*, также обнаружены соединения, играющие роль автоиндукторов и выполняющих функции в регуляции поведения при образовании биопленок.

Системы QS участвуют в передаче сигналов между царствами бактерий и эукариот. Химические соединения, выделяемые микроорганизмами в биопленках, влияют и на клетки макроорганизма, поддерживая или изменяя его физиологические процессы. Эукариоты могут образовывать соединения, взаимодействующие с системами QS бактерий, действуя на них как агонисты или антагонисты. Подобные

взаимоотношения бактерий и макроорганизма называются «общением без барьеров».

## **2.7. Гнотобиотические животные, роль микрофлоры в жизнедеятельности организма хозяина**

Роль микробов-комменсалов в жизни макроорганизма и процесс «общения без барьеров» изучены на гнотобиотических животных (гнотобиотах), т.е. животных с известной микрофлорой тела.

Гнотобиоты могут быть безмикробными (стерильными), т.е. полностью свободными от бактерий, грибов, вирусов и простейших. Их получают путем гистеротомии или гистероэктомии, т.е. из полости матки путем ее разрезания или удаления в стерильных условиях. Если гнотобиоты содержат вирусы, тогда их называют безбактериальными.

Таких животных получают при введении препаратов, губительно действующих на бактерии. Стерильно полученных животных можно случайно или специально заразить (контаминировать) какими-либо патогенными или непатогенными микроорганизмами. Таких животных называют гнотофорными.

Безмикробные животные обладают рядом особенностей. Для них характерен пониженный обмен веществ из-за снижения функции щитовидной железы. У всех безмикробных животных, кроме кошек, наблюдается повышенное содержание и активность пищеварительных ферментов.

Имеет место избирательный характер всасывания веществ из кишечника. Такие аминокислоты, как метионин, триптофан и химические элементы (магний, кальций, железо и ряд других веществ) проникают через слизистую оболочку кишечника лучше, а натрий, калий, витамин В-12 и вода – хуже, чем у обычных животных. Кислород у них усваивается также хуже.

У безмикробных животных накапливаются вещества, вызывающие стойкое расширение сосудов, в результате чего снижен кровоток. В крови в 2 раза меньше уровень ядродержащих клеток (лейкоцитов и лимфоцитов) из-за снижения гемопоэтической функции гранулоцитарного ростка костного мозга. В то же время количество эритроцитов у гнотобиотов увеличено, но эти клетки меньших размеров, чем у обычных животных. У безмикробных поросят встречаются преимущественно зрелые сегментоядерные лейкоциты.

В печени и лимфатических узлах гнотобиотов длительно (до 2-х месяцев) сохраняются очаги экстрамедуллярного кроветворения, свойственные эмбриональному периоду.

Размеры коры надпочечников у безмикробных крыс больше, а функциональная активность ее превышает в 6,5 раза таковую у обычных. При стрессе уровень гормонов, вырабатываемых клетками коры этого органа снижается.

Лимфоидная система у стерильных животных недоразвита, особенно лимфоидная ткань, связанная с кишечником и дыхательными путями. Эти животные обладают низким уровнем гуморальных факторов защиты – лизоцимом и комплементом, снижены уровни естественных антител и иммуноглобулинов, отсутствует реакция «трансплантат против хозяина», снижен клеточный иммунитет, в частности, гиперчувствительность замедленного типа. Вместе с тем при введении антигена реакция образования антител хотя и замедлена, но уровень антител выше, чем у обычных животных.

При заражении гнотобиотических животных у них может быть хроническое бактерионосительство или развивается генерализованная инфекция. В то же время они более устойчивы к действию эндотоксина по сравнению с обычными животными, а процесс очищения крови от этого вещества макрофагами протекает быстрее.

Фагоцитарная активность лейкоцитов и макрофагов по отношению к микроорганизмам снижена из-за отсутствия опсоинов, а фагоцитоз носит незавершенный характер. Воспалительная реакция у гнотобиотов слабее, чем у обычных с замедленной и менее выраженной экссудацией и миграцией клеток к очагу повреждения. Наряду с этим регенерация (заживление) ран наступает быстрее, и они заживают первичным натяжением, т.е. без нагноения.

Таким образом, становится очевидным, что многие морфологические и физиологические функции макроорганизма обусловлены наличием микроорганизмов, входящих в состав биопленок тела животного и человека.

Дальнейшие исследования, проводимые на гнотифорных животных, позволили установить роль отдельных представителей микробиоценоза и его совокупности в жизни макроорганизма.

Оказалось, что на процессы жизнедеятельности организма различных животных и человека основное, определяющее влияние оказывает микрофлора желудочно-кишечного тракта. В здоровом организме сохраняется динамическое равновесие между отдельными видами микробов в биоценозе и между микробиоценозом в целом и хозяином.

Микробиоценоз кишечника в целом играет двоякую роль в жизнедеятельности макроорганизма. Положительная роль заключена в том, что микробы-симбионты обеспечивают:

- колонизационную резистентность за счет непосредственного нахождения биопленки на поверхностях тела животного, а также выделения органических кислот, сдвигающих рН в кислую сторону. Тем самым подавляется размножение патогенных микроорганизмов. За эту функцию отвечает выработка ими перекиси водорода, органических кислот, антибиотикоподобных веществ;



- микробиоценоз кишечника обеспечивает газовый состав в его полости и других полостях тела;
- микробы-симбионты ускоряют миграцию эпителия, тем самым способствует его обновлению;
- микробы-симбионты выделяют ферменты, витамины, гормоны, аминокислоты, используемые макроорганизмом;
- микробиоценоз участвует в водно-солевом обмене;
- микробы-симбионты усиливают пищеварительную и моторную функцию желудочно-кишечного тракта;
- микробиоценоз регулирует уровень желчных кислот, холестерина, обеспечивает детоксикацию экзогенных и эндогенно образующихся токсичных для макроорганизма метаболитов;
- микробы-симбионты участвуют в развитии лимфоидной ткани, связанной со слизистыми оболочками, в неспецифической стимуляции иммунокомпетентных клеток и тканей.

Кроме того, микробы-комменсалы, входящие в состав биопленок, активизируют клетки, участвующие в противомикробной защите: НК-клетки и клетки макрофагального ряда. Под влиянием микробного стимула данные клетки вырабатывают цитокины, обладающие противовоспалительным эффектом (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-11) или провоспалительным, т.е. вызывающим воспаление (ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , ИФ- $\gamma$ ). В частности, под влиянием лактобацилл, входящих в состав биопленки кишечника, в макрофагах синтезируются и затем выделяются ФНО- $\alpha$  и ИЛ-12, которые обеспечивают природный антибактериальный иммунитет, а в НК-клетках вырабатывается ИФ- $\gamma$ .

Аутофлора наряду с положительными функциями способна оказывать и негативное влияние на макроорганизм. Она может выделять вещества, которые обладают мутагенным эффектом с развитием раковых заболеваний. Возможна конкуренция с хозяином за питательные вещества.

Негативная роль связана с деятельностью условно-патогенных микроорганизмов, численность которых при определенных состояниях организма хозяина может резко возрасти, и при этом проявиться чувство кворума. Условно-патогенная микрофлора в этом случае может явиться этиологическим фактором гнойно-септических состояний, может стимулировать продукцию больших количеств медиаторов воспаления и увеличение проницаемости слизистых оболочек, в частности, кишечной стенки. Медиаторы воспаления способны повышать свертываемость крови и нарушать микроциркуляцию в сосудах. Следствием будет гипоксия, т.е. уменьшение притока кислорода и повреждение тканей.

Антигены условно-патогенных микроорганизмов сенсibiliзируют макроорганизм с развитием аллергических реакций, таких как спазм бронхов и дерматозы.

У млекопитающих эволюционно сложилась толерантность, т.е. терпимость к аутомикрофлоре кишечника и других покровов тела, что является частью их естественного иммунитета. Толерантность обусловлена малыми дозами липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий, которые подавляют выработку ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1.

При избыточной продукции ЛПС толерантность нарушается. Макрофаги и НК-клетки мигрируют в различные ткани, вызывая в них воспаление, аутоагрессию соединительной и нервной ткани, полиорганную патологию. На воспаление расходуется большое количество энергии, вырабатываемой макроорганизмом в процессе жизнедеятельности. Следствием этого является утрата способности иммунокомпетентных клеток адекватно реагировать на любой патогенный стимул, что приводит к иммунопараличу.

#### Вопросы для самоконтроля

1. Назовите защитные барьеры, имеющиеся у взрослых животных.
2. Почему новорожденные животные при физиологической незрелости иммунной системы защищены от инфекционных болезней?

3. С помощью каких факторов кожа животного защищает его от инфекции?
4. Какие условно-патогенные микроорганизмы обитают на коже здорового животного?
5. Назовите микрофлору молока, которая в норме встречается у животного.
6. Какие защитные механизмы имеются в слизистых оболочках?
7. Какие клетки участвуют в доиммунном воспалении при нарушении целостности покровных тканей?
8. Что такое «интерлейкины» и какой механизм их действия?
9. Что включает понятие «апоптоз» и почему он необходим для прекращения воспаления?
10. Каким образом Toll-подобные рецепторы макрофагов распознают микроорганизмы?
11. Как вы понимаете «дыхательный взрыв» и для чего он нужен?
12. Какой механизм действия NK- клеток?
13. В чем отличие аутофлоры от нормофлоры?
14. Что включает в себя понятие «микробная биопленка», как, где и когда она появляется у животного?
15. Какой «язык общения» у микроорганизмов, входящих в состав биопленок?
16. Как вы понимаете чувство кворума у микроорганизмов?
17. Почему чувство кворума позволяет условно-патогенным микроорганизмам переходить в категорию, приближающую их по патогенности к облигатным паразитам?
18. Какие животные называются «гнотобиотическими», как их можно получать и содержать?
19. Какие роли выполняет микрофлоры в жизнедеятельности организма хозяина?

20. Микрофлора какого органа определяет нормальное функционирование макроорганизма?

21. За счет каких структур бактериальных клеток осуществляется толерантность организма хозяина к аутофлоре?

## ГЛАВА 3. ПРИЧИНЫ АКТИВИЗАЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ И РОСТА ЧИСЛА ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

### 3.1. Иммунодефициты

Одной из причин роста числа оппортунистических инфекций являются иммунодефициты. Иммунодефицитами называют такие состояния макроорганизма, при которых у животного и человека постоянно отмечаются заболевания, вызванные условно-патогенной микрофлорой, т.е. имеет место инфекционный синдром. При инфекционном синдроме повреждаются барьерные ткани: кожа и органы, сообщающиеся с внешней средой, в первую очередь, легкие и желудочно-кишечный тракт.

Иммунодефициты могут быть первичными, т.е. врожденными, физиологическими, проявляющимися у новорожденных животных, и вторичными, развивающимися у взрослых особей.

*Первичные иммунодефициты* представляют собой наследственные болезни, связанные со структурными дефектами тех или иных генов и развитием пороков внутриутробного развития. Первичные иммунодефициты встречаются достаточно редко. При этом может быть дефект в работе клеток доиммунного воспаления (макрофагов, полиморфноядерных лейкоцитов, НК-клеток), дефицит неспецифических гуморальных факторов защиты (системы комплемента), дефицит Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и их комбинации.

*Физиологические иммунодефициты* встречаются у новорожденных животных в силу физиологической незрелости организма. У них имеются высокопроницаемые барьеры для микроорганизмов. В частности, несовершенными барьерами являются слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей, на формирование которых

требуются недели-месяцы. Лимфоидный аппарат начинает функционировать не сразу после рождения. Для его адекватной работы требуется созревание под влиянием микрофлоры. Так, у кроликов пейеровы бляшки становятся видны только к 15-м суткам после рождения.

Ферментативный аппарат у новорожденных животных также еще полностью не сформирован. Покровный эпителий очень раним, секреторные иммуноглобулины не вырабатываются, а поступают у млекопитающих с молоком матери.

Вследствие указанных причин у новорожденных животных часто развиваются септические состояния и диареи, этиологическим фактором которых служат условно-патогенные микроорганизмы, поступающие экзогенно из окружающей среды. Инфекционные болезни молодняка чаще возникают как аутоинфекция.

Первоисточником возбудителей инфекции при болезнях молодняка, в том числе оппортунистических, являются всегда взрослые животные – носители патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Пути передачи возбудителя в основном связаны с естественными выделениями взрослых особей (слюной, носовым секретом, молоком, фекалиями) и накоплением во внешней среде различной микрофлоры.

*Вторичные иммунодефициты* встречаются у взрослых животных с хорошо развитой иммунной системой. К вторичным иммунодефицитам могут приводить очень разные причины: механические травмы; хирургические вмешательства, при которых угнетаются неспецифические факторы защиты и Т-клетки, а уровень В-лимфоцитов в периферической крови возрастает; различные экстремальные факторы; неправильно составленный рацион питания; микотоксины в кормах и другие факторы, вызывающие развитие стресса у животных.

Вторичный иммунодефицит клинически проявляется гнойно-септическими процессами в различных органах и тканях, а также диареей

при нерациональном применении антибиотиков. Если нарушен фагоцитоз, то, прежде всего, поражаются пограничные органы: кожа и слизистые оболочки с развитием гнойного процесса. Если нарушен биосинтез иммуноглобулинов, то чаще регистрируются хронические инфекции респираторного тракта, отиты, синуситы, диарея.

Вторичные иммунодефициты могут быть обратимыми и необратимыми. *Обратимые иммунодефициты* у животных связаны, в первую очередь, с неправильным кормлением:

- поедание животными грубых и большого количества концентрированных кормов, особенно при откорме бычков;
- поедание корма, выражено зараженного плесневыми грибами и их метаболитами (микотоксинами);
- отсутствие в диете витаминов;
- дефицит жизненно важных микроэлементов (цинка, меди, железа, марганца, селена и других). При этом нарушается белковый синтез, в том числе вырабатывается мало иммуноглобулинов, белков, участвующих в неспецифической защите – комплемента, лизоцима, С-реактивного белка, белков теплового шока и т.д.;
- голодание.

Немаловажное значение имеют санитарно-гигиенические условия содержания животных: пыль, скопление навоза, большое содержание аммиака в воздухе, загрязненное микроорганизмами оборудование, в частности, доильные аппараты.

Причиной обратимого вторичного иммунодефицита могут быть постоянные стрессы с развитием дистресса.

*Необратимые иммунодефициты* развиваются при действии высоких доз ионизирующей радиации, химических веществ, повреждающих лимфоциты, а также при инфекционных заболеваниях. При этом

происходит истощение клонов лимфоцитов, которые накапливаются только в растущем организме, во взрослом же состоянии их число неуклонно снижается.

Передача условно-патогенных микроорганизмов животным может происходить при контакте с ухаживающим персоналом, который является носителем условно-патогенных микроорганизмов или имеет острые и хронические гнойно-септические заболевания, вызванные условно-патогенной микрофлорой.

### **3.2. Стрессы как факторы развития вторичных иммунодефицитов**

В современных условиях не только люди, но и животные подвергаются действию экстремальных факторов, которые неадекватны врожденным и приобретенным свойствам организма, что приводит к дополнительной затрате энергии и расходованию резервных сил.

Экстремальные факторы могут приводить к развитию стресса, т.е. к формированию у животных новой функциональной системы срочной и долговременной адаптации, т.е. приспособлению. Стресс или, как он был назван автором впервые его описавшим Гансом Селье, «общий адаптационный синдром» развивается при воздействии любого экстремального фактора, любого повреждающего организм агента: химического, физического или биологического.

Позже Селье предложил различать стресс и дистресс. Стресс не представляет угрозу жизни организма, но повышает его активность. Дистресс наступает при очень частых или чрезмерных стрессах.

У людей и животных основные моменты стресса разные: у человека – это прежде всего психофизиологическая реакция личности, а не организма, у животного на первое место выступает реакция организма, хотя немаловажную роль играют эмоции биологического плана



(комфортное содержание, наличие полового партнера, удовлетворение потребности в пище).

У различных видов животных при эмоциях возбуждаются разные центры гипоталамуса. Так, у кошек и собак возбуждаются задние отделы, а у кроликов - преимущественные передние отделы.

В гипоталамусе вырабатываются кроме того гормоны, которые руководят работой надпочечников – адренкортикотропные (АКТГ). Под влиянием АКТГ вырабатывается в мозговом слое надпочечников адреналин, уровень которого возрастает при страхе и тревоге, и норадреналин – гормон агрессивного поведения.

У животных и людей АКТГ вызывает при стрессе однотипные изменения в надпочечниках, усиливая не только работу его мозгового слоя, но и коры. В клетках коры вырабатываются большие количества кортикоидных гормонов: минералокортикоидов и глюкокортикоидов. Минералокортикоиды вызывают воспаление, а глюкокортикоиды оказывают противовоспалительное действие, подавляют миграцию и хемотаксис лейкоцитов, подавляют фагоцитоз, образование интерферона. При этом возникает понижение резистентности к инфекциям. Помимо этого они подавляют синтез антител в плазматических клетках, вызывают уменьшение количества лимфоцитов в центральных (тимус) и периферических лимфоидных органах (лимфатические узлы, селезенка). Подавляется в этих органах процесс митоза и образование РНК. Из крови исчезают лимфоциты и эозинофилы. Кроме того, при стрессе из клеток коры надпочечников высвобождается ИЛ-1, обладающий провоспалительным действием.

При стрессе антитела и комплемент хуже связываются с клеточной поверхностью.

Таким образом, глюкокортикоиды следует отнести к иммунодепрессантам, подавляющим первичный и вторичный иммунный

ответ. При этом облегчается заражение животных, а скрыто протекавшая инфекция дает манифестные формы.

Гормоны стресса – адреналин и норадреналин прямо воздействуют и на микроорганизмы, стимулируя рост патогенных штаммов стафилококков и кишечной палочки. В этом же направлении действует и биогенный амин – серотонин. Это вещество выделяется гипоталамусом, эпифизом, тромбоцитами и определенными клетками, расположенными в слизистой оболочке пищеварительного тракта и дыхательной системы - апудоцитами. Серотонин участвует в стимуляции секреции адренокортикотропного гормона гипоталамуса, является медиатором воспаления. Серотонин ускоряет рост энтерококков, кишечной палочки, иерсиний, дрожжей и ряда других микроорганизмов за счет сокращения lag-фазы, стимулирует образование биопленок. Он стимулирует синтез адгезинов у энтеропатогенных бактерий. Бактерии сами способны вырабатывать вещества, свойственные организму животного:  $\gamma$ -аминомасляную кислоту,  $\beta$ -аланин, инсулин, серотонин, норадреналин, дофамин. Нейромедиатор глутамат, вырабатываемый бактериальными клетками, повреждает митохондрии нейронов, в результате чего происходит апоптоз нейронов.

В ветеринарии нет единой общепринятой классификации стрессов. Это объясняется многообразием стрессоров и вариабельностью проявления их действия у разных животных. В практической ветеринарии наиболее приемлема классификация стресса, в основу которой положен этиологический фактор, т.е. причина. В этой связи различают стресс транспортный, технологический, болевой, климатический, вакцинальный, тепловой, адинамический, психический, недостаток селена, витамина Е и другие причины.

Таким образом, причинами стрессов являются любые действия человека, направленные на лишение животного проявлений естественных защитных реакций. Отчетливые симптомы стресса проявляются у особей

со слабым неуравновешенным типом нервной системы, чаще всего это отмечается у свиней.

Стресс, связанный с технологией выращивания, устанавливают клинически по гематологическим показателям: эозинопения, лимфопения, эритропения, снижение уровня гемоглобина, нейтрофильный лейкоцитоз, увеличение уровней  $\gamma$ -глобулинов, кортикостероидов и адреналина.

Транспортный стресс обычно регистрируется при убое животного. У свиней, восприимчивых к стрессу, может возникать светлая окраска мяса, оно становится водянистым и мягким, снижается рН до 5,8. У свиней с устойчивой нервной системой, мясо при транспортном стрессе может быть темным, твердым и сухим, рН такого мяса более 6,2. В таком мясе хорошо развивается микрофлора.

### **3.3. Селекция условно-патогенной микрофлоры под влиянием антибиотиков**

Применение антибиотиков с лечебными целями и в виде кормовых добавок подавляет развитие нормальной микрофлоры в кишечнике. Это является также одной из главных причин резкого увеличения числа оппортунистических инфекций, регистрируемых среди животных. При этом происходит изменение и макроорганизма, и микробов-симбионтов, которые входят в состав его аутофлоры.

Стрессорное воздействие на аутофлору антибиотиков приводит к значительному увеличению на поверхности микробов белков, которые относятся к белкам теплового шока. Это явление универсальное и развивается у бактерий и *in vivo*, и *in vitro*, например, при переносе их из жидкой среды на плотную. В частности, у *E. coli* в течение 180 минут наступает lag-фаза, связанная с включением в работу генов, под влиянием которых вырабатываются белки теплового шока и окислительного стресса. Чтобы освоить новую среду бактерии должны не только адаптироваться, но и испытать стресс. Аналогичное изменение происходит и при тепловом

шоке. При этом вначале уменьшается структурированность поверхности микробных клеток и увеличиваются их размеры. Затем структурированность поверхности возрастает, а размеры клеток уменьшаются.

Антибиотики, которые влияют на репликацию ДНК у бактерий, активируют так называемый SOS-ответ. При этом возрастает частота горизонтального переноса факторов вирулентности другим видам микроорганизмов. Те антибиотики, которые влияют на синтез клеточной стенки, запускают выработку белков теплового шока. Клеточная стенка при этом утолщается, уплотняется. В ней увеличивается содержание не только белков, но и пептидогликана и липидов.

Подавление антибиотиками грамотрицательной микрофлоры, которая является антагонистом дрожжеподобных грибов кандид, приводит к переходу этих малопатогенных микроорганизмов в патогенное состояние. Кроме того, такие антибиотики, как стрептомицин, биомицин, тетрациклин, синтомицин стимулируют развитие этих грибов с поражением слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и легких и возможным развитием сепсиса. Особенно часто подобные инфекции встречаются у новорожденных сельскохозяйственных животных и птиц (индеек, цесарок, кур, гусей, уток).

#### Вопросы для самоконтроля.

1. Что входит в понятие «иммунодефицит» и причины частого появления иммунодефицитов у животных в настоящее время?
2. Как подразделяются иммунодефициты, как их можно заподозрить у животных?
3. Какие иммунодефициты имеются у новорожденных животных и кто или что служит причиной развития у них оппортунистических инфекций?

4. Какие причины развития вторичных иммунодефицитов у взрослых животных?
5. Почему при стрессе происходит активизация условно-патогенной микрофлоры?
6. Почему антибиотические препараты могут приводить к развитию оппортунистических инфекций?

## **ГЛАВА 4. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ КОЖИ И ЕЁ ПРОИЗВОДНЫХ**

Незаразные болезни кожи развиваются у всех видов животных разных возрастов. При этом нарушаются ее функции как барьерного органа. Эти болезни могут быть результатом физического, химического, токсического, механического ее повреждения и проявляться в виде экземы, а также результатом действия на организм комплекса факторов: авитаминоз в сочетании с микроэлементозом, кормовым и медикаментозным токсикозом на фоне сниженной резистентности и наслоения условно-патогенной микрофлоры. При этом развивается экссудативный пиодермит у молодняка.

У поросят подобное заболевание называют из-за внешнего вида пораженных участков «сажей».

Возможно воспалительное поражение более глубоких слоев кожи с развитием дерматита. При поражении волосяных мешочков, сальных желез и окружающей их рыхлой клетчатки развиваются фурункулы, абсцессы, флегмоны.

Из производных кожи оппортунистическими микроорганизмами могут повреждаться вымя с развитием маститов, и конечности с развитием пододерматитов.

Незаразные болезни кожи могут возникать у животных при ее ранении.

### **4.1. Раны**

Раны у животных являются особой проблемой в ветеринарии. Они могут возникать в силу разных причин. Раны могут быть резаными, рубленными, колотыми, ушибленными, разможженными, рваными, кусаными. Животные могут получить рану случайно или преднамеренно, в том числе, при хирургических вмешательствах. Раны могут быть

поверхностными и глубокими с повреждением кровеносных сосудов, подлежащих мышц, костей и внутренних органов.

Содержание большого количества животных на ограниченных площадках, нарушение технологических режимов и ветеринарных правил ведут к их травмированию и образованию кожных ран.

Во всех случаях травмирования животных у них нарушаются обменные процессы и снижается продуктивность.

Травматизм у мелких непродуктивных животных явление очень частое. В 15-25% случаев от общего числа повреждений костей бывают переломы, что требует хирургического вмешательства.

В естественных условиях все раны инфицируются микроорганизмами, имеющимися на коже и в окружающей среде.

Операционная рана, в свою очередь, несмотря на применение современных средств защиты, обсеменяется различной микрофлорой, попадающей из окружающей среды, рук хирурга, шовного материала. Процесс нередко заканчивается нагноением ран.

При наличии спонтанно полученных ран может развиваться сепсис, если количество микроорганизмов достигнет  $10^5$ - $10^6$  микробных клеток в 1 г ткани, а в случае хирургического вмешательства достаточно  $10^4$  микробных клеток/г, поскольку сама операция является серьезным стрессом, который негативно действует на иммунную систему макроорганизма.

Во всех случаях раневого процесса у всех видов животных в раны попадают прежде всего естественные обитатели кожи: различные виды стафилококков, стрептококки, в том числе энтерококки, кишечная палочка, которые в количественном отношении доминируют в ранах. В меньшем количестве в ранах имеется бациллярная и другая микрофлора, в том числе грибы. В послеоперационных ранах преобладает монокультура стафилококков (более 85%) и стрептококков (более 14%).

Проникновению микроорганизмов вглубь кожи способствуют выделения ими токсических веществ, а также состояние макроорганизма: переохлаждение, действие вредных газов и другие причины, снижающие естественную резистентность.

Если травма ведет к значительному разрушению тканей или микроорганизмы заносятся с инородным телом, то развивается гнойная или анаэробная инфекция. Инородное тело и собственные ткани обеспечивают меньший приток полиморфноядерных лейкоцитов, и микроорганизмы успевают размножиться и приспособиться к новой среде. Такую же задержку притока полиморфноядерных лейкоцитов вызывают попавшие в рану условно-патогенные микроорганизмы. Они беспрепятственно размножаются, и при выраженном снижении защитных функций клеток и гуморальных факторов могут попадать в кровь и приводить к развитию сепсиса.

Проникновение микроорганизмов через раны может приводить к образованию абсцессов и флегмон.

*Абсцесс* – это гнойное воспаление с образованием полости, ограниченной соединительнотканной капсулой. *Флегмона* – это разлитое гнойное воспаление.

У животных разного вида абсцессы имеют различное строение. Так, у свиней абсцессы часто развиваются по типу холодных, т.е. они медленно формируются и долго самостоятельно не вскрываются. Имеют тонкую гноеродную оболочку.

Серьезные последствия могут быть при поздних осложнениях кастрационных ран: в виде вагиналита (воспаления общей влагалищной оболочки), фуникулита (воспаление культы семенного канатика), перитонита (воспаления брюшины).

Нагноение в ране вызывают различные виды условно-патогенных микроорганизмов:

- гноеродные кокки (стафилококки и стрептококки);



- грамотрицательные бактерии (семейство энтеробактерий, в том числе кишечная палочка, протеи), а также псевдомонады;
- неспорообразующие анаэробы, чаще всего бактероиды, фузобактерии, пептококки и пептострептококки;
- грибы (дрожжевые – кандиды и плесневые – аспергиллы).

Первыми в ране поселяются гноеродные кокки, которые «подготавливают почву» для размножения в ране грамотрицательных микроорганизмов, более устойчивых к действию защитных сил макроорганизма. Вследствие этого они длительно остаются в ранах, где развивается хронический процесс. Грамотрицательные бактерии (семейства кишечной палочки и псевдомонады) обладают высокой адаптационной способностью к антибиотикотерапии. У симбионтной микрофлоры раны – ассоциации стафилококков, стрептококков, энтеробактерий и псевдомонад происходит усиление патогенного и персистентного (т.е. способности к длительному существованию) потенциалов.

При абсцессах, вызванных оперативным вмешательством основным возбудителем выступает метициллинустойчивый (полирезистентный, т.е. устойчивый ко многим антибиотикам) золотистый стафилококк, при флегмонах – коагулазонегативные стафилококки, энтеробактер.

## **4.2. Маститы**

У молочного крупного и мелкого рогатого скота вымя является наиболее уязвимым органом, на котором легко образуются трещины, раны, нередко ушибы с последующим развитием маститов.

Этиология маститов у животных различна. Они могут возникать при травмах (раны, уколы, ушибы, ссадины, укусы), при охлаждениях, питье холодной воды, наличии грязи в помещениях, а также как следствие эндометрита, гастроэнтерита и кормовых отравлений.

В разных хозяйствах циркулируют свои штаммы возбудителей маститов у животных.

В норме из секрета вымени у здоровых коров в одних хозяйствах выделяют стафилококки следующих видов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* (в 11,2% случаев ) и стрептококки: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* (в общей сложности в 11%). Микробов больше всего бывает в сосковом канале, молочной цистерне и меньше всего в выводных протоках и альвеолах. Часть микробов под влиянием бактерицидных веществ молока ( $\gamma$ - и  $\beta$ -глобулины, лизоцим, лактенины, бактериолизины, антитоксины, агглютинины и других веществ) погибает, сохраняются более стойкие микрококки и стрептококки, которые по своим свойствам близки к молочно-кислым стрептококкам.

У больных субклиническим маститом выделяются те же виды кокковой микрофлоры, но при этом увеличивается в 5,7 раза уровень *S. aureus*, в 2,8 раза - количество *S. epidermidis*, в 4.2 раза- *S. agalactiae*, возрастает количество и других видов стафилококков и стрептококков, появляются пневмококки -*S. pneumoniae*. При клинически выраженном мастите возрастает уровень *S. uberis* и пневмококков.

В других хозяйствах причиной маститов у коров, коз, овец и свиноматок в 80 из 100 случаев являются антибиотикоустойчивые стафилококки и стрептококки.

Нередко этиологическим фактором мастита у крупного рогатого скота служат *E. coli*, устойчивые к ампициллину, стрептомицину, тетрациклину.

Маститы может вызывать какой-либо один из условно-патогенных видов бактерий. Чаще всего встречаются коагулазоотрицательные стафилококки, на втором месте - коагулазоположительные *S. aureus*, затем следует *E. coli*, гемолитический стрептококк, реже *Klebsiella spp.*, на последнем месте по выделяемости находится *S. agalactiae*.

Достаточно редко мастит может быть вызван синегнойной палочкой, бациллами (*Bacillus cereus*), анаэробными бактериями, дрожжевой инфекцией (*Candida*, *Torulopsis*), аспергиллами.

Возникновению мастита способствуют многие санитарно-гигиенические факторы, особенно часто нарушение технологии машинного доения.

### **4.3. Пододерматиты**

Болезни пальцев относят к числу наиболее серьезных ветеринарных проблем в скотоводстве. Это обусловлено их массовостью, а также сложностью, трудоемкостью и большими затратами на лечебно – оздоровительные мероприятия.

В стойловый период хромоту, связанную с болезнью пальцев, регистрируют у 15-30% поголовья крупного рогатого скота. При этом преобладают болезни дистальных отделов конечностей: ушибы подошвы, трещины, обломы зацепной части копытцевого рога, пододерматиты – поражения межпальцевой области и венчика копытца с появлением ран, язв, абсцессов и флегмон. Это способствует высокая влажность в помещении, деформация копытца, а также бесконтрольное применение антибактериальных препаратов. Все это приводит к активизации условно-патогенной микрофлоры с деструкцией роговой капсулы и развитию гнойного пододерматита.

При выпасе мясного скота на некультуренных пастбищах более чем у 27% животных отмечается травмирование пальцев с последующим осложнением флегмоной мягких тканей и развитием панариция.

Болезни конечностей у высокопродуктивных коров стоят на 3-м месте после акушерско-гинекологической патологии и маститов. Нередко развивается пододерматит. Этому способствует стойловое содержание животного, высокая влажность в помещении, антисанитарные условия, снижение естественной резистентности.

При поражении копытцевого рога и возникновении у животных пододерматита большую роль наряду со стафилококками, стрептококками, фузобактериями и другими микроорганизмами играют условно-патогенные микроскопические грибы. Они выделяют ферменты кератиназы, разрушающие кератин, который включает кальций и неорганический фосфор. Содержание этих веществ при патологических состояниях может изменяться. Это влечет за собой разрушение рогового слоя и последующего развития пододерматита, образуются глубокие язвы, проникающие в глубокие слои кожи. При этом у животных развивается гнойно-воспалительный процесс. Продукты жизнедеятельности микроскопических грибов проникают во внутреннюю среду организма, что сопровождается не только местной, но и общей интоксикацией. Чаще всего поражение рога вызывается совместным действием бактерий (чаще всего фузобактерий) и ассоциацией условно-патогенных грибов-кератомицетов: трихофитов, плесневых грибов и дрожжей - кандид.

При идентификации грибов на среде Сабуро обнаруживают низшие грибы – *Mucor spp.*, плесневые грибы – *Penicillium* и *Aspergillus* различных видов, *Trichoderma virida*, *Candida albicans* и ряд других микромицетов.

Мукоровые грибы обладают способностью к быстрому инвазивному росту. Они могут прорасти стенки сосудов, вызывать образование тромбов, разноситься в виде эмболов в другие органы. При закупорке сосудов нарушается процесс кровотока и образуются очаги некроза (омертвения).

Плесневые грибы также могут обладать ферментом кератиназой, разрушающей кератин. Кроме того они в процессе своего роста выделяют метаболиты - микотоксины, опасные для здоровья животного, поражающие прежде всего печень, нередко приводя к развитию рака. Модифицированный в организме афлатоксин, попадает в молоко. Целлюлозоразрушающие грибы (триходермы) также проявляют и кератинолитические свойства.

#### 4.4. Схема исследования гноя, раневого отделяемого, биоптатов

Раневое отделяемое в зависимости от характера кожного поражения берут по-разному.

При наличии *абсцесса вскрытого или раны* удаляют наружный экссудат протиранием стерильным тампоном или стерильной салфеткой, смоченной стерильным физиологическим раствором хлористого натрия. При этом предпочтительно брать кусочки из глубины раны, чем материал на ватном тампоне. Такой материал перед отправкой в лабораторию можно хранить на тампоне в пробирке при комнатной температуре не более 2-х часов.

В случае взятия раневого отделяемого тампоном производят им вращательное движение от центра к периферии. Обычно используют два тампона. Одним делают мазок на стекле с окраской его по Граму, а другим производят непосредственный посев на питательные среды в следующем порядке: вначале засевают штрихом половину чашки с кровяным агаром, затем засевают сахарный бульон, после этого среду для анаэробов.

Отделяемое из раны можно получать с помощью стерильного диска диаметром 0,6 см, изготовленного из фильтровальной бумаги, который накладывают на раневую поверхность на 1 минуту. Установлено, что за это время диск впитает такое количество микроорганизмов, которые содержатся в 1 мл. После этого диск помещают в 1 мл стерильного физиологического раствора и взбалтывают в течение 5 минут. После этого производят посев 0,1 мл на питательную среду.

При *ожоге* поверхность раны очищают стерильным тампоном и берут кусочек ткани из глубины раны размером 3-4 мм, который культивируют в анаэробных условиях. Перед отправкой в лабораторию кусочек помещают в контейнер с инертным газом с завинчивающейся крышкой. Такой материал также можно хранить при комнатной температуре не более 2-х часов перед отправкой в лабораторию.

При наличии *закрытого абсцесса* асептически с помощью шприца аспирируют не менее 1 мл содержимого и переносят его в анаэробное транспортное устройство. Посев его производят на среды для облигатных анаэробов.

При наличии *флегмоны* материал получить сложно. Вначале стерильной салфеткой, смоченной стерильным физиологическим раствором или 70 % этиловым спиртом протирают поверхность. После этого из зоны максимального воспаления пытаются аспирировать патологический материал стерильным шприцем. Если это не удастся, то шприцем вначале вводят небольшое количество стерильного физиологического раствора, а затем аспирируют материал. В этом случае также используют анаэробное транспортное устройство. Материал можно хранить при комнатной температуре не более 15 минут, и в большинстве случаев возбудитель выделить не удастся.

При наличии в ране *дренажа*, патологический материал также получают шприцем в количестве 1-2 мл и помещают в стерильную пробирку.

Жидкие пробы можно транспортировать в шприце, на конец которого надевают стерильный колпачок. Эти пробы засевают на плотную питательную среду петлей. Предпочтительно производить посев по 0,1 мл разведенной до  $10^{-1}$  и неразведенной пробы, растирая материал по поверхности стерильным стеклянным шпателем. В жидкие питательные среды посев производят пастеровской пипеткой.

При взятии биоптата из раны вначале удаляют экссудат, протирают рану стерильным физиологическим раствором и 10% раствором этилового спирта. Затем иссекают участок на всю глубину раны. Размеры такого биоптата составляют не менее 1 см<sup>3</sup>, объем в среднем 0,2-0,8 г. Такой кусочек помещают в транспортное устройство с завинчивающейся крышкой.

В лаборатории биоптат взвешивают, растирают в ступке с физиологическим раствором из расчета 1:10, готовят десятикратные разведения, которые в количестве 0,2 мл засевают на чашки с питательной средой. Для ускоренной оценки микробной контаминации 0,02 мл суспензии помещают на предметное стекло, распределяют в виде капли диаметром 15 мм, 15 минут высушивают в термостате, фиксируют и окрашивают по Граму. Если при микроскопии обнаруживают единичные микробные клетки, то это свидетельствует о том, что уровень микробной контаминации в ране больше критического, т.е. составляет  $10^5$  м.к./г.

Для посева патологического материала при незаразных болезнях кожного покрова используют обязательные среды и среды по показаниям. К обязательным средам относят: агар с кровью, элективный агар для выделения стафилококков (желточно-солевой агар), агар для выделения энтеробактерий и синегнойной палочки (среда Эндо, Левина), при подозрении на присутствие облигатных анаэробов используют агар для бруцелл, агар Шеддлера.

К средам по показаниям относят: транспортные, агар для грибов, шоколадный агар, накопительную питательную среду, диагностические и селективные среды.

Ход исследования при обнаружении конкретных представителей условно-патогенных микроорганизмов представлен в главе 13.

#### **4.5. Схема бактериологического исследования молока на наличие возбудителей мастита**

Для начальной диагностики мастита до исследования молока на наличие микрофлоры ставят пробу на определение соматических клеток с помощью молочно-контрольных пластин (МКП-1 и МПК-2) и пробу с мастидином или димастином.

Из молока после сдаивания первых порций готовят мазок по типу мазка крови, высушивают и фиксируют в смеси Никифорова (эфир для

наркоза и этиловый спирт в равных количествах), окрашивают по Граму или метиленовым синим и просматривают под микроскопом вначале при малом увеличении, затем под иммерсией. Наличие форменных элементов в молоке свидетельствует о воспалительном процессе.

Молоко сеют в количестве 0,1 мл на желточно-солевой агар для обнаружения стафилококков, на среду Эндо для обнаружения бактерий семейства кишечной палочки, 5% кровяной агар для обнаружения стрептококков. При подозрении на мастит, вызванный грибной микрофлорой используют среду Сабуро.

#### **4.6. Схема микробиологического исследования при пододерматите**

Соскобы с копыт при подозрении на поражение условно-патогенными грибами собирают в бумагу и отсылают в лабораторию, где проводят исследование нативного материала после обработки его 10-30% раствором КОН для обнаружения грибной микрофлоры. Предметное стекло с патологическим материалом, на которое нанесен раствор КОН, подогревают до появления паров. После этого наносят каплю 50% раствора глицерина и микроскопируют при малом и большом увеличении. По особенностям репродуктивного мицелия устанавливают род плесневых грибов. Материал можно окрашивать по Граму. Посев производят на среды для выращивания грибов (среда Чапека, Сабуро).

Гнойное отделяемое при подозрении на наличие бактериальной микрофлоры исследуют так же, как отделяемое из ран.

Вопросы для самоконтроля.

1. Перечислите инфекционные болезни кожных покровов и ее производных, вызванные условно-патогенными микроорганизмами?
2. Какие микроорганизмы попадают в кожные раны у животных, и почему происходит хроническое воспаление в ранах?



3. Какие микроорганизмы вызывают у животных маститы?
4. Назовите причины развития у животных пододерматитов.
5. Перечислите микроорганизмы, вызывающие пододерматит и их факторы патогенности.
6. Охарактеризуйте схему исследования гноя, раневого отделяемого и биоптатов при различных поражениях кожного покрова.
7. Какие питательные среды используют для выделения условно-патогенной микрофлоры?
8. Как необходимо проводить исследование молока при маститах для обнаружения условно-патогенной микрофлоры?
9. Как исследуют патологический материал при пододерматитах?
10. Какие микроорганизмы относятся к роду стафилококков и по каким признакам их можно к этому роду отнести?
11. Какие морфологические, культуральные и биохимические признаки имеет золотистый стафилококк?
12. По каким признакам можно отличить золотистый стафилококк от стафилококков других видов?
13. Какие микроорганизмы относятся к стрептококкам группы D?
14. Охарактеризуйте биологические признаки различных видов стрептококков группы D.
15. Какие неспорообразующие облигатные анаэробы могут вызывать поражения кожи и ее производных?
16. Опишите биологические характеристики рода бактероидов.
17. Как можно охарактеризовать микроорганизмы, относящиеся к роду превотелл?
18. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки фузобактерий?
19. Какие способы идентификации неспорообразующих микроорганизмов вы знаете?

20. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки вейлонелл?

## ГЛАВА 5. ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

### 5.1. Защитные барьеры дыхательной системы

Дыхательная система подразделяется на 2 части: проводящую и респираторную. Проводящая начинается полостью носа и заканчивается мельчайшими бронхиолами. Респираторную часть составляют альвеолы, где осуществляется газообмен между кровью и воздухом.

Вдыхаемый воздух, проходя через полости носа и разветвления бронхиального дерева, увлажняется, согревается и теряет большую часть загрязняющих его примесей.

*В проводящей системе* имеется целый ряд защитных механизмов, предохраняющих организм от внедрения микроорганизмов:

- секрет слизистых желез, выделяемый из бокаловидных клеток. Он состоит на 96% из воды, кроме того в его составе есть белок, углеводы, липиды и минеральные вещества. Этот секрет обеспечивает антимикробную защиту за счет лизоцима, железосодержащих белков, гликопротеидов, обволакивает чужеродные агенты;

- мерцательные реснички, биение которых изгоняет слизь наружу;

- лизоцим – бактерицидное вещество;

- клеточные и гуморальные факторы защиты. Лимфоидные клетки происходят из лимфоидных фолликулов субэпителиального слоя слизистой оболочки, которые особенно многочисленны в носовой полости и глотке, т.е. в тех местах, где скапливается основное количество чужеродных частиц. Защиту слизистых оболочек обеспечивают прежде всего IgA, вырабатываемые местно. Лимфоидные фолликулы содержат все иммунокомпетентные клетки: Т- и В- лимфоциты, макрофаги. В-лимфоциты, превращаясь в плазматические клетки, вырабатывают секреторные иммуноглобулины А. Эти иммуноглобулины вызывают

агглютинацию микроорганизмов, препятствуют их связыванию с эпителием, а также нейтрализуют выделяемые ими токсины;

- собственная микрофлора дыхательных путей, которая располагается выше голосовой щели. Ниже голосовой щели воздухоносный и респираторный тракты в норме стерильны.

*В нижних отделах* дыхательных путей защитные барьеры связаны в основном с макрофагами, которые содержатся в стенках альвеол и их просвете. Макрофаги захватывают чужеродные частицы и попадают в бронхи, откуда удаляются при работе слизисто-ресничатого аппарата.

Макрофаги поглощают и перерабатывают антигены. Они синтезируют большие количества различных антимикробных веществ: вырабатывают лизоцим и другие ферменты, действующие разрушающе на бактериальные клетки; интерферон, осуществляющий защиту против вирусов; перекись водорода и другие активные формы кислорода, губительно действующие на бактерии; а также выделяют различные интерлейкины, в том числе ИЛ-1, который обеспечивает приток полиморфноядерных лейкоцитов к месту воспаления.

Макрофаги легких обладают высокой переваривающей способностью. В эксперименте показано, что микроорганизмы, относящиеся к виду *Staphylococcus aureus* способны перевариться до 80% за 1 час.

Если микроорганизмов не слишком много, и они не очень патогенны, то инфекция не развивается. Вместе с тем, не все микроорганизмы захватываются макрофагами, и не все из них могут быть переварены. В этом случае альвеолярные макрофаги, нагруженные антигеном или микроорганизмами, мигрируют в регионарные лимфатические узлы, где осуществляется вторая линия защиты от чужеродных агентов.

На макрофаги могут отрицательно действовать многие факторы окружающей среды, в том числе, газы, составные части дыма. При этом

повреждаются лизосомы, нарушается их слияние с фагосомами, содержащими захваченные микроорганизмы. В конечном итоге, фагоцитоз становится незавершенным. В этом же направлении действуют гормоны коры надпочечников - кортикостероиды, применение которых в лечебных целях, утяжеляет течение острых и хронических бактериальных инфекций дыхательных путей, в частности, стафилококковой природы.

## **5.2. Оппортунистические инфекции дыхательной системы**

Обычная микрофлора дыхательных путей животных достаточно разнообразна и в основном представлена условно-патогенными микроорганизмами. Имеются стафилококки, стрептококки, микрококки, актиномицеты, микоплазмы, плесневые и дрожжевые грибы, вирусы. Естественная резистентность к ним достаточно высокая, но при снижении защитных барьеров на фоне стрессов, при загрязнении воздушной среды аммиаком, пылью, при вдыхании слишком горячего воздуха, при охлаждении, высокой влажности, даче плесневелого корма, введении массивных доз антибиотиков развиваются гнойно – воспалительные процессы. В частности, у лошадей органы дыхания являются индикатором резистентности организма.

У животных могут поражаться все отделы респираторного тракта, с возникновением ринитов, фарингитов, бронхитов, бронхопневмонии, пневмонии.

Поражение дыхательных путей условно-патогенными микроорганизмами может быть и в клиниках для животных при оперативных вмешательствах, даче наркоза, при заражении госпитальными штаммами на фоне сниженной резистентности.

Воспалительные заболевания дыхательных путей преимущественно развиваются у молодняка и старых животных. Наряду с микроорганизмами этиологическим фактором может быть аллергическая перестройка организма. Неспецифические бронхопневмонии широко распространены

среди молодняка всех зон нашей страны и наносят большой экономический ущерб, так как среди заболевших животных (иногда поражено до 30-50%) бывает большой отход. Условно-патогенная микрофлора при заболеваниях дыхательных путей играет первичную роль.

Лечить подобные болезни сложно, особенно поражение легких из-за того, что к основному заболеванию присоединяются поражения других систем органов с развитием гастроэнтеритов, анемий, рахита.

Респираторные инфекции у молодняка животных часто вызывают синегнойные палочки (*P. aeruginosa*). В легких эти микроорганизмы образуют биопленки. Характер и вид биопленок находится в прямой зависимости от степени тяжести инфекционного процесса и исхода процесса.

После проведения реанимационных мероприятий причиной госпитальных пневмоний служат ассоциации *S. aureus* и *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *Klebsiella* spp.

Первостепенным этиологическим фактором «незаразных» пневмоний у собак и кошек, особенно при госпитальных инфекциях является стафилококк (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*.

В качестве этиологического фактора пневмоний у животных могут выступать *Candida albicans*, *Mucor* spp., *Aspergillus fumigatus*. Кроме того, при наличии очагов инфекции в брюшной полости и органах малого таза из пневмонических очагов выделяют неспорообразующие анаэробы (бактероиды и пептококки).

### **5.3. Правила взятия и лабораторного исследования патологического материала из дыхательных путей**

*Отделяемое при инфекциях носа и зева* берут стерильным сухим ватным тампоном, который вводят вглубь полости носа на 1-2 см. Забор материала осуществляют вращательным движением. Материал из

носоглотки берут небольшим стерильным заглочным тампоном из альгината кальция, который вводят глубоко через нос в задний отдел носоглотки и в течение 5 секунд медленно его вращают. Материал из зева или гортани также получают тампоном, но увлажненным стерильным физиологическим раствором. Предварительно прижимают язык шпателем. При подозрении на наличие клебсиелл, независимо от места локализации процесса, исследуют материал из носоглотки и обеих половин носовой полости. При появлении кашля тампон не удаляют до его окончания.

*Отделяемое при инфекциях нижних дыхательных путей* получить сложно. Мокроту можно попытаться собрать при зажатии носа и рта животного на короткое время. Обычно используют бронхиальные смывы при введении в трахею 5-10 мл физиологического раствора, которые затем аспирируют. Наиболее достоверные результаты получают при взятии материала непосредственно из очага инфильтрации или абсцесса с помощью трансторакальной пункции, проводимой под контролем рентгеновского аппарата. Мокроту собирают утром в стерильную посуду и хранят не более 2-х часов в условиях холодильника.

Тампоны с патологическим материалом помещают в стерильные пробирки и доставляют в лабораторию в максимально короткий срок, не позднее 2-х часов хранения при комнатной температуре.

Резецированные ткани получают в ходе хирургических операций на легких. Их помещают в анаэробное транспортное устройство или контейнер с завинчивающейся крышкой. По возможности, берут как можно больше тканей, но минимальный объем составляет 1 см<sup>3</sup>. Материал хранят не более 15 минут при комнатной температуре.

Посев материала из верхних дыхательных путей производят на 5% кровяной агар, на котором можно выделить большинство аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов. Засеянные чашки культивируют в аэробных условиях. Из материала, оставшегося на тампоне, делают мазки на стекле и окрашивают по Граму.

Особенностью материала, полученного при исследовании микрофлоры верхних дыхательных путей, является наличие в нем нескольких видов микроорганизмов. Вследствие этого при оценке результатов исследований надо учитывать качественный и количественный состав естественной микрофлоры и микроорганизмов, не относящихся к их числу, или присутствие большого количества обычных обитателей верхних дыхательных путей.

В мокроте исследуют гнойные комочки, из которых готовят мазки, растирая гнойный комочек между двумя стеклами. Мазки высушивают, фиксируют над пламенем и окрашивают по Граму и Цилю-Нильсену. При обнаружении 10 полиморфноядерных лейкоцитов и более 25 эпителиальных клеток в поле зрения из просмотренных десяти полей зрения, такую мокроту дальнейшему исследованию не подвергают из-за технической погрешности при ее взятии. При отсутствии эпителиальных клеток и наличии большого числа полиморфноядерных лейкоцитов проводят посев мокроты. Из нижних дыхательных путей производят посев на кровяной, шоколадный агар, среду МакКонки. Дополнительно можно использовать желточно-солевой агар, среду Эндо, среду Сабуро, среду для облигатных анаэробов. Посев производят стеклянным шпателем, растирая равномерно комочек по поверхности питательной среды.

Для количественного исследования микроорганизмов к 1 мл мокроты прибавляют 9 мл питательного бульона. Мокроту растирают со стерильным кварцевым песком или гомогенизируют во флаконе со стеклянными бусами 20 минут. Из гомогената мокроты, который принимают за разведение  $10^{-1}$ , готовят ряд серийных разведений до  $10^{-7}$  в питательном бульоне, каждый раз используя новую пипетку. Из «нечетных» разведений ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ) засевают по 0,1 мл на чашки Петри с 5% кровяным агаром и шоколадным агаром, растирая стеклянным шпателем. Посевы рекомендуется инкубировать в эксикаторе со свечой при 37 °С в течение суток. Дополнительно можно использовать среды



Эндо, Сабуро, желточно-солевой агар, на которые производят посевы из разведения  $10^{-1}$ .

После инкубации подсчитывают однотипные колонии, их число умножают на 10, т.к. произведен посев 0,1 мл мокроты, и на степень разведения материала. Этиологически значимое число бактерий-возбудителей заболеваний нижних дыхательных путей составляет  $10^6 - 10^7$  КОЕ/мл. Из подозрительных колоний получают чистую культуру, идентифицируют ее по биохимическим признакам и определяют чувствительность к антибиотикам.

Если имеет место скудный рост колоний (10-25 КОЕ/мл), то это свидетельствует о загрязнении пробы или о носительстве. Рост не менее 50 колоний из 1 мл и выше – об этиологической значимости данного микроорганизма.

Мокроту следует высевать повторно для определения в ней обнаруженных при первом исследовании микроорганизмов, изучения их количества и коррекции проводимой антибактериальной терапии.

Вопросы для самоконтроля.

1. Охарактеризуйте защитные барьеры дыхательной системы животных.
2. Назовите представителей нормальной микрофлоры дыхательных путей у животных.
3. Какие микроорганизмы могут вызывать оппортунистические инфекции респираторного тракта?
4. Как следует получать патологический материал из верхних дыхательных путей?
5. Правила взятия патологического материала из нижних отделов дыхательных путей.
6. Какие особенности изучения мокроты при бактериологическом исследовании?

7. Охарактеризуйте биологические свойства плесневых грибов рода *Aspergillus*.

## **ГЛАВА 6. ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ**

Органы мочеполовой системы имеют одностороннюю связь с внешней средой и поэтому в мочевом пузыре и почках, а также в полости матки самок и репродуктивных органах самцов в норме микробы не обнаруживаются, т.е. они стерильны. Инфекция в эти органы может попасть двумя путями: 1 – восходящим путем из влагалища или уретры; 2- гематогенным путем из крови.

В мочеполовой системе заселены только наружные части. На коже половых органов имеются те же микроорганизмы, что и на коже других областей тела, но с преобладанием бактерий, обитающих в кишечнике.

### **6.1. Защитные барьеры мочевой системы**

Местная защита в нижних отделах мочеиспускательного тракта обусловлена эпителиальным покровом, к которому близко подходят кровеносные и лимфатические сосуды, но содержится мало лимфоидной ткани.

Проникновению инфекции в мочевой пузырь и почки, в норме стерильные, препятствует процесс секреции мочи, которая содержит гормоны, иммуноглобулины сывороточного и местного происхождения, противовоспалительные субстанции (лактоферрин, лизоцим, комплемент), поступающие из крови в процессе ее фильтрации почками. В моче кроме цельных иммуноглобулинов содержатся их антигенсвязывающие фрагменты Fab-фрагменты и комплементсвязывающие Fc-фрагменты.

Экскреция мочи способствует вымывающему действию, удаляя не связанные со слизистой оболочкой микроорганизмы.

Ткани уретры синтезируют секреторные IgA. Интересной особенностью является то, что если инфекцию вызывают условно-патогенные микроорганизмы, например, кишечная палочка, то антитела

класса IgA не вырабатываются или вырабатываются в незначительных количествах. Если заболевание мочевого тракта вызвано истинными патогенами, то секреторные иммуноглобулины А определяются в достаточных количествах.

## **6.2. Защитные барьеры половой системы**

Слизистая оболочка влагалища защищена от инфекции постоянным слущиванием отторгающихся эпителиальных клеток, секретами маточных и шейных желез, наличием в составе этих секретов молочной кислоты. По плотности слизистая оболочка приближается к коже.

Входные ворота половых путей самцов совмещены с мочевым трактом – уретрой. Их защита обусловлена в значительной мере током мочи, которая механически удаляет микробы, попадающие в уретру. Простатическая жидкость способна губительно действовать на ряд оппортунистических микроорганизмов: *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.*

В секрете слизистой оболочки самок и самцов обнаружен лизоцим, лактоферрин, компоненты комплемента. В половых путях самок обнаружены плазматические клетки, продуцирующие в основном IgG, в меньшем количестве – IgA, а в тканях простаты – IgG, IgM и также в меньшем количестве IgA.

## **6.3. Нормальная микрофлора половых органов**

Микрофлора половых органов самцов представлена эпидермальными стрептококками, микрококками, дифтероидами (коринебактериями), микоплазмами, условно - патогенными кислотоустойчивыми микобактериями (*Mycobacterium smegmatis*). В препуциальной полости и свежеполученной сперме быков – производителей нередко обнаруживают *Staphylococcus aureus*, *S. albus*,

*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus tetragenes*, *Corinedacterium* spp., *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, грибы *Aspergillus fumigatus*, *Mucor* spp. и ряд других условно-патогенных микроорганизмов. Причем, в воздухе помещений, где содержатся эти животные, присутствует аналогичная микрофлора.

Микрофлора половых органов самок представлена бактероидами, бифидобактериями, клостридиями, фузобактериями, пептострептококками, спирохетами, вейлонеллами, лактобациллами, коринебактериями - *S. renale* и *S. pilosum*.

Микрофлора влагалища, как и микрофлора в кишечнике, бывает пристеночной (М-флорой) и просветной (П-флорой). Во влагалище и нижней трети цервикального канала самок животных имеется ассоциация нормальной микрофлоры, среди которой доминирующими и среди просветной, и пристеночной микрофлоры являются лактобациллы (синоним лактобактерии, палочки Додерляйна). Число их составляет  $10^7 - 10^9$  КОЕ/мл или 7-9 lg КОЕ/г. Встречаются также стафилококки, стрептококки, энтерококки, энтеробактерии, уровень которых не превышает  $10^3 - 10^5$  КОЕ/мл или 3-5 lg КОЕ/г (виды наполнители). Полость матки в норме стерильна.

Лактобактерии контролируют уровень остальных видов путем:

- образования молочной и других органических кислот, которые поддерживают низкие значения pH;
- продукции пероксида водорода -  $H_2O_2$ , обладающего выраженными бактерицидными свойствами;
- колонизационной резистентности;
- выработки бактерицинов и им подобных веществ (лизоцима, лактацидина, ацидолина, лактацинов);
- неспецифической стимуляции локальной системы неспецифической защиты и местного иммунитета.

В цервикальном и вагинальном секретах содержатся ПЯЛ, количество которых сопоставимо с их числом в периферической крови. ПЯЛ выделяют гранулы, содержащие бактерицидные ферменты (лизоцим, катепсин G, эластазу, миелопероксидазу), антибактериальные катионные белки (дефенсины, VPI-протеины), а также нейтральные сериновые протеазы, кислые гидролазы.

Маркерным ферментом ПЯЛ является миелопероксидаза, которая взаимодействует с  $H_2O_2$ , вырабатываемой лактобактериями, и хлоридами с образованием гипохлоровой кислоты – мощного оксиданта с выраженной бактерицидной активностью.

В первые 2-3 дня после родов в половых путях самок значительно возрастает число условно-патогенных микроорганизмов.

#### **6.4. Оппортунистические инфекции мочеполового тракта**

Этиологическими факторами поражения *мочеполового тракта* у животных чаще всего являются грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы, относящиеся к семейству Enterobacteriaceae: E. coli, Proteus spp, Klebsiella pneumoniae, Morganella spp, Enterobacter spp, Citrobacter spp, и семейству псевдомонад (P. aeruginosa), а также грамположительные палочковидные микроорганизмы Corynebacterium renale и C. pilosum, реже микроорганизмы, относящиеся к грамположительным коккам: стафилококки (золотистый и эпидермальный), неспорообразующие анаэробы (Bacteroides spp.), дрожжеподобные грибы – Candida albicans.

Острые инфекции чаще вызывает один вид микроорганизма, хронические и послеоперационные - ассоциация нескольких видов, в основном, двух. В монокультуре чаще всего встречается синегнойная палочка, на втором месте располагается протей, далее следует кишечная палочка и энтеробактер. При ассоциации микроорганизмов обычно

выделяют синегнойную палочку с эпидермальным или золотистым стафилококком, синегнойную палочку совместно с кишечной палочкой.

Оппортунистические *урологические инфекции* могут протекать в виде поражения уретры (уретрит), мочевого пузыря (цистит), предстательной железы (простатит), поражения почек (гломерулонефрит, пиелонефрит).

Предрасполагающими факторами для развития цистита являются: камни в мочевом пузыре с хронической задержкой мочи, анатомические особенности мочеполовой системы, повреждение мочевого тракта, введение мочевого катетера или длительное лечение антибактериальными препаратами. Без лечения возможна восходящая инфекция, которая заканчивается воспалением почек – пиелонефритом.

При воспалении мочевой системы в моче появляется гной, и имеет место бактериурия – выделение с мочой микроорганизмов. Клинически болезнь проявляется повышением температуры, отказом от еды, болезненным мочеиспусканием, выделением мутной мочи с неприятным запахом, животное прогибает спину. У животных нередко бывает бессимптомное течение, при котором единственным признаком является бактериурия.

У крупного рогатого скота воспаление мочевого пузыря с осложнением мочекаменной болезнью чаще всего бывает у самцов из-за анатомических особенностей (наличие узкой уретры). Воспаление почек у крупного рогатого скота встречается нечасто, в основном в виде осложнений мастита, перитонита, эндометрита, перикардита. Гнойный процесс в почках излечивается редко.

Оппортунистическими агентами гнойно-воспалительного процесса в мочевом тракте крупного рогатого скота и свиней являются *Corynebacterium renale* и *S. pilosum*. Реже они поражают другие виды домашних животных. Эти микроорганизмы встречаются в нижних отделах уrogenитального тракта и могут вызывать циститы и пиелонефриты. Чаще

этиологическим фактором служит *S. renale*. Болезнь в основном проявляется у самок крупного рогатого скота и в некоторых случаях может приводить к смерти животного. Цистит обусловлен наличием у микроорганизма фермента уреазы, которая разлагает мочевины с выделением аммиака. Аммиак вызывает повреждение слизистой оболочки с развитием хронического воспаления мочевого пузыря и осложнением в виде пиелонефрита.

Этот вид микроорганизмов может быть причиной инфекции полового члена у кастрированных баранов и козлов.

У собак и кошек при циститах и эндометритах чаще всего выделяют кишечную палочку. Пиометра (скопление гнойного или гнойно-геморрагического экссудата в полости одного или обоих рогов матки) чаще встречается у собак, нежели у кошек. У самцов может быть воспаление препуция. Кишечная палочка попадает в эти органы из кишечника. У нелеченных животных болезнь может осложняться септициемией. Эндометрит у собак чаще всего является результатом задержки последа или внесения в матку инфекции.

При хронических поражениях половых органов самок из половых путей вытекают гнойные выделения.

Эндометрит у свиней в виде катарального, катарально-гнойного, фибринозного и гангренозного воспаления бывает в послеродовом периоде, после аборта, при травмировании и инфицировании эндометрия диплококками, стафилококками, стрептококками, кишечной палочкой и смешанной микрофлорой. Микрофлора проникает чаще всего восходящим путем из влагалища и шейки матки. Она может попасть со спермой или гематогенным и лимфогенным путями. Следствием хронического эндометрита является бесплодие. У свиней бывает синдром сочетания эндометрита с маститом – синдром метрит-мастит-агалактия, т.е. воспаление долек молочной железы, матки и отсутствие молока. Этиологическим фактором может быть комбинация гормональных



нарушений с бактериальной микрофлорой. Чаще всего среди микроорганизмов выделяют кишечную палочку, энтерококки, стрептококки и другие бактерии.

В ряде хозяйств в 12- 16% случаев при эндометритах от свиней, крупного рогатого скота, овец, коз, спермы животных-производителей, из абортированных плодов, а также в смывах с кормов и животноводческих объектов выделяют *P. aeruginosa* в чистом виде и в ассоциациях с другими условно-патогенными микроорганизмами (кишечной палочкой, стрептококками, золотистым стафилококком, протеем, плесневыми и дрожжеподобными грибами – кандидами). Источниками заражения являются животные – бактерионосители, объекты внешней среды, инфицированные корма.

Аборты у коров с развитием эндометрита могут вызывать специфические и оппортунистические инфекции, источником которых служит сперма быков-производителей, зараженная этими микроорганизмами. Причем, клинические проявления у быков чаще всего отсутствуют.

У лошадей этиологическим фактором вагинитов, эндометритов, которые могут заканчиваться бесплодием, является *Klebsiella pneumoniae*. Микроорганизм может попадать с инфицированной спермой или при хирургических манипуляциях.

Во всех случаях развития эндометрита у самок животных значительно снижается число лактобактерий (до  $10^3$  КОЕ/мл) или они вовсе исчезают.

#### **6.5. Правила взятия и лабораторного исследования мочи**

Для бактериологического исследования собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 10-20 мл, предварительно

обмывая промежность теплой водой с мылом. В случае невозможности получить мочу естественным путем производят чрезкожную пункцию.

Катетеризация применяется в редких случаях для решения вопроса о локализации инфекции. Брать мочу катетером для микробиологических исследований нежелательно, т.к. можно инфицировать ее микрофлорой уретры. Если мочу получают катетером, то используют стерильный катетер, им опорожняют мочевой пузырь, вводят небольшое количество раствора, содержащего антибиотики (неомицин+полимиксин). Через 10 минут берут пробы мочи. Если моча при бактериологическом исследовании будет стерильной, то это свидетельствует в пользу инфицирования мочевого пузыря (цистит). Если микроорганизмы содержатся во всех порциях мочи, то поражены почки.

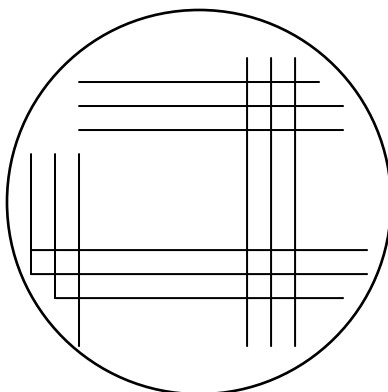
Полученную мочу помещают в стерильную посуду. С момента взятия мочи до начала ее исследования не должно быть более 1-2 часов при хранении при комнатной температуре и не более суток при хранении в условиях холодильника при 4 °С.

В лаборатории вначале готовят из мочи мазки и окрашивают их по Граму. Для этого на предметное стекло наносят каплю мочи (10-50 мкл) с помощью бактериологической петли или пипетки. Высушенный препарат фиксируют над пламенем горелки, окрашивают и, при микроскопии с помощью иммерсии, исследуют в 50 полях зрения. Положительным результатом считают обнаружение в одном поле зрения 2 и более микробных клеток и 1 или более лейкоцитов, которые свидетельствуют о наличии в этих органах воспаления. Если в мазках присутствует слущенный эпителий в большом количестве, то это признак загрязнения мочи посторонней микрофлорой.

Можно готовить мазки из осадка мочи после ее центрифугирования. Для этого 10 мл мочи центрифугируют в течение 5 минут при 3500 об./мин, затем удаляют 9,5 мл надосадочного слоя. Из осадка берут 0,01

мл, готовят мазок, окрашивают и микроскопируют. Диагностически значимым считается обнаружение 9-16 бактерий в 10 полях зрения, т.е. в среднем 2 микроорганизма в одном поле зрения.

Мочу сеют на простой питательный агар методом секторальных посевов с помощью бактериологической петли диаметром 2 мм. Вместимость такой петли 0,005 см<sup>3</sup>. Для этого мысленно делят чашку Петри на 4 сектора. На первом секторе делают 30-40 штрихов, петлю прокалывают и делают на втором секторе 3-4 штриха перпендикулярно штрихам первого сектора с их касанием. Аналогичным образом делают посевы на третьем и четвертом секторах с прожиганием петли (рис.) Чашки инкубируют при 37 °С в течение 18-24 часов, после чего подсчитывают количество колоний на каждом секторе.



**Рис. Схема посева мочи на чашку Петри**

Определение степени бактериурии (количество КОЕ в 2 мл мочи) проводят согласно таблице 1.

Кроме простого мясо-пептонного агара производят посев мочи на кровяной агар с 5% крови и 0,25% сахарный бульон

*Ускоренные методы определения степени бактериурии* (нитритный тест и ТТХ-тест) основаны на определении метаболитов, которые образуются в моче при размножении микроорганизмов. Эти методы менее точные, чем бактериологические, но их можно использовать при

массовом обследовании или для эспресс-диагностики. При положительных результатах этих тестов в дальнейшем мочу исследуют бактериологически.

*Нитритный тест.* Нитриты являются продуктами метаболизма бактерий семейства Enterobacteriaceae. Их можно обнаружить с помощью реактива Грисса. Для этого смешивают по 1 мл реактива Грисса и 1 мл мочи. Появление красного окрашивания свидетельствует о наличии в моче не менее  $10^5$  микробных клеток.

Таблица 1. Учет результатов посева мочи секторным методом

Количество волоний				Количество микроорганизмов в 1 мл
Сектор 1	Сектор 2	Сектор 3	Сектор 4	
1-6	-	-	-	менее 1000
8-20	-	-	-	3000
20-30	-	-	-	5000
30-60	-	-	-	10000
70-80	-	-	-	50000
100-150	5-10	-	-	100000
не сосчит.	20-30	-	-	500000
-“-	40-60	-	-	1 млн.
-“-	100-150	10-20	-	5млн.
-“-	-“-	30-40	-	10 млн.
-“-	-“-	60-80	единичные колонии	100 млн.

*ТТХ-тест.* Под действием микробных метаболитов трифенилтетразолия хлорид превращается из бесцветного растворимого в воде продукта в нерастворимое вещество красного цвета. Чем интенсивнее окраска, тем выше степень бактериурии. Появление на дне пробирки красного осадка свидетельствует о наличии в моче не менее  $10^5$  микробных клеток.

*Оценка результатов бактериологического исследования:*

- обнаружение в моче микроорганизмов в количестве  $10^3$  КОЕ/мл свидетельствует об отсутствии воспалительного процесса в мочевых путях и является результатом микробного загрязнения мочи;

- обнаружение в моче микроорганизмов в количестве  $10^4$  КОЕ/мл расценивается как сомнительный результат, требующий повторение исследований;

- обнаружение в моче микроорганизмов в количестве  $10^5$  и выше означает, что имеет место воспаление.

После выделения чистой культуры доминирующего количественно микроорганизма определяют его чувствительность к антибактериальным препаратам. В процессе лечения проводят микробиологический контроль за степенью бактериурии. Снижение ее означает благоприятное течение болезни и эффективности проводимой терапии.

Бывают случаи, когда степень бактериурии низкая, но в мочевой системе имеется воспалительный процесс. В этом случае следует обращать внимание на вид возбудителя. Если из мочи выделяют грамотрицательную микрофлору (кишечную палочку, протей, клебсиеллу, синегнойную палочку), то это свидетельствует в пользу инфекционного процесса. Если выделяется грамположительная палочковидная микрофлора, то, скорее всего, воспалительного процесса нет.

Одним из современных методов исследования является использование в полевых условиях для выделения микроорганизмов не чашки с питательным агаром, а пластины, на которые наносят питательные среды. Пластины погружают непосредственно в мочу, затем инкубируют в термостате. При наличии бактериурии на этих пластинах вырастают колонии микроорганизмов. Результат оценивают путем визуального сравнения густоты роста со специальной шкалой.

Возможно определять род микроорганизмов при использовании дифференциально-диагностических сред, нанесенных на эти пластины.

## **6.6. Правила взятия и лабораторного исследования выделений из полового тракта самок**

При исследовании гнойно-воспалительных заболеваний половых органов самок производят оценку состояния просветной и пристеночной микрофлоры. Просветную микрофлору вульвы, преддверия влагалища и заднего свода влагалища получают при заборе материала ватным тампоном. Из цервикального канала материал забирают тонким цервикальным тампоном после предварительной обработки шейки матки другим тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. Пристеночную микрофлору получают с помощью цервикальных микрощеток.

Материал для бактериологического и микроскопического исследования берут отдельными тампонами. Из абсцесса материал забирают шприцем.

Собранный материал помещают в пробирки с транспортной средой Эймса с активированным углем. Материал с тампонов и микрощеток суспендируют в редуцированном бульоне Шедлера в соотношении 1:10.

Доставка взятого материала в лабораторию должна быть организована в ближайшие 1-2 часа после взятия. При подозрении на анаэробную инфекцию посев производят сразу же после его взятия на среды, предназначенные для анаэробов.

Для *микроскопического исследования* тампоном сразу после взятия распределяют материал по поверхности чистого предметного стекла, не втирая его в стекло. Мазок высушивают при комнатной температуре, помещают в стерильную чашку Петри и доставляют в лабораторию, где проводят его окраску по Граму, метиленовым синим. При микроскопировании обращают внимание на количество лейкоцитов.

Материал, взятый для *бактериологического исследования*, в лаборатории засевают этим же тампоном штрихами на половину чашки Петри с питательными средами: 5% кровяной агар, среду Эндо, сахарный

бульон. Материал, взятый из абсцесса, засевают по 0,1 мл на поверхность кровяного агара, растирая его стеклянным шпателем, а также в сахарный бульон. Из транспортных сред делают 9 последовательных десятикратных разведений и из каждого разведения высевают по 20 мкл на простые и дифференциально-диагностические среды.

Посевы инкубируют при 37 °С в аэробных условиях, а для культивирования облигатных анаэробов создают анаэробные условия (анаэростат, газогенерирующие пакеты, особые приемы прекращения доступа воздуха). После того, как появятся колонии, их подсчитывают, количественно оценивают соотношение видов. При помутнении сахарного бульона делают мазок на стекле, окрашивают его по Граму. В зависимости от обнаруженных микроорганизмов делают посев на селективные и дифференциально-диагностические среды (кровяной агар, желточно-солевой, среду Эндо и т.д.). Отрицательный результат выдается через 72 часа при отсутствии роста на всех питательных средах.

После подсчета количества выросших колоний определяют их концентрацию в 1 г взятого материала с учетом массы пробы и разведений.

Для ориентировочной оценки количественного соотношения в микробных ассоциациях можно использовать следующие критерии. Если рост на плотной питательной среде отсутствует или выросло на агаре до 10 колоний микроорганизмов определенного вида, то, скорее всего, имело место загрязнение взятого материала посторонней микрофлорой. Если выросло 11-100 и более однотипных колоний, то выросший микроорганизм и является этиологическим фактором заболевания.

При исследовании материала из органов, которые не имеют собственной микрофлоры (содержимое полости матки, околоплодные воды), этиологически значимым является обнаружение практически любых микроорганизмов, особенно в монокультуре.

Для вагинита типично обнаружение факультативных анаэробов (стрептококков и коринебактерий) на фоне снижения количества

лактобацилл, а в пристеночной микрофлоре появляются пептострептококки и пептококки. Кроме того в мазках имеется большое количество лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, явление выраженного фагоцитоза.

При дисбактериозе влагалища резко (более чем на 60%) снижено количество лактобацилл и в просвете, и на слизистой оболочке. В просвете иногда они вовсе не встречаются, но появляются  $\beta$ -гемолитический стрептококк, стафилококки, энтеробактерии, кандиды. Среди пристеночной микрофлоры обнаруживаются те же роды микроорганизмов, что в норме, но в меньшем количестве. Иногда в микрофлоре влагалища встречаются пропионибактерии, бактероиды, клостридии. То есть, для дисбактериоза влагалища характерно незначительное количество лактобацилл, но чаще их полное отсутствие, обильная полиморфная грамотрицательная и грамположительная микрофлора с доминированием факультативно-анаэробной микрофлоры в просвете его или облигатно-анаэробной микрофлоры в пристеночной области. Фагоцитоз при этом является незавершенным.

Для обнаружения в материале *лактобацилл* и их количественного учета проводят его посев на жидкую среду Бликфельда в пробирки или глубинным методом на чашки Петри со средами Рогоза и МРС. Если среда Бликфельда изменяет цвет после внесения в нее материала, то в нее вносят несколько капель стерильной щелочи до восстановления первоначальной окраски. Для создания анаэробных условий при отсутствии анаэрогена на поверхность чашки с посевами наносят второй слой этой же среды, толщиной 5 см<sup>3</sup>. Предварительно среду расплавляют и охлаждают до 45 °С. В пробирки с жидкой питательной средой после посева добавляют стерильный жидкий парафин, чтобы столбик был равен 2 см. Культивирование проводят при 37 °С в течение 3 суток.



На среде Рогоза и МРС колонии лактобацилл бесцветные, диаметром 1-3 мм формой напоминают линзу или звезду. Из выросших колоний готовят мазки и окрашивают по Граму.

Лактобациллы представляют собой короткие или длинные прямые или изогнутые неподвижные грамположительные палочки. Спор не образуют. В мазке располагаются поодиночке или небольшими цепочками. По отношению к кислороду проявляют себя как облигатные или факультативные анаэробы. Требовательны к питательным средам.

Они обладают выраженными сахаролитическими свойствами. Сбраживают сахара до молочной кислоты. Ферменты каталаза и оксидаза отсутствуют. Индол и сероводород не образуют.

#### **6.7. Правила взятия и лабораторного исследования выделений из полового тракта самцов**

Показаниями для исследования являются острые и хронические заболевания уретры, половых органов, бесплодие. Перед взятием материала проводят туалет головки члена изотоническим стерильным физиологическим раствором ватным тампоном, удаляют свободно вытекающие выделения. Материал можно забирать с помощью профламбированной бактериологической петли, стерильной глазной стеклянной палочки или одноразового зонда с ворсистой головкой. Материал помещают в транспортную среду и отправляют в лабораторию. Около животного готовят не менее 2-х мазков на предметных стеклах. Дальнейшие бактериологические исследования патологического материала проводят так же, как и у самок, за исключением исследования материала на присутствие лактобактерий.

Вопросы для самоконтроля.

1. Какие факторы препятствуют проникновению инфекции в мочевого пузыря и почки?

2. Охарактеризуйте защитные барьеры половой сферы самцов и самок.
3. Перечислите нормальную микрофлору гениталий самцов и самок.
4. Какие защитные функции выявлены у лактобактерий, заселяющих в норме влагалище самок?
5. Какие условно-патогенные микроорганизмы вызывают гнойные инфекции мочеполового тракта у животных разных видов?
6. Как берется моча у животных для лабораторного исследования?
7. Назовите скрининговые методы исследования мочи на наличие условно-патогенной микрофлоры.
8. Как следует проводить посев мочи в лабораторных и полевых условиях?
9. Каким критерием следует руководствоваться при постановке диагноза «бактериурия»?
10. Как правильно получить материал для лабораторного исследования выделений из полового тракта самок?
11. На какие питательные среды следует сеять патологический материал самок при подозрении на вагинит и дисбактериоз?
12. Назовите показания для лабораторного исследования патологического материала у самцов и правила забора этого материала.
13. Какими морфологическими, культуральными и биохимическими признаками обладают бактерии рода коринебактерий?
14. Охарактеризуйте биологические свойства микроорганизмов рода псевдомонад.

## **ГЛАВА 7. ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ УШЕЙ И ГЛАЗ**

По обращаемости в клинику для животных на первом месте стоят заболевания ушей, на втором месте – глазные болезни. Однако на фермах при большой скученности сельскохозяйственных животных гораздо чаще регистрируются болезни органов зрения: конъюнктивиты, кератиты, вплоть до перфорации роговицы.

### **7.1. Защитные барьеры органа слуха**

Ухо животного состоит из наружного, среднего и внутреннего. С внешней средой сообщается наружное и среднее ухо. Полость среднего уха отделена барабанной перепонкой от наружного уха и сообщается с внешней средой (носоглоткой) через евстахиеву трубу. Обычно слизистые поверхности евстахиевой трубы соприкасаются друг с другом, просвет открывается только при глотании.

Заносу инфекции в полости органов слуха препятствует наружное ухо, выработка серы.

Жидкость из полости среднего уха стерильна, содержит лизоцим. В субэпителиальном слое слизистой оболочки имеются лимфоциты и плазматические клетки, вырабатывающие иммуноглобулины классов G, A, M.

В норме в наружном ухе и слуховом проходе присутствует микрофлора, представленная сапрофитными или условно-патогенными микроорганизмами – обитателями кожи: эпидермальным, золотистым стафилококком, коринебактериями. Полости среднего и внутреннего уха стерильны.

На эпителии евстахиевой трубы имеются реснички, бокаловидные клетки, которые вырабатывают слизистый секрет. Однако при различных воспалительных заболеваниях в носо- и ротоглотке инфекция довольно

легко может проникнуть в полость среднего уха. Чаще всего воспалительные изменения развиваются в среднем ухе.

Внутреннее ухо не сообщается с внешней средой, поэтому местная защита от инфекций особой роли не играет.

К воспалительным изменениям среднего и внутреннего уха часто приводит проникновение инфекции из внутренней среды организма.

## **7.2. Гнойно-воспалительные инфекции ушей**

При остром воспалительном процессе возбудителями чаще всего является грамположительная кокковая микрофлора: *S. aureus*, *S. epidermidis*, стрептококки, меньшую роль играет грамотрицательная микрофлора - кишечная палочка, бактероиды. Преимущественно высеивается монокультура какого-либо вида микроорганизма.

При хроническом воспалении на первый план выступают грамотрицательные микроорганизмы семейства кишечной палочки - *Enterobacteriaceae*: *Proteus* spp, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, а также актиномицеты и плесневые грибы. В основном обнаруживается ассоциация бактерий.

Наружный отит у сельскохозяйственных животных возникает при механическом повреждении наружного слухового прохода, при заплзании насекомых. После этого может присоединиться инфекция, чаще всего бактериальная (*S. aureus*, *P. aeruginosa*), реже грибная (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Candida albicans*).

Воспаление среднего уха вызывают *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Haemophilus* spp.

У собак и кошек отит могут вызывать дрожжеподобные грибы рода *Malassezia*. Они являются обычными нормальными сапрофитами кожных покровов и слизистых оболочек теплокровных животных, в том числе птиц. Чаще всего заболевание вызывают малассезии вида *M. pachydermatis*. У здоровых собак почти в 30% случаев в слуховом канале

определяются эти грибы, а у больных хроническим отитом – более чем в 88%. Этот род грибов является у собак не только этиологическим фактором отитов, но и поражений других областей тела, обуславливая развитие конъюнктивитов, кожных поражений в виде дерматитов, а также акропоститов, вагинитов.

К малассезионным отитам предрасположены собаки, относящиеся к брахицефалам (бульдоги, чау-чау, шарпей) и породы с висячими ушными раковинами (спаниели, бассеты). В основном болеют собаки старше 6 лет, чаще всего самки. Отиты преимущественно развиваются на фоне аллергии животного на отдельные компоненты корма, при применении гормональных препаратов и антибиотиков, эндокринных болезнях.

Малассезии могут вызывать отиты у кошек, но гораздо реже, чем у собак. Аналогичные поражения развиваются у свиней, лошадей, одногорбых верблюдов, диких животных.

В очагах поражения появляется сильный зуд, заставляющий животных наносить себе самопоражение, расчесы. Вследствие этого присоединяется бактериальная инфекция за счет условно-патогенной микрофлоры.

Отиты у мелких непродуктивных животных могут возникать и при отодектозе, т.е. клещевом поражении ушной раковины. Присутствие клеща вызывает у животного зуд и расчесывание кожи. Очень скоро присоединяется секундарная, т.е. вторичная инфекция бактериальной и грибной этиологии (стафилококки, дрожжевые грибы рода *Candida*, мукор).

### **7.3. Правила взятия патологического материала и лабораторного исследования при оппортунистических инфекциях ушей**

При поражении наружного уха кожу обрабатывают 70% спиртом, затем физиологическим раствором хлористого натрия. Взятие материала осуществляется стерильным ватным тампоном-зондом сухим или

смоченным транспортной средой. Этим же зондом проводится посев на питательную среду.

При поражении среднего и внутреннего уха патологический материал получают пункцией.

Полученный материал засевают на кровяной, шоколадный агар, сахарный бульон и среду для выделения облигатных анаэробов. При подозрении на грибную инфекцию используют среду Сабуро, сусло-агар. Для выделения малассезий предпочтительно использовать среду Барфатини.

Инкубацию посевов на жидких средах, средах для грибов проводят в аэробных условиях при 37 °С. Кровяной агар помещают в атмосферу с 5% углекислого газа. При отсутствии роста посевы выдерживают до 7 суток.

При появлении роста на плотных питательных средах проводят его качественную и количественную оценку. С жидких сред делают мазки с последующей окраской по Граму. Делают пересев на кровяной агар, молочно-солевой агар, среду Эндо. После определения видовой принадлежности возбудителя болезни по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам определяют его чувствительность к антибактериальным средствам.

#### **7.4. Защитные барьеры органа зрения**

Глаз животного с внешней средой сообщается своей наружной оболочкой – склерой. Передняя часть ее - роговица пропускает свет внутрь глаза. Склера покрыта прозрачной слизистой оболочкой, которая переходит и на внутреннюю оболочку века, называемой конъюнктивой. Роговица легко подвергается различным травмам.

Механической защитой глазного яблока являются веки. Мигание предотвращает сухость наружных поверхностей глаза, увлажняет их. Конъюнктивa содержит большое количество бокаловидных клеток, выделяющих слизистых секрет.

Склеру и роговицу постоянно омывает слезная жидкость, которая имеет слегка щелочную реакцию и содержит факторы неспецифической защиты. Слеза представляет собой прозрачную жидкость, в основном состоящую из воды (97,8%). Сухое вещество содержит белок, мочевины, сахар, ионы натрия, калия, хлора, сиаловую кислоту, аминокислоты, глюкозу, лактат, пируват. Защитные функции в норме реализуются лизоцимом, иммуноглобулинами различных классов, а также комплементом. При воспалении добавляются белки, пропотевающие через стенку сосудов из сыворотки крови: трансферрин, интерферон, гаптоглобин, С-реактивный белок, появляются продукты перекисных реакций.

В собственном слое конъюнктивы содержатся лимфоциты и лимфоидные фолликулы, плазматические клетки которых вырабатывают иммуноглобулины. В секретах глаз обнаруживают IgA и T- лимфоциты.

Благодаря этим защитным механизмам наружная часть глаза содержит немногочисленные микроорганизмы: стафилококки, стрептококки, микрококки, сарцины, микоплазмы, актиномицеты, дрожжи, плесневые грибы, моракселлы.

### **7.5. Гнойно-воспалительные инфекции глаз**

Гнойно-воспалительные инфекции глаз чаще всего локализуются на конъюнктиве, слизистой оболочке век, слезном мешке, реже роговице с развитием кератита (воспаления роговицы) и распространением процесса на глазное яблоко при ее перфорации. Поражение глаз может быть при сепсисе в случае проникновения микроорганизмов гематогенным путем.

У сельскохозяйственных животных воспаление век, как правило, бывает при ранениях, а инфекционный кератоконъюнктивит встречается в летние и осенние месяцы преимущественно у молодняка. Нередко predisposing факторами конъюнктивита до присоединения условно-патогенной бактериальной микрофлоры бывают травмы, инвазии,

авитаминозы, химические раздражители (аммиак), ультрафиолетовое излучение, пыль, вакцинация.

Причиной конъюнктивита более чем в 70% случаев является *S. aureus*. Данный вид микроорганизмов чаще всего обнаруживают при остром процессе, а *S. epidermidis* – при хроническом поражении. Другими видами возбудителей конъюнктивитов и кератитов являются обычные обитатели слизистой оболочки глаза: *Moraxella bovis* у крупного рогатого скота и *M. ovis* у мелкого рогатого скота, а также стрептококки, дрожжи (кандиды), плесневые грибы. Этиологическим фактором заболеваний глаз могут быть микроорганизмы, попадающие из окружающей среды: протей, синегнойная палочка, *Bacillus cereus*.

Болезнь, вызванная *Moraxella bovis*, протекает без выраженных клинических признаков, но может быть поражено до 80% всего стада. При этом пораженный скот теряет зрение. Наиболее подвержен заболеванию молодняк до 2 лет. Моракселлы вырабатывают токсин, который вызывает изъязвление.

#### **7.6. Правила взятия патологического материала и лабораторного исследования при оппортунистических инфекциях глаз**

Материал забирают в разгар воспалительного процесса с соблюдением всех правил асептики. Взятие патологического материала для микробиологического исследования проводят до начала местного применения антибиотиков и других медикаментов. Если лечение было начато, то его прекращают за 5-6 часов до исследования. При этом сразу производят посев на питательные среды. Это особенно важно при наличии моракселл, которые очень неустойчивы во внешней среде.

При наличии гнойного отделяемого используют стерильные ватные тампоны, которыми вращательными движениями забирают гной с внутренней поверхности нижнего века по направлению к внутреннему углу глазной щели. Необходимо следить, чтобы ресницы при моргании не



касались тампона. Для этого надо придерживать веки руками. Для каждого глаза используют свой стерильный тампон. Можно получать материал стерильной стеклянной глазной палочкой.

При отсутствии видимого гноя следует пользоваться тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором.

Секрет из слезного мешка берут стерильным ватным тампоном после осторожного его массажа.

Материал с роговицы берут платиновой петлей после местного обезболивания 0,5% раствором дикаина.

Параллельно со сбором материала для посева на питательные среды делают мазки на предметных стеклах для первичной микроскопии.

При скудном отделяемом используют только жидкие среды (среды накопления) – сахарный бульон и среда для анаэробов. При обильном отделяемом необходимо производить посев на кровяной, шоколадный, сывороточный агары.

При выявлении в первичных мазках толстых, коротких грамтрицательных диплобацилл, которые скорее всего могут оказаться моракселлами, особенно в случаях хронического или катарального конъюнктивита, наиболее выраженного в наружных углах глаза, следует использовать среду Леффлера для выделения этих возбудителей .

Питательные среды после посева на них отделяемого глаз инкубируют при 37 °С в течение 24-48 часов. При появлении роста делают мазки, окрашивают их по Граму и производят пересев с жидких питательных сред на плотные: кровяной агар, среду Эндо, молочно-солевой агар, агар Сабуро или другие среды, в зависимости от обнаруженных микроорганизмов при исследовании мазка. В дальнейшем поступают так же, как при выделении условно-патогенной микрофлоры из ушей.

### Вопросы для самоконтроля.

1. Назовите защитные барьеры, предохраняющие органы слуха животных от внедрения инфекции.
2. Какие микроорганизмы вызывают оппортунистические инфекции при остром воспалительном процессе в органе слуха?
3. Какие микроорганизмы вызывают хроническое воспаление ушей?
4. Охарактеризуйте дрожжевую инфекцию, которая развивается у мелких непродуктивных животных при клещевом поражении органов слуха.
5. Какие имеются правила взятия патологического материала из ушей и его лабораторного исследования?
6. Назовите защитные барьеры, предохраняющие орган зрения животных от внедрения инфекции.
7. Какие микроорганизмы чаще всего вызывают гнойно-воспалительные инфекции глаз?
8. Как правильно следует собирать патологический материал и его исследовать при оппортунистических инфекциях глаз?
9. Охарактеризуйте морфологические, культуральные и биохимические свойства грамтрицательных кокковидных бактерий рода моракселл и их отличия от других похожих на них бактерий (бранхамелл и ацинетобактера).

## **ГЛАВА 8. НЕКОНТАГИОЗНЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА**

### **8.1. Защитные барьеры слизистой оболочки пищеварительной системы**

Механическая защита пищеварительной системы осуществляется перистальтикой кишечника и наличием эпителиальной выстилки.

Эпителиальные клетки выделяют белковый секрет с примесью полисахаридов и гликопротеидов. Бокаловидные клетки, входящие в состав эпителиального пласта, вырабатывают мукопротеиды. Эти секреты защищают покровный эпителий от самопереваривания и действия чужеродных антигенов

Слюна обладает бактерицидными свойствами, которые обусловлены веществами, входящими в ее состав: муцинами, агглютининами, лактоферрином, цистатином, лизоцимом, лактопероксидазой, катионными пептидами (дефенсинами, гестатином, кателицидином), а также активными компонентами системы комплемента.

В просвете желудка животных разных видов находятся неорганические или органические (у жвачных животных) кислоты, неблагоприятно действующие на патогенные микроорганизмы. У кролика и человека желудочный сок содержит неорганическую свободную и связанную соляную кислоту, которая обладает бактерицидными свойствами. В желудочном соке защитную роль выполняют продукты распада лейкоцитов и желудочная слизь.

В тонком кишечнике эпителий выделяет секрет с высокой бактерицидной активностью. Формой защиты кишечника является также быстрое обновление кишечного эпителия, а также различные ферменты: фосфатаза, пептидаза, липаза, уреаза, амилаза и другие.

В толстой кишке находится большое количество бокаловидных клеток, вырабатывающих слизистый секрет. Размножение вирулентных

микроорганизмов подавляют жирные кислоты, которые выделяются представителями нормальной микрофлоры кишечника – бутировая и пропионовая кислоты.

Лимфоидная ткань кишечника представлена компактными лимфоидными образованиями: солитарными фолликулами, пейеровыми бляшками, аппендиксом, круглым мешочком у кроликов, сумкой Фабрициуса у птиц, диффузно рассеянными в слизистой оболочке плазматическими клетками и Т-лимфоцитами, а также многочисленными лимфоцитами, которые пронизывают эпителиальный пласт – телиолимфоцитами. Эти лимфоциты обладают цитотоксичностью, т.е. способны убивать микроорганизмы.

В пищеварительном тракте млекопитающих содержится около 2/3 всей лимфоидной ткани организма. В тонкой кишке в 3 раза больше лимфоцитов, чем в крови.

Продукцию IgA осуществляют плазматические клетки, рассеянные в слизистой оболочке кишечника. На 1 мм<sup>2</sup> слизистой оболочки кишечника приходится 578 клеток, которые вырабатывают антитела этого класса.

Их уровень существенно выше уровня иммуноглобулинов иной специфичности – IgM и особенно IgG, которые также вырабатываются местно. С возрастом число клеток, синтезирующих IgA, увеличивается.

При некоторых воспалительных заболеваниях кишечника увеличиваются уровни плазматических клеток, вырабатывающих не только IgA, но и IgM, IgG и IgE.

Неспецифическая защита желудочно-кишечного тракта обусловлена комплементом, интерфероном, лизоцимом, которые вырабатываются прежде всего макрофагами.

## **8.2. Микрофлора пищеварительного тракта животных**

В полости рта сельскохозяйственных животных содержится более 100 различных видов микроорганизмов: диплококки, стафилококки,

сарцины, микрококки, дифтероиды, целлюлозоразрушающие бактерии, спирохеты, грибы. Разнообразие зависит от вида животного и типа кормов.

В желудке у свиней содержатся молочнокислые бактерии, различные кокки, сбраживающие углеводы, актиномицеты, дрожжи, клостридии перфрингенс.

Особенно многочисленна и разнообразна микрофлора желудка у жвачных животных, у которых отсутствуют собственные ферменты и роль по перевариванию клетчатки берут на себя микроорганизмы - симбионты.

Микробиота рубца жвачных животных также может рассматриваться в качестве защитного барьера на пути проникновения патогенных бактерий. Это связано с тем, что там обитает более 200 видов различных микроорганизмов, количество которых составляет  $10^{10}$  КОЕ/мл. Эти микроорганизмы не только участвуют в процессе пищеварения, но и являются продуцентами различных летучих жирных кислот, таких как уксусная, пропионовая, бутировая, муравьиная, янтарная и др., а также метана и этанола, ацетона, аммиака и других газов, которые обладают бактерицидным эффектом. Всасываясь в кровь эти кислоты поставляют организму необходимые метаболиты.

Под влиянием микрофлоры рубца синтезируются различные витамины.

Вся симбионтная микробиота рубца этих животных является анаэробной. В ее состав входят бактерии, грибы, простейшие, бактериофаги.

Наиболее важной группой являются бактерии, относящиеся к целлюлозоразрушающим: *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavofasciens*, *Bacteroides succinogenes*, *Butirovibrio fibrisolvens*. Однако этих бактерий в рубце немного (от 1 до 5% всех микроорганизмов).

Значительная часть микроорганизмов не обладает целлюлозоразрушающей активностью. Они утилизируют глюкозу и целлобиозу, выделяющуюся из целлюлозы. Многие бактерии

переваривают крахмал, пектин, липиды и другие органические вещества.

В рубце находятся метанобактерии *Methanobacterium ruminantium* и *Veillonella alcalescens*, которые превращают водород и углекислый газ в метан.

Микрофлора в рубце локализуется как в рубцовой жидкости, адгезируя на частицах корма, так и на слизистой оболочке. С рубцовой жидкостью и с кормом она поступает в кишечник, а микроорганизмы слизистой оболочки обитают на ней постоянно, вплоть до момента отмирания и десквамации (слущивания) эпителия, т.е. эта микрофлора образует в рубце биопленку.

Роль мукозальной микрофлоры, т.е. микрофлоры, обитающей на слизистой оболочке, до конца не выяснена. Полагают, что она регулирует отношение между анаэробной средой рубца и хорошо снабжаемой кислородом стенкой преджелудков. Микробы, входящие в биопленку, обладают высокой протеолитической и уреазной активностями, обеспечивают транспорт мочевины, соединений серы и летучих жирных кислот через слизистую оболочку, а также способствуют ее регенерации. Цитокины, вырабатываемые клетками макроорганизма под влиянием микрофлоры, обеспечивают гомеостаз.

В тонком кишечнике микрофлора у всех видов животных малочисленна и представлена в основном энтерококками и стафилококками. Поступление и размножение микроорганизмов в тонком кишечнике подавляют ферменты, желчные кислоты, моторика кишечника, лизоцим, секреторные иммуноглобулины А, цитокины.

У взрослых животных нормальная микрофлора кишечника включает различные виды грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Основная их масса имеется в дистальном отделе тонкого кишечника и более всего – в толстом кишечнике (около 2,5 тысяч видов), а у грызунов – в слепой кишке. Большинство из имеющихся видов

микроорганизмов не удается культивировать на искусственных питательных средах.

Состав нормальной микрофлоры кишечника зависит от многих факторов. В частности, от возраста, питания, условий содержания.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта новорожденного связана с микробиологическим статусом матери. На людях установлено, что у каждой второй кормящей матери с хроническими гнойными заболеваниями различной локализации (фурункулез, гайморит, заболевания мочеполовой системы) и хроническими болезнями органов пищеварения был дефицит нормальной микрофлоры, у 76% выявлен дисбиоз, в 50% случаев была бессимптомная бактериолактация (наличие бактерий в молоке без клинических признаков мастита). В молоке присутствовали эпидермальный и золотистый стафилококк. Если у матери было снижено количество бифидобактерий в кишечнике, то и у ребенка отмечался их дефицит. В 30% случаев мать и ребенок были инфицированы одними и теми же условно-патогенными бактериями с преобладанием антибиотикоустойчивого золотистого стафилококка.

У новорожденных животных при рождении желудочно-кишечный тракт вначале заселяется микроорганизмами, попадающими из родового канала матери, затем – из молока или его заменителя. При естественном вскармливании молоком в кишечнике вначале появляются бифидобактерии, энтеробактерии (энтерококки, кишечная палочка, клебсиелла) и коагулазонегативные стафилококки (*S. aureus*). К концу периода новорожденности доминирующими становятся лактобациллы.

В кишечнике здоровых поросят-сосунков в возрасте 2-150 дней имеются преимущественно молочнокислые бактерии, в небольших концентрациях кишечные палочки, энтерококки, в очень низких концентрациях клостридии перфрингенс, протей, дрожжеподобные грибы. Эти грибы становятся многочисленными в толстом кишечнике. В возрасте 11-12 месяцев из тонкого и толстого кишечника выделяется фекальный

стрептококк, кишечная палочка, из ободочной кишки - клостридии перфрингенс. Выделенная микрофлора не патогенна как для поросят, так и для лабораторных животных.

Преобладание микроорганизмов в толстом кишечнике обусловлено тем, что низшие жирные кислоты (уксусная, пропионовая, масляная), которые образуются при разрушении пищевых волокон ферментами кишечных бактерий, служат источником энергии для эпителиальных клеток толстого кишечника. Т.е. в толстом кишечнике всех животных имеет место микробное пищеварение, которое типично для жвачных в их рубце. В тонком же кишечнике имеет место классическое пищеварение за счет собственных ферментов макроорганизма. Низшие жирные кислоты в толстом кишечнике стимулируют транспорт воды, ионов натрия и синтез секреторного компонента иммуноглобулина А. Эти кислоты используются не только для энергообеспечения колоноцитов, но они всасываются в кровь и служат дополнительными источниками энергии для всех органов и тканей.

Кроме этого, нормальная микрофлора кишечника является антагонистом патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, поддерживает рН в кишечнике около 5,5, выделяет водород, который превращается в перекись – сильный окислитель, ферментирует углеводы и молочную кислоту, выделяет органические кислоты. Нормальная микрофлора активизирует системный и местный гуморальный и клеточный иммунитет.

Микрофлора кишечника и фекалий у животных и людей во многом сходная, хотя есть и определенные отличия. Так, у человека, обезьян и морских свинок в испражнениях преобладают бифидобактерии, а у кур, свиней, собак, крыс, хомяков – лактобактерии. У кроликов бифидобактерии выявляются эпизодически, а лактобактерии не определяются.



Различия в микрофлоре связаны с тем, что у животных желудочно-кишечный тракт короче, чем у человека, перистальтика более выражена, кислотность у большинства животных (исключение кролики) в желудке низкая. У взрослых здоровых животных лактобациллы преобладают в верхних отделах кишечника, бифидобактерии в основном обитают в верхней части толстого и слепой кишке. Имеющиеся у животных непатогенные стрептококки облегчают колонизацию кишечника животных лактобактериями и бифидобактериями. Вместе с тем у всех видов животных и человека лактобактерии и бифидобактерии выполняют одинаковые функции, поэтому их называют эубиотиками.

В кишечнике различных видов животных и человека основная масса микроорганизмов приходится на неспороносные облигатные и факультативные анаэробы.

В количественном отношении нормальная микрофлора кишечника подразделяется на 3 группы: главную, сопутствующую и остаточную. К главной относят бифидобактерии и бактероиды, на долю которых приходится около 90% всех микроорганизмов. К сопутствующей (около 10%) принадлежат лактобактерии, эшерихии, энтерококки, к остаточной (менее 1%) - клебсиеллы, цитробактерии, протеи, дрожжи, клостридии, стафилококки, аэробные бациллы.

В функциональном отношении в нормальной микрофлоре выделяют 4 группы:

1. Облигатные микроорганизмы, играющие важную роль в активации метаболических процессов хозяина и защищающих его от инфекции;
2. Микроорганизмы, часто встречающиеся в здоровом организме. Обычно их относят к условно-патогенным.
3. Случайно обнаруженные микроорганизмы, не способные к длительному пребыванию в макроорганизме;
4. Возбудители инфекционных заболеваний.

Микроорганизмы локализуются в пристеночной зоне кишечника и в его просвете. Если они тесно ассоциированы со слизистой оболочкой, то их называют мукозной микрофлорой (М-микрофлора). Если они обитают в просвете кишечника – то полостной (П-микрофлора). М-микрофлора обеспечивает основные функции кишечного микробиоценоза по отношению к макроорганизму. П-микрофлора обеспечивает оптимальные условия для выполнения М-микрофлорой этих функций и также принимает участие в защите макроорганизма. В норме между М-микрофлорой и П-микрофлорой нет антагонизма.

В проксимальном отделе кишечника М-микрофлора представлена преимущественно грамположительными микроорганизмами, в дистальном встречаются и грамположительные, и грамотрицательные. По отношению к внешним воздействиям М-микрофлора более стабильно, чем П-микрофлора. На крысах было установлено, что кормление в течение 1-3 недель сухим пшеничным хлебом и водой, приводило к нарушению состава в основном П-микрофлоры, а в М-микрофлоре снижался удельный вес часто встречающихся микроорганизмов.

Грамположительные бактерии являются слабыми иммуногенами, а грамотрицательные – сильными, что было установлено на гнотобиотических животных, у которых подселение в кишечник грамотрицательных микроорганизмов приводило к увеличению плазматических клеток в слизистой оболочке в 7-15 раз.

### **8.3. Отдельные представители нормальной микрофлоры кишечного тракта млекопитающих**

#### *Бактероиды*

Микробы семейства Bacteroidaceae заселяют пищеварительный тракт всех теплокровных животных и входят в состав нормальной микрофлоры. Их относят к условно-патогенным микроорганизмам. В слепой и тонкой кишках их число в сотни раз превосходит по массе кишечную палочку,

составляя  $10^8 - 10^{10}$  микробных тел в 1г фекалий. Они обитают как в просвете кишечника (П-микрофлора), так и на слизистой оболочке (М-микрофлора). По отношению к кислороду они являются облигатными анаэробами.

Бактероиды участвуют в пищеварении, липидном обмене, расщепляют желчные кислоты и жиры. В условиях кислой среды они проявляют антагонизм к некоторым представителям семейства *Enterodacteriaceae* (сальмонеллам, шигеллам, некоторым штаммам кишечной палочки).

При заражении экспериментальных животных бактероидами в монокультуре патологический процесс воспроизводится с большим трудом. Для этого необходимо ввести до нескольких млрд. микробных клеток. Однако при заражении бактероидами совместно с другими условно-патогенными микроорганизмами для воспроизводства патологического процесса в различных органах и тканях требуется их незначительное количество. Для всех гнойно-септических заболеваний, которые вызывают бактероиды (перитонит, пневмонии, абсцессы легкого, мозга, отогенного менингита и др.), характерен некроз тканей. Бактероидные инфекции обычно рассматриваются как эндогенные, возникающие при снижении общей и местной резистентности. В норме к бактероидам, находящимся в кишечнике, антитела в крови не обнаруживаются. Они появляются только при инфекционном процессе.

Морфологические признаки бактероидов переменны: они могут быть прямыми или изогнутыми, длинными или короткими палочками, кокковидными и веретенообразными в зависимости от принадлежности к разным видам. Среди них бывают подвижные и неподвижные виды. Спор и капсул не образуют. По Граму окрашиваются отрицательно, часто при окраске метиленовой синью имеют биполярное окрашивание. В мазке располагаются одиночно или попарно. Растут длительно в анаэробной атмосфере в присутствии 10%  $\text{CO}_2$  при 37 °С на сложных средах,

содержащих кровь, яичный белок, тканевые экстракты. Колонии мелкие неправильной формы. Разлагают многие углеводы: глюкозу, сахарозу, мальтозу, фруктозу и другие, а также пептоны с образование смеси различных кислот (янтарной, уксусной, муравьиной, молочной, пропионовой). Индол, сероводород, каталазу, оксидазу, липазу, лецитиназу не образуют, желатин не гидролизуют. При посеве на кровяной агар гемолиза не дают. Чаще всего обнаруживаются бактероиды вида *Bacteroides fragilis*.

При подкожном введении лабораторным животным вызывают абсцессы. У человека и животных могут приводить к возникновению абсцессов во внутренних органах при проникновении через стенку кишечника, т.е. инфекции чаще всего бывают эндогенного характера при снижении общей и местной резистентности макроорганизма. Может развиваться перитонит, аппендицит, абсцессы таза, головного мозга и печени, поражение легких в виде некротической пневмонии, септический аборт. Для всех этих заболеваний характерен некроз тканей. Входными воротами для экзогенной инфекции могут быть ротовая полость, кожа, полость ушей.

#### *Бифидобактерии.*

Род бифидобактерий насчитывает 32 вида. Бифидобактерии встречаются в норме в количестве  $10^8 - 10^{10}$  микробных клеток в 1 г фекалий. Они представляют собой полиморфные аспорогенные грампозитивные анаэробные бактерии, относящиеся к порядку Actinomycetales. Род бифидобактерий насчитывает 32 вида, и в настоящее время его не относят к молочнокислым бактериям. Видовой состав у новорожденных и взрослых особей различен. Бифидобактерии, выделенные от животных, отличаются от выделенных от людей по температурному оптимуму и по способности утилизировать различные углеводы.

Для бифидобактерий характерна раздвоенная Y-образная форма, булабовидная, лопатовидная без гиф, могут иметь форму, похожую на латинские буквы X и V. Размеры бифидобактерий 0.2-0,7x 2-8 мкм. Растут в анаэробных условиях при 36-38 °С. На плотных питательных средах образуют гладкие колонии. Вызывают брожение глюкозы, галактозы, фруктозы с выделением молочной и уксусной кислот. Каталазу и индол не образуют.

Бифидобактерии обнаруживаются в небольшом количестве в проксимальном отделе тонкого кишечника, значительно увеличиваются в его дистальном отделе и особенно в толстом кишечнике. Они могут входить в состав М-микрофлоры и П-микрофлоры.

На макроорганизм бифидобактерии оказывают только положительное влияние. Прежде всего, они вырабатывают различные виды органических кислот (молочную, уксусную, муравьиную, янтарную), которые снижают рН до 4,0-3,8. Это приводит к торможению роста различных патогенных и гнилостных микроорганизмов. Бифидобактерии синтезируют также аминокислоты, белки, целый ряд витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, К, никотиновую, фолиевую, пантотеновую кислоты, цианкобаламин и т.д.), которые используются макроорганизмом.

#### *Лактобациллы.*

Лактобациллы (лактобактерии, молочнокислые бактерии) относятся к роду *Lactobacillus*. Род лактобактерий насчитывает 60 видов. Их содержание в 1г фекалий составляет в норме  $10^6 - 10^7$  микробных клеток. По морфологии это прямые или изогнутые палочковидные, не образующие спор и капсул бактерии, неподвижные, факультативно-анаэробные. По Граму окрашиваются положительно. Иногда они могут принимать форму коккобактерий. В мазке располагаются поодиночке или цепочками. Оптимальная температура роста 30-40 °С, рН 5,5-5,8. При своем росте нуждаются в большом количестве факторов роста, содержащихся в молоке. Активно ферментируют углеводы с образованием молочной

кислоты. На питательных средах они могут образовывать колонии в S- и R-формах. В защите организма от патогенов наиболее значимы R-формы.

Кроме тела животного и человека, где они обитают в кишечнике, полости рта, влагалище, лактобактерии встречаются в продуктах животного и растительного происхождения, молочных продуктах, соке, вине, пиве, заквасках, маринадах. Лактобациллы непатогенны.

В кишечнике они имеются во всех отделах, входят в состав M- и П-микрофлоры. Эти микроорганизмы оказывают многостороннее модулирующее действие на местный и системный иммунитет. Особенно большую роль играют лактобациллы M-микрофлоры. Они вырабатывают ацидофилин, молочную кислоту, антибиотические вещества, индуцируют выработку интерферонов клетками макроорганизма (NK, В-клетками, клетками моноцитарно-макрофагального ряда). Интерферон усиливает фагоцитарную функцию клеток, способствует внутриклеточному разрушению патогенных микроорганизмов. Кроме того лактобациллы усиливают цитотоксическую активность Т-лимфоцитов, стимулируют Т-клетки к выработке фактора, тормозящего миграцию макрофагов. При этом данные клетки остаются в очаге воспаления, что необходимо для разрушения и удаления патогенов. Лактобациллы связывают мутагены, тем самым оказывают противоопухолевое действие.

Кроме лактобацилл к молочнокислым бактериям, которые включают 11 родов, относят также другие роды бактерий, обитающих в желудочно-кишечном тракте теплокровных животных: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*. Эти бактерии способны вырабатывать антимикробные вещества – бактериоцины, которые представляют собой белки или пептиды, содержащие модифицированные аминокислоты. Бактериоцины нетоксичны для организма хозяина и стабильны по своим свойствам. Подобно антибиотикам они образуют в стенках бактерий поры, нарушают формирование клеточной стенки,

подавляют синтез нуклеиновых кислот. Бактерицины синтезируются на рибосомах и не имеют перекрестной резистентности с антибиотиками. Наиболее изучены бактериоцины, названные лантибиотиками. Они вырабатываются молочнокислыми микроорганизмами и содержат модифицированные аминокислоты: лантионин,  $\beta$ -метиллантионин, ненасыщенные аминокислоты. Бактериоцины выделяются не только в макроорганизме, но и накапливаются при культивировании молочнокислых микроорганизмов.

Бактериоцины считаются по механизму действия аналогичными противомикробным пептидам, которые вырабатываются в фагоцитах (полиморфноядерных лейкоцитах, моноцитах, макрофагах), а также эпителии пищеварительного, респираторного, мочеполового трактов. К этим пептидам относят дефенсины (наиболее изученные вещества), кателицеферины, цекропины и другие. Эти вещества заряжены положительно, т.е. являются катионами, поэтому они обладают тропностью к отрицательно заряженным поверхностям микробных клеток, при взаимодействии с которыми их деполаризуют, нарушают целостность и образуют в клеточной стенке поры. Фагоцитоз микробных клеток при этом облегчается, так как снижается отрицательный заряд поверхности бактериальной клетки.

#### *Микробы семейства энтеробактерий (Enterobacteriaceae)*

Энтеробактерии обильно заселяют желудочно-кишечный тракт животных, могут быть сапрофитами, условно-патогенными и патогенными. Свободно живущие сапрофиты широко представлены в природе, но попадая в организм животных, могут вызывать при определенных условиях оппортунистические инфекции.

Энтеробактерии (кишечные бактерии) представляют собой палочковидные микроорганизмы, грамотрицательные, не образующие споры, которые могут быть подвижными и неподвижными, могут образовывать или не образовывать капсулу. Являются факультативными

анаэробами. Размеры бактерий – 0,5-1х 1-4 мкм. В мазке располагаются одиночно, реже парами и цепочками. Их клеточная стенка не содержит тейхоевых кислот, но имеет наряду с пептидогликаном липополисахариды. Могут иметь капсулу. Если есть капсула, то она построена из гетерополисахаридов. Жгутики у подвижных видов и штаммов многочисленны, перитрихиальные.

К питательным средам неприхотливы, хорошо растут на простых питательных средах при 35-37 °С, рН 7-7,4. В аэробных условиях образуют на жидких средах равномерное помутнение, на плотных – круглые выпуклые гладкие прозрачные или мутные колонии размерами 1-5 мм. Ферментируют углеводы, белки, аминокислоты, некоторые виды образуют сероводород, индол. Биохимические признаки позволяют дифференцировать представителей различных видов энтеробактерий. Все виды образуют каталазу и не образуют оксидазу. Нитраты редуцируют в нитриты.

Семейство объединяет 14 родов с различным количеством видов, среди которых есть патогенные и условно-патогенные. К патогенным относят роды: *Salmonella*, *Shigella* (поражает людей, но у некоторых видов животных, особенно у молодняка может быть носительство), *Yersinia*, *Edwardsiella* (у рептилий). К условно-патогенным принадлежат роды; *Escherichia* ( $10^7 - 10^8$  микробных клеток в 1г фекалий в норме), *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Erwinia*. Условно-патогенные микроорганизмы в норме имеются в количестве менее  $10^4$  микробных клеток в 1 г фекалий, за исключением лактозонегативной кишечной палочки, число которой составляет  $10^6 - 10^7$  микробных клеток.

Большинство представителей семейства энтеробактерий вырабатывает бактериоцины, которые отличаются от бактериоцинов молочнокислых бактерий. Их называют колицинами и бактериоциноподобными веществами – микроцинами. Известно более 30



колицинов и около 10 микроцинов. Действие этих веществ направлено на близкородственные энтеробактерии. Высвобождение колицинов происходит при лизисе бактериальной клетки – продуцента этих веществ, а микроцинов – из живой клетки. Колицины, проходя внутрь клетки мишени через поры, блокируют клеточное дыхание, могут действовать на транспортную или рибосомную РНК. Главным продуцентом микроцинов является кишечная палочка.

Помимо бактерицинов, роль энтеробактерий проявляется при поглощении ими кислорода в кишечнике, поскольку они являются факультативными анаэробами. При этом создаются анаэробные условия, благоприятные для жизнедеятельности других представителей кишечной микрофлоры – облигатных анаэробов.

Кроме указанных родов и семейств в состав нормальной микрофлоры входят в значимых количествах *стафилококки* (менее  $10^4$  микробных клеток в 1г фекалий), спороносные анаэробные палочки – *кловстридии* (менее  $10^5$  микробных клеток), *дрожжеподобные грибы* (менее  $10^4$  микробных клеток в 1г фекалий).

Обобщая функции разных представителей нормальной микрофлоры, следует отметить, что их роль в жизни животных и человека очень важна. Все функции можно разделить на:

- защитную, обеспечивающую колонизационную резистентность;
- ферментопродуцирующую, которая обеспечивает гидролиз клетчатки, белковый, жировой обмен, поддерживает нормальный газовый состав, рН среды, разрушает холестерин;
- синтетическую. Они синтезируют витамины группы В, С, К, фолиевой, пантотеновой кислот, органических кислот;
- иммунную. Нормальная микрофлора обеспечивает созревание иммунной системы, поддерживает синтез иммуноглобулинов, неспецифических факторов защиты;
- всасывающую. Обеспечивает всасывание микро- и макроэлементов;

- обменную;
- инактивирующую;
- моторную;
- пищеварительную;
- разрушает аллергены;
- детоксикационную в отношении экзогенных и эндогенных химических соединений, ксенобиотиков, нейтрализует нитраты.

#### **8.4. Оппортунистические инфекции пищеварительного тракта**

Из всех незаразных болезней у молодняка животных чаще всего отмечаются болезни органов пищеварения.

Неинфекционные желудочно-кишечные заболевания молодняка животных и птиц распространены повсеместно, сопровождаются тяжелыми токсическими явлениями, характеризуются высокой смертностью, наносят значительный экономический ущерб животноводческой и птицеводческой отраслям. Переболевшие животные отстают в росте и развитии, длительное время могут быть скрытыми носителями условно-патогенных бактерий. Избыточное присутствие в составе микрофлоры кишечника условно-патогенной микрофлоры отрицательно сказывается на процессах микробного пищеварения, снижает усвоение кормов. Сбраживание углеводов энтеробактериями, клостридиями, гнилостными бактериями и грибами снижает энергетическую ценность кормов.

У молодняка сельскохозяйственных животных могут встречаться стоматит, фарингит, ангина, гастроэнтерит, колит, диспепсии, дисбактериозы.

Причинами являются травмы, неправильное кормление, плохие санитарно-гигиенические условия, активизация условно-патогенной микрофлоры у маток, применение антибактериальных препаратов и другие причины.

У молодняка животных, в частности, поросят может быть *некротический стоматит*, вызванный некробактериями (род *Fusobacterium*) с распространением инфекции на кожу углов рта, носа, рыла. Возможно развитие некротического энтерита. Этот же род микроорганизма может вызывать стоматит и у овец с поражением губ, лицевой части головы и других частей тела.

У взрослых сельскохозяйственных животных (крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, свиней, кроликов), собак и диких животных при травмах полости рта может развиваться *актиномикоз* как проявление аутоинфекции. Актиномицеты широко распространены в природе, встречаются в воде, почве, на слизистых оболочках, особенно во рту животных и человека. Актиномицеты, обитающие в ротовой полости, в основном поражают мягкие ткани, кости челюстей, может быть поражение легких.

Микробы проникают в ткани при травмах слизистой оболочки рта грубой пищей, посторонними предметами, при прорезывании зубов. В тканях пораженного организма образуют своеобразные морфологические структуры – друзы. Друзы представляют собой беспорядочно переплетенные в центре нити мицелия, от которых радиально на периферию отходят нити с колбовидным расширением на концах. В пораженных тканях формируется хроническое воспаление, образуются абсцессы и свищевые ходы в мягких и костных тканях с гнойным отделяемым. Как правило, присоединяется другая условно-патогенная бактериальная микрофлора и утяжеляет заболевание.

У крупного рогатого скота, лошадей, свиней возбудителями актиномикоза являются *Actinomyces bovis*, *A. lignieresii*, *A. israelii*, у свиней - *A. suis*, у собак - *A. viscosus*.

У крупного рогатого скота, в основном у коров развивается актиномикоз языка, называемый «деревянный язык». Возбудителем является *A. lignieresii*. При этом на спинке языка появляются язвы,

разрастается соединительная ткань, язык увеличивается в размерах, уплотняется, жевание затруднено. Возможно развитие актиномикоза слюнных желез.

*A. lignieresii* вызывает поражение мягких тканей, а *A. israeli* – костной ткани с развитием остеомиелита. При остеомиелите совместно с *A. israeli* встречаются микрококки и коринебактерии.

*Гастроэнтериты* у сельскохозяйственных животных может вызывать синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), которая помимо поражения желудочно-кишечного тракта изредка приводит у молодняка (поросята, телята, ягнята) к развитию бронхопневмонии, сепсиса, а у взрослых животных – к поражению половых органов у самок с развитием абортос и мертворождением, у самцов обнаруживается в сперме. При этом данную форму незаразной оппортунистической инфекции так и называют «псевдомоноз». Псевдомоноз в основном встречается в осеннее-зимний период. Псевдомонады чаще всего выделяются в ассоциациях с кишечной палочкой, стафилококками, стрептококками, протеем, бациллами, грибами (аспергиллами, мукором, фузариумом, кандидами). Предрасполагающими факторами также является плохое содержание, кормление, снижение иммунитета. При псевдомонозе развивается дисбактериоз кишечника.

Другой инфекцией желудочно-кишечного тракта, которая носит название «в честь» возбудителя рода клебсиелл (в основном *Klebsiella pneumoniae*), является *клебсиеллез*. Клебсиеллез в основном является инфекцией молодняка. Как и при псевдомонозе могут поражаться органы дыхания, возникать сепсис, а при поражении желудочно-кишечного тракта – дисбактериоз.

Перечисленные виды микроорганизмов входят в состав нормальной микрофлоры пищеварительного тракта животных.

Множественные поражения при псевдомонозе и клебсиеллезе связаны с тем, что бактерии из кишечного могут проникать (транслоцировать) во внутреннюю среду организма. Вначале они

попадают в региональные лимфатические узлы, затем в печень и далее в системный кровоток с развитием бактериемии. Фактором, способствующим транслокации бактерий, является эндотоксин, который высвобождается из поврежденной стенки грамотрицательных бактерий и увеличивает проницаемость стенки кишечника. Эндотоксин проникает в кровоток с развитием эндотоксемии. Эндотоксинемия регистрируется впервые в постнатальном периоде при заселении кишечника у новорожденного грамотрицательной микрофлорой. Повторяющееся и длительное поступление в кровоток избытка эндотоксина приводит к чрезмерной мобилизации резервных возможностей адаптационных систем, наступает десинхронизация биологических ритмов клеток. Это может быть причиной полиорганной патологии. Клиническое проявление эндотоксиновой агрессии являются гнойно-воспалительные заболевания различной локализации и сепсис.

При разрушении грамположительных микроорганизмов пептидогликан распадается до мономеров с образованием D-галактозаминов, вызывающих поражение печени и мозга.

### **8.5. Дисбактериозы**

Аутофлора кишечника и макроорганизм представляют собой две динамичные системы. В норме поверхностные антигены бактериальных клеток имеют определенную геометрию и фиксируются с помощью «структурных кинетических скрепок», роль которых выполняют межмолекулярные контакты (водородные связи, S-S – мостики и т.д.), поэтому они специальным образом упакованы в клеточной мембране и клеточной стенке и находятся в состоянии сжатой пружины.

Макроорганизм подобные структуры воспринимает как свое и не отторгает эти микроорганизмы. При попадании в кишечник некоторых веществ, в частности, антибиотиков геометрия бактериальных антигенов изменяется и приобретает иной вид, становясь чужеродной для организма-

хозяина. Вследствие чего на измененной поверхности бактериальных клеток будет сорбироваться секреторный иммуноглобулин А, т.е. произойдет опсонизация. Такие опсонизированные бактерии будут фагоцитироваться профессиональными фагоцитами и эпителиальными клетками кишечника хозяина. В данном случае состав микрофлоры перестает удовлетворять макроорганизм, и он отторгает часть микрофлоры.

Бывает и обратная ситуация, когда микрофлора действует на хозяина, который перестал выполнять свои функции по отношению к ней, не поставляя определенные метаболиты. В обоих случаях может развиваться дисбиоз (синоним дисбактериоз).

Особенно чувствительны к действию антибиотиков лактобациллы и бифидобактерии, уровень которых резко снижается. При введении окситетрациклина, эритромицина, хлортетрациклина, хлорамфеникола кишечная микрофлора замещается на антибиотикоустойчивые штаммы золотистого стафилококка. Хлорамфеникол приводит к развитию в кишечнике антибиотикоустойчивых штаммов кишечной палочки. Эритромицин способствует повышению содержания стрептококков. Тетрациклины приводят к размножению стафилококков, бактероидов, клебсиелл, энтеробактерий, кандид.

Условно-патогенные бактерии синтезируют ферменты, которые разрушают нормальную микробную биопленку, изменяют соотношение в ней различных бактериальных сообществ. После этого они сами прикрепляются к эпителию кишечника и формируют свой микробиоценоз, отрицательно действующий на макроорганизм.

Клинически дисбактериоз проявляется постоянной диареей и синдромом нарушенного кишечного всасывания, который приводит к нарушению роста и развития молодого организма, к дистрофическим изменениям у взрослого.

Термин «дисбактериоз» введен в клиническую практику немецким врачом Ниссле в 1916 году. Дисбактериозом называют изменения

количественного и (или) качественного состава бактериальной флоры, обусловленное динамическими нарушениями микроэкологии кишечника в результате расстройства адаптационных, защитных и компенсационных механизмов. Синонимами дисбактериоза являются: дисбиоз, избыточный бактериальный рост.

К возникновению дисбактериоза приводят:

- загрязнение окружающей среды ксенобиотиками, радиацией;
- инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы;
- иммунодефициты;
- введение малых и средних доз антибиотиков широкого спектра действия, гормонов, антисептиков, противоязвенных препаратов;
- использование антигельминтных препаратов (аверсект-2, фасковерм, вермитан, панакур, сантел, клозальбен);
- хирургические вмешательства;
- врожденная патология желудочно-кишечного тракта;
- ферментопатии;
- нарушения нормального продвижения кишечного содержимого;
- недостаток соляной кислоты в желудке у всеядных животных;
- авитаминозы и гиповитаминозы;
- хронические очаги инфекции;
- нарушение переваривающей и всасывающей функций в желудочно-кишечном тракте. Не всосавшиеся вещества служат пищей для микроорганизмов;
- избыточное употребление продуктов, вызывающих брожение и гниение.

Дисбактериозы кишечника у животных и человека явление очень частое. При обследовании фекалий более 2 тысяч человек – жителей Москвы в возрасте младше 1 месяца, до 65 лет и старше у всех отмечен дисбактериоз со снижением уровня бифидобактерий, лактобактерий,

лактозопозитивных кишечных палочек. Почти у 40 % обследованных, чаще всего у детей обнаружен золотистый стафилококк, более чем у 10 % дрожжевые грибы кандиды.

Подобных широкомасштабных исследований на животных не проводилось, хотя у молодняка имеется аналогичная тенденция. Интенсивная технология выращивания животных искажает процессы формирования нормального биоценоза в кишечнике. При уходе за новорожденными животными, при нарушении зоогигиенических и ветеринарно-санитарных приемов выращивания с рук персонала и окружающей среды в кишечник попадают в больших количествах эпидермальный и золотистый стафилококк, энтерококки, т.е. условно-патогенные микроорганизмы. При этом замедляется процесс колонизации кишечной стенки нормальной микрофлорой: молочнокислыми бактериями, бифидобактериями, пропионовокислыми бактериями.

У молодняка животных промышленного стада среди микрофлоры кишечника уменьшается количество лактобацилл и бифидобактерий, а у имеющих представителей этих бактерий снижена колонизационная резистентность, слабо выражены антагонистические свойства.

При дисбактериозе нарушаются процессы всасывания питательных веществ, усвоения железа, кальция, нарушен синтез витаминов, способность инактивировать различные метаболиты, присутствующие в кишечнике. У микроорганизмов, избыточно размножившихся в тонком кишечнике, происходит конкуренция с хозяином за питательные вещества. Продукты метаболизма бактерий, попадая в кровоток из-за повышенной проницаемости кишечной стенки, снижают дезинтоксикационную функцию печени. Перистальтика кишечника нарушается, подавляется регенерация эпителия.

На фоне дефицита нормальной микрофлоры господствующее положение в кишечнике занимают условно-патогенные микроорганизмы.



У людей и животных, особенно у молодняка этиологическими факторами дисбактериозов могут быть одни и те же виды условно-патогенных бактерий, особенно часто ими являются бактерии семейства кишечной палочки: лактозонегативные *Escherichia* (находятся на первом месте), *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, а также представители других семейств - *Peptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, грибы рода кандиды.

Представители родов *Serratia* и *Erwinia* стали встречаться особенно часто за последние 15-20 лет.

У собак и кошек при дисбактериозе кишечника обнаруживают *Campylobacter jejuni*, у новорожденных поросят – *Enterococcus porcinus*, *E.villosum*. У поросят в 72% случаев этиологическим фактором диарей являются бактерии, в 23% - вирусы, в 3% и 1% соответственно простейшие и грибы.

Условно-патогенные антибиотикоустойчивые микроорганизмы интенсивно размножаются в тонком кишечнике, активно заселяют слизистую оболочку и внедряются в нее. При дисбактериозе проявляется эффект «чувства кворума» из-за интенсивного размножения условно-патогенных микроорганизмов, у которых проявляются агрессивные свойства, присущие патогенным бактериям. В этом случае имеет место сочетанная работа генов хромосом, плазмид, «островов патогенности». Часть генов поступает в микробные клетки из патогенных бактерий вертикальным путем при генетической рекомбинации (трансформации, трансдукции, конъюгации).

Условно-патогенные бактерии начинают продуцировать:

-адгезины, благодаря которым они прикрепляются к слизистой оболочке. Адгезинами являются пили, завитки, расположенные на поверхности микробной клетки, полисахариды, липополисахарид, поверхностные белки или тейхоевые кислоты;

-бактериоцины, с помощью которых они повреждают микроорганизмы, относящиеся к М-микрофлоре;

-энтеротоксины и эндотоксины, вызывающие повреждение структуры и функции кишечной стенки, оказывающие нежелательное влияние на другие ткани и органы макроорганизма;

-ферменты, губительно действующие на эукариотические клетки (гемолизины, лейкоцидины, ДНК-азу, протеазы и другие).

Условно-патогенные бактерии становятся устойчивыми к действию факторов защиты макроорганизма за счет таких антигенов, как О-антиген, К-антиген, V-антиген, липополисахаридов, белков наружных мембран, антилизоцимной активности. Условно-патогенные микроорганизмы вызывают продукцию медиаторов воспаления клетками макроорганизма за счет выделения липополисахарида, липида А, поверхностных белков клеточной стенки, фимбриальных белков, белков-поринов.

Клинические проявления дисбактериоза, вызванного условно-патогенными микроорганизмами, независимо от этиологического фактора, имеют однотипные признаки с преимущественным поражением тонкого кишечника. Если в норме в тощей кишке преобладают грампозитивные аэробные и факультативно-анаэробные кокки и лактобактерии в количестве  $10^3$ - $10^5$  колониобразующих единиц в 1 мл, то при микробиологических нарушениях их количество возрастает более  $10^5$  колониобразующих единиц в мл.

Микрофлора кишечника может быть названа дисбиотической в случае появления ряда клинических симптомов:

- синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке (SIBOS);
- синдром раздраженного кишечника;
- синдром нарушенного всасывания;
- воспалительные болезни;
- хроническая диарея и др.

Развитие дисбактериоза протекает не одномоментно, а имеет 4 фазы:

Начальная фаза характеризуется увеличением количества микробов - симбионтов в тех местах, где они обычно обитают (SIBOS);

Вторая фаза характеризуется исчезновением некоторых симбионтов и увеличением уровня других представителей микрофлоры кишечника, которые в норме встречаются в незначительных количествах или не встречаются вовсе.

Третья фаза характеризуется появлением микроорганизмов в тех местах, где они не встречаются в норме. Часто при этом наблюдается бактериемия.

Четвертая фаза связана с увеличением удельного веса патогенных штаммов бактерий среди отдельных представителей нормальной микрофлоры.

Имеется несколько классификаций дисбактериоза. Наиболее простая предложена А.В. Знаменским с соавторами.

При первой степени нарастает число условно-патогенных микроорганизмов при высоком уровне бифидобактерий;

При дисбактериозе второй степени бифидобактерии находятся на нижней границе нормы и составляют  $10^8$  м.к./г, нарастает количество условно-патогенных микроорганизмов, отмечается дисфункция кишечника;

При дисбактериозе третьей степени количество бифидобактерий становится меньше  $10^7$  м.к./ г. Увеличивается содержание аэробных микроорганизмов.

Если дисбактериоз третьей степени не лечить, то наступает декомпенсированный дисбактериоз.

## **8.6. Диагностика дисбактериозов**

При диагностике дисбактериоза следует исключать острые кишечные инфекции, для которых типично острое начало, преобладание в

кишечном содержимом одного вида условно-патогенных бактерий, снижение количества условно-патогенных бактерий в ходе антибиотикотерапии, увеличение в крови титров антител к аутоштамму условно-патогенных бактерий. Для дисбактериоза характерно развитие его на фоне действия предрасполагающих факторов, таких как антибиотикотерапия, хронические заболевания и т.д., условно-патогенные микроорганизмы выделяются часто в ассоциациях друг с другом в высоких концентрациях и длительное время.

Диагностика дисбактериозов может проводиться различными методами. Они могут быть биохимическими и бактериологическими. При биохимических методах, которые проводятся пока на людях, определяют в содержимом кишечника вещество  $\beta$ -аспартилглицин, которое появляется при дисбактериозах и свидетельствует о снижении колонизационной резистентности микрофлоры.

Другими лабораторными тестами, позволяющими определить бактериальную обсемененность тонкого кишечника, является водородный и нагрузочный. При увеличении численности микроорганизмов в тонком кишечнике, а при дисбактериозе в 1 мл содержимого имеется  $10^5$  микробных клеток, в выдыхаемом воздухе возрастает уровень водорода. При нагрузочном тесте в организм вводят дисахарид лактулозу (10г натошак), которая гидролизуется только ферментами бактерий, и определяют уровень водорода. Если имеет место увеличение уровня водорода в течение трех часов после нагрузки, то это также свидетельствует о SIBOS. О наличии дисбактериоза толстого кишечника судят по измерению pH фекалий, значения которого становятся выше 6,8. в норме бифидобактерии и лактобактерии закисляют среду.

Однако самыми убедительными тестами являются бактериологические, направленные на выделение из фекалий различных представителей кишечной микрофлоры и определение их количественного и качественного составов. Поскольку при дисбактериозе большое значение

имеет не только состояние микробиоценоза в конкретный момент, а динамика происходящих в нем изменений, поэтому исследование состояния кишечной микрофлоры необходимо проводить несколько раз, т.е. в динамике.

Материал собирают путем естественной дефекации, исследование его должно проводиться не позднее 2-х часов после этого, Консервант использовать для транспортировки материала в лабораторию нежелательно. Если все же используют консервант, то в качестве него предпочтительно брать транспортную среду Кэрри - Блер, хотя можно использовать изотонический раствор хлористого натрия. Для облигатных анаэробов применяют тиогликолевую среду, бульон Шедлера.

Объем испражнений, вносимых в транспортную среду не должен быть более 1/3 ее объема. После внесения материала пробу перемешивают со средой. Образцы следует хранить в холодильнике до начала исследования не более 1 суток. При исследовании в лаборатории необходимо проводить посевы на максимальное число сред, чтобы определить различные виды бактерий и грибов.

Для исследования молочнокислых бактерий используют полужидкую или плотную среду МРС, бифидобактерий - среду Блаурока.

Для выявления и идентификации условно-патогенных микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae вначале используют среды для первичного посева (среда Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар, среду для эдвардсиелл), после этого пересевают подозрительные колонии на среды для первичной идентификации (среды Клиглера, Олькеницкого, определяют подвижность). Затем выросшие микроорганизмы высевают на среды для биохимической идентификации: агар Симмонса, цитратный агар Кристенсена, ацетатный агар, среду Преуса, среду с мочевиной, среду Кларка, среды Гисса).

Для выделения стафилококков используют желточно-солевой агар, 5% кровяной агар для обнаружения микроорганизмов с гемолитическими свойствами, а также среду Сабуро для выявления грибов.

После установления количественного соотношения представителей кишечной микрофлоры и постановки диагноза дисбактериоза, определяют чувствительность выделенных в чистой культуре условно-патогенных микроорганизмов – возбудителей поражения кишечника к антибиотикам.

#### Вопросы для самоконтроля.

1. Опишите защитные барьеры слизистой оболочки пищеварительной системы у животных.
2. Какая микрофлора пищеварительного тракта животных имеется в ротовой полости у животных?
3. Какую симбионтную микрофлору рубца животных вы знаете? Какую роль она выполняет в жизни жвачных животных?
4. Что подразумевают под М- и П- микрофлорой желудочно-кишечного тракта?
5. Перечислите представителей нормальной микрофлоры микрофлора кишечника у разных видов животных?
6. Какие микроорганизмы относятся к главной, сопутствующей и остаточной микрофлоре кишечника?
7. Охарактеризуйте морфологические, культуральные и биохимические признаки бифидобактерий.
8. Охарактеризуйте морфологические, культуральные и биохимические признаки лактобацилл.
9. Каких представителей микроорганизмов семейства энтеробактерий вы знаете?
10. Что подразумевают под термином «дисбактериоз» и что может привести к его развитию?
11. Какую классификацию дисбактериоза вы знаете?

12. Как диагностируется дисбактериоз клинически? Как выполняются водородный и нагрузочный тесты?

13. Какие следует использовать транспортные среды для фекалий и как быстро патологический материал следует доставлять в бактериологическую лабораторию?

14. Какие питательные среды и почему необходимо использовать при лабораторном исследовании дисбактериоза в бактериологической лаборатории?

15. Охарактеризуйте заболевания, которые называются псевдомонозом и клебсиеллезом. Опишите биологические свойства возбудителей этих болезней.

16. Какие микроорганизмы вызывают актиномикоз у животных? Дайте их биологическую характеристику.

17. Какие роды условно-патогенных бактерий семейства кишечной палочки вы знаете?

18. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Escherichia*.

19. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Citrobacter*.

20. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Enterobacter*.

21. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Proteus*.

22. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Morganella*.

23. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Providencia*.

24. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Hafnia*.

25. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Serratia*.

26. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки бактерий рода *Erwinia*.

27. Какие морфологические, культуральные и биохимические признаки характеризуют дрожжеподобные грибы рода *Candida*?

28. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки, характеризующие актиномицетов.



## ГЛАВА 9. СЕПСИС

### 9.1. Особенности сепсиса как инфекции

Кровь вместе с лимфой и тканевой жидкостью составляет внутреннюю среду организма, обеспечивающую оптимальные условия для его существования. Кровь выполняет в организме множество функций, важнейшими из которых являются:

- трофическая, осуществляемая при переносе питательных веществ к тканям;
- дыхательная при доставлении к тканям кислорода и удалении от них углекислого газа и других продуктов обмена;
- гуморальная за счет регуляции деятельности различных физиологических систем;
- защитная из-за наличия в ней антител, клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты.

В норме кровь стерильна.

Все функции крови нарушаются при сепсисе. «Сепсис» в переводе с греческого означает «гниение». Это заболевание могут вызывать различные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, т.е. оно полиэтиологично.

В эпидемиологическом плане сепсис не является заразной болезнью, и в эксперименте воспроизводится с большим трудом.

Клиническое своеобразие сепсиса как инфекции состоит в том, что независимо от характера возбудителя проявления болезни остаются трафаретными, т.е. одинаковыми, поскольку обусловлены генерализацией инфекта и неадекватной реакцией макроорганизма на этот инфект.

Отличительной особенностью сепсиса является ациклическое течение болезни, т.е. отсутствие какой-либо последовательности в нарастании и проявлении признаков инфекционного процесса. Эта ациклическость связана с недостаточностью защитных факторов организма,

и проявляется, прежде всего, в беспорядочном характере температурной кривой.

Сепсис не имеет определенных сроков инкубации. Он может протекать сверхостро в течение нескольких часов при наличии высокопатогенных возбудителей (например, сибирязвенного микроорганизма), нескольких дней, месяцев и даже лет. Вследствие этого выделяют острейший, острый, подострый и хронический сепсис.

Иммунитет при сепсисе не вырабатывается, а организм отвечает на инфекцию гиперергической реакцией. Поэтому считают, что ведущая роль в развитии сепсиса принадлежит не микроорганизму, а состоянию макроорганизма.

При сепсисе должен быть первичный очаг. Входными воротами могут быть раны кожи и слизистых оболочек, половые и мочевые пути, слизистые оболочки ротовой полости, у новорожденных – пупочная рана. Сепсис может осложнять различные врачебные вмешательства в организм: хирургические операции, катетеризации.

В первичном очаге, в частности, в гнойной ране, бактериальная обсемененность должна быть выше критического уровня –  $10^5$  м.к./г тканей. В этом случае из клеток доиммунного воспаления, которые имеются в первичном очаге, происходит неконтролируемый организмом выброс провоспалительных медиаторов (интерлейкинов). Под их влиянием активируются макрофаги и в других органах и тканях, которые, в свою очередь, также вырабатывают аналогичные интерлейкины. Большие количества провоспалительных интерлейкинов формируют синдром системной воспалительной реакции (ССВР). По этой причине сейчас сепсис называют «злокачественным внутрисосудистым воспалением» или «медиаторным хаосом».

Сепсис могут вызывать бактерии, грибы, вероятно, некоторые вирусы. С одинаковой частотой встречаются грамположительные и грамотрицательные бактерии. Среди грамположительных чаще всего

выделяют представители родов стафилококков, стрептококков, энтерококков. За последние годы часто стали выделять *S. epidermidis* и стафилококки других видов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, так называемых метициллиноустойчивых. Среди грамотрицательных бактерий преобладает кишечная и синегнойная палочка, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*. Наиболее часто представители указанных родов встречаются при госпитальной инфекции как возбудители сепсиса при массивном введении антибиотиков, особенно гентамицина и цефалоспоринов 3-го поколения. Этиологическим фактором сепсиса могут быть бактериоиды.

Стафилококки и стрептококки проникают в ткани за счет выработки протеолитических ферментов (гемолизинов, лейкоцидинов, фибринолизинов, гиалуронидазы, коагулазы), а грамотрицательные микроорганизмы – за счет эндотоксина, который выделяется из разрушенных клеток под влиянием антибактериальной терапии.

В настоящее время нередко регистрируется кандидозный сепсис.

Бактериемия, т.е. наличие микроорганизмов в крови и их размножение может быть, но их присутствие необязательно. Частота обнаружения гемокультуры не превышает 45%.

Если сепсис возник как ответная реакция на инвазию микроорганизмов, то имеется первичный очаг инфекции и 2 или больше клинических признака ССВР: температура тела должна быть выше нормы на 1°C и более или ниже 36 °C, резко возрастает частота дыхания и сердечных сокращений, в крови появляется лейкоцитоз или лейкопения, появляется большое количество незрелых форм лейкоцитов.

Первичный очаг, особенно при неправильном лечении, обуславливает генерализацию процесса с образованием септикопиемических (гнойных) очагов. Они чаще возникают в мышцах сердца, почках, легких, реже в головном мозге, печени, селезенке, надпочечниках, щитовидной и поджелудочной железах, подкожной

клетчатке, скелетных мышцах, суставах и костях. В этих очагах вокруг скоплений микроорганизмов концентрируются полиморфноядерные лейкоциты, многие из которых распавшиеся. При иммунодефиците полиморфноядерные лейкоциты могут отсутствовать, но в этом случае отмечаются некрозы со значительным скоплением возбудителя.

Клиническая картина сепсиса характеризуется повторными ознобами, изнуряющими потами, повышенной или пониженной температурой. Желтухой, увеличением селезенки, прогрессирующей анемией – малокровием, значительным ускорением СОЕ.

Анемия связана с наличием у микроорганизмов, размножающихся в крови, трех особенных признаков: во-первых, они способны адгезировать к эритроцитам; во-вторых, они вырабатывают вещества, способные образовывать поры или разрушать цитоплазматические мембраны эритроцитов (гемолизины, гиалуронидаза, коллагеназа, фосфолипаза) с выходом из эритроцитов гемоглобина, аминокислот, нуклеотидов и нарушением транспорта кислорода и углекислого газа; в-третьих, микробы поглощают железо из гемоглобина, конкурируя с хозяином за этот элемент. Избыток железа позволяет микроорганизмам лучше размножаться в макроорганизме.

Сепсис сопровождается высокой летальностью, которая может достигать от 30 до 50 и даже 80%.

При сепсисе любой этиологии имеет место раннее трупное разложение, желтушность склер, петехиальные кровоизлияния во внутренних органах, в сосудах и капиллярах внутренних органов содержится жидкая кровь с ранними признаками гемолиза и пропитыванием внутренней оболочки, обязательно имеет место инфекционное поражение стенок артерий с размножением и слущиванием эндотелиальных клеток, может быть закупорка просвета сосуда – тромбоз. Костный мозг и органы иммуногенеза гиперплазированы, имеет место повреждение паренхиматозных клеток органов.

При ожоговом сепсисе в первую очередь поражаются легкие, в которых имеются очаги воспаления, развивается пневмония, и почки с некрозом почечных канальцев. Из легких в основном выделяют *S. aureus*, а из почек - *P. aeruginosa*.

От сепсиса следует отличать бактериемию, при которой микроорганизм обнаруживается в крови, но там не размножается и со временем исчезает. Для дифференциации этих двух состояний определяют способность бактерий размножаться в собственной гепаринизированной крови больного животного.

## **9.2 Правила взятия крови и ее лабораторное исследование при сепсисе**

В отличие от исследования патологического материала из других органов и тканей кровь засевают непосредственно около животного.

Взятие крови проводят во время лихорадочного периода до начала лечения животного антибиотиками или через 12-24 часа после последнего введения препарата, чтобы он успел метаболизироваться или вывестись из организма.

В процедуре взятия крови участвуют два человека: один берет кровь, другой открывает флаконы с питательной средой и подставляет их под струю крови, после посева обжигает горлышки флаконов над пламенем спиртовки.

Кровь берут шприцем, предварительно выстригают шерсть над веной, обрабатывают кожу над ней 70° спиртом, затем 5% настойкой йода и вновь спиртом. Дают спирту испариться. Кровь берут в больших объемах: у мелких новорожденных животных 1-2 см<sup>3</sup>, у крупных новорожденных и взрослых некрупных животных – 2-5 см<sup>3</sup>, у крупных взрослых животных – 10-20 см<sup>3</sup>. Установлено, что с увеличением объема засеваемой крови в значительной мере возрастает вероятность получения положительного результата. Соотношение крови и питательной среды

должно быть 1:10 - 1:60, чтобы устранить возможное бактерицидное действие крови путем ее разведения.

Для первичного посева крови используют жидкую питательную среду: тиогликолевую, которая является средой для контроля стерильности, двухфазные среды, казеиново-соевый бульон, которые инкубируют при 37° С в обычных условиях термостата.

Одновременно с посевом крови готовят мазок и препарат «толстая капля». Мазок делают как обычный мазок крови для изучения лейкоцитарной формулы. Для приготовления «толстой капли» на стекло наносят каплю крови и распределяют ее с помощью пипетки или угла другого предметного стекла на площади 10-15 мм<sup>2</sup>. Капля должна быть такой толщины, чтобы через нее был виден газетный шрифт. Мазки и толстые капли крови высушивают, фиксируют в смеси Никифорова (равные количества этилового спирта и эфира), окрашивают.

Посевы просматривают ежедневно в течение 10 суток. Из выросших колоний делают мазки, окрашивают, микроскопируют.

Из сред для первичного посева при обнаружении роста анаэробов производят высев на плотную питательную среду для их выделения (мясопептонный агар с кровью, среда Шедлера, казеиново-соевый агар, бруцелла-агар для анаэробов). При обнаружении факультативных анаэробов используют диагностические и селективные среды: среда Эндо, Левина, Мак Конки, среда Чистовича, агар Сабуро, шоколадный агар.

После этого выделяют чистую культуру, идентифицируют по биохимическим признакам и определяют ее чувствительность к антибиотикам.

Отрицательный результат при исследовании первичных посевов крови бактериологическая лаборатория выдает через 10 суток, но посевы продолжают инкубировать до 30 суток, поскольку микроорганизмы в результате антибактериальной терапии могут переходить в L – форму, которая в случае реверсии при длительной инкубации может приобретать

исходную форму. Для предотвращения высыхания пробки парафинируют. Посевы просматривают 2-3 раза в неделю.

В клинической практике используют ускоренный метод исследования крови для обнаружения бактериемии. Для этого 5 мл крови вносят в центрифужную пробирку с 6% раствора цитрата натрия. Пробирку центрифугируют при 1000 об/мин в течение 20 минут. Из поверхностного слоя готовят мазок по типу мазка крови, окрашивают по Граму. Дополнительно плазму крови и осадок форменных элементов отдельно засевают на жидкие и плотные питательные среды.

Для диагностики эндотоксинемии хорошо зарекомендовал себя очень чувствительный тест, предложенный Novitsky (LAL-тест).

При сепсисе обычно высевается из крови монокультура. Если выделяют несколько видов микроорганизмов, то это чаще всего свидетельствует о загрязнении крови во время ее взятия.

Чтобы доказать этиологическую роль выделенного микроорганизма в качестве возбудителя сепсиса, необходимо неоднократное исследование крови и выделение именно этого микроорганизма не только из крови, но и из других образцов исследуемого материала, обнаруживать его одновременно на разных питательных средах. Микроорганизм, вызвавший сепсис, при посевах, кроме этого, обладает быстрым ростом (в течение 48 часов).

#### Вопросы для самоконтроля.

1. Какие функции выполняет кровь?
2. Какие причины возникновения сепсиса у животных вы знаете?
3. В каких формах может протекать сепсис у животных?
4. В чем состоят особенности сепсиса как инфекции?
5. Что такое первичный очаг, и какой должен быть уровень микроорганизмов в нем, чтобы развился сепсис?
6. Какие условно-патогенные микроорганизмы могут вызвать сепсис у животных?

7. Какие факторы грамположительной и грамотрицательной микрофлоры ответственны за развитие сепсиса?
8. Почему возникает анемия при сепсисе?
9. Как следует брать кровь у животных при сепсисе и осуществлять ее посев?
10. Как можно изготовить «толстую каплю» крови?
11. Правила лабораторного исследования крови при сепсисе.



## ГЛАВА 10. ГОСПИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ПРИЧИНЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ, КОНТРОЛЬ

### 10.1 Особенности госпитальных инфекций

Внутрибольничные инфекции называют еще госпитальными, или нозокомиальными. Последнее название происходит от греческого слова, означающего «ухаживать за больным».

Эти инфекции возникают у животных или человека, пребывающих в стационаре, или у сотрудников лечебных учреждений, которые заражаются микроорганизмами, циркулирующими в этом стационаре.

Частота встречаемости нозокомиальных инфекций у животных в ветеринарных клиниках не изучена из-за специфики работы этих учреждений, когда хозяева мелких непродуктивных животных чаще всего забирают своих питомцев домой. Однако при санитарно-микробиологических исследованиях в клиниках для мелких непродуктивных животных установлено, что там циркулируют, как правило, такие же виды условно-патогенных микроорганизмов, как и в лечебных учреждениях для людей.

На первом месте находится золотистый стафилококк, затем - эпидермальный стафилококк. Часто выделяют представителей семейства *Enterobacteriaceae* (кишечную палочку, протей, клебсиеллу, энтеробактер), синегнойную палочку, неспорообразующие анаэробы, в том числе бактерииды. Выделяют плесневые и дрожжевые грибы рода *Candida albicans*, энтерококки, ацинетобактер и другие. Ацинетобактер стал встречаться при нагноении хирургических ран особенно часто в последнее время.

В лечебных учреждениях для человека госпитальные инфекции встречаются ежегодно у 2 млн. людей. Летальность от них составляет в различных странах от 6 до 27%, что во много раз превышает летальность больных без этих инфекций.

Чаще всего госпитальные инфекции развиваются у пациентов при хирургических вмешательствах, при ожогах, при проведении интенсивной терапии с применением различного рода катетеров, а также при снижении резистентности, иммунодефицитах.

Микроорганизмы, вызывающие госпитальные инфекции, обитают в различных средах лечебного учреждения: в воздухе, на предметах мебели, стенах, полах, хирургических столах, инструментах, в растворах для инъекций, среди микрофлоры тела персонала (в носоглотке, руках) и т.д.

Условно-патогенными становятся бактерии, поражающие растения (фитопатогены), в частности, буркхольдерии (*Burkholderia cepacia*), широко распространенные в окружающей среде и устойчивые к большинству антибиотиков. Эти бактерии обычно поселяются вместе с первоначальным возбудителем в легких и образуют в альвеолах биопленку. В составе таких биопленок могут находиться и синегнойные палочки.

Аналогичные биопленки обнаружены на поверхностях катетеров, инструментах, мебели. Заболевания, которые вызывают буркхольдерии, могут передаваться различными путями: через изделия из резины и пластика (катетеры), инструменты, руки персонала, шприцы, растворы для инъекций, шовный и перевязочный материал, белье.

Особенностями внутрибольничных инфекций являются следующие моменты:

- госпитальные инфекции присоединяются к основному заболеванию и его утяжеляют;
- госпитальную инфекцию может вызвать любой условно-патогенный микроорганизм (и даже патогенный);
- возникновению и развитию этих инфекций способствует иммунодефицит;
- патогенез и клиническая картина этих инфекций очень разнообразны и не всегда специфичны.

- госпитальные штаммы микроорганизмов обладают выраженной лекарственной устойчивостью.

- для большинства госпитальных штаммов, прежде всего золотистого стафилококка, кишечной палочки и синегнойной палочки характерен дальнейший быстрый рост устойчивости к антибиотикам.

Пути передачи возбудителей внутрибольничных инфекций различны: воздушно-капельный, воздушно-пылевой, алиментарный, контактный, трансфузионный, через кровь и ее препараты.

Гнойно-воспалительные процессы при госпитальных инфекциях могут принимать форму септицемии, послеоперационных и послеожоговых осложнений, посттрансфузионных инфекций, связанных с инъекциями нестерильных растворов или использовании нестерильных игл, заболеваний дыхательных путей, урогенитального тракта, кишечных инфекций, в том числе дисбактериозов.

Среди внутрибольничных инфекций встречаются урологические. Главным путем проникновения микроорганизмов в мочевой пузырь и почки является восходящий путь (из уретры). У госпитальных штаммов, в частности, кишечной палочки обнаруживают факторы патогенности и высокую резистентность к антибактериальным препаратам. В крови отмечается повышенное разрушение Т-лимфоцитов. Обнаружение в моче микроорганизмов в количестве  $5 \times 10^5$  и более расценивается как этиологически значимое. Количество микроорганизмов в моче, равное  $10^3$  –  $10^4$  может встречаться и у здоровых, поэтому необходимо повторное бактериологическое исследование мочи с выделением культуры, определением ее патогенности и доказательством принадлежности этой культуры к сероварам, циркулирующим в данном лечебном учреждении. При бессимптомном поражении мочевых путей диагноз считают положительным, если микроорганизмы выделяются в количестве  $10^6$  и более.

## 10.2. Диагностика госпитальных инфекций

Микробиологическая диагностика внутрибольничных инфекций имеет свои сложности и особенности. Необходимо не только выделить и идентифицировать циркулирующий госпитальный штамм, но и определить его количественные характеристики. Для этого осуществляют санитарно-микробиологический контроль в плановом порядке и по эпидемическим показаниям.

Объектами исследования служит воздушная среда, все предметы и растворы, которые могут выступать в качестве источников инфекции, кожные покровы и верхние дыхательные пути медицинского персонала. В зависимости от ожидаемого вида условно-патогенных микроорганизмов выбирают питательные среды, на которые будет осуществлен посев. Чаще всего в воздухе определяют общее микробное число в  $1\text{ м}^3$ , количество *S. aureus*, плесневых и дрожжевых грибов. Для выделения стафилококков используют селективный агар – желточно-солевой, на котором хорошо растет этот вид микроорганизмов, устойчивый к повышенной концентрации хлористого натрия, входящего в состав среды. Для обнаружения микроскопических плесневых и дрожжевых грибов – среду Сабуро. Общее микробное число определяют на простых питательных средах – мясо-пептонном агаре.

Ориентировочную оценку содержания микроорганизмов в воздухе операционных блоков, процедурных, коридоров, боксов проводят методом седиментации Коха. Чашки Петри с питательным агаром оставляют открытыми на 10 минут (определение общего микробного числа) или на 40 минут (выявление золотистого стафилококка). При хорошем состоянии воздуха в операционной на чашках с простым питательным агаром должно вырасти не более 5 колоний, на желточно-солевом и среде Сабуро роста быть не должно. Более точная оценка микробной обсемененности воздуха

может быть получена аспирационными методами с помощью аппаратов, например, аппарата Кротова.

Допустимые уровни микроорганизмов в воздухе определены для лечебных учреждений, предназначенных для людей. Очевидно, показатели для госпиталей для животных не будут кардинально отличаться. Согласно приложения №7 к СанПин 2.1.3.1375-03 общее количество микроорганизмов в воздухе операционных должно быть не более 200 КОЕ/м<sup>3</sup>, а во время работы – не более 500 КОЕ/м<sup>3</sup>, в процедурных и перевязочных, соответственно – не более 500 КОЕ/м<sup>3</sup> и 750 КОЕ/м<sup>3</sup>. В остальных помещениях, где находятся больные и персонал, их уровень должен быть не более 1000 КОЕ/м<sup>3</sup>. Допустимый уровень стафилококков, которые могут содержаться только в помещениях, где не проводят операции и различные манипуляции, составляет 2 КОЕ/м<sup>3</sup>. Плесневых и дрожжевых грибов в воздухе всех помещений быть не должно.

Пробы с различных поверхностей берут путем смывов стерильным ватным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. С крупных объектов смывы берут из разных мест общей площадью 100-200 см<sup>2</sup>, а с мелких объектов – со всего предмета. При этом делают посеvy на среды для выявления *S. aureus*, *P. aeruginosa* и бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, плесневых и дрожжевых грибов. Для выделения стафилококков и грибов используют среды, указанные выше. Для обнаружения бактерий семейства кишечной палочки используют дифференциально-диагностическую среду Эндо, на которой хорошо растут и псевдомонады. Если при посеве обнаружены какие-либо из перечисленных микроорганизмов или патогенные виды, то это свидетельствует о неудовлетворительном состоянии объекта.

Бактериологическому контролю подлежат инструменты, катетеры, перевязочные и другие материалы. С инструментов и катетеров делают смывы, от перевязочного материала из разных мест вырезают кусочки, которые погружают в питательные среды. Пробы сеют на бульон

Хоттингера с 0,5% глюкозы (для обнаружения аэробов и факультативных анаэробов), среду для контроля стерильности с тиогликолятом натрия (для выявления облигатных анаэробов) и бульон Сабуро с 10% мальтозы или глюкозы (выявление грибковой обсемененности). Первые два вида сред выдерживают в термостате при 37 °С, а среду Сабуро – при комнатной температуре (20-22 °С).

В процессе нахождения больных в стационаре происходит обмен микрофлорой между персоналом и больными. При этом персонал может быть наряду с больными источником поступления условно-патогенных микроорганизмов госпитальных штаммов в окружающую среду.

У персонала делают смывы с обеих рук, включая ладони, тыл кисти, межпальцевые промежутки, стерильным ватным тампоном. Затем тампон помещают в стерильный физиологический раствор, который после встряхивания засевают глубинным методом на чашки Петри и в колбу с 0,5% сахарным бульоном. Посевы инкубируют при 37 °С в течение 48 часов.

По эпидемиологическим показаниям исследуют у персонала верхние дыхательные пути (слизистую носа) на наличие носительства золотистого стафилококка. Взятие материала производят из обеих половин носа одним стерильным ватным тампоном. После этого осуществляют посев на селективную среду.

В различных клиниках для людей складывается у медицинского персонала свой состав условно-патогенных микроорганизмов, обитающих на слизистой оболочке верхних дыхательных путей. В одной из клиник в составе микрофлоры преобладали дрожжеподобные грибы *Candida* в сочетании с бактериями рода *Klebsiella*, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Все выделенные штаммы обладали полирезистентностью к антибиотикам. В другой клинике на слизистой оболочке преобладали эпидермальные стафилококки и представители условно-патогенной микрофлоры

кишечника, также обладающие множественной лекарственной устойчивостью.

Помимо микрофлоры верхних дыхательных путей у медицинского персонала клиник изменяется и микробиоценоз кишечника. При работе в стационаре более 5 лет появляются лактозонегативные кишечные палочки, *Klebsiella*, *S. aureus* и *Candida albicans*. Через 10 лет работы среди условно-патогенных микроорганизмов доминируют гемолитический стафилококк, энтерококки и кишечная палочка с гемолитической активностью. Таким образом, очевидно, что с длительностью работы в стационаре у медицинского персонала происходит селекция штаммов с факторами патогенности.

После определения видовой принадлежности выделенных в стационаре микроорганизмов изучают их чувствительность к антибиотикам и проводят определение штаммовой принадлежности с помощью специфических фагов.

### **10.3. Травматические инфекционные болезни у персонала ветеринарных клиник**

Ветеринары, работающие с животными, постоянно подвергаются риску быть инфицированными при укусах и царапинах, нанесенными их пациентами при обследовании и различных манипуляциях.

При укусе собак, не больных бешенством, в рану со слюной могут попасть такие условно-патогенные возбудители, как *Staphylococcus viridans*, *S. aureus*, *Pasteurella multocida*, *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Carnocytophaga* spp.

При укусе крысы в рану могут попасть *S. moniliformis*.

При укусе свиньи в рану могут попасть аэробные грамположительные кокки и грамотрицательные палочки, *Pasteurella* spp., анаэробы.

При укусе кошки в рану может попасть *S. aureus*, *Pasteurella multocida*, а при скарификации кожи когтями кошек возникает острая и хроническая форма инфекционной болезни. Острая форма называется «болезнь кошачьих царапин», хроническая может протекать как бациллярный ангиоматоз, эндокардит. Возбудителями инфекции являются *Bartonella henselae*, *B. quintana*.

#### Вопросы для самоконтроля.

1. Что понимают под термином «внутрибольничные инфекции»? Почему они возникают?
2. Какие виды условно-патогенных микроорганизмов могут вызывать госпитальные инфекции?
3. В каких средах лечебного учреждения могут обитать микроорганизмы, вызывающие нозокомиальные инфекции?
4. Какие особенности внутрибольничных инфекций вы знаете?
5. Как могут передаваться внутрибольничные инфекции при нахождении животных в стационаре?
6. Какую роль в передаче возбудителей госпитальных инфекций играет персонал лечебных учреждений?
7. Как следует проводить диагностику госпитальных инфекций в клиниках для животных?
8. Какие травматические инфекционные болезни могут быть у персонала ветеринарных клиник?



# **ГЛАВА 11. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЗЯТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ ЖИВОТНОГО, ИНФИЦИРОВАННОГО УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ, И ПРАВИЛА ЕГО СБОРА**

## **11.1. Техника безопасности**

К работе с больными животными и взятии от них патологического материала допускаются заранее проинструктированные лица, знакомые с правилами обращения с зараженными животными и имеющие знания по общей и частной микробиологии и эпизоотологии.

Взятие патологического материала производят в отдельном помещении или отсеке, отгороженном от общего помещения. Материал берет ветеринар с помощником, который фиксирует животное, подает инструменты, шприцы, пробирки с транспортными средами или без них, питательные среды во флаконах и чашках Петри.

Перед взятием патологического материала от животного помощник готовит дезинфицирующие растворы. Во время работы и после нее протирает дезинфицирующим раствором поверхность рабочего стола и использованной стеклянной посуды, складывает инструменты в дезинфицирующий раствор (если они разовые) или в емкость для стерилизации кипячением.

Если животное крупное, то для его фиксации используют технических помощников.

Лица, участвующие во взятии патологического материала от животного, надевают защитную одежду в связи с тем, что заболевание, вызванное условно-патогенными микроорганизмами, клинически может не отличаться от инфекции, этиологическим фактором которых служат возбудители зоонозов и зооантропонозов.

Защитная одежда состоит из наглухо застегнутого халата, шапочки или косынки, под которую убирают волосы, резиновых перчаток, предварительно проверенных на целость. При необходимости надевают

нарукавники, резиновый фартук, марлевую маску и защитные очки, на ноги – резиновые сапоги.

Во время взятия патологического материала нельзя курить, пить воду, есть, отвлекаться, касаться руками лица.

До начала работы готовят дезинфицирующий раствор (обычно 3-5% раствор хлорамина) не менее одного ведра и наливают часть его в неглубокую и широкую емкость для обработки резиновых перчаток и поверхностей стеклянной посуды после посева патологического материала. Часть дезинфицирующих средств оставляют в ведре на случай разбрызгивания материала или попадания его на какую-нибудь поверхность.

Для использованной спецодежды ставят бак, в котором можно ее затем прокипятить.

Перед работой на специальном столике готовят стерильные инструменты для взятия патологического материала: ножницы, пинцеты, шприцы, стерильные ватные тампоны, можно использовать тампоны из альгината кальция или вискозы, пробирки, флаконы и чашки Петри со стерильной питательной средой, транспортные среды, а также обезжиренные предметные стекла, спиртовку, этиловый спирт или смесь Никифорова (равные количества эфира для наркоза и этилового спирта) для фиксации мазков. Если предполагается взятие мочи или фекалий, готовят продезинфицированные и тщательно отмытые от дезинфицирующего раствора емкости.

Для записей необходима бумага, ручка, простой карандаш, восковой карандаш по стеклу или несмываемый в воде и спирте маркер.

После работы ножницы, скальпель, пинцеты прокаливают на пламени спиртовки, шприцы кипятят. Патологический материал упаковывают.

Руки в перчатках обрабатывают 3-5% раствором хлорамина 1-2 минуты, затем снимают спецодежду и погружают ее в бак для кипячения.

В последнюю очередь снимают перчатки. Руки моют водой с туалетным мылом.

Полученный патологический материал направляют с нарочным в ветеринарную лабораторию, прилагая сопроводительный документ.

Если во время работы патологический материал попал на одежду, пол, окружающие предметы, то это место обильно поливают дезинфицирующим раствором. Если можно, то инфицированную поверхность обжигают горящим тампоном, смоченным спиртом.

### **11.2. Правила сбора патологического материала при оппортунистических инфекциях и его транспортировка в клиническую лабораторию**

От правильности взятия патологического материала от животного во многом зависят результаты, которые будут получены при последующей бактериологической диагностике. Однако от животных не всегда легко получить оптимальные образцы. При взятии патологического материала надо придерживаться следующих правил.

- Патологический материал собирает обученный персонал, знакомый с тактикой бактериологического исследования и особенностями протекания инфекций, вызванных условно-патогенными и облигатно-патогенными микроорганизмами.

- При сборе патологического материала следует соблюдать меры предосторожности, поскольку не всегда бывает легко отличить незаразные болезни, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, и заразные инфекционные заболевания, этиологическими факторами которых являются высоковирулентные облигатные паразиты.

- При подозрении на заболевание, вызванное условно-патогенными микроорганизмами, предполагается, что больное животное будут лечить, поэтому патологический материал берут от живого животного неоднократно в динамике инфекционного процесса для установления

этиологической роли конкретного возбудителя, его чувствительности к тому или иному антибактериальному препарату и контроля за правильностью лечения.

- Сбор материала для бактериологического исследования следует проводить в острую фазу болезни до начала лечения антибактериальным препаратом или через 6-24 часа после его последнего введения, чтобы препарат был выведен или разрушен.

- При взятии материала следует избегать его загрязнения нормальной микрофлорой, т.е. его берут асептически.

- Количество взятого материала должно быть достаточным для проведения необходимых исследований в лабораторных условиях и постановки повторных тестов, если возникнет в этом необходимость.

- Для взятия материала из поражений кожного покрова, из ушей, носа, зева, конъюнктивы глаз, свищевых ходов, из репродуктивного тракта можно использовать стерильные ватные тампоны на деревянных палочках, но предпочтительно использовать тампоны из альгината кальция или вискозы на пластиковых палочках, т.к. бактерии могут адгезировать на хлопковых волокнах ваты. При этом объем взятого материала может быть уменьшен.

- Кровь и спинномозговую жидкость берут стерильным шприцем.

- При хирургических вмешательствах и из ран берут кусочки тканей.

- Мокроту, мочу и фекалии собирают непосредственно в стерильную посуду без применения тампонов.

- Посев материала на питательные среды для культивирования микроорганизмов лучше проводить непосредственно около животного.

- Доставлять в бактериологическую лабораторию патологический материал необходимо не позднее 2 часов с момента взятия, в некоторых случаях – через 15 минут, поскольку при длительном хранении происходит гибель некоторых наиболее требовательных к набору питательных веществ видов микроорганизмов и размножение менее требовательных и быстро

растущих. Это обстоятельство может привести к нарушению количественного соотношения видов микроорганизмов, что повлечет за собой неправильную постановку бактериологического диагноза и выбора антибактериального препарата для лечения. При невозможности выполнить это правило, материал помещают в холодильник и хранят там не более 1-х суток, за исключением образцов, где предполагается наличие анаэробов, которые погибают при температуре 4°C. Их следует хранить при комнатной температуре.

- Материал на тампонах можно помещать в транспортные среды, которые не дают микроорганизмам размножаться и одновременно не вызывают их гибели.

- Аспираты можно оставить в шприцах с удаленной иглой, надев на его конец колпачок.

- При подозрении на анаэробную микрофлору патологический материал следует помещать в специальные транспортные устройства с завинчивающейся крышкой, содержащие вместо воздуха инертный газ.

- Собранный материал снабжают этикетками с указанием его характера.

- Пересылку патологического материала следует проводить в герметически закрытом контейнере, помещенном в прозрачный пластиковый пакет, чтобы контролировать его сохранность.

- К взятому клиническому образцу, направляемому в бактериологическую лабораторию, обязательно прилагают сопроводительный документ, в котором указывают: источник получения патологического материала, его характер, вид, возраст животного, его кличку или номер, название хозяйства или фамилию, имя, отчество владельца животного, предполагаемый диагноз, кратко описывают клинику, предшествующее лечение. В конце документа ставят дату и время взятия материала, свою подпись.

### Вопросы для самоконтроля.

1. Когда следует проводить сбор патологического материала для отправки на исследование в бактериологической лаборатории?
2. Какими инструментами следует пользоваться при взятии различного патологического материала от животного?
3. Почему следует как можно быстрее доставлять взятый материал в ветеринарную лабораторию?
4. Какие особенности имеются при транспортировке патологического материала, предназначенного для исследования на присутствие аэробов или факультативных анаэробов и облигатных анаэробов?
5. Какие сведения следует указывать в сопроводительном документе?
6. Кто должен брать патологический материал от животных и почему?
7. В каком помещении следует брать патологический материал?
8. Какие функции выполняет помощник ветеринара, берущего патологический материал?
9. Почему необходимы предосторожности при взятии патологического материала от животного, больного оппортунистическими инфекциями?
10. Как должен быть оборудован столик, где готовят все необходимое для взятия патологического материала?
11. Что следует предпринять, если во время работы патологический материал попал на одежду, пол, окружающие предметы?

## **ГЛАВА 12. МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЯХ**

Хорошо известно, что любое заболевание легче предотвратить, чем лечить. Особенно актуально это для профилактики оппортунистических инфекций. Во всех случаях необходимо создать хорошие гигиенические условия для содержания животных, наладить рациональное кормление, назначить витамины, микроэлементы. Применение антимикробных и других лечебных препаратов должно быть строго по назначению. Если причиной болезни явился дистресс, то немедленно следует устранить стрессирующие факторы.

### **12.1. Меры по профилактике и борьбе с микробным загрязнением на животноводческих объектах**

Наиболее простым и доступным методом профилактики заражения животных условно-патогенными микроорганизмами, поступающими из внешней среды, является содержание в чистоте помещений, где размещены животные. Другим методом является дезинфекция помещений.

*Дезинфекционные мероприятия.* Дезинфекционные мероприятия занимают одно из ведущих мест. В России зарегистрировано много дезинфицирующих средств, но активность их не всегда обеспечивает ожидаемый эффект. Причин этому много, одной из них является особенность циркулирующих микроорганизмов в разных хозяйствах и госпиталях. Вместе с тем основное назначение дезинфекции – разорвать эпизоотическую цепь путем воздействия на ее внешнее звено – фактор передачи возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму.

Наряду с традиционными дезинфицирующими средствами (хлорная известь, формальдегид, гидроокись натрия, гипохлорит натрия, метафор и другие) в последние годы в мировой и отечественной ветеринарной практике наметилась тенденция создания и внедрения средств на основе перекисных, новых галогенсодержащих соединений, альдегидов, диальдегидов, гуанидинов с добавлением поверхностно-активных веществ. Одним из подобных средств является Экобиоцид М, который в качестве действующего начала содержит большой процент пероксида водорода, а также алкилдиметилбензиламмоний хлорид. Препарат обладает широким спектром действия в отношении многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, споровых форм бактерий, грибов и вирусов.

Другим новым дезинфицирующим средством является препарат под торговой маркой ГАН, включающий в качестве действующего начала глутаровый и глиоксалевый альдегиды, которые обладают выраженной антибактериальной активностью.

В последние годы созданы эффективные в отношении золотистого стафилококка и кишечной палочки препараты: Бакцид и Алкамон НП, которыми можно обрабатывать животноводческие помещения.

Наряду с традиционными приемами дезинфекции в виде мытья различных объектов и аэрозольными способами нанесения дезинфицирующих средств в настоящее время используют бактерицидные пены, в частности пены с йодезом (кристаллический иод с сополимером). Йодез обладает антибактериальной, противовирусной и антигрибковой активностью.

Новым направлением является использование пробиотических препаратов.

*Пробиотические препараты.* Для предотвращения заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, созданы пробиотические препараты, состоящие из спор бацилл. Метод их



использования связан с антагонистической активностью авирулентных штаммов почвенных бацилл по отношению к условно-патогенным микроорганизмам. Подобные препараты выпускают под разными торговыми марками. Они предназначаются для обработки помещений, где содержится животные, клеток в лечебницах.

Механизм их влияния на условно-патогенные бактерии и грибы связан с конкуренцией за питательные вещества органической природы, содержащиеся на поверхностях, а также с непосредственным антагонистическим действием на эти микроорганизмы.

Наиболее действенными будут штаммы апатогенных бацилл, выделяемые из воздуха и с поверхностей каждого конкретного помещения, где находятся животные. Эти микроорганизмы хорошо растут на простых питательных средах, получить их биомассу не составляет большого труда.

По нашим данным, они не оказывают вредного влияния на организм животных, даже ослабленный действием иммунодепрессора с токсическим повреждением жизненно важных органов: печени и почек. Вместе с тем инфицированные раны у животных при контакте с поверхностью, обработанной смесью трех видов таких бацилл, заживали первичным натяжением, т. е. без нагноения. Особенно эффективным было влияние на условно-патогенные микроорганизмы термолабильных, т.е. чувствительных к действию высокой температуры метаболитов, поступающих в питательную среду при росте бацилл. Важным было и то, что бациллы выделенных нами штаммов действовали на такой высоко резистентный ко многим антибиотикам и антисептикам микроорганизм как синегнойную палочку, угнетая не только ее рост, но такой фактор патогенности как пигментообразование. Эффективными они были и по отношению к другим штаммам условно-патогенных микроорганизмов, циркулирующим в обследованном нами госпитале для животных.

## 12.2. Лечение животных при оппортунистических инфекциях

Лечение животных, условно-патогенными микроорганизмами следует проводить с учетом факторов, обусловивших эти заболевания, а также с предварительным определением чувствительности микроорганизмов, вызвавших данную болезнь, к антибактериальным препаратам.

При наличии иммунодефицитов надо назначать иммуностимуляцию или иммунокоррекцию, заместительную терапию.

При дисбактериозах положительный эффект будет при даче животному адсорбентов для связывания токсических продуктов в кишечнике и подкислителей – веществ, состоящих из комплекса органических кислот, выпаивание настоев и отваров трав с вяжущим действием. Эффективными будут назначения пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков.

Знания в области образования у микроорганизмов биопленок, предполагает новый подход в лечении оппортунистических инфекций, а именно: воздействие на процесс адгезии, на чувство кворума, т.е. во всех случаях лечения оппортунистических инфекций, прежде всего, необходимо уменьшить количество условно-патогенных микроорганизмов в патологическом очаге. При этом «отменяется» синдром «чувство кворума».

Сейчас появился даже термин «антипатогенные» лекарственные средства. В отличие от антибиотиков они подавляют работу генов, отвечающих за вирулентность у условно-патогенных микроорганизмов, а также разрушают молекулы, обеспечивающие взаимодействие бактерий при чувстве кворума. Такой способностью обладают бактерии, широко распространенные в природе, экстракты растений, водорослей и некоторые антибиотики. Так установлено, что эритромицин подавляет выработку гемолизинов, гемагглютининов и протеазы у синегнойной палочки.

При использовании антибактериальных препаратов надо иметь в виду, что они могут быть с бактериостатическим или бактерицидным эффектом. Последнюю группу препаратов (с бактерицидным действием) не следует вводить при сепсисе, поскольку массивное разрушение микроорганизмов может привести к массивному выбросу во внутреннюю среду организма токсических продуктов при лизисе клеток.

При введении массивных доз антибактериальных препаратов следует одновременно применять препараты, действие которых направлено против дрожжевых клеток, которые усиленно размножаются в отсутствие представителей нормальной микрофлоры, очень чувствительной к антибактериальным препаратам.

В медицине для лечения оппортунистических инфекций, в том числе для профилактики нозокомиальных заболеваний используют вакцины, созданные на основе условно-патогенных бактерий, особенно часто встречающихся в лечебных учреждениях.

### **12.2.1. Основы рациональной химиотерапии. Антибактериальная терапия**

Назначение антибактериальных препаратов требует большой осторожности, чтобы не нанести еще большего вреда больному животному. Кроме того, необходимо учитывать устойчивость возбудителей инфекционной болезни к антимикробным препаратам, которая может быть природной и приобретенной. Природная имеется у ряда микроорганизмов, обитающих во внешней среде, например, у синегнойной палочки.

Приобретенная лекарственная устойчивость у микроорганизмов – возбудителей оппортунистических инфекций развивается при нерациональной терапии достаточно быстро, причем, сразу ко многим антимикробным средствам. Эта множественная лекарственная устойчивость называется полирезистентностью.

Учитывая вышеописанное, необходимо установить чувствительность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам перед их назначением.

В ходе лечения следует проводить повторные исследования для коррекции правильности выбранного химиотерапевтического средства. Антибактериальные препараты надо назначать в адекватных дозах согласно разработанным схемам лечения. В противном случае при введении недостаточно высоких доз и при раннем прекращении лечения появляются штаммы возбудителя, устойчивые к данному препарату.

При применении антибактериальных средств необходимо знать побочные эффекты, которые имеются у всех этих препаратов в большей или меньшей степени выраженности.

Следует учитывать не только чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам, но и состояние макроорганизма. Известно, что при лихорадочных состояниях и воспалительных процессах замедляются и нарушаются процессы метаболизма и биотрансформации лекарственных веществ в печени и их выведение. Длительная циркуляция антибиотиков приводит к развитию побочных эффектов с поражением органов слуха, центральной нервной системы, ткани почек, печени и т.д. При инфекциях, затрагивающих почки, надо иметь в виду, что пенициллины, аминогликозиды, цефалоспорины, ванкомицин, хлорамфеникол и продукты их обмена выделяются с мочой. Недостаточность функции почек способствует кумуляции (накоплению в организме) многих лекарственных веществ, удлинению и усилению их действия, повышению токсичности. Вследствие этого дозу препарата надо уменьшить, вводить лекарственное вещество дробными дозами и удлинять интервалы между введениями. Тетрациклины при недостаточности функции почек назначать не рекомендуется. Клиренс (разрушение) налидиксовой кислоты при данной патологии не нарушается, но замедляется выделение метаболитов этого препарата.

Значительно изменяется чувствительность организма к лекарственным веществам при заболеваниях печени, т.к. с функцией этого органа связаны такие процессы, как всасывание, связывание белками, мембранный транспорт, биотрансформация и выделение лекарственных веществ.

При патологии легких также нарушен процесс выделения лекарственных веществ и происходит их накопление в организме. Это связано с тем, что в данном органе, как и в печени, имеются системы, участвующие в биотрансформации лекарственных веществ.

Эффективность препаратов может снижаться при заболеваниях желудочно-кишечного тракта из-за нарушения их всасывания в кишечнике.

При обширных ожогах кожи в крови при введении гентамицина отмечается низкая концентрация этого антибиотика, возможно, из-за его концентрации на раневой поверхности.

Кроме того, в ветеринарии необходимо использовать такие антибиотики, которые не применяются в медицинской практике, поскольку антибиотики, которыми лечат больных животных или используют их в качестве ростовых факторов, вызывают множественную лекарственную устойчивость микрофлоры тела животного. Подобные штаммы могут с кисломолочными и мясными продуктами поступать в организм человека, где они передадут эту устойчивость микроорганизмам тела человека. Подобные факты установлены. Так, из сырокопченой колбасы выделены лактобациллы, устойчивые к тетрациклину, из овечьего сыра также выделены лактобациллы, но уже обладающие множественной лекарственной устойчивостью. В йогурте содержались бактерии, устойчивые к канамицину, ванкомицину, тетрациклину, эритромицину, хлорамфениколу.

При государственном мониторинге проводится определение остатков запрещенных и вредных веществ в организме животных,

продуктах животного происхождения, кормах. К таким веществам относят целый ряд антибактериальных веществ: сульфаниламиды, хинолоны, хлорамфеникол, нитрофураны и их метаболиты, а также микотоксины и бактерии.

Присутствие антибиотиков в остаточных количествах в мясе, молоке, яйцах и других продуктах животного происхождения ухудшает их качество, затрудняет технологические процессы и проведение ветсанэкспертизы, приводит к возникновению резистентных форм микроорганизмов, аллергическим реакциям и дисбактериозу у людей. При проведении более 2 тысяч проб продуктов убоя животных, почти в 19% из них обнаружены тетрациклин (чаще всего), левомицетин, стрептомицин, пенициллин, гризин.

Более четверти века тому назад ветеринары заложили основы рациональной химиотерапии, которую следует применять только в том случае, если:

- правильно поставлен диагноз (отдельные симптомы в виде лихорадки и диареи не могут служить показаниями к назначению антибактериальных препаратов);
- достоверно установлена вероятность бактериальной инфекции;
- выделен возбудитель заболевания;
- проведена проверка на чувствительность возбудителя к антибактериальным препаратам, особенно при массовой обработке животных;

Химиотерапевтические препараты должны применяться с учетом массы тела животного и оптимального курса лечения. Для поддержания необходимой концентрации препарата в крови и тканях надо соблюдать определенные временные интервалы его введения.

Не следует использовать антибиотики широкого спектра действия.

Работы последних лет в области микробиологии позволили установить, что у микроорганизмов, как и у всех живых существ, имеются

суточные биоритмы. Суточные биоритмы - это периодичность, с которой работают органы и макроорганизм в целом на протяжении суток. Отмечено, что многие оппортунистические грамположительные и грамотрицательные бактерии в течение суток имеют разную чувствительность к ряду современных антибиотиков (ампициллину, оксациллину, цефтриаксону, меропенему, гентамицину, ципрофлоксацину). Грамотрицательная микрофлора более устойчива к воздействию антибиотиков, чем грамположительная. Вместе с тем для всех штаммов бактерий установлен период максимальной чувствительности ко всем препаратам, который имел место с 11 до 17 часов, т.е. этот период является оптимальным временем для введения антибактериальных препаратов. Руководствуясь результатами данных экспериментов, при введении антибактериальных средств, следует учитывать суточные биоритмы, имеющиеся у прокариотов для более эффективного лечения животных.

Имеется несколько классификаций химиотерапевтических препаратов, применяемых для борьбы с инфекциями:

1. По направленности действия их разделяют на антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, противопротозойные;
2. По способности накапливаться в определенных тканях (почках, печени, легких, соединительной ткани и т.д.);
3. По химическому строению.

Согласно последней классификации, среди большого многообразия химиотерапевтических препаратов, используемых для лечения оппортунистических и госпитальных инфекций, выделяют несколько групп:

- антибиотики;
- сульфаниламидные препараты;
- производные 8-оксихинолина;
- производные нафтиридина, хинолоны;

- производные хиноксалина;
- производные нитрофурана;
- некоторые противотуберкулезные антибиотики;
- антифунгальные препараты.

#### **12.2.1.1. Антибиотики, понятие, мишени для антибиотиков в микробной клетке**

При лечении инфекционных болезней, вызванных истинными патогенами и оппортунистическими микроорганизмами, в настоящее время, прежде всего, применяют антибиотики. Термин «антибиотик» был предложен в 1942 году американским микробиологом С.А. Ваксманом. Антибиотики – это вещества микробного происхождения, а также их полусинтетические и синтетические аналоги, способные избирательно подавлять рост и размножение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в организме больного животного или человека. Природные антибиотики вырабатываются почвенными микроорганизмами: актиномицетами, микроскопическими грибами, бактериями.

На сегодняшний день известно несколько тысяч антибиотиков, но используется около 200 препаратов. Это связано с тем, что некоторые из них обладают выраженными побочными эффектами, которые называют еще «нежелательными реакциями», к другим препаратам развилась лекарственная устойчивость, и они перестали губительно действовать на микроорганизмы.

Вследствие этого постоянно ведутся поиски новых продуцентов антибактериальных веществ и разработки новых антибиотиков. В частности, получен даптомицин – препарат, относящийся к новому классу природных антибиотиков из разряда липопептидов. Он оказался эффективным против грамположительных полирезистентных бактерий (кокков и палочек). Механизм действия его заключается в быстрой



деполяризации мембраны бактериальной клетки с последующим подавлением синтеза ДНК, РНК и белка.

Антибиотики характеризуются избирательностью действия в отношении микроорганизмов, и в терапевтических дозах не оказывают вредного воздействия на макроорганизм (хотя это положение нельзя считать абсолютным). Избирательность действия обусловлена тем, что они угнетают метаболизм в микробной клетке за счет связывания с определенной мишенью, которой может быть клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, рибосомы, ДНК или ферменты. Мишень может быть одна или несколько.

Вместе с тем некоторые микроорганизмы обладают природной или приобретенной устойчивостью к влиянию антибиотиков. При природной, первичной устойчивости у микробной клетки изначально отсутствует мишень для действия химиотерапевтического препарата, например, клеточная стенка, поэтому антибиотик, нарушающий синтез клеточной стенки, становится бесполезным. Подобная природная устойчивость отмечена у синегнойной палочки к флуоксациллину, а у энтерококков – ко всем цефалоспорином и аминогликозидам.

Приобретенная, или вторичная устойчивость обусловлена изменением генома микробной клетки в результате мутаций или переноса генетической информации от одной микробной клетки к другой с помощью плазмид или участков молекулы ДНК – транспозонов, которые не входят в состав плазмид, но способны встраиваться в хромосому донора. Плазмиды передаются при конъюгации, которая характерна для многих грамотрицательных и некоторых грамположительных бактерий. У стафилококков и стрептококков передача резистентности к антибиотикам может быть при трансдукции. Затем происходит селекция устойчивых штаммов микроорганизмов. Лекарственная устойчивость может быть множественной и развивается как у патогенной, условно-патогенной, так и у нормальной микрофлоры.

Механизмы приобретенной лекарственной устойчивости бывают различными.

- Во-первых, в микробной клетке может происходить модификация, т.е. развиваются структурные изменения в мишени для антибиотиков. Поэтому антимикробный препарат не может связаться с этой мишенью.

-Во-вторых, появляются ферменты, которые инактивируют антибиотики.

-В-третьих, развиваются механизмы, делающие клеточную стенку микроорганизма непроницаемой для антибиотика или усиленно выводящие из микробной клетки проникшие в нее лекарственные средства.

-В-четвертых, может развиваться другой путь метаболизма в микробной клетке, т.е. вместо одних микробных ферментов работают другие.

В настоящее время антибактериальная резистентность у микроорганизмов развивается так стремительно, что в 21 веке может возникнуть постантибиотическая эра, и смертность от инфекционных болезней будет такой же, как и в 19 веке, когда антибиотики не применялись.

#### **12.2.1.2. Классификация антибиотиков**

По антимикробному спектру антибиотики подразделяются на антибиотики узкого и широкого спектра действия. Узкий спектр подразумевает действие на какой-то определенный вид микроорганизмов или их группу, например, только на грамположительные или грамотрицательные бактерии или только на микроскопические грибы. Антибиотики широкого спектра действия эффективны в отношении многих видов микроорганизмов, например, действуют и на аэробов или факультативных анаэробов, и на облигатных анаэробов.

Антибиотики подавляют рост и размножение возбудителей и в организме (*in vivo*), и в питательной среде (*in vitro*). На микробную клетку они могут оказывать бактерицидное (гибель микробной клетки) или бактериостатическое действие (тормозят рост и размножение, но микробную клетку не убивают).

Согласно современной классификации антибактериальные антибиотики чаще всего подразделяют в зависимости от строения на следующие группы:

- $\beta$ -лактамы;
- Аминогликозиды;
- Тетрациклины;
- Макролиды и азамиды;
- Линкозамины;
- Препараты группы левомицетина;
- Полимиксины;
- Гликопептиды;
- Антибиотики разных групп.

В отдельные группы выделены противотуберкулезные, противогрибковые, противоопухолевые антибиотики.

К  *$\beta$ -лактамам* антибиотикам относят те, которые в составе своих молекул содержат  $\beta$ -лактамное кольцо: пенициллины природные и полусинтетические, цефалоспорины 4-х поколений, цефамицины, карбапенемы 2-х групп, монобактамы. Эти антибиотики нарушают биосинтез пептидогликана клеточной стенки у бактерий. Они обладают высокой антимикробной активностью, но к ним быстро развивается устойчивость микроорганизмов, которые вырабатывают фермент  $\beta$ -лактамазу, разрушающую  $\beta$ -лактамное кольцо.

В настоящее время созданы комбинированные  $\beta$ -лактамы, в состав которых включены специфические ингибиторы  $\beta$ -лактамаз. Некоторые из  $\beta$ -лактамных препаратов действуют в основном на грамположительные

бактерии (препараты группы пенициллинов), другие обладают широким спектром действия, оказывая влияние и на грамотрицательные, особенно это характерно для цефалоспоринов 4-го поколения, цефамицинов, карбапенемов, монобактамов. Цефалоспорины 4-го поколения, цефамирицины, карбапенемы высокоэффективны против анаэробных бактерий, в том числе бактероидов. Карбапенемы обладают столь широким спектром действия на все основные возбудители гнойно-септических заболеваний, что их иногда называют антибиотиками «ультраширокого» спектра действия и используют против нозокомиальных инфекций.

В настоящее время широкое распространение получили препараты, являющиеся сочетанием  $\beta$ -лактамных препаратов и других антимикробных субстанций, которые защищают  $\beta$ -лактамы от разрушения ферментами бактерий (амоксициллин/клавулановая кислота; амоксициллин/сульбактам; ампициллин/сульбактам; пиперациллин/тазобактам). «Защищенные»  $\beta$ -лактамы обладают выраженной активностью в отношении условно-патогенных бактерий, в том числе бактероидов.

$\beta$ -лактамные антибиотики применяют при гнойно-септических процессах различной локализации: инфицированных ранах кожи, сепсисе, инфекциях дыхательных путей, мочевого тракта, для профилактики гнойных осложнений при хирургических вмешательствах, остеомиелите, отите.

К побочным эффектам антибиотиков этой группы относят токсико-аллергические реакции, появление грибковых поражений кожи и слизистых оболочек. Цефалоспорины, карбапенемы помимо аллергических реакций вызывают нарушение функции почек и развитие нейтропении (снижении числа нейтрофилов).

*Аминогликозиды* имеют в составе своих молекул аминсахара, соединенные с агликоновым фрагментом. Их делят на амидогликозиды 1-

го, 2-го и 3-го поколений. К ним относят стрептомицин, канамицин, неомицин, гентамицин, тобрамицин, амикацин, сизомицин. Антибиотики этой группы обладают широким спектром антибактериального действия, особенно в отношении грамотрицательных микроорганизмов, но не эффективны против анаэробов. Механизм их действия направлен на рибосомы бактерий, они связываются с 30 S-субъединицей рибосом и блокируют присоединение к ним транспортной РНК. В основном их действие направлено против стафилококков, протей, эшерихий, клебсиелл. Стрептомицин, канамицин, неомицин (аминогликозиды 1 поколения) в настоящее время не считаются высокоэффективными, т.к. большинство условно-патогенных микроорганизмов выработало к ним устойчивость, хотя истинные патогены (иерсинии, бруцеллы, возбудители туляремии) не утратили чувствительность к стрептомицину.

Неомицин назначают при энтеритах, гнойных заболеваниях кожи, глаз. Мономицин эффективен при инфекциях мочевых путей. Канамицин применяют при тяжелых гнойно-септических заболеваниях различной локализации, при бактериальных энтероколитах. Канамицин и неомицин используют в предоперационном периоде для деконтаминации кишечника при операциях на желудочно-кишечном тракте. Гентамицин (аминогликозид 11 поколения) и сизомицин (аминогликозид 111 поколения) особенно показаны при раневой инфекции, гнойных процессах в легких, инфекциях мочевых путей. Тобрамицин является одним из самых эффективных аминогликозидов 111 поколения в отношении синегнойной палочки. Его применяют при сепсисе, пневмонии, гнойном отите, инфекциях мочевых путей, послеоперационных нагноениях и гнойных инфекциях других локализаций. В настоящее время одним из наиболее эффективных препаратов данной группы является амикацин (аминогликозид 111 поколения), который очень эффективен против грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов (клебсиелл, протей, цитробактера, серратий). Бактерицидный эффект аминогликозидов

усиливается при их сочетании с  $\beta$ -лактамами и фторхинолонами. Аминогликозиды очень редко вызывают аллергические реакции, но могут повреждать орган слуха и почки.

*Тетрациклины* в основе своего химического строения имеют конденсированную четырехциклическую систему, которая называется «тетрациклин». Препараты этой группы (тетрациклин и его соли, окситетрациклин, доксициклин, метациклин) высокоэффективны в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, но абсолютно неэффективны в отношении протей и синегнойной палочки. Из этой группы антибиотиков особенно перспективным в настоящее время является доксициклин. Механизм действия тетрациклинов на рибосомы такой же, как и у аминогликозидов, т.е. они подавляют синтез белка в бактериальной клетке. Показаниями к применению тетрациклинов при оппортунистических инфекциях служат: пневмонии, бронхиты, ангина, инфекция мочевых путей, заболевания глаз.

Эффективность тетрациклинов снижается в присутствии ионов кальция, имеющих в молоке, а также магния и железа при наличии в желудочно-кишечном тракте пищевых масс.

При длительном применении тетрациклинов могут развиваться диарея, кандидозы с поражением кожи и слизистых оболочек рта и кишечника, дрожжевой сепсис, вызванный *C. albicans*, могут возникать аллергические реакции вплоть до отека Квинке. Кроме того в настоящее время к тетрациклинам у достаточно большого числа штаммов стафилококков, энтерококков и грамотрицательных бактерий выработалась лекарственная устойчивость. Из ДНК бактерий кишечника свиней и человека выделены гены устойчивости к тетрациклину.

*Макролиды и азамиды* в основе химической структуры имеют лактонное кольцо, к которому присоединены у разных представителей этой группы антибиотиков различные заместители, влияющие на их свойства. Эти антибиотики действуют на 50 S – субъединицу рибосомы,

подавляя процесс биосинтеза белка. К макролидам и азамидам относят эритромицин, олеандомицин, спирамицин (макролиды 1 поколения), рокситетрамицин, кларитрамицин, азитрамицин (макролиды 2 поколения).

Препараты этой группы обладают целым набором положительных качеств. Прежде всего, они имеют широкий спектр антибактериальной активности, хотя действуют, прежде всего, на многие грамположительные бактерии и менее эффективны в отношении грамотрицательных. Достоинством является их активность в отношении анаэробов. Самым эффективным является азитрамицин, которым лечат гнойно-септические заболевания различной локализации (отиты, пневмонии, ангины, инфекции кожи и мочеполового тракта). Другим положительным качеством антибиотиков этой группы является способность длительно сохранять высокую концентрацию в крови и тканях, поэтому их можно вводить 1-2 раза в сутки. Важно и то, что они обладают менее выраженным побочным эффектом, хотя при длительном применении возможны нарушения функции печени и аллергические реакции. Кроме того у них отмечены противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты.

*Линкозамин*ы по механизму своего действия близки к макролидам. Они эффективны в отношении грамположительных бактерий (стафилококков) и грамотрицательных анаэробов, в том числе неспорообразующих. Механизм действия препаратов этой группы направлен на подавление биосинтеза белка на рибосомах. Линкозаминны включают такие препараты как линкомицин и клиндамицин. В основном их используют для лечения отитов, остеомиелитов, пневмонии, гнойных инфекций мягких тканей и кожи. Из этих препаратов большей эффективностью обладает клиндамицин.

Побочные реакции: кандидозы, аллергия, лейкопения, тромбоцитопения.

Группа *левомицетина* (левомицетин и его производные, в том числе синтомицин) эффективна в отношении многих грамположительных и

грамотрицательных бактерий, за исключением синегнойной палочки. Механизм их действия также направлен на подавление биосинтеза белка. Препараты этой группы обладают выраженным негативным воздействием на макроорганизм, вызывая при приеме внутрь дисбактериоз кишечника, осложнения со стороны кроветворной системы, центральной нервной системы. По этой причине данные антибиотики применяют местно при гнойных ранах кожи, вызванных условно-патогенными бактериями.

*Полимиксины* по своему химическому строению являются сложными соединениями, включающими остатки полипептидов. Они эффективны в отношении грамотрицательной микрофлоры, в том числе кишечной и синегнойной палочки, но не действуют на протей и грамположительные кокки. Механизм действия полимиксинов на микроорганизмы обусловлен их взаимодействием с липополисахаридами, их нейтрализацией. При этом нарушается структура клеточных мембран. Представитель этой группы полимиксин М применяют местно для лечения ран, воспалений глаз и уха, абсцессах, внутрь – для лечения энтеритов, колитов. Полимиксин В сульфат используют при сепсисе, менингите, пневмонии, гнойных инфекциях мочевых путей. Побочные эффекты могут быть в виде токсического влияния на почки, аллергии.

*Гликопептиды* – природные антибиотики, включающие ванкомицин, тейкопланин. Они представляют собой препараты узкого спектра действия и эффективны против полирезистентных грампозитивных бактерий (стафилококков, стрептококков, в том числе энтерококков, пептококков, коринебактерий и других). Механизм их действия складывается из нарушения формирования клеточной стенки в результате нарушения синтеза пептидогликана. Ванкомицин более активен по отношению к коагулазоотрицательным стафилококкам, а тейкопланин – по отношению к золотистому стафилококку, энтерококкам, стрептококкам.

*Антибиотики разных групп* имеют различное химическое строение, но их объединяет высокая эффективность по отношению к стафилококкам,



которые нечувствительны к другим антибактериальным препаратам. К представителям этой группы относят: гелиомицин, грамицидин, фузидин-натрий, ристомицин сульфат и другие. Некоторые из этих препаратов применяют только наружно (гелиомицин, грамицидин), другие (фузидин-натрий, ристомицин сульфат) - парентерально при лечении септицемии, пневмонии, отитах и т.д.

Антибиотики у мелких непродуктивных животных в ряде случаев (хроническое воспаление мочевого пузыря на фоне мочевых камней) можно инъецировать местно в подкожную клетчатку мошонки справа и слева от срединного шва вместо внутривенного или внутримышечного способа. В этом случае удастся избежать развития сенсibilизации организма, дисбактериоза и кандидоза.

### **12.2.1.3. Сульфаниламидные препараты**

В историческом аспекте в практику лечения инфекционных болезней были впервые внедрены именно сульфаниламидные препараты (1935 г.), хотя первый антибиотик пенициллин был открыт еще в 1929 году, но широко его стали использовать только в 40-е годы 20 столетия.

К сульфаниламидным препаратам относят лекарственные средства, имеющие общую формулу. В настоящее время известно около 150 сульфаниламидных препаратов. До эры антибиотиков сульфаниламидные препараты использовались широко, но в настоящее время их применяют достаточно редко из-за относительно невысокой эффективности и выраженных побочных реакциях. Вместе с тем некоторые из них не потеряли своей актуальности.

Механизм действия их направлен на некоторые ростовые факторы микроорганизмов, в частности, на фолиевую кислоту. При этом в микробной клетке нарушаются обменные процессы. Сульфаниламидные препараты эффективны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (стрептококков, в том числе энтерококков,

эшерихий, протей, подавляют рост анаэробов). Некоторые подавляют рост клебсиелл.

В зависимости от способности всасываться из желудочно-кишечного тракта эти препараты используют по-разному: местно (фталазол, сульгин, фтазин) или через рот (стрептоцид, норсульфазол, сульфодиметоксин). Но в основном ими лечат инфекционные заболевания мочевыводящих путей, т.к. они выводятся почками (уросульфан).

Сульфаниламидные препараты можно сочетать с другими препаратами с антибактериальным эффектом. Такие комбинированные лекарственные формы высокоэффективны при лечении гнойно-септических инфекций различной локализации. Например, Ко-тримоксазол (синоним «бисептол», «бактрим») действует на стафилококки, кишечную палочку, протей. В основном этот препарат вводят при заболеваниях дыхательных путей.

К побочным эффектам следует отнести выпадение сульфаниламидных препаратов в почках в виде кристаллов, закупоривающих мочевые каналы, аллергические реакции, лейкопению, невриты, иногда нарушения со стороны центральной нервной системы, а также быстрое возникновение лекарственной устойчивости бактерий.

#### **12.2.1.4. Производные 8-оксихинолина, нафтиридина. Хинолоны**

Производные 8-оксихинолина применяют при кишечных инфекциях, инфекциях мочевого тракта, вызванных грамположительными, грамотрицательными бактериями и кандидами, при гнойных заболеваниях кожи. Побочные эффекты заключаются в поражении зрительного и периферических нервов.

Производные нафтиридина и хинолоны родственны 8-оксихинолонам.

Они включают препараты 2-х групп. К первой группе относят *нафтиридины*: налидиксовую кислоту (синонимы: неграм, невигамон),

оксалиниевую кислоту (синонимы: грамурин, диоксацин), пипемидиевую кислоту (синоним: палин). Ко второй группе относят производные *фторхинолонов*: перфлорксацин, норфлорксацин, офлорксацин и другие.

Механизм действия препаратов этой группы связан с подавлением работы ДНК за счет нарушения синтеза этой нуклеиновой кислоты. Нафтиридины применяют в основном при инфекциях мочевого тракта, фторхинолоны обладают более широким спектром действия. Перфлорксацин, норфлорксацин, офлорксацин преимущественно влияют на грамотрицательные бактерии, вызывающие инфекционные поражения кожи, уха, горла, но в основном их используют при тяжелых инфекциях мочевых, дыхательных путей, остеомиелитах.

Побочные эффекты проявляются в виде влияния на центральную нервную систему с развитием судорог, у растущих организмов могут вызывать повреждение суставов.

#### **12.2.1.5. Производные хиноксалина**

Препараты этой группы антимикробных препаратов (хиноксидин, диоксидин, диоксиколь, диоксипласт) оказывают выраженный лечебный эффект при болезнях, вызванных условно-патогенными бактериями: вульгарным протеем, синегнойной палочкой, клебсиеллами, стафилококками. Хиноксидин и диоксидин применяют при тяжелых гнойно-воспалительных процессах, локализующихся в мочевых путях, в легких, при дисбактериозах кишечника. Диоксидин назначают для профилактики госпитальной инфекции при катетеризации мочевого пузыря. Диоксиколь и диоксипласт используют местно при раневой и ожоговой инфекции.

Побочные эффекты: хиноксидин может вызывать аллергию, судорожные сокращения мышц конечностей, кандидоз кишечника, а диоксидин также может оказывать неблагоприятное влияние на плод.

### **12.2.1.6. Производные нитрофурана**

Препараты данной группы в настоящее время считаются не столь эффективными по сравнению с другими антибактериальными средствами, поэтому их стали применять ограниченно, и даже обсуждается вопрос об исключении некоторых из них из номенклатуры.

Вместе с тем при местном лечении: гнойные раны кожи, глазные болезни достаточно часто используют нитрофурановый препарат фурацилин, который обладает антибактериальной активностью в отношении грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, в том числе стафилококков и кишечной палочки. Производные фурацилина в виде мазей используют местно для лечения повреждений кожи и послеоперационных ранах.

Фуразолин, фурагин растворимый используют внутрь для лечения остеомиелита, пневмонии, септицемии. Фурадонин, фурагин применяют при урологических операциях и катетеризации мочевого пузыря в профилактических целях.

Механизм их действия на микробную клетку обусловлен нарушением дыхания и ингибирования синтеза нуклеиновых кислот.

### **12.2.1.7. Противотуберкулезные препараты**

Препараты этой группы обладают широким спектром антимикробного действия. Так, стрептомицин (аминогликозидный антибиотик) эффективен не только в отношении микробактерий, но и грамотрицательных и некоторых грамположительных микроорганизмов, в том числе условно-патогенных (кишечной палочки, клебсиеллы, стафилококков). Его назначают в комбинации с левомицетином для лечения пневмоний, вызванных клебсиеллами. Другой представитель этой группы – рифампицин особенно эффективен в отношении стафилококков, поэтому его используют для лечения воспалительных заболеваний легких, гнойной

инфекции мочевых путей, остеомиелите, вызванных полирезистентными стафилококками.

### 12.2.1.8. Противогрибковые препараты

Существует 3 основных вида грибных инфекций. К первому виду относят заболевания, которые вызывают плесневые грибы. Ко второму виду принадлежат заболевания, этиологическим фактором которых являются истинные дрожжи (криптококки). К третьему виду относят дрожжеподобные грибы, способные образовывать длинные неразветвленные нити (*Candida albicans*).

К противогрибным препаратам относят *полиены*. Препараты этой группы используют для профилактики и лечения заболеваний, вызванных грибной микрофлорой, а также для профилактики и лечения осложнений в виде кандидозов при применении антибактериальных препаратов. В этом случае используют: нистатин, леворин, амфоглюкамин, декамин и другие. Такие препараты как клотримазол, миконазол эффективны не только против дрожжевых грибов, но и против стафилококков.

Нистатин используют в основном для лечения микозов кожи, вызванных *C. albicans*. Для лечения заболеваний, вызванных *C. albicans*, применяют также *производные имидазола* (клотримазол, эконазол, миконазол).

Полиеновый препарат амфотерицин В обладает широким спектром действия. Он применяется при поражении организма не только патогенными, но и условно-патогенными грибами. Его назначают при кандидозах, аспергиллезах. К побочным реакциям относят развитие лихорадки, озноба, повреждении почек.

Некоторые препараты из группы *триазолов* и *эхинокандиды* эффективны при аспергиллезах.

При исследовании большого числа нозокомиальных штаммов микроорганизмов в различных лечебных учреждениях многих регионов

России установлено, что из антибактериальных препаратов в отношении грамотрицательной микрофлоры семейства кишечной палочки наиболее эффективными оказались антибиотики, которые недавно стали применяться в клинике, - карбапенемы, а для стафилококков – ванкомицин и тейкопланин.

### **12.2.2. Иммунотерапия. Иммуотропные препараты**

Функционирование иммунной системы зависит от влияния на организм многочисленных факторов, среди которых немаловажная роль принадлежит самому макроорганизму: врожденным особенностям звеньев неспецифической и специфической защиты, наследственности, состоянию нервной и эндокринной систем, а также внешним воздействиям и условиям содержания животных, сбалансированности питания, физической активности, стрессам, экологической обстановке.

Вследствие этого справляться с инфекционными заболеваниями с помощью одних только антибиотиков невозможно. В большинстве случаев антибиотики подавляют размножение возбудителя, но не способны полностью удалить его из организма.

Если развитию оппортунистических инфекций препятствуют неспецифические факторы защиты, в том числе доиммунное воспаление, то освобождению организма от патогенов при уже развившейся инфекции под силу только иммунной системе. Поэтому, если какое-либо ее звено или факторы неспецифической резистентности ослаблены или отсутствуют, то химиотерапевтические средства будут неэффективными.

Знания причин развития и особенностей протекания оппортунистических инфекций позволяют прийти к заключению, что для борьбы с ними следует сочетать антибиотикотерапию с иммунотерапией.

Иммунотерапией называют лечебное воздействие на иммунную систему для прекращения патологического процесса с использованием препаратов химической или биологической природы.

Иммунотерапия может быть общей и местной. При общей терапии препарат равномерно действует на всю лимфоидную ткань, при местной - только на очаг поражения, что исключает или снижает общие побочные эффекты. При этом достигается наибольшее влияние на местные факторы иммунитета. Возможна комбинированная иммунотерапия, которая включает и общее, и местное воздействие.

Иммунотерапия может быть специфической и неспецифической. При специфической используют антигены или антитела, специфичные по отношению к возбудителю или аллергену. Неспецифическая иммунотерапия включает факторы химического и физического воздействия на иммунную систему.

Главной мишенью применения иммуномодулирующих препаратов являются животные с вторичными иммунодефицитами, поскольку нельзя с помощью иммуностропных средств исправить генетический дефект, имеющийся при первичных формах иммунодефицита.

Иммунотерапию необходимо применять не во всех случаях лечения, а только тогда, когда проводимое лечение недостаточно эффективно. В этом случае ориентируются на клинические критерии сниженного иммунитета, т.е. наличие иммунодефицита. К ним относят: хроническую гнойную инфекцию, низкую эффективность лечения воспалительного процесса общепринятыми методами, использование антибактериальной терапии, длительное лечение гормональными препаратами (глюкокортикоидами), при лучевой терапии.

В основе любого хронического инфекционно-воспалительного процесса лежат изменения в иммунной системе, которые и являются одной из причин этого процесса. При назначении иммунотерапии следует также, по возможности, проводить иммунодиагностику, т.е. исследовать клинические признаки иммунодефицита: снижение количества и нарушение функции лимфоцитов, снижение уровня иммуноглобулинов, комплемента, незавершенный фагоцитоз не менее чем на 30-50%.

Имеется несколько классификаций иммуотропных препаратов, т.е. препаратов, действующих на иммунную систему.

Согласно *первой классификации* все иммуотропные препараты, можно разделить на 3 группы: иммуномодуляторы, иммуностимуляторы и иммунодепрессанты.

Имуномодуляторы восстанавливают функции иммунной системы. Иммуностимуляторы усиливают иммунный ответ, а иммунодепрессанты его подавляют.

Согласно *другой классификации* современные иммуотропные препараты также делят на ряд групп:

- иммуноглобулиновые препараты для заместительной терапии, т.е. при дефиците иммуноглобулинов определенного класса: IgA, IgG, IgM;

- цитокины;

- синтетические иммуномодуляторы;

- иммуномодуляторы животного, бактериального или растительного происхождения;

- иммунодепрессанты.

Имуноглобулиновые препараты применяют для лечения первичных, врожденных иммунодефицитов, а также для лечения тяжелых бактериальных и вирусных инфекций с одновременным применением антибиотиков.

К группе *цитокинов* относят различные виды интерферонов, в частности, ИНФγ, который является мощным регуляторным цитокином Т-хелперов, он стимулирует противомикробные механизмы в эндотелиальных клетках. При этом бактерии, находящиеся внутриклеточно, не могут получать для своего развития питательные элементы. Интерфероны оказывают противовирусное, иммуностимулирующее, противоопухолевое действие. К группе цитокинов относят также интерлейкины – генно-инженерные препараты на основе ИЛ-1 и ИЛ-2. Они стимулируют фагоцитоз, вызывают размножение



(пролиферацию) и активацию Т- и В-клеток. Их используют при лечении различных тяжелых гнойно-воспалительных инфекций (сепсис, перитонит, остеомиелит), при туберкулезе. К таким препаратам, часто используемым в ветеринарной практике относят ронколейкин (синтетический аналог ИЛ-2). Кроме того ронколейкин предотвращает апоптоз-запрограммированную гибель клеток при тяжелой черепно-мозговой травме.

К *синтетическим иммуномодуляторам* относят препараты с противовирусным действием, которые активизируют выработку собственного интерферона, а также иммуномодуляторы, влияющие, прежде всего, на функцию клеток доиммунного воспаления: полиоксидоний, ликопад, гепавит, а также иммунофан - аналог гормонов тимуса, модификаторы биологического ответа.

К *иммуномодуляторам животного происхождения* относят препараты, полученные из органов животных (тимуса, костного мозга, из молок осетровых рыб). Иммуномодуляторы *бактериального происхождения* включают препараты, полученные из лизатов различных видов бактерий, Иммуномодуляторы *растительного происхождения* получены из трав.

#### **12.2.2.1. Иммуномодуляторы и показания к их применению**

По источнику происхождения иммуномодуляторы делят на эндогенные, экзогенные и синтетические.

*Иммуномодуляторы эндогенного происхождения* получают из тканей и органов животных. Из тимуса получают натуральные препараты (Т-активин, тимостимулин, тималин, риботан, вилозен) и синтетические (timoген, иммунофан). Из селезенки вырабатывают спленин, из фабрициевой сумки – бурсин, из костного мозга – миелопептид и В-активин. Иммуномодуляторы изготавливают из плаценты и крови.

*Экзогенные иммуномодуляторы* получают из микробного и растительного сырья, поэтому их подразделяют на иммуномодуляторы микробного и растительного происхождения.

Иммуномодуляторы микробного происхождения могут состоять из:

- компонентов клеточной стенки микроорганизмов и их производных. К ним относят: пептидогликан и его синтетический аналог ликолипид; липополисахарид из *Salmonella typhi*, из которого получен препарат –пирогенал; липополисахарид из *Cromobacter prodigiosum* (препарат продигиозан); О-антиген липополисахарида из *Salmonella typhi* (сальмозан); гликан из дрожжевых клеток (достим).

- производных нуклеиновых кислот - нуклеинат натрия, полирибонат, рибомунил, нуклеинат натрия в составе гамавита.

- микробных метаболитов и лизатов микробных клеток – ИРС-19, имудон, бронхомунал.

Экзогенные иммуномодуляторы растительного происхождения получают из экстрактов женьшеня, элеутерококка, эхинацеи, крапивы, мать-и-мачехи, люцерны (эракоид) и их сборов (виватон), на основе хвои (фоспренил) и гуминовых кислот растительных остатков (биостим, лигастим, лигфол).

*К синтетически полученным иммуномодуляторам* относят препараты, получаемые при химических реакциях: дибазол, левамизол, диуцифон, полиоксидоний.

Иммуномодуляторы рекомендуется применять с первого дня назначения химиотерапевтического препарата. В ряде случаев применение иммуномодулятора позволяет снизить дозу антибиотика. Подобные наблюдения были сделаны в отношении экстракта из растения сальвия, которые сами обладают выраженным противомикробным действием по отношению к грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам.

Первыми клетками, встречающими микроорганизмы, являются клетки доиммунного воспаления. Вследствие этого необходимо активизировать их работу. Главным фактором в клеточном ансамбле доиммунного воспаления является макрофаг, который выделяет цитокины, активирующие другие клеточные факторы: полиморфноядерные лейкоциты, естественные киллеры, моноциты, Т- и В-лимфоциты. На функциональную активность макро- и микрофагоцитарных клеток влияют препараты, полученные из микробных клеток: продигиозан, пирогенал, рибомунил, ликопид и другие.

В арсенал средств, воздействующих у людей на факторы естественной резистентности: макрофаги, полиморфноядерные лейкоциты и естественные киллеры, входит отечественный препарат полиоксидоний.

Этот препарат применяется не только как иммуномодулятор, но и как детоксикант (уменьшает действие различных ядовитых действий на макроорганизм). Он стабилизирует также цитоплазматические мембраны клеток и защищает клетки макроорганизма от действия оксидантов. Он эффективен при всех вторичных иммунодефицитах с хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями любых тканей и органов. Этот препарат активизирует миграцию макрофагов, усиливает очищение крови от чужеродных частиц, повышает поглотительную и бактерицидную активность фагоцитов за счет образования внутриклеточных активных форм кислорода, губительно действующих на микроорганизмы. Он усиливает выработку фагоцитарными клетками различных цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ). Кроме того, он действует на Т- и В-лимфоциты, усиливает антителообразование. Полиоксидоний эффективен из-за своих детоксифицирующих свойств и при острой инфекции, особенно это актуально при лечении септических состояний. Этот препарат хорошо сочетается со всеми антимикробными химиотерапевтическими препаратами (антибиотиками, противогрибными, противопротозойными, противовирусными).

В настоящее время он разрешен к медицинскому применению у детей и взрослых, но у животных в ветеринарной практике пока не применяется.

На функцию Т-лимфоцитов оказывают действие различные препараты, полученные из тимуса, в частности, тактивин, тималин, тимоген, иммунофан. Стимулятором и Т-, и В-лимфоцитов является миелопептид. Разные виды интерферонов активируют клетки-киллеры, а путем цитокиновой активации – разные звенья иммуногенеза, в том числе Т- и В-лимфоциты.

Однако любой иммуномодулятор, который оказывает преимущественное влияние на факторы неспецифической резистентности или клетки иммунной системы, в той или иной степени будет действовать и на всю иммунную систему в целом. Это связано с тем, что любые иммуномодуляторы воздействуют на иммунную систему не прямо, а опосредовано, через вырабатываемые этими клетками цитокины. Цитокины же обладают множественным и разнообразным влиянием на иммунную систему.

В ветеринарии иммуномодуляторы применяют для коррекции иммунодефицитов, реабилитации после перенесенных болезней, а также для оказания противострессорного действия (гамавит, экстракт женьшеня, лигфол, лигастим), метаболического действия, например, для увеличения уровня белка (препараты из полисахаридов и производные тимуса, левамизол), при вакцинации (фосфпренил, сальмозан, иммунофан, полирибонат, ронколейкин).

В качестве иммуномодулятора у птиц применяют препарат мидивет, который содержит комплекс макро- и микроэлементов. Он способен к выведению из организма токсических веществ, повышает белковосинтетическую функцию печени, повышает яйценоскость у кур, стимулирует регенерацию тканей, рост и развитие.

У коров используют в качестве иммуномодулятора витадептин – природный комплекс витаминов и полиненасыщенных жирных кислот. Введение этого препарата улучшает гемопоэз, увеличивает содержание Т-лимфоцитов, фагоцитарную активность и поглотительную способность полиморфноядерных лейкоцитов.

Для профилактики и лечения иммунодефицитов, коррекции обменных процессов при гнойно-септических заболеваниях у сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных применяют янтарную кислоту. Она улучшает показатели клеточного и гуморального иммунитета, нормализует кислотно-щелочной баланс.

В качестве иммунокорректоров у мелких непродуктивных плотоядных животных рекомендуют применять различные иммуномодуляторы: фоспренил (продукт переработки хвои), неотим (рекомбинантный гибридный белок на основе фактора некроза опухоли и тимозина), неоферон (дополнительно содержит рекомбинантный интерферон). Неотим особенно показан при пиодермиях, а неоферон, наряду с пиодермиями хорошо зарекомендовал себя к качеству средства, предотвращающего развитие гнойных и септических осложнений после травм и хирургического вмешательства. Хорошо зарекомендовал себя Риботан (смесь низкомолекулярных полипептидов и низкомолекулярных фрагментов РНК) воздействует на Т- и В- системы, активизирует макрофаги, стимулирует синтез интерлейкинов, созревание, дифференцировку и кооперацию лимфоцитов у этих животных. Корректирует первичный и вторичный иммунодефициты, эффективен при демодекозах. Иммунофан – производное молекулы тимопоэтина восстанавливает врожденный и приобретенный иммунодефицит.

Для того чтобы разобраться, в каких случаях следует у животных применять тот или иной иммуномодулятор рекомендуется учитывать состояние иммунной системы.

Для повышения активности естественной резистентности необходимо использовать иммуномодуляторы микробного или растительного происхождения (гликопин, достим, сальмозан, фоспренил, эракоид, гуминовые кислоты).

Если необходимо снизить избыточный синтез провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО, не снижая бактерицидную активность фагоцитов, используют гамавит. Гамавит представляет собой 20 синтетических аминокислот, 17 витаминов, компоненты нуклеиновых кислот, источники липидов. Этот препарат применяют для всех видов домашних и сельскохозяйственных животных. Он хорошо сочетается с антибиотиками и сульфаниламидными препаратами.

Для неспецифической профилактики заболеваний используют синтетические иммуномодуляторы и препараты растительного происхождения.

При вирусных инфекциях и инфекциях с внутриклеточным паразитизмом для активации Т-клеток животным вводят интерфероны, препараты тимуса, фоспренил.

Ронколейкин и ему подобные препараты показаны при лечении опухолей, хронических инфекций и травмах. Для активации В-клеток применяют миелопептид и В-активин.

В ветеринарии достаточно широко применяют мази и настойки, обладающие бактерицидным эффектом. Мазь Ветабиол получают из зелени сосны и ели. Она губительно действует на *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*. Спиртовая настойка Сафродерм, полученная из растений, используется для промывания гнойных полостей, орошения ран, лечения ожогов, маститов.

#### **12.2.2.2. Пробиотики. Пребиотики. Синбиотики**

Основным средством коррекции кишечной микрофлоры и лечения дисбактериоза кишечника являются пробиотические препараты.

*Пробиотиками* называют препараты, в состав которых входят живые симбионтные микроорганизмы, полученные от здоровых животных. Назначение этих микроорганизмов состоит в восполнении утраченных макроорганизмом лактобактерий, бифидобактерий и другой полезной микрофлоры. Пробиотические микроорганизмы обладают способностью предотвращать и корректировать дисбиотические механизмы. Число пробиотиков с каждым годом возрастает.

В ветеринарии используют большое количество пробиотических препаратов под различными торговыми марками (некоторые из них перечислены ниже). Кроме основного своего предназначения пробиотики обладают и другими полезными для организма функциями.

*Пребиотиками* являются вещества, которые применяют для питания и активного функционирования собственной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и введенных извне пробиотиков (лактоулоза, инулин и другие).

*Синбиотиками* называют препараты, которые имеют в своем составе и антибиотики, и пребиотики.

Молочнокислые микроорганизмы являются основой многих пробиотиков и пребиотиков. Лактобациллы отбирают в качестве пробиотиков в соответствии с международными программами LABIR (The Lactis Acid Bacteria Industrial Plarform) и PROBDEMO (Demonstration of Nutritional Functionality of Probiotic Foods).

Этот отбор основан на свойстве микроорганизмов продуцировать вещества с бактерицидной активностью – бактериоцины. Вследствие этого пробиотики используют не только для профилактики и терапии инфекционных болезней желудочно-кишечного тракта, но и дыхательных путей и кожи. Известно, что кроме молочнокислой микрофлоры, бифидобактерий и кишечной палочки, другие бактерии способны выделять вещества с бактерицидной активностью: *Vacillus subtilis* продуцируют бактериоцин субтилизин, энтерококки – энтероцин.

Бактериоцины применяют и для консервации пищевых продуктов (низин, сакацин, карноцин, томицид, курвацин и другие).

В качестве пробиотиков чаще всего в практике используют штаммы бифидобактерий и молочнокислых бактерий, а также сенную палочку – *Bacillus subtilis*, энтерококки – *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, кишечную палочку. Их применяют изолированно или в комбинации друг с другом. Пробиотики оказывают влияние на барьерную функцию кишечного эпителия, стимулируют иммунный ответ, что выражается в увеличении титров антител, повышают активность макрофагов, увеличивают количество Т-лимфоцитов, естественных киллеров, уровень интерферона. При применении пробиотиков изменяется иммунная реактивность эпителия не только кишечника, но и слизистых оболочек половых органов, дыхательных путей, кожи.

К новому поколению пробиотиков относят бесклеточный микробный пробиотический препарат на основе метаболитов и структур пробиотических штаммов и изолятов.

В птицеводстве в последние годы применяют препарат Оралин на основе энтерококков, алифт-П (*Lactobacillus acidophilus*), бифинорм (*Bifidobacterium adolescentis*) в свиноводстве – Проваген, на 90% состоящий их спор и анаэробных *Bacillus licheniformis*.

Споры *Bacillus subtilis*, добавляемые в рацион кур-несушек, улучшают коричневый цвет яиц, улучшают качество яичной скорлупы, снижают уровень патогенных бактерий и повышают размножение лактобактерий в желудочно-кишечном тракте. Особенно ценным является пробиотик, полученный из аутоштамма *Bifidobacterium gallinarum*, используемый для профилактики и лечения кишечных заболеваний у цыплят.

Из мерзлотных почв Якутии выделены штаммы *Bacillus subtilis*, из которых сконструирован пробиотик сахабактисубтил. Он обладал выраженной антагонистической активностью по отношению ко многим



патогенным и условно-патогенным бактериям и грибам. Его используют для профилактики и лечения диареи новорожденных телят и поросят, т.к. он увеличивает иммунобиологическую реактивность организма, усвояемость корма и прирост массы тела.

Лактобифадол, включающий лактобациллы и бифидобактерии, обладает множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам различного класса. Его широко используют у овец с профилактической целью для снижения количества маститов у овцематок и увеличения сохранности молодняка.

У собак пробиотическими свойствами обладают *Lactobacillus reuteri*, выделяемые из кишечника. В качестве пробиотиков у мелких плотоядных животных рекомендуют использовать лактобифид, содержащий лактобактерии, бифидобактерии и молочнокислый стрептококк. Этот препарат хорошо зарекомендовал себя для устранения последствий стрессорного воздействия, в послеоперационном периоде, после антибиотикотерапии, при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта. Он восстанавливает нормофлору.

У животных используют комбинированные иммунопробиотические препараты, в состав которых входят живые лиофилизированные бактерии-представители нормофлоры и регуляторы иммунного ответа, действующие на иммунокомпетентные клетки слизистой оболочки кишечника.

К таким препаратам относят лактоферон – комплекс лактобактерий, бифидобактерий, молочнокислого стрептококка, выделенных от здоровых животных, и интерферонов. Лактоферон применяют для кошек. Другой препарат из этой серии – бактонеотим – комплекс бактерий пробиотиков и рекомбинантная гибридная молекула фактора некроза опухоли  $\alpha$  и тимозина  $\alpha$ -1. Препарат применяют у кошек и собак. Он восстанавливает микробиоценоз кишечника, активизирует продукцию IgA, показан при острых гнойных воспалительных заболеваниях кожи и подкожной клетчатки.

К некоторым пробиотикам добавляют вещества, стимулирующие их рост и размножение. Таким свойством обладает препарат «Актофлор С», который реализует чувство кворума у нормальной микрофлоры, тем самым обеспечивается защита макроорганизма от условно-патогенных и патогенных бактерий без подавления у них чувства кворума.

У каждого вида пробиотиков есть не только положительные, но и отрицательные стороны. Во-первых, следует иметь в виду, что использование пробиотиков может быть неэффективным, т.к. они не приживаются в конкретном макроорганизме, поскольку получены от других особей. С помощью генетических методов показано, что бифидобактерии, принятые с молоком исчезают после прекращения их приема.

Во-вторых, пробиотики в некоторых случаях могут даже нести вред макроорганизму, выступая при определенных обстоятельствах в качестве оппортунистических патогенов. Кроме того сами пробиотики могут приводить к развитию дисбиотических состояний, подавляя представителей аутофлоры хозяина, нарушая их колонизационную резистентность.

При исследовании биосовместимости лактобацилл, имеющих в микрофлоре животных и человека, и лактобацилл производственных штаммов установлено, что в большинстве случаев взаимоотношения носили антагонистический характер. Это касалось лактобацилл, выделенных из различных мест их природного обитания: кишечника, полости рта, влагалища. При этом пробиотические штаммы подавляли лактобациллы собственной микрофлоры.

Имеется и еще одна опасность пробиотиков для макроорганизма. При создании генетически модифицированных бактерий, используемых в качестве пробиотиков, в стартерную культуру вводят гены-маркеры, которые определяют их устойчивость к антибиотикам. Попадание таких микроорганизмов в организм хозяина может приводить к передаче этих

генов бактериям аутофлоры при рекомбинации. В результате этого у аутофлоры может развиться лекарственная устойчивость.

В птицеводстве для избегания дисбактериоза используют различные пробиотические препараты: дрожжи, споровые микроорганизмы, энтерококки, пробиотики на основе лактобактерий и бифидобактерий. Дрожжи, которые перед включением в состав кормов подвергают термической обработке, могут при длительном применении вызывать нарушение пуринового обмена, аллергию, патологию почек и суставов, интоксикацию цыплят за счет накопления в них мочевины при культивировании. *Bacillus subtilis*, используемые в качестве споросодержащих пробиотиков, продуцируют природные антибиотики группы полимиксинов, поэтому они способны вытеснять патогенную микрофлору. Вместе с тем при повышенной перистальтике кишечника споры не успевают перейти в вегетативные клетки и проходят транзитом, не оказывая ожидаемого действия. Пробиотики на основе бифидобактерий видоспецифичны, поэтому могут не приживаться в кишечнике, а лактобактерий – термолабильны, неустойчивы к технологическим процессам.

Учитывая возможные нежелательные последствия использования пробиотиков в качестве лечебных средств для устранения дисбактериоза, рекомендуется при их разработке предварительно *in vitro* провести контроли:

- определить в стартерных культурах наличие плазмид, несущих гены лекарственной устойчивости;
- изучить у них наличие генов патогенности, в частности у энтерококков (гемолизины или цитолизины).

Перед назначением пробиотика животному для предварительного установления его эффективности необходимо *in vitro*:

- исследовать чувствительность к пробиотику, в частности, на основе лактобацилл и *Bacillus subtilis*, микробной культуры от больного организма;

- определить бисовместимость собственных лактобацилл и лактобацилл пробиотического штамма.

Можно прогнозировать защитную способность молочнокислых бактерий по индукции ими выработки интерлейкинов. Для этого к мононуклеарам периферической крови добавляют штаммы молочнокислых бактерий и инкубируют 24 часа, после чего определяют уровень ИЛ-12, ИЛ-10, ФНО $\alpha$ , интерферон  $\gamma$ . Штаммы, которые вызывают большую продукцию противовоспалительных интерлейкинов и меньшую выработку провоспалительных интерлейкинов, лучше защищают от дисбактериозов *in vivo*.

### **12.2.3. Вакцины против условно-патогенных микроорганизмов**

Наряду с лечением оппортунистических инфекций антибактериальными препаратами и средствами воздействия на специфические и неспецифические факторы защиты, возможно создание вакцин из аутоштаммов или штаммов, циркулирующих в конкретном лечебном учреждении.

Как правило, в очаге инфекции присутствует ассоциация условно-патогенных микроорганизмов. Вследствие этого вакцина также должна быть поликомпонентной.

В практике здравоохранения для лечения людей используют ряд подобных препаратов: ВП-4; СПСА; пиопол.

ВП-4 вакцина включает антигены стафилококков, протей, клебсиелл и кишечной палочки. Эти антигены являются лигандами для связывания с Toll-подобными рецепторами макрофагов.

СПСА вакцина является стафило-протейно-синегнойной.

Пиопол создан на основе СПСА вакцины с введением в ее состав иммуномодулятора полиоксидония.

Имеются и моновакцины, применяемые при особенно часто встречающихся возбудителях оппортунистических инфекций, в частности, стафилококков (в структуре болезней, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, около половины занимают стафилококковые инфекции). Для лечения стафилококковых гнойно-септических поражений используют сухую бесклеточную стафилококковую вакцину, которая представляет собой комплекс антигенов клеточной стенки данного микроорганизма.

Для борьбы с инфекциями, вызванными синегнойной палочкой, разработаны препараты из белков наружной мембраны, полученные генно-инженерным путем с помощью ПЦР. Для этого в клетки кишечной палочки встраивают белки синегнойной палочки и получают в конечном итоге рекомбинантные белки вакцины.

В ветеринарии подобные вакцины пока не созданы.

### **12.3. Профилактика и лечение гнойных осложнений хирургических ран**

#### **12.3.1. Профилактика гнойных осложнений**

При проведении хирургических вмешательств, для профилактики послеоперационных инфекций рекомендуется неукоснительно соблюдать правила асептики и антисептики. В настоящее время создан отечественный полимерный антисептик анавидин, эффективный в отношении многих госпитальных штаммов аэробов и анаэробов. Им можно обрабатывать руки хирурга, операционное поле, эндоскопическое оборудование, сосудистые катетеры, объекты внешней среды. Анавидин образует водорастворимую биоцидную пленку.

В качестве одного из приемов, предотвращающих развитие инфекции в ране при хирургическом вмешательстве, рекомендуют вводить антибиотики не после операции, а перед ее началом. Это связано с тем, что микробная контаминация раны практически всегда неизбежна. К концу операции в 80-90% случаев раны обсеменены различной микрофлорой, чаще всего стафилококками. Даже в условиях максимальной стерильности при получении гнобациотических животных, в частности, поросят, последние были контаминированы эпидермальным стафилококком и *Bacteroides fragilis*.

Применяемые антибиотики должны быть направлены против часто встречающихся микроорганизмов, прежде всего стафилококков, т.к. они в 80% вызывают нагноение. Полагают, что на настоящий момент целесообразно применять цефалоспорины 1 и 2-го поколений и «защищенные» пенициллины (амоксициллин/клавулановая кислота, амоксициллин/сульбактам) для предотвращения развития стафилококков в ране. При проведении операций на легких, необходимо предупреждать развитие и стафилококков, и стрептококков. Если операция проводится на органах брюшной полости, то необходимо вводить препараты, действующие не только на грамположительные, но и на грамотрицательные аэробы. При операциях на мочевых путях необходимо иметь в виду, что наряду с грамположительными кокками, там могут присутствовать энтерококки и энтеробактер. В толстом кишечнике необходимо предупредить развитие воспаления, обусловленного микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae* и облигатных анаэробов. В последнем случае наряду с внутривенным введением «защищенные» пенициллинов необходимо проводить деконтаминацию (уничтожение) микроорганизмов дачей антибиотиков через рот.

После внутривенного введения обычной терапевтической дозы, оптимальная концентрация антибиотиков в тканях и крови достигается через 30 минут. Кратность введения антибактериального препарата

зависит от длительности периода полувыведения антибиотика, поэтому при длительности операции, которая превышает в 2 раза величину периода полувыведения, его надо вводить повторно.

Для профилактики нагноения в ранах следует уделять внимание и шовному материалу. Вместо традиционного шовного материала для животных используют новый, который причиняет минимальные разрушения в прокольном канале, так как кетгут и шелк способствуют расширению микробного пейзажа послеоперационных ран и удлинению регенеративного периода. К такому материалу предъявляют требования: он должен быть с гладкой поверхностью, не впитывать жидкость из раны, не набухать, не подвергаться микробному разложению, быть биологически активным к инфекции и т.д. На сегодняшний день таким требованиям отвечает шовный материал, названный «профилакт».

Для рубца также предлагается использовать шовный материал синтетический адсорбирующий – КОПРОАТ №1,2 ПГА 3/0-4/0. Он прочнее кетгута, вызывает минимальную воспалительную реакцию и рассасывается путем гидролиза. В результате его распада образуются нетоксичные для организма животного молочная и гликолевая кислоты.

При остеосинтезе также большое внимание уделяется снижению инвазивности имплантантов. Вместе с тем применение антимикробных стержней типа Богданова и малоинвазивных наkostных фиксаторов, нитей «Русар-С» не предупреждает развитие условно-патогенных и сапрофитных микроорганизмов в послеоперационных ранах, хотя и ускоряют сроки выздоровления.

### **12.3.2. Лечение животных при раневом процессе**

Санировать раны чрезвычайно сложно из-за антибиотикоустойчивости микроорганизмов и их малой чувствительности к традиционным антисептикам. Для местного лечения используют более 100 различных антисептических средств, в том числе антибиотики

широкого спектра действия и комбинации нескольких антибиотиков. Для успешного лечения необходимо предварительно определить чувствительность к ним микроорганизмов.

Кроме того применяют бактериофаги, интерферон в смеси с коллагеном для изготовления пористых губок, антистафилококковый и комплексный анатоксин, содержащий антигены золотистого стафилококка и синегнойной палочки, ферменты микроорганизмов (стрептокиназу, ДНК-азу, РНК-азу, гиалуронидазу, коллагеназу). Микробные ферменты расплавляют некротические массы в ране, и раневой дефект очищается посредством воспаления.

Некоторые штаммы стафилококков выделяют ферменты лизоцим и лизостафин, которые разрушают клеточную стенку у других грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Для лечения гнойных ран рекомендуют сочетать эти два фермента с антимикробными средствами. Раны лечат, местно применяя покрытия из гидрофобных и гидрофильных антиоксидантов с протеолитическим ферментом трипсином, препаратом на основе пектина – пенидол ПЭГ, препаратом полидерм, куда в качестве антиоксиданта входит масляный экстракт прополиса.

Необходимо учитывать вид животного, у которого проводится лечение ран. Например, у свиней заживление ран происходит при незначительной гидратации, очищаются они медленнее, чем у других животных. Вследствие этого у этих видов животных необходимо применять средства, стимулирующие регенерацию тканей. В этом случае хорошо зарекомендовали себя препараты из растительного сырья, которые действуют более мягко, чем антибиотики, менее токсичны, не вызывают аллергических реакций, не оказывают других побочных эффектов на макроорганизм. Положительно зарекомендовали себя для местного применения у свиней препараты из корня солодки и бархата амурского.



У домашних животных ускорение заживления гнойно-септических ран отмечено при местном применении низких концентраций АСД-2-й фракции в сочетании с янтарной кислотой.

Для санирования ран используют пробиотические препараты, в частности, препарат «Бактиспорин», представляющий собой непатогенный штамм *Bacillus subtilis* 3Н, и «Споробактерин» - штамм *Bacillus subtilis* 534. Оба препарата обладают антагонистической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* и *S. albicans*.

Постоянно ведется поиск новых способов и средств лечения. В качестве современных подходов к подавлению микрофлоры в ранах используют наночастицы различных химических элементов (золота, серебра, магния, железа).

#### **12.4. Лечение животных при мастите**

Борьба с микроорганизмами, вызвавшими мастит, представляется сложной задачей, поскольку не все из них обладают чувствительностью к антибактериальным средствам. Вследствие этого перед назначением лекарственного препарата следует выделить доминирующий вид микроорганизма, вызвавшего воспалительный процесс в чистом виде и определить его чувствительность к антибиотикам.

Лечение мастита рекомендуют проводить пенбексом - комплексным препаратом, содержащим пенициллин G прокаиин и дигидрострептомицин сульфат. Пенициллин G прокаиин эффективен против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, большинства анаэробных бактерий, а второй компонент – дигидрострептомицин действует на грамотрицательные микроорганизмы.

Для профилактики и лечения маститов рекомендуют использовать антисептик Бактерицид. Используют также антисептики санитарно-гигиенического назначения: биоцидные мази, антимикробные средства для обмывания вымени и «сосковых ванночек».

Перспективным антимикробным средством являются препараты на основе п-нитро- $\alpha$ -хлоркоричного альдегида, называемого «циминаль», который активен в отношении грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, способствует заживлению ран. В медицине его применяют при пиодермии, ранах и ожогах. Созданный на основе п-нитро- $\alpha$ -хлоркоричного альдегида препарат цидисепт-гель был более эффективным, чем традиционный раносан в качестве профилактического и лечебного препарата при мастите. Он обладал антимикробной активностью по отношению ко многим условно-патогенным микроорганизмам: золотистому стафилококку, протею, кишечной палочки, стрептококкам, синегнойной палочке.

Для местного применения рекомендуется использовать фармайодную антисептическую мазь, главным действующим началом которой является водорастворимый комплекс иода с биосовместимыми сополимерами. Эта мазь была эффективной против многих видов бактерий, грибов, дрожжей, микоплазм и вирусов.

### **12.5. Лечение животного с гнойным пододерматитом**

Лечение животного с гнойным пододерматитом заключается в присыпании обработанных мест поражения порошком медного купороса с последующим наложением защитной повязки и надеванием «башмака». При осложнениях рекомендуется 10% мазь 2-меркаптобензтиазола на диметилсульфоксиде. Можно использовать антисептик Бактерицид.

Для лечения пододерматита рекомендуется хирургическое вмешательство с удалением некротизированных тканей, промыванием антисептиками и введением препарата Нитокса в патологический очаг и аппликацию на кожную поверхность дистальных отделов конечностей йодметрагель с АСД ф-3 в соотношении 9:1.

Перед применением антибактериальных и антифунгальных препаратов следует выделить возбудитель в чистой культуре и определить его чувствительность к этиотропному средству.

Лечение воспаления пальцев и плюсны у собак рекомендуют проводить с адресной доставкой химиотерапевтических средств методом ретроградной внутривенной инфузии в поверхностные вены дистальных отделов предплечья, голени, проксимальных отделов плюсны против тока крови.

## **12.6. Лечение животного при дисбактериозе кишечника**

Устранение дисбактериозов - очень сложный процесс.

Необходимо, во-первых, устранить причины, вызывающие дисбактериоз в каждом конкретном случае. Во-вторых, требуется нормализовать кормление животных. В-третьих, следует проводить коррекцию местного и системного иммунитета. В-четвертых, необходимо провести деконтаминацию, т.е. уничтожение патогенной и условно-патогенной микрофлоры с помощью антисептиков широкого спектра действия – антибиотиков, бактериофагов, а также энтеросорбентов, поглощающих токсические вещества, в том числе активированный уголь. В-пятых - коррегировать аутохтонную микрофлору применением пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков.

В качестве лечебных средств для устранения дисбактериозов используют у новорожденных телят вяжущие препараты природного происхождения на основе коры дуба, зверобоя, шалфея, грецкого ореха, которые хорошо зарекомендовали себя против большинства условно-патогенных и патогенных бактерий, вирусов.

При лечении используют ферментные препараты, препараты, включающие компоненты желчи, витамины, регуляторы кишечной моторики.

Кроме того рекомендуют использовать бактериоцины, бактериофаги, добавлять к микробным пробиотикам метаболиты: сукцинат натрия, различные аминокислоты.

### **12.7. Лечение увеита**

У лошадей часто поражается средняя оболочка глаза при воспалительных процессах этого органа. Рекомендуется (Меженский, 2010) использовать антибиотики, которые вводят местно в разные отделы глаза, в сочетании с парентеральным их введением. Лучший эффект обеспечивает субконъюнктивальная и ретробульбарная инъекция.

### **12.8. Лечение укушенных и других ран, нанесенных ветеринару животными**

Лечение укушенных *собаками* ран заключается в использовании препаратов амоксициллин/клавулановая кислота, амоксициллин/сульбактам. В качестве резервных антибиотиков рекомендуется использовать метронидазол, линкозамиды, левофлоксацин.

Укушенные *крысами* раны. Для лечения следует использовать амоксициллин/клавулановая кислота и амоксициллин/сульбактам. В качестве резервных следует применять доксициклин.

Укушенные *свиньями* раны. Для лечения в качестве основных препаратов следует вводить амоксициллин/клавулановая кислота и амоксициллин/сульбактам. В качестве альтернативных использовать цефотаксим, метронидазол, левофлоксацин.

Укушенные *кошками* раны. В качестве лечебных препаратов необходимо вводить амоксициллин, сульбактам, доксициклин.

Эффективным средством лечения инфекции, передаваемой при нанесении кошками *царапин*, является пенициллин, тетрациклины, левомицетин, доксициклин, макролиды. Следует иметь в виду, что пенициллин может

приводить к образованию L-форм бартонелл, которые являются основным этиологическим фактором болезни.

Вопросы для самоконтроля.

1. Какие вы знаете мероприятия, позволяющие осуществлять профилактику развития оппортунистических инфекций у животных?
2. Какие лечебные средства используют для борьбы с инфекционными заболеваниями, вызванными условно-патогенными микроорганизмами?
3. Для чего используют пробиотические препараты в качестве средства, предупреждающего развитие оппортунистических инфекций?
4. Как вы понимаете термин «антипатогенные» лекарственные средства?
5. Почему у микроорганизмов развивается полирезистентность по отношению к антимикробным препаратам?
6. Почему для лечения животных не следует применять антибактериальные препараты, которые применяются в медицинской практике?
7. Что входит в понятие «основы рациональной химиотерапии»?
8. С помощью каких структур передается лекарственная устойчивость у микроорганизмов?
9. Охарактеризуйте механизмы приобретенной лекарственной устойчивости.
10. Как можно классифицировать химиотерапевтические препараты, применяемые для борьбы с инфекциями?
11. Какие классификации антибиотиков вы знаете?
12. На какие структуры бактериальной клетки действуют антибиотики?
13. Назовите побочные эффекты антибиотиков разных групп?
14. В каких случаях используют иммуностропные препараты?

15. Как вы понимаете термин «Иммунотерапия»? Какие иммуностимулирующие препараты вы знаете?
16. Как можно активизировать работу клеток доиммунного воспаления?
17. В каких случаях следует у животных применять тот или иной иммуномодулятор?
18. Что такое пробиотики, пребиотики и синбиотики? В каких случаях их следует назначить животным?
19. Какие роды микроорганизмов используются в качестве пробиотиков?
20. Какие нежелательные последствия могут быть при применении пробиотических препаратов?
21. В каких случаях возможно использовать вакцины против условно-патогенных микроорганизмов?
22. Как можно избежать развития послеоперационных инфекций у животных при оказании им хирургической помощи?
23. Какие лечебные средства можно использовать при наличии у животных раневого процесса?
24. Какие методы лечения мастита у животных вы знаете?
25. Как следует лечить пододерматит у животных?
26. Какие мероприятия следует проводить при лечении дисбактериоза кишечника?
27. Какие антибактериальные препараты используют при лечении ран, нанесенных животными человеку?

**ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ  
ИНФЕКЦИЙ У ЖИВОТНЫХ, ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ, ДИАГНОСТИКА**

**1.1. Морфологические, культуральные и биохимические  
характеристики некоторых условно-патогенных бактерий,  
вызывающих гнойно-септические, раневые инфекции у животных и  
дисбактериозы. Микробиологические методы идентификации**

При гнойно-септических поражениях различной локализации особенно часто из бактериальной микрофлоры встречается кокковая микрофлора, на втором месте стоят условно-патогенные представители семейства Enterobacteriaceae и синегнойная палочка, реже этиологическим фактором являются неспорообразующие облигатные анаэробы.

При дисбактериозах на первом плане находятся различные бактерии семейства кишечной палочки (Enterobacteriaceae), на втором – кокковая микрофлора, в том числе анаэробная, кандидозы.

Ведущая роль в развитии оппортунистических инфекций, в том числе госпитальных, принадлежит стафилококкам, прежде всего золотистому стафилококку - *Staphylococcus aureus* и стрептококкам группы D – *Streptococcus faecalis* и *S. faecium*.

*Под Staphylococcus*

Род стафилококков включает более 30 видов, которые подразделяются на коагулазоположительные и коагулазоотрицательные, т.е. на виды, которые свертывают плазму крови и не свертывают ее. К первой группе относят *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*. У последнего вида не все штаммы имеют коагулазу. Остальные виды относятся к коагулазоотрицательным, в том числе *S. epidermidis*. Некоторые виды патогенны для человека (например, *S. haemolyticus*), другие виды патогенны и для человека, и для животных (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S.*

saprophyticus,)), третьи – встречаются в составе нормальной микрофлоры только животных и могут быть этиологическим фактором заболевания (*S. intermedius*, *S. lentus*, *S. gallinarum*, *S. felis*, *S. equorum*).

Стафилококки широко распространены в природе, обитают главным образом на коже и слизистых оболочках, входят в состав нормальной микрофлоры тела млекопитающих животных, птиц и человека. Эти бактерии хорошо переносят высушивание и действие дезинфицирующих веществ, устойчивы к антибиотикам.

Стафилококки могут вызывать более 100 различных заболеваний, поражая любую ткань и орган. Они легко проникают в организм через небольшие повреждения кожи и слизистых оболочек.

Стафилококки представляют собой неподвижные шарообразные бактерии диаметром 0,5-1,5 мкм. По Граму окрашиваются положительно. Спор и капсул не имеют, за исключением *S. aureus*, который образует капсулу при росте в полужидком агаре с плазмой или сывороткой крови.

В мазке располагаются поодиночке, парами, но типично для них расположение в виде гроздей.

Обладают ферментом каталазой, который позволяет отличать их от рода стрептококков. По отношению к кислороду являются факультативными анаэробами. Бактерии устойчивы к повышенному содержанию хлорида натрия (5-10%) из-за малопроницаемой клеточной стенки.

Стафилококки хорошо растут на простых питательных средах, лучше при слабощелочной реакции.

На жидких средах (мясопептонный бульон - МПБ) дают равномерное помутнение, затем рыхлый осадок. На плотных питательных средах (мясопептонный агар - МПА) образуют круглые непрозрачные колонии с ровными краями, пигментированные. Пигмент может быть от белого до кремового, желтого, золотистого и оранжевого цвета, который лучше проявляется на свету при комнатной температуре.



Бактерии восстанавливают нитраты в нитриты, разлагают сахара: глюкозу, мальтозу, сахарозу, ксилозу, глицерин, маннит до промежуточного продукта ацетоина, выявляемого в реакции Фогеса-Проскауэра, и кислоты. Разлагают мочевины.

*Staphylococcus aureus* - золотистый стафилококк. Этот вид стафилококков чаще всего встречается в ранах, преобладает среди микрофлоры различных лечебных учреждений, в том числе госпиталей и клиник для животных. Он обнаруживается на катетерах, в воздухе, на различных поверхностях. Носителями очень часто является персонал этих учреждений.

Одним из факторов патогенности данного вида стафилококка служит микрокапсула, которая защищает его от разрушения фагоцитами. Другими факторами патогенности выступают различные компоненты клеточной стенки: тейхоевые кислоты, белок А. Они стимулируют развитие воспалительной реакции за счет выработки макрофагами провоспалительного интерлейкина ИЛ-1. Тейхоевые кислоты активизируют систему комплемента и свертывающую систему крови. Белок А клеточной стенки усиливает активность Т-лимфоцитов - киллеров, связывает Fc-фрагменты IgG.

К факторам патогенности относят и ферменты, вырабатываемые золотистым стафилококком: коагулазу, ДНК-азу, лецитиназу. Коагулаза вызывает свертывание сыворотки крови и не позволяет фагоцитам выполнять свои функции в процессе воспаления. ДНК-аза разрушает нуклеиновые кислоты клеток макроорганизма, а лецитиназа - лецитин желтка.

Токсины золотистого стафилококка могут вызывать развитие токсического шока за счет стимуляции выработки ФНО (фактора некроза опухоли).

Выявление *S. aureus* в патологическом материале проводят по традиционной схеме: микроскопия мазков или мазков - отпечатков,

выделение культуры, ее идентификация, дифференциация, изучение патогенных свойств и чувствительности к антибиотикам.

Первичный посев патологического материала проводят на неселективные питательные среды (МПБ и 5% кровяной агар) и элективные питательные среды, содержащие повышенные концентрации хлорида натрия. К таким средам относят солевой бульон, агар Байрда-Паркера, желточно солевой агар или яично-желточный азидный агар. Посевы инкубируют при 37 °С в течение 24 часов.

На МПБ обнаруживается диффузное помутнение и осадок. На кровяном агаре при наличии гемолитической активности у выделенного штамма – зона гемолиза вокруг колоний. На среде Байрда-Паркера бактерии образуют черные блестящие выпуклые колонии, окруженные зоной лецитиназной активности в виде кольца шириной 1-3 мм. На желточно-солевом и яично-желточном азидном агарах вырастают колонии белого и различного оттенков желтого цвета с зоной лецитиназной активности.

Не менее чем из 5 типичных для стафилококка колоний готовят мазки, окрашивают их по Граму, часть этих же колоний, в которых обнаружены кокки, характерные для стафилококков, пересевают на скошенный агар и инкубируют при 37 °С в течение 18-24 часов. У выросшей чистой культуры проверяют способность ферментировать маннит или мальтозу в анаэробных условиях, проверяют наличие коагулазы и ДНК-азы.

Для определения способности ферментировать мальтозу (маннит) в анаэробных условиях культуру высевают уколом в пробирку со средой Гисса с одним из этих сахаров, на поверхность столбика наливают расплавленный и остуженный до 45 °С голодный агар высотой 2-2,5 см. Инкубируют при 37 °С в течение 48 часов.

Термостабильную ДНК-азу определяют на среде, содержащей эту нуклеиновую кислоту и разлитую в чашки Петри. В среде вырезают

пробойником «колодцы» диаметром до 4 мм, на расстоянии 7-8 мм друг от друга. Культуры, выросшие на МПА за 24 часа при 37 °С, прогревают на кипящей водяной бане 15 минут, охлаждают до комнатной температуры и вносят по 1-2 капли в «колодцы» пастеровской пипеткой. Инкубируют при 37 °С в течение 1,2,5 часов. При наличии ДНК-азы вокруг колодцев появляется ярко-розовая зона на синем фоне среды.

ДНК-азу можно определять по-другому. Проводить посев на среду, содержащую ДНК, инкубировать 18-20 часов при 37 °С, затем внести на поверхность среды 5 мл 1Н раствора соляной кислоты. Через 2-3 минуты ее сливают, а результат учитывают через 7-10 минут. При наличии ДНК-азы вокруг колоний образуется прозрачная зона.

Для постановки пробы на плазмокоагулазу разведенную 1:4 плазму крови кролика разливают по 0,5 мл в стерильные пробирки, вносят по 1 петле культуры. Контрольную пробирку оставляют незасеянной. Содержимое пробирок тщательно перемешивают, инкубируют 3-6 часов при 37 °С. Если через 6 часов не было коагуляции, то пробирки оставляют на 24 часа при 30 °С. Коагуляцию оценивают «в крестах» по образованию студнеобразного сгустка различных размеров.

*Staphylococcus epidermidis* – эпидермальный стафилококк. Очень часто колонизирует кожу и слизистые оболочки, обладает слабой вирулентностью, в основном встречается при пониженной резистентности макроорганизма, выступает прежде всего как этиологический фактор нозокомиальной инфекции. Колонии данного вида стафилококка имеют белый пигмент. Он не образует ДНК-азу, плазмокоагулазу, не вызывает гемолиз эритроцитов, манит не ферментирует.

*Staphylococcus intermedius* – интермедиальный стафилококк не образует ацетоин, поэтому реакция Фогеса- Проскауэра отрицательна, не образуют гиалуронидазу. Не все штаммы ферментируют маннит.

Род *Streptococcus*.

Род стрептококков включает в себя около 50 видов. Среди стрептококков есть небольшое число патогенных видов (*S. pyogenes*, *S. equi*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*), которые вызывают поражение органов дыхания, в том числе пневмонию, отиты, ангины, эндокардиты, гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожной клетчатки, менингиты, сепсис, нефриты. Основная масса видов стрептококков относится к условно-патогенным, вызывая оппортунистические инфекции.

По своей морфологии – это шаровидные или овоидные аспорогенные грампозитивные бактерии диаметром 0,5- 2 мкм (чаще до 1 мкм). В мазках располагаются парами, короткими цепочками, неподвижны, кроме штаммов группы D, называемых энтерококками. Некоторые виды образуют капсулу, легко превращаются в L-форму.

Род *Streptococcus* группы D.

Стрептококки группы D (энтерококки) обитают в кишечнике млекопитающих и птиц, а также на коже промежности и половых путей, слизистой оболочке ротовой полости, верхних дыхательных путей. Энтерококки вызывают раневую инфекцию, гнойно-воспалительные заболевания урогенитального тракта, перитониты, эндокардиты, сепсис, внутрибольничные инфекции. К энтерококкам относят *S. faecalis* и *S. faecium*.

Энтерококки могут долго выживать в почве и пищевых продуктах, где размножаются при комнатной температуре. Они устойчивы к высушиванию, солнечному свету, низкой температуре.

Гнойно-воспалительные инфекции вызываются энтерококками чаще всего в ассоциации с кишечной палочкой, протеом, золотистым стафилококком.

Морфологически микроорганизмы представляет собой грамположительные кокки, клетки полиморфные, могут быть подвижными и неподвижными. В мазках из сахарных сред имеют круглую, овальную или ланцетовидную форму, располагаются парами, реже короткими

цепочками. Иногда синтезируют капсулу, споры не образуют. По отношению к кислороду являются факультативными анаэробами.

На жидких питательных средах дают диффузный рост, на плотных средах образуют мелкие круглые, выпуклые, блестящие колонии или нежный налет. Растут при температуре от 10 до 45 °С. Могут расти на средах с 10 и 40% желчи, а также при наличии в питательной среде 6,5% хлорида натрия. На кровяном агаре вокруг колоний может быть  $\alpha$ - или  $\beta$ -гемолиз. На средах с молоком, кровью, сывороткой крови вырабатывают пигмент белого или светло-желтого цвета.

Для культивирования энтерококков используют 5% кровяной агар и питательный бульон с глюкозой или сывороткой крупного рогатого скота.

Энтерококки в бульоне вызывают выраженное помутнение и образование небольшого гомогенного осадка.

Суточную бульонную культуру засевают на желточно-щелочной агар и в молоко с 0,1% раствором метиленовой сини. На желточно-щелочном агаре растут только энтерококки. Колонии их круглые, блестящие, слегка выпуклые, синеватого цвета, появляются при инкубировании при 37°С в основном на 3-и сутки. При росте в молоке среда из голубой превращается в кремовую из-за редуцирования метиленового синего.

После установления принадлежности культуры к энтерококком проводят дифференциальную диагностику между обоими видами при посеве на среды с теллуридом калия, дифференциально-диагностическую среду для энтерококков. Дифференциальная диагностика заключается в том, что *S. faecalis* устойчив к теллуриду калия, поэтому при его восстановлении образуются черного цвета колонии, окруженные узким бесцветным ободком. *S. faecium* на этой среде не растут, т.к. к теллуриду калия они чувствительны.

*S. faecalis* растет на дифференциально-диагностической среде для энтерококков, разлагая ТТХ (трифенилтетразолия хлорид) с образованием

вишнево-красных колоний с белым ободком, а *S. faecium* – нет, поэтому колонии его бесцветные или слабо розовые.

*S. faecalis* гидролизует эскулин, глицерин, аргинин, гиппурат, не расщепляет арабинозу, а *S. faecium* расщепляет арабинозу, не всегда – сахарозу.

#### *Семейство Enterobacteriaceae.*

Микроорганизмы, относящиеся к этому семейству обитают в кишечнике, на коже, слизистых оболочках, в объектах окружающей среды.

Условно-патогенными бактериями этого семейства являются роды: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Erwinia*.

Все представители семейства являются грамотрицательными палочковидными бактериями, не образующими спор, могущими образовывать капсулу, бывают подвижными и неподвижными, хорошо растут на обычных питательных средах в присутствии кислорода.

Обязательными признаками являются: наличие каталазы и отсутствие цитохромоксидазы, способность ферментировать глюкозу с образованием только кислоты или кислоты и газа, восстанавливать нитраты в нитриты.

Представители рода *Escherichia* (кишечная палочка) обитают в качестве комменсалов в желудочно-кишечном тракте животных, могут вызывать у них кишечные и парентеральные формы заболевания (дисбактериоз, менингит, сепсис, пиелонефрит, цистит, перитонит, мастит, пневмонию, отит, конъюнктивит).

Бактерии рода *Citrobacter* (цитробактеры) обнаруживаются в сточных водах, почве других объектах внешней среды, у животных - в испражнениях при диспепсиях, гастроэнтеритах.

Бактерии рода *Klebsiella* (клебсиеллы) широко распространены во всех средах всех континентов земного шара, на растениях, в организмах большого круга холоднокровных и теплокровных животных. Это свойство

обусловлено наличием у микроорганизма мощной капсулы. У многих животных клебсиеллы вызывают гнойно-септические заболевания дыхательных путей, глаз, поражение желудочно-кишечного тракта. У крупного рогатого скота, свиней, лошадей встречаются при маститах, сепсисе, пневмонии. Клебсиеллы очень устойчивы к дезинфицирующим средствам и антибактериальным препаратам.

Микроорганизмы, относящиеся к роду *Enterobacter* (энтеробактеры), широко распространены в природе, входят в состав нормальной микрофлоры тела животных. Они выделяются при маститах у коров, при пупочном сепсисе новорожденных животных, урогенитальной инфекции лошадей и собак, а также из инфицированных ран многих животных. Они устойчивы к большинству антимикробных веществ и быстро приобретают устойчивость к новым препаратам и дезинфицирующим веществам.

Представители рода *Proteus* (протеи) широко распространены в природе, встречаются в воде, особенно в стоячих водоемах, почве, содержащей много гниющих органических остатков, а также в кишечнике холоднокровных и теплокровных животных. *P. vulgaris* и *P. mirabilis* часто выделяют из инфицированных ран, а также при инфекциях мочевого тракта с образованием камней, наружных отитах, простатитах, госпитальных инфекциях, периодически – при энтеритах новорожденных животных. Особенно часто протейные заболевания разных локализаций встречаются у собак, а у лошадей – при инфекциях мочеполового тракта. У щенков, новорожденных жвачных животных, у взрослых особей крупного рогатого скота, длительно леченых антимикробными препаратами, регистрируется протейный энтерит. У рептилий микроорганизм обнаруживается в ранах и абсцессах.

Род *Morganella* (морганеллы) раньше относили к роду *Proteus*. В настоящее время его выделили в самостоятельный. Эти бактерии в норме выделяются из кишечника млекопитающих и рептилий. У животных

вызывают отит и цистит (собаки), воспаление легких у поросят, кожные абсцессы, септические артриты и септицемию у рептилий.

Род *Providencia* (провиденции) раньше также относили к роду *Proteus*. Представители этого рода широко распространены в природе, выделяются от животных, особенно часто из содержимого кишечника, вызывают гнойно-септические заболевания, в том числе раневую инфекцию, диареи, урогенитальные инфекции.

Бактерии рода *Hafnia* (гафнии) – природные обитатели. Они обнаруживаются в воде, сточных водах, овощах, а также в организме млекопитающих. В основном выделяются при острых кишечных инфекциях у людей.

Род *Serratia* (серратии) в последние 15-20 лет стали часто выделять не только из воды, почвы, пищевых продуктов, но и из мочи, крови, фекалий и абсцессов животных при оппортунистических инфекциях.

Бактерии рода *Erwinia* (эрвинии) раньше в основном выделяли из растений в качестве сапрофитов и эпифитов. В настоящее время они стали выделять от животных из мочи, желчи, испражнений, крови и гноя в качестве условно-патогенных микроорганизмов.

В настоящее время, согласно руководству, предложенному для врачей, семейство *Enterobacteriaceae* рекомендовано делить на трибы, которые выделяются на основании сходства биохимических групп (Поздеев, Федоров, 2007). Выделяют трибы: 1. *Escherichiae*; 2. *Edwardsiellae*; 3. *Salmonelleae*; 4. *Citrobacteriaceae*; 5. *Klebsiellae*: роды *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*; 6. *Proteeaceae*: роды *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*; 7. *Yersinia*; 8. *Erwinia*.



Таблица 2. Дифференцирующие признаки основных триб

Триба	H <sub>2</sub> S	Уреаз	Индол	Проба с метиловым красным	Реакция Фогеса-Проскауэра	Разложение цитрата	Утилизация цианида К	Ферментация фенилаланина	Разложение муката	Разложение маннита
1	-	-	±	+	-	-	-	-	±	±
2	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
3	±	±	±	+	-	+	±	-	?	+
4	=	-	-	+	-	+	-	-	±	+
5	-	±	-	-	+	+	+	-	±	+
6	±	±	±	+	-	-	+	+	-	+
7	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+

### *Род Escherichia*

Различные штаммы эшерихий представляют собой мелкие и средние подвижные (перитрихи) и неподвижные палочки, грамнегативные, часто образующие капсулу. На мясо-пептонном агаре образуют S формы колоний: выпуклые, средней величины, влажные, блестящие, прозрачные и непрозрачные колонии. Колонии могут быть в R-форме - шероховатыми и слизистыми – в M-форме. В мясо-пептонном бульоне дают диффузный рост, осадок, пленку или пристеночное кольцо.

На среде Эндо лактозоразлагающие штаммы кишечной палочки вырастают в виде колоний ярко малинового цвета с металлическим блеском, среда из розовой превращается в малиновую из-за разложения входящей в нее лактозы. Лактозонегативные штаммы образуют на этой среде бесцветные или слабо розовые колонии. На среде Плоскирева – колонии ярко-розового цвета.

Кроме лактозы эшерихии ферментируют манит, не утилизируют цитраты и поэтому не растут на среде Симмонса. При росте в питательном бульоне образуют индол. Реакция с метиловым красным положительна, а

реакция Фогеса-Проскауэра на наличие ацетоина - отрицательна. Мочевину не разлагают.

*Род Citrobacter.*

Цитробактерии представляют собой мелкие палочки, капсулу не образуют, встречаются подвижные (перитрихи) и неподвижные штаммы.

На мясо-пептонном бульоне обнаруживают диффузный рост. На мясо-пептонном агаре образуют бесцветные или серо-белого цвета колонии различного размера.

Лактозу могут разлагать или не разлагать. Лактозопозитивные, т.е. разлагающие лактозу штаммы образуют на среде Эндо колонии розового или красного цвета, но без металлического блеска. Лактозонегативные на этой среде вырастают в виде бесцветных или сероватых с розовым оттенком колоний с более темным центром.

На среде Плоскирева лактозопозитивные штаммы вырастают в виде колоний интенсивно розово-красных с темным центром, лактозонегативные штаммы - в виде выпуклых, слегка опалесцирующих колоний.

На висмут-сульфитном агаре рост обильный. Колонии светло-зеленого цвета, могут быть коричневые или черные. При росте издают неприятный характерный запах. Растут на среде Симмонса с цитратом, вызывая ее ощелачивание, в результате чего среда становится синего цвета.

Микроорганизмы ферментируют до кислоты и газа углеводы (глюкозу, мальтозу, манит, салицин, сорбит и некоторые другие), но не образуют ацетон (реакция Фогеса-Проскауэра отрицательна), реакция с метиловым красным положительна. Цитробактеры разлагают мочевину, образуют сероводород, некоторые штаммы – индол, редуцируют нитраты. Цитобактеры бывают нескольких видов: *C. freundii*, *C. diversus*, *C. amalonaticus*.

### *Род Enterobacter.*

Микроорганизмы, относящиеся к этому роду (энтеробактеры): *E. aerogenes* и *E. cloacae*, являются возбудителями оппортунистических ветеринарных инфекций. Они представляют собой подвижные палочковидные грамотрицательные микроорганизмы. Жгутики расположены перитрихально. Спор не образуют, но могут иметь капсулу.

На плотной питательной среде МакКонки образуют розовые колонии, на кровяном агаре гемолиз не дают, а образуют через 24 часа при росте при 37°C блестящие круглые серого цвета колонии с ровными краями, в диаметре имеют 2-3 мм. Хорошо растут на среде Симмонса с цитратом, при этом зеленый цвет среды становится синим.

По отношению к кислороду энтеробактеры являются факультативными анаэробами. Они ферментируют различные углеводы, в том числе лактозу с образованием кислоты, газа и ацетона (положительная проба Фогеса-Проскауэра). Медленно разжижают желатину, имеют каталазу, но не имеют, как и все представители данного семейства цитохромоксидазы. Сероводород и индол не образуют, многие штаммы гидролизуют мочевины.

### *Род Proteus*

Род назван в честь бога, который мог менять свою форму, поскольку микроорганизмы при росте на плотной питательной среде могут расти в двух формах: в виде ползучего роста, называемого «роением», и в форме колоний. Ползучий рост на влажном агаре связан с большой подвижностью протеев из-за перитрихально расположенных жгутиков.

Род *Proteus* состоит из 5 видов, но в патологии людей и животных имеют значение два из них: *P. vulgaris* и *P. mirabilis*.

Протей представляет собой полиморфные грамотрицательные палочки, обычно прямые, размерами 0,4-0,6x1,0-3,0 мкм, могут образовывать сферопласты. Капсул и спор не образуют, подвижные,

особенно при температуре 20-22 °С. Факультативные анаэробы. Неприхотливы, растут на простых питательных средах в широком диапазоне температур: от 10 до 43 °С с выделением неприятного гнилостного запаха.

В мясопептонном бульоне вызывает помутнение. На плотных питательных средах растет по-разному, в зависимости от состава среды: на мясопептонном агаре может расти в виде колоний или роения, на среде Эндо колонии розового цвета или ползучий рост; на среде Плоскирева образует крупные колонии слегка выпуклые, полупрозрачные, изолированные, правильных очертаний с желтовато-розовым перламутровым оттенком, среда становится желтоватого цвета; на висмут-сульфитном агаре колонии окрашены в грязно-коричневый цвет, а среда под ними темно-коричневая. Для видовой дифференциации протеев предложена среда ПП.

Протеи ферментируют глюкозу, фруктозу, галактозу, глицерин с образованием кислоты. Дифференциально-диагностический признак – дезаминирование аминокислоты фенилаланина. Все виды, за исключением *P. mirabilis*, образуют индол, не образуют сероводород, желатину не разжижают, обладают уреазой.

Протеи устойчивы к действию факторов внешней среды: переносят нагревание до 60 °С в течение часа, сохраняют жизнеспособность в слабых растворах дезинфицирующих средств, обладают устойчивостью ко многим антибиотикам.

Патогенность связана с эндотоксином, уреазой, которая в мочевом тракте разлагает мочевую кислоту до аммиака и углекислого газа. Аммиак является очень токсичным веществом для эпителия. Протеи могут вырабатывать такой фактор патогенности как гемолизин, а также фермент протеазу, разрушающую IgA.

В инфицированных ранах протеи часто встречаются в ассоциациях с кишечной палочкой, псевдомонадами, анаэробами, стафилококками и стрептококками.

*Род Morganella.*

Род включает один вид *M. morganii* с двумя подвидами.

Морганеллы представляют собой подвижные палочки размерами 0,6-0,7x1,0- 1,7 мкм. В отличие от протеев роения не дают. На мясо-пептонном агаре растут в виде бесцветных или сероватых колоний среднего размера, на питательном бульоне – диффузный рост. На среде Эндо вырастают чаще всего бесцветные колонии (лактозонегативные), Лактозопозитивные штаммы могут давать колонии розовые или красные. На кровяном агаре может быть гемолиз. На среде с 5% содержанием триптофана образуют красно-коричневый пигмент.

Морганеллы обладают высокой активностью фермента уреазы, ферментируют только глюкозу и маннозу с образованием газа, не образуют ацетоин (реакция Фогеса-Проскауэра отрицательна), образуют индол.

*Род Providencia*

Род включает 5 видов, особенно часто обнаруживают *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri*. Бактерии этого рода (провиденции) представляют собой прямые с перитрихиально расположенными жгутиками палочки, грамотрицательные, размерами 0,6-0,8x1,5- 2,5 мкм. Хорошо растут на простых питательных средах. На дифференциально-диагностических средах (Эндо, Левина, Плоскирева) растут в виде неокрашенных полупрозрачных колоний, роения не дают. Лактозу не ферментируют, ферментируют маннозу, ацетоин не образуют, продуцируют индол, утилизируют цитрат, почти все виды не имеют уреазы. Виды отличают по способности ферментировать адонит, инозит, манит.

*Род Klebsiella.*

Род *Klebsiella* в отличие от большинства родов семейства *Enterobacteriaceae* обладает способностью всегда образовывать капсулу. К этому роду относится несколько видов, основную роль в патологии животных и человека играет вид *K. pneumoniae*. Клебсиеллы представляют собой факультативные психрофильные бактерии, могущие вести сапрофитное существование. Они широко распространены в почве, воде, зерне, овощах, семенах, морской и питьевой воде, молочных продуктах, в почвах пустынь, антарктических озерах, в древесине деревьев, в кишечном тракте, слизистых оболочках и коже млекопитающих. Столь широкое распространение клебсиелл в природе связано со способностью данного микроорганизма образовывать массивную капсулу, которая обеспечивает устойчивость не только к действию неблагоприятных факторов внешней среды, но и устойчивость к антибиотикам, высоким и низким температурам, дезинфектантам, ультрафиолетовому излучению.

*K. pneumoniae* у коров, свиней, лошадей может вызывать в качестве условно-патогенного микроорганизма мастит, могут поражаться суставы, легочная ткань (пневмония). У собак имеет место инфицирование тканей различной локализации. Этот микроорганизм особенно опасен для лошадей, вызывает воспаление в различных органах и тканях: внутренних половых органах (вагиниты, уретриты, метриты, пиометру), циститы, энтериты, абсцессы в печени, наружные отиты. У новорожденных животных клебсиеллы вызывают септицемию.

В настоящее время из патологического материала стал выделяться другой вид клебсиелл – *K. oxytoca*.

При обследовании больниц и госпиталей клебсиеллы различных видов часто выделяются с рук персонала, из воздуха, из растворов для переливания крови, т.е. клебсиеллез является внутрибольничной инфекцией.

Клебсиеллы представляют собой грамотрицательные толстые короткие палочки с закругленными концами, размером 0,3-0,6 x 1,5- 6,0 мкм,

неподвижные, не образующие спор, но постоянно образующие полисахаридную капсулу. В мазке располагаются одиночно, парами, цепочками.

Микробы неприхотливы и хорошо растут на простых питательных средах при температуре от 5 до 45 °С. На жидкой питательной среде образуют гомогенное помутнение, осадок, слизистую пленку на поверхности или пристеночное кольцо. На средах для энтеробактерий (среды Эндо, Левина, МакКонки) растут в виде колоний разного размера, которые могут быть прозрачными и непрозрачными. Колонии могут быть большими, влажными, частично сливающимися между собой, нередко очень слизистыми, выпуклыми. На средах с лактозой окрашены в серо-бордовый цвет из-за способности разлагать лактозу. При этом в одной и той же колонии могут быть сегменты розового, серого, зеленого цвета. Могут встречаться колонии в R-форме (мелкие, суховатые).

*K. pneumoniae* ферментируют сахара и спирты с образованием ацетона (положительная реакция Фогеса-Проскауэра), кислоты и газа. Сероводород и индол не образуют. Могут расти в присутствии цианистого калия, использовать цитрат натрия (рост на среде Симмонса) в качестве единственного источника углерода, выделяют каталазу, но не обладают оксидазой, способны к азотфиксации, восстанавливают нитраты, разлагают мочевины (уреазная активность).

Под влиянием антибиотиков может превращаться в L-формы.

Для получения чистой культуры применяют методику селекции капсулы с пассированием через среды с глюкозой и сахарозой. При этом культуры вначале засевают в 2-5 мл бульона Хоттингера с 0,2% глюкозы, инкубируют 4-6 часов при 37 °С, затем засевают на поверхность 1,3% слабощелочного агара на чашки Петри для получения роста изолированных колоний. Инкубируют. Отбирают розово-дымчатые колонии, которые повторно засевают в бульон с 0,2% глюкозы на 4-6 часов. Готовят мазок, который окрашивают на наличие капсулы. Затем

высевают культуру на скошенную поверхность агаризованной среды Ворделе-Фергюсона, инкубируют 18-20 часов при 37 °С. Вновь изготавливают мазок и определяют наличие капсулы. После всех пересевов должна получиться чистая культура клебсиелл. Если этого не удается добиться, то все повторяют.

#### *Род Hafnia*

Представители рода – гафнии являются палочковидными, не образующими капсулу перитрихиальными, грамотрицательными микроорганизмами. Подвижны при 22 °С и часто неподвижны при 37 °С. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 22-37 °С. На дифференциально-диагностических средах для энтеробактерий (Эндо, Левина) образуют бесцветные колонии, похожие на колонии шигелл. На среде Плоскирева растут плохо, а на висмут-сульфитном агаре не растут. Могут утилизировать цитрат и ацетат в качестве источника углерода. Ферментируют глюкозу, маннит, арабинозу, рамнозу, ксилозу, но не ферментируют лактозу и ряд других сахаров. Реакция Фогеса-Проскауэра на ацетоин положительна при 22 °С и отрицательна при 37 °С. Желатину не разлагают, уреазой не обладают. Сероводород и индол не образуют.

#### *Род Serratia.*

Серратии представляют собой палочковидные перитрихиальные грамотрицательные микроорганизмы. Растут на обычных питательных средах при слабощелочной реакции и температуре 25-37 °С. При росте образуют колонии гладкие, часто пигментированные – розового или красного цвета за счет не растворимого в воде пигмента продигиозана.

Пробы с цитратом натрия и реакция Фогеса-Проскауэра положительны. Индол, сероводород, мочевины, желатину не разлагают. Лактозу могут медленно ферментировать или не ферментировать. Другие углеводы (глюкозу, инозит, целлобиозу, глицерин) ферментируют до кислоты и, непостоянно, газа. Чаще всего выделяют вид *S. marcescens*.

#### *Род Erwinia.*



Род эрвиний включает много видов. Бактерии представляют собой одиночные аспорогенные, граммотрицательные мелкие палочки, перитрихи. Хорошо растут на простых питательных средах. На мясо-пептонном агаре образуют колонии S-формы желтого цвета. Оптимальная температура для роста – 27-30 °С. Эрвинии часто обнаруживают в качестве эпифитов на зерне различных злаков.

*Род Pseudomonas* относится к семейству Pseudomonadaceae.

Род псевдомонад включает 20 видов. Часто при оппортунистических инфекциях выделяют *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida* и *P. fluorescens*.

Псевдомонады - прямые или изогнутые одиночные палочки, окрашивающиеся по Граму отрицательно. Они подвижные, движение осуществляется с помощью полярных жгутиков, которых может быть 1 или несколько (монотрихи или политрихи). Размеры бактерий 0,5-1х1,5-4 мкм. Спор и капсул не образуют. Являются строгими аэробами, каталазо- и оксидазопозитивные.

Возбудителем внутрибольничных инфекций чаще всего является синегнойная палочка *Pseudomonas aeruginosa*. Она встречается как сапрофит в почве и воде. *Pseudomonas aeruginosa* обладает уникальной способностью синтезировать водорастворимый пигмент пиоцианин, который окрашивает питательную среду в сине-зеленый цвет. Другой пигмент флуоресцеин дает зеленовато-желтое окрашивание в ультрафиолетовых лучах. При своем росте культура выделяет вещество триметиламин, который имеет запах жасмина, земляничного мыла или карамели.

*Pseudomonas aeruginosa* хорошо растет на простых питательных средах при 30-37 °С, может расти при температуре 41 °С. В питательном бульоне и пептонной воде образует на поверхности серебристую пленку и равномерное помутнение. На мясо-пептонном агаре образует довольно крупные полупрозрачные колонии сероватого цвета с перламутровым оттенком, центр колонии более темный, чем периферия, края ровные,

четкие. На плотной питательной среде также может быть 5 типов колоний: плоские неправильной формы, типа *E. coli*, складчатые, похожие на цветок маргаритки, слизистые, со временем становящиеся зелеными и карликовые. На плотных питательных средах образует радужный лизис – нежный блестящий металлический налет и зоны лизиса вокруг колоний.

Сахаролитическая активность синегнойной палочки слабая. Она разлагает глюкозу до кислоты, через 2-3 суток окисляет ксилозу, арабинозу, маннозу. Протеолитические свойства выражены хорошо: разжижает желатин, свернутую сыворотку крови, гидролизует казеин. Восстанавливает нитраты в нитриты.

Из-за частой ассоциации синегнойной палочки с другими микроорганизмами в патологическом материале используют элективные и дифференциально-диагностические среды. Элективные среды содержат в качестве источника питания вещество ацетамид (источник углерода и азота). Ацетамид подавляет рост протей. Используют также среды с нитрофуранами, к которым синегнойная палочка устойчива. Селективной средой является ЦПХ-агар, который подавляет рост 24 видов микроорганизмов.

#### *Род Moraxella.*

Представители рода моракселл имеются на коже, слизистых оболочках и конъюнктиве глаз млекопитающих. Большинство из них комменсалы, но есть и патогены. Для животных особенно значимы являются *M. bovis* и *M. ovis*.

Моракселлы представляют собой неподвижные короткие, неспорообразующие грамтрицательные коккобактерии с тенденцией к плеоморфизму, т.е. размеры и форма бактериальных клеток варьирует. Располагаются преимущественно парами или короткими цепочками. Полиморфизм чаще всего бывает при недостатке кислорода и при температуре 32-35 °С. Некоторые штаммы могут образовывать капсулу. По отношению к кислороду они являются облигатными аэробами, обладают

каталазой и цитохромоксидазой. Сахаролитическая активность отсутствует. Разжижают желатину, редуцируют нитраты. Моракселлы высокочувствительны к пенициллину.

На питательном агаре с кровью крупного рогатого скота колонии моракселл могут быть плоскими и выпуклыми, как бы крошащиеся, серо-белого цвета. Вокруг колоний имеется зона  $\beta$ -гемолиза. Поверхность агара могут разъедать.

Род *Moraxella* включает подрод *Branhamella*.

*Подрод Branhamella.*

Бактерии этого подрода представляют собой грамотрицательные кокки, которые располагаются парами. Они неподвижны, спор не образуют, но имеют капсулу. Углеводы не ферментируют. Обладают ферментами каталазой, цитохромоксидазой, липазой и ДНК-азой. Восстанавливают нитраты в нитриты. Бранхамеллы аэробы. Могут расти при 22 °С. Чувствительны к пенициллину.

*Род Acinetobacter.*

Ацинетобактерии являются свободно живущими сапрофитами - обитателями почвы, воды, сточных вод, слизистых оболочек животного и человека. При снижении резистентности макроорганизма они могут быть причиной септицемии и аборта у животных.

Ацинетобактерии представляют собой очень короткие мелкие грамотрицательные палочки, иногда кокки. Располагаются парами или цепочками. Спор не образуют, жгутиков не имеют. Некоторые штаммы образуют капсулу. Каталазоположительны, но цитохромоксидазы не имеют, тем самым они отличаются от моракселл. Еще одним отличительным признаком является устойчивость к пенициллину. Ацинетобактерии строгие аэробы. Оптимальная температура для роста 30-32 °С.

*Неспорообразующие облигатные анаэробы.*

Неспорообразующие облигатные анаэробы (НОА) включают более 800 видов, относящиеся к разным родам и семействам, но с характерными признаками:

- отсутствие спор;
- чувствительность к токсическому действию кислорода воздуха;
- сложные питательные потребности;
- относятся к условно-патогенным микроорганизмам.

Эти микроорганизмы широко распространены в природе. Основной средой их обитания служат слизистые оболочки ротовой полости, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых путей животных и человека.

Болезнетворное действие НОА проявляется при создании благоприятных условий: наличие некротизированных тканей, нарушение кровоснабжения, низкое содержание кислорода. Предрасполагающими факторами являются операции на кишечнике, использование антибиотиков, иммунодепрессантов, кортикостероидов, рентгеновское облучение и другие моменты.

Вызываемые этими микроорганизмами гнойно-воспалительные заболевания называют неклостридиальными инфекциями. По тяжести течения эти инфекции бывают различными: от локальных доброкачественных до тяжелых генерализованных с летальным исходом. Проявлением инфекции может быть аппендицит, перитонит, сепсис, гангрена, раневая инфекция. В основном НОА в очаге поражения сочетаются с другими микроорганизмами – факультативными анаэробами и облигатными спорогенными аэробами. При микст-инфекции патологический процесс развивается очень быстро, заболевание протекает с признаками выраженной интоксикации. Такие инфекции трудно диагностировать и лечить.

Чаще всего гнойно-септические заболевания вызывают анаэробы родов: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*.

Бактероиды, фузобактерии и превотеллы представляют собой грамотрицательные палочки, пептококки и пептострептококки - грамположительные кокки, по морфологии не отличающиеся от стафилококков и стрептококков.

Для выделения из патологического материала НОА производят посев на селективные и неселективные питательные среды, которые инкубируют в анаэробных условиях в течение 48-72 часов. Сроки культивирования некоторых медленно растущих микроорганизмов могут составлять от 4 до 7 суток.

*Род Bacteroides* включает 26 видов. По морфологии они представляют собой прямые или слегка изогнутые короткие палочки размером 0,5-0,8x1-2 мкм, с биполярно окрашенными концами. В мазке располагаются поодиночке, парами, короткими цепочками, некоторые (*B.fragilis*) образуют капсулу. Бактероиды могут быть подвижными (перитрихами) и неподвижными.

Чаще всего заболевание вызывают *B. fragilis*. Микроорганизм растет на питательных средах медленно. В питательном бульоне через 48 часов появляется помутнение. На плотной питательной среде колонии появляются на 3-5 день. На анаэробном кровяном агаре бактероиды вырастают в виде круглых, выпуклых колоний серовато-белого цвета, похожих на мелкие пуговицы. Ферментируют некоторые сахара с образованием кислоты и небольшого количества газа. Факторами патогенности бактероидов являются ферменты (нейраминидаза, нуклеаза, фибринолизин).

*Род Prevotella* включает 24 вида, чаще всего выделяют *P. melaninogenicus*). Превотеллы являются полиморфными палочками. Они часто встречаются у собак и кошек при различных гнойных поражениях, часто вызывают абсцессы. На кровяном агаре превотеллы образуют гладкие или шероховатые колонии, коричневый или черный пигмент. Культура при своем росте издает неприятный гнилостный запах.

Превотеллы непостоянно ферментируют некоторые углеводы с образованием кислоты и газа.

*Род Fusobacterium* включает 16 видов. Наиболее частыми возбудителями гнойно-септических процессов являются *F. nucleatum* и *F. necrophorum*. Фузобактерии очень полиморфные. Они могут быть в виде тонких длинных палочек, кокков, нитевидных форм с бульбообразным вздутием, длиной до 80-100 мкм. Один из представителей фузобактерий *F. nucleatum* представляет собой веретенообразные тонкие палочки с заостренными концами, похожие на стрелку компаса. Микроорганизмы неподвижны, капсул не образуют. При окраске синькой Леффлера и разведенным фуксином имеют неравномерную окраску. На жидкой питательной среде вызывают помутнение, образование газа и выделение сырного запаха. На плотной питательной среде фузобактерии образуют мелкие грязновато-белые с желтоватым центром колонии, похожие на хлебные крошки или толченное стекло. Фузобактерии выделяют индол и сероводород, на средах с кровью вызывают гемолиз. Различные виды фузобактерий могут ферментировать или не ферментировать сахара, гидролизовать эскулин и крахмал, выделять липазу.

*Род Peptococcus*. Пептококки – шаровидные грамположительные анаэробные микроорганизмы, различающиеся по величине. Бывают размерами от 0,5 до 1,0 мкм. В мазках встречаются поодиночке, парами, тетрадами, иногда неправильными массами. Неподвижны. Встречаются в ротовой полости, дыхательных путях, кишечнике человека и животных. Типовой вид *P. niger*.

Пептококки растут на простых органических средах в анаэробных условиях, образуют мелкие выпуклые непрозрачные колонии серовато-белого цвета. Ферментируют пептоны, аминокислоты, некоторые углеводы. Сахаролитическая активность невысокая. В процессе роста образуют аммиак, ацетат, сукцинат и некоторые другие органические вещества, иногда индол.

*Род Peptostreptococcus.* Этот род включает 5 видов. Форма и размеры такие же, как у пептококков. В мазке располагаются парами, в виде коротких или длинных цепочек. Рост на питательных средах похож на рост пептококков. При росте выделяют дурно пахнущие вещества. Сбраживают углеводы только отдельные виды с образованием кислоты (уксусной, муравьиной, пропионовой, масляной, изомасляной, янтарной, вариановой) и (или) газа, некоторые образуют газ в пептонной воде без углеводов. Индол не образуют, образуют аммиак, редко обладают гемолитическими свойствами. Типовой вид *P. anaerobicus*.

Для идентификации НОА их сеют на питательные среды и инкубируют параллельно в анаэробных и аэробных условиях (при аэробных условиях они не растут). Изучают биохимические свойства: определяют каталазу (она должна отсутствовать), липазу, сахаролитическую активность, устойчивость к желчи (кроме *V. fragilis* все НОА чувствительны к желчи), другие биохимические признаки, а также определяют чувствительность к антимикробным препаратам.

Для ускоренной биохимической идентификации используют метод микрокультур в полистироловых планшетах с жидкими дифференциально-диагностическими средами. Для этого чистую культуру сеют в лунки с субстратом. При этом сроки учета результатов сокращаются до 5-6 часов.

В среднем для выделения и окончательной идентификации возбудителей НОА требуется 5-10 суток, но тактика лечения часто требует немедленного ответа, поэтому в настоящее время применяют экспресс-диагностику микрофлоры гнойно-воспалительных заболеваний, которая включает:

- микроскопию мазков из нативного патологического материала;
- исследование пробы в ультрафиолетовых лучах;
- метод флуоресцирующих антител;
- газовую хроматографию.

В ультрафиолетовом свете некоторые виды НОА обладают аутофлуоресценцией: превотеллы светятся красным, а фузобактерии – зеленым светом. Метод флуоресцирующих антител позволяет дать ответ уже через 1,5 – 2 часа после доставки материала в бактериологическую лабораторию. Метод газовой хроматографии основан на обнаружении летучих жирных кислот: пропионовой, валериановой, капроновой и других, которые являются метаболитами НОА.

Можно применять пробирочный метод индикации облигатных анаэробов, не требующий анаэроостатов и бескислородных газовых смесей. Материал сеют в пробирки с селективными питательными средами, приготовленными на основе обогащенной питательной среды для контроля стерильности, содержащей антибактериальные препараты: гентамицин; канамицин с желчью; гентамицин и метронидазол. После инкубации в термостате в течение 24-48 часов при 37 °С отмечают характер роста (в верхней, средней части столбика или по всему столбику). При наличии роста культуры, делают мазки и высевают на чашку с кровяным агаром, который инкубируют в аэробных условиях. Если имеется в пробирке рост в нижней части столбика, а на кровяном агаре роста нет, то такую культуру относят к анаэробам.

#### *Род Veillonella.*

К этому роду относят различные виды грамтрицательных анаэробных кокков размерами от 0,3-0,5 до 2,5 мкм в диаметре. Основное место обитания вейлонелл – желудочно-кишечный тракт и дыхательные пути жвачных животных, свиней, грызунов, человека. Обычно в мазке располагаются одиночно или парами (диплококки), но могут образовывать цепочки или скопления. У диплококков соприкасающиеся поверхности уплощены. Спор не образуют, неподвижны. Обладают повышенной требовательностью к питательным средам. Например, вид *V. alcalescens* для своего роста нуждается в веществах, присутствующих в гное – путресцине и кадаверине.



На плотной питательной среде вейлонеллы образуют мелкие гладкие серовато-белые, маслянистые, непрозрачные колонии, по форме похожие на чечевицу, ромбовидные или сердцевидные. При росте образуют газ, иногда в большом количестве (водород, углекислый газ). Углеводы и многоатомные спирты не сбраживают. Восстанавливают нитраты в нитриты, образуют сероводород, гемолитическими свойствами не обладают. Устойчивы к антибиотику ванкомицину.

*Под Corynebacterium.*

Условно-патогенными коринебактериями у животных являются *C. renale*.

Представители рода коринебактерий по ряду признаков близки к актиномицетам и пропионибактериям. По отношению к кислороду они являются аэробами или факультативными анаэробами. Обладают каталазой.

Микроорганизмы этого рода представляют собой плеоморфные грамположительные палочки, прямые или изогнутые, на концах имеется вздутие, могут ветвиться. Основная масса видов неподвижна, спор не образуют. В цитоплазме могут встречаться зерна запасного питательного вещества волютина. В клеточной стенке коринебактерий могут быть миколовые кислоты.

«Щелкающее» деление приводит к расположению в мазке микроорганизмов в виде буквы V или палисада. Углеводный метаболизм смешанный – бродильный и дыхательный.

*C. renale* гемолизом не обладают. На плотной питательной среде образуют мелкие желтоватые колонии в S-форме. Не сбраживают сахарозу и другие сахара, за исключением глюкозы, не расщепляют целлюлозу, не гидролизуют желатину, не восстанавливают нитраты в нитриты, обладают уреазой. В молочном агаре дают зону просветления, в лакмусовом молоке вызывают появление вино-красного цвета за счет щелочной реакции.

## **1.2. Морфологические, культуральные и биохимические характеристики некоторых условно-патогенных грибов, вызывающих гнойно-септические, раневые инфекции у животных и дисбактериозы. Микробиологические методы идентификации**

Условно-патогенные грибы относятся к различным родам и видам и обычно являются сапрофитами, обитая во внешней среде, на коже и слизистых оболочках тела животного. Причинами, приводящими к развитию микозов, вызванных условно-патогенными грибами, являются плохие условия содержания животных, скармливание кормов с наличием большого количества плесеней, иммунодефициты, нерациональное лечение антибиотиками с развитием дисбактериозов.

Микозы могут протекать остро и хронически, в локальных и генерализованных формах с развитием летального исхода.

Возбудителями оппортунистических микозов являются представители родов: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Malassesia* и другие. Тело *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* представляет собой гифу нитевидной формы, а *Candida* и *Malassesia* - округлую форму дрожжей.

Все грибы являются эукариотическими клетками, т.е. содержат хорошо оформленное ядро, митохондрии, эндоплазматическую сеть, аппарат Гольджи, лизосомы, рибосомы. Только грибы, в отличие от других эукариотических клеток, содержат сегресомы и хитосомы. Сегресомы представляют собой вакуолеподобные образования, которые регулируют поступление в клетки гриба гидрофобных веществ. Хитосомы – это органеллы, которые содержат фермент хитинсинтазу, необходимую для синтеза хитина, который входит в состав клеточной стенки.

Число ядер в грибных клетках различно. У дрожжеподобных форм, к которым относят *Candida* и *Malassesia*, имеется одно ядро, у низших грибов (род *Mucor*) в одной клетке имеется несколько десятков.

Клеточная оболочка грибов не содержит муреина и поэтому она не чувствительна к ферменту лизоциму, который действует на стенку

бактериальных клеток. Она толстая, прочная, содержит целлюлозу, гликаны и хитин.

Многие грибы растут на минимальных по составу ингредиентов средах, но для роста им необходимы витамины. *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* являются сапрофитами и фитопатогенами.

Выделение и идентификацию грибов проводят на жидких и плотных питательных средах: среды Сабуро, сусло-агар, картофельный агар и другие. Среда Сабуро стимулирует процессы пигментообразования у грибов, что позволяет их идентифицировать. Для подавления роста бактерий контаминантов («загрязнителей») патологического материала в среды добавляют антибиотики.

Мокроту при подозрении на наличие плесневых грибов инкубируют при 28 и 37 °С. Параллельно делают контрольные посевы воздуха в лечебном учреждении для обнаружения в нем плесневых грибов.

#### *Род Aspergillus*

*Аспергиллы, или леечная плесень*, встречаются наиболее часто. Они относятся к плесневым грибам. Аспергиллы имеют многоклеточный сильно разветвленный мицелий, размножаются вегетативно и бесполом путем с помощью конидий, которые еще называют экзоспорами. Конидиеносцы имеют расширение в виде головки, от которой отходят ответвления - стеригмы. От концов этих стеригм отшнуровываются конидии, окрашенные в различные цвета.

Род аспергилл включает около 200 видов. Самые частые из них *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*. Аспергиллы являются обычными обитателями верхних дыхательных путей здоровых животных, но могут выступать в качестве условно-патогенных микроорганизмов. Аспергиллез у сельскохозяйственных животных проявляется пневмонией, хроническими ринитами, аллергическими реакциями, абортами, поражением желудочно-кишечного тракта, маститами, поражением роговицы. Аспергиллы поражают цыплят, вызывая у них быструю гибель.

У взрослых птиц болезнь протекает хронически. У собак поражается слизистая оболочка носа, гифы грибов могут прорасти в синусы и в мозг. Первичными факторами могут быть вирусные инфекции дыхательных путей, а аспергиллез в этом случае выступает как секундарная (вторичная) инфекция. В тканях аспергиллы вызывают острое воспаление с зонами ишемического некроза.

Споры аспергилл имеют размеры, идеальные для проникновения в альвеолы. Аспергиллы вырабатывают протеолитические ферменты, разрушающие эластические волокна в стенках альвеол (эластазы). Кроме того они вырабатывают фибринолитические и антикоагулянтные ферменты.

Грибы из патологического материала растут легко, обычно в течение 3 дней при 25 °С. Большинство видов аспергилл вначале растут в виде белых «вельветовых» или «хлопковых» колоний, затем с возрастом цвет их изменяется. В зависимости от вида, колонии окрашены в разный цвет.

*Aspergillus flavus* образуют бархатистые или «припудренные» колонии желтого, желтовато-зеленого цвета, обратная сторона золотистая или красно-коричневая. Конидиеносец гладкий.

У *A. fumigatus* колонии бархатистые, складчатые. В начале своего роста на питательной среде они бывают белого цвета, затем репродуктивный мицелий становится зеленого цвета, а вегетативный, хорошо просматриваемый на обратной стороне чашки Петри, - желтым, зеленым, иногда красно-коричневым. Обратная сторона белой или бронзовой окраски. Конидиеносец шероховатый. *A. niger* образуют колонии желто-черного цвета, обратная сторона – черно-бурого цвета. Конидиеносец гладкий, длинный, прямой.

Аспергиллы выявляются микроскопическими и культуральными методами исследования. Микроскопировать можно нативный (неокрашенный) и окрашенный материал. Неокрашенный материал обрабатывают 10-30% раствором КОН, затем микроскопируют, изготовив

препарат по методу «раздавленная капля». Можно контрастировать препарат водным раствором метиленового синего. Фиксированные мазки окрашивают по Граму, метиленовым синим, по Романовскому-Гимза. При наличии аспергилл в мазках обнаруживают гиалиновые гифы, диаметром 3-6 мкм с дихотомическим делением и образованием двух равных ветвей, отходящих под углом 45 или 90°.

*Род Candida.*

Представители этого рода, включающего более 200 видов, относятся к диморфным грибам дейтеромицетам. Кандиды в норме встречаются на кожных покровах, в желудочно-кишечном тракте, верхних дыхательных путях, на слизистых оболочках гениталий. Они обладают низкой вирулентностью, но при стрессах, иммунодефиците, лечении глюкокортикоидными гормонами, антибиотиками, особенно тетрациклинового ряда, при повреждении кожных и слизистых оболочек могут вызывать заболевание, которое называют кандидозами, т.е. этот род грибов относится к оппортунистическим.

Чаще всего в роли этиологического фактора выступает вид *C. albicans*, реже *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*.

У мелких непродуктивных животных (собак и кошек) при кандидозе имеет место повреждение кожи с выпадением волос, могут быть поражения наружного уха. У молодняка сельскохозяйственных животных (телят и жеребят) в желудочно-кишечном тракте при кандидозе возможно развитие язв слизистой оболочки, а также пневмонии. У свиней могут быть кандидозные поражения кожных и слизистых покровов. У птиц при кандидозе поражается слизистая оболочка рта, зоба, пищевода.

Кандидозы могут быть первичными и вторичными, т.е. возникать как осложнение какого-либо заболевания, а в зависимости от выраженности процесса – локальными, системными и генерализованными.

Первичные формы встречаются при иммунодефицитах и у новорожденных животных с физиологически незрелой иммунной

системой. Вторичные кандидозы развиваются при снижении защитных механизмов хозяина и развитии вторичных иммунодефицитов.

Вирулентность кандид связана с адгезией и выделением ферментов (протеаз и фосфолипаз).

При локальных кандидозах повреждается конкретный орган или ткань. Например, могут развиваться макроабсцессы и микроабсцессы кожи, поражение слизистой оболочки рта, глотки, влагалища, ногтевой пластины.

Системные кандидозы поражают определенные системы органов: кандидозы дыхательной системы, мочеполовой системы, кишечника.

Генерализованные кандидозы вызывают поражение всего организма в виде сепсиса.

Кандиды являются истинными эукариотическими клетками, имеющими хорошо выраженное ядро и все виды органоидов. Размножаются обычно многополюсным почкованием, образуют терминальные хламидоспоры. Хламидоспоры крупные, круглые, двухконтурные.

Морфология кандид представлена 3 формами: дрожжеподобной, псевдомицелиарной (псевдогифы) и истинным мицелием. Дрожжеподобная форма представляет собой крупные округлые или овальные клетки, грампозитивные. Псевдомицелиарная имеет вид нитей, состоящих из вытянутых клеток. Обе эти морфологические формы встречаются в макроорганизме. Третья форма – истинный мицелий образуется при культивировании *in vitro* и представляет собой ростовые трубочки. Дрожжевая форма обеспечивает колонизацию покровных тканей, а псевдогифы инвазию, т.е. внедрение через эти ткани во внутреннюю среду организма.

Кандиды являются аэробами. Хорошо растут на простых жидких и плотных питательных средах, предназначенных для культивирования грибов: среда Сабуро, рисовый, кукурузный, картофельный агар.

Оптимальными условиями являются температура в пределах 25- 30 °С, рН 6,0- 6,5. На жидких питательных средах образуется легкое помутнение и осадок. На плотных питательных средах через 2-3 суток вырастают круглые белого или кремового цвета непрозрачные сметанообразные колонии достаточно крупных размеров, до 1 см. Псевдомицелий вырастает в агар. На мясопептонном бульоне с глюкозой вырастает псевдомицелий.

При пересеве колоний с плотной питательной среды в сыворотку животных и инкубировании при 37 °С в течение 3 часов образуются ростовые трубочки.

Кандиды ферментируют углеводы с образованием кислоты с газом или без него.

Для обнаружения кандид, из патологического материала (кожи, роговых чешуек, слизи, гноя, мокроты, кала, крови) готовят мазки, которые окрашивают одним из растворов красителей: 1% спиртовым раствором метиленового синего, генцианфиолетовым, водным раствором фуксина, по Граму или после обработки 10% раствором КОН раствором Люголя двойной концентрации.

#### *Род Malassezia*

Род малассезий состоит из 12 видов. Основным этиологическим фактором является *M. pachydermatis*. Малассезии представляют собой дрожжеподобные грибы, относящиеся к базидиомицетам. Это одноклеточные организмы, имеющие овальную форму с толстой оболочкой, размножаются почкованием. Почкующиеся клетки по форме напоминают «отпечаток стопы». Размеры клеток 3,0-6,5x 2,5 мкм. В мазках располагаются одиночно или скоплениями.

Растут при температуре 36 – 40 °С, причем, у некоторых штаммов рост при 40 °С был более пышным, чем при 36 °С.

На среде Барфатини *M. pachydermatis* на 7-е сутки роста образует округлые колонии диаметром 3-5 мм светло-желтого или светло-кремового цвета, слегка выпуклые, морщинистые с матовой поверхностью,

неровными краями, слабо фестончатые. Вокруг колоний имеется зона помутнения шириной 2-3 мм.

На среде Сабуро колонии округлой формы от светло-желтого до светло-коричневого цвета, выпуклые, гладкие, матовые.

Малассезии обладают каталазой, ферментируют мочевины и цитрат.

### **1.3. Возбудители псевдомикозов**

Псевдомикозом называют хроническое незаразное заболевание, которое вызывают чаще всего бактерии - представители рода актиномицетов (*Actinomyces*).

Представители этого рода являются типичными прокариотами, но в отличие от других бактерий способны к мицелиальному росту и размножению спорами, как грибы.

От грибов они отличаются строением ядерного аппарата, который не заключен в ядерную оболочку, а свободно расположен в цитоплазме - нуклеоид. Другим отличием является строение клеточной стенки, которая у актиномицетов построена из пептидогликанов, но не содержит хитин и целлюлозу, как у грибов.

Тело актиномицетов представляет собой тонкие ветвящиеся нити – гифы длиной от 50 до 600 мкм. Они могут быть прямыми или спиралевидными, иметь форму латинских букв V и Y. Окрашиваются по Граму положительно. Некоторые виды могут образовывать капсулу. Неподвижны.

Размножаются с помощью спор, которые формируются в результате сегментации и фрагментации гиф.

Являются облигатными и факультативными анаэробами. Растут при температуре 3-40 °С, оптимум – 35-37 °С. Некоторые виды неприхотливы при росте, другие нуждаются в добавлении к питательным средам крови или сыворотки. Для выделения актиномицетов используют среды Гаузе, Чапека с крахмалом, на которых они образуют исчерченные колонии на



10-14 сутки. Молодые колонии более тонкие, плоские, размером 0,3-0,5 мм, зрелые колонии более крупных размеров (1-1,5 мм).

При росте на плотных питательных средах актиномицеты образуют растущий в среду субстратный мицелий и воздушный мицелий, поднимающийся над средой и окрашенный в различные цвета: белые, синие, желтые, зеленые, фиолетовые, красные, оранжевые, черные и другого цвета. Другие виды могут образовывать гладкие белые с более темным центром круглые гладкие колонии с волнистыми краями (*Actinomyces bovis*).

Актиномицеты разного вида обладают различной биохимической активностью. У некоторых она низкая, у других - достаточно выраженная. Многие виды обладают каталазой и фосфатазой, амилазой, расщепляют белки и жиры, разжижают желатин. Углеводы ферментируют с образованием кислоты. Разные виды ферментируют различные углеводы, что является диагностическим признаком.

Для обнаружения друз актиномицетов в патологическом материале используют гной из свищей. Комочки из патологического материала наносят на предметное стекло в каплю 10-20% щелочи, слегка подогревают. Накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Друзы можно обнаружить и в окрашенном материале.

Исследуемый материал засевают в жидкие и на плотные питательные среды, посевы инкубируют в аэробных и анаэробных условиях. У чистой культуры изучают биохимическую активность. Дифференциацию видов актиномицетов проводят на основании культуральных и биохимических признаков.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

### ТРАНСПОРТНЫЕ И ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Существует несколько классификаций микробиологических сред:

- по составу (естественные, искусственные, синтетические);
- по консистенции (жидкие, полужидкие, полуплотные, плотные, сыпучие, сухие);
- по целевому назначению (основные, дифференциально-диагностические, элективные, транспортные, специальные).

В клинической микробиологии применяют все типы сред целевого назначения, различного состава и консистенции.

Для транспортировки патологического материала используют *транспортные* среды (другое название консервирующие), для культивирования – *питательные*, которые могут быть:

- *простыми*, т.е. средами общего назначения, предназначенными для выращивания основной массы условно-патогенных микроорганизмов,
- *дифференциально-диагностическими*, предназначенными для разграничения отдельных видов или групп микроорганизмов,
- *элективными* для избирательного выделения микроорганизмов конкретного вида из патологического материала, содержащего различную микрофлору,
- специальными для определения антибиотикочувствительности.

Приготовление сред осуществляется в соответствии с ГОСТ Р51446-99.

#### Транспортные среды

Транспортная среда должна обеспечить сохранение жизнеспособности микроорганизмов не менее чем на 8-12 часов при комнатной температуре, а также предупредить или уменьшить их размножение. Охлаждение до 4°C удлиняет сроки транспортировки до суток, а в тиогликолевой среде для контроля стерильности – до 5-7 суток.

Отечественные и зарубежные фирмы выпускают транспортные среды для сохранения бактерий в клинических образцах, при необходимости их можно приготовить самим.

1. Для аэробов, факультативных анаэробов и микроаэрофилов используют следующие среды:

*Фосфатно-буферный раствор:*

- Калия дигидрофосфат – 0,4г
- Динатрия гидрофосфат - 5,34 г
- Вода дистиллированная до 1000,0 мл

*Буферный глицерино-солевой раствор:*

- Натрия хлорид – 4,2 г
- Дикалия гидрофосфат – 3,1 г
- Калия дигидрофосфат – 1,0 г
- Глицерин нейтральный – 300,0 мл
- Вода дистиллированная – 700,0 мл

*Глицериновый консервант:*

- Натрия хлорид 0,85% раствор – 1000,0 мл
- Глицерин нейтральный – 500,0 мл
- Динатрия гидрофосфат 20% раствор – 150,0 мл

Наиболее известными из зарубежных транспортных сред являются *среда Эймса (Амиес)* и *среда Кэри-Блэр*. Первую используют для транспортировки в клиническую лабораторию гноя, экссудатов из различных органов, ран, материала из половых органов. Она сохраняет многие микроорганизмы. Среду Кэри-Блэр используют для транспортировки фекалий. В ней хорошо сохраняются микроорганизмы кишечника. Эти среды выпускают готовыми к употреблению в полистироловых пробирках.

2. Для облигатных анаэробов используют среды:

*Тиогликолевая среда (отечественная и зарубежная):*

- Натрия глицерофосфат -10,0 г

Натрия тиогликолят -1,0 г

Кальция хлорид – 0,1 г

Налидиксовая кислота – 0,04 г

Акридин - 0,008 г

Агар – 2,0

Вода дистиллированная - до 1000,0 мл

*Бульон Шедлера (зарубежная среда).*

*Среды, которые одновременно являются транспортными и средами для культивирования анаэробов:*

*Жидкая обогащенная среда* под инертным газом с геминем и витамином К для прямого посева крови и жидких субстратов

*Среда для контроля стерильности:*

В питательную среду вносят 20,0 г/л дрожжевого экстракта

Агар -5,0 г/л

Индикатор кислорода – резазурин 0,001 г

*Двойная среда для первичного посева крови:*

К скошенному во флаконе питательному 1,7-2,0 % агару добавляют 150,0 мл полужидкой среды, приготовленной на питательном бульоне с добавлением 15,0 г глюкозы и 0,15% агара.

#### *Питательные среды*

*Среды общего назначения* используют отдельно для культивирования аэробов и факультативных анаэробов и облигатных анаэробных бактерий. К этим средам относят: мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар, мясо-пептонный агар с кровью, шоколадный агар (для аэробов и факультативных анаэробов), среда Шедлера, бруцелла-агар (для облигатных анаэробов).

*Мясопептонный бульон (МПБ)*

Мясопептонный бульон предназначен для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, изучения их роста по помутнению среды, наличию пленки или

пристеночного кольца, осадка.

Для приготовления МПБ к 1000,0 мл мясной воды добавляют 10,0 г сухого пептона, 5,0 г натрия хлорида, кипятят в течение 20 минут и, при выкипании, доводят дистиллированной водой уровень до первоначального объема. рН устанавливают на уровне 7,8 насыщенным раствором натрия гидрокарбоната или 10%-ным раствором натрия гидроксида.

Бульон фильтруют через бумажный фильтр до полного просветления, стерилизуют 20 минут в автоклаве при температуре 120°C. При этом рН обычно несколько снижается.

#### *Мясопептонный агар (МПА))*

Мясопептонный агар предназначен для культивирования аэробов и факультативных анаэробов, изучения их культуральных признаков: рост в виде колоний или роения. Если имеется рост в виде колоний, оценивают их величину и форму, края, цвет, блеск, прозрачность, консистенцию, изменение среды вокруг колоний и другие признаки.

Для приготовления МПА к 1000,0 мл мясопептонного бульона с рН 7,0-7,2 перед стерилизацией добавляют 23,0 г агар-агара, предварительно замоченного в водопроводной воде на 10-15 минут, и кипятят в емкости с водой на слабом огне до полного растворения агара (примерно 30 минут с момента закипания).

Агар фильтруют в горячем состоянии (50-55 °С) через ватно-марлевый фильтр.

Разлитый в колбы по 200,0-250,0 мл или в пробирки МПА 40 мин стерилизуют в автоклаве при 115°C.

#### *Полужидкий агар (ПЖА)*

Полужидкий агар используют для определения подвижности микроорганизмов. Для этого ПЖА разливают в пробирки столбиком, посев культур проводят уколом в столбик среды, не

доводя до дна 5-6 мм.

Если культура обладает подвижностью, то она растет диффузно, вызывая помутнение всей питательной среды. При отсутствии у микроорганизма подвижности, рост осуществляется строго по уколу, а среда остается прозрачной. При наличии слабой подвижности имеется помутнение небольшого участка среды вблизи укола.

Для приготовления ПЖА к 1000,0 мл мясопептонного бульона добавляют 3,0-4,0 г агар-агара, замоченного, как указано выше. В дальнейшем приготовление среды осуществляют по прописи, указанной выше, но ПЖА разливают только в пробирки по 5,0 мл. Готовую среду охлаждают в вертикальном положении, чтобы получить столбик.

#### *Питательный желатин (ПЖ)*

ПЖ предназначен для определения протеолитической активности микроорганизмов, которую определяют по разжижению желатина. При наличии данной активности засеянный микроорганизмами желатин после инкубирования в термостате и стоянии при комнатной температуре должен оставаться жидким.

Для приготовления ПЖ к 1000,0 мл мясопептонного бульона прибавляют 100,0 г пищевого желатина. Желатин должен набухнуть, после чего бульон в течение 1-2 ч медленно нагревают в теплой водяной бане (при 40-50 °С) до полного расплавления желатина. Затем устанавливают рН на уровне 7,2, горячим фильтруют через бумажный фильтр и разливают в пробирки по 5,0-7,0 мл. Стерилизацию можно проводить дробно (тиндализация) или однократно путем автоклавирования. После стерилизации среду охлаждают в вертикальном положении.

#### *Шоколадный агар*

Чтобы приготовить эту среду, к 100,0 мл расплавленного и охлажденного до 80 °С питательного агара (рН 7,4) добавляют 10,0 мл дефибринированной крови лошади или человека. Перемешивают,

помещают в водяную баню, постоянно встряхивают. Держат при 70-80 °С, пока среда не станет шоколадного цвета (примерно 25-30 минут). После этого разливают в чашки Петри.

Среды для выделения и идентификации энтеробактерий.

*Селективные среды:* Плоскирева, МакКонки, висмут-сульфитный агар, SS-агар и другие.

*Дифференциально-диагностические среды:* Эндо, цитратный агар Симмонса, среда Преуса с мочевиной, среды Гисса с углеводами, среда Клиглера, Кристенсена.

*Среда Плоскирева*

Среду готовят из сухой среды согласно указанию на этикетке банки. Среду разводят водой, кипятят, разливают в стерильные чашки Петри. Готовая среда имеет оранжево-красный цвет.

Лактозоположительные бактерии при разложении лактозы, входящей в состав среды, изменяют ее рН в кислую сторону, поэтому, колонии приобретают различные оттенки красного цвета, а лактозоотрицательные остаются неокрашенными.

*Висмут-сульфитная среда Вильсона-Блера (по прописи Минкевича)*

Данная среда предназначена для определения у бактерий способности образовывать сероводород. Если бактерии образуют сероводород при росте на данной среде, то он реагирует с висмут-сульфитом и колонии окрашиваются в черный цвет. Бактерии, не образующие сероводород, вырастают в виде мелких бесцветных или зеленоватых колоний.

Чтобы приготовить среду, на водяной бане расплавляют 100,0 мл 3% мясо-пептонного агара. Одновременно в 20,0 мл стерильной дистиллированной воде, нагретой до 70 °С, вносят 1,0 г глюкозы, 1,5 г порошка натрия сульфата и 1,0 г кристаллического натрия фосфата.

Параллельно готовят раствор из висмута - аммония цитрата. Для

этого в стерильную пробирку вносят 0,45 г висмута - аммония цитрата, добавляют 5,0 мл горячей дистиллированной воды и хорошо встряхивают. После растворения порошка прибавляют 0,1 мл 10% раствора натрия гидроксида. При этом раствор становится мутным.

Окончательную смесь получают путем перенесения висмутового раствора из пробирки в колбу, где предварительно растворяли глюкозу и другие компоненты.

Другими компонентами среды являются: 8%-ный раствора закисного железа сульфата и 1% раствор бриллиантового зеленого, приготовленные на стерильной дистиллированной воде.

Для окончательного приготовления среды, в охлажденный до 60 °С агар добавляют при тщательном перемешивании подготовленные ингредиенты в следующем порядке: 1,0мл раствора железа сульфата, окончательную смесь в приготовленном объеме и 0,4 мл раствора бриллиантового зеленого.

Приготовленная среда непрозрачная (молочно-мутная) с зеленоватым оттенком, имеет рН 8,0-8,1.

#### *Среда Эндо*

Среда Эндо выпускается отечественной микробиологической промышленностью в виде сухой среды, в лаборатории ее готовят в день использования, согласно прописи, указанной на этикетке. Готовая среда имеет слегка розоватый цвет.

Лактозоположительные бактерии при разложении лактозы, входящей в состав среды, сдвигают ее рН в кислую сторону, поэтому, колонии приобретают различные оттенки красного цвета, а лактозоотрицательные остаются неокрашенными.

#### *Трехсахарный агар с мочевиной (по И. С. Олькеницкому).*

Эта среда позволяет одновременно определять наличие у микроорганизма фермента уреазы, способность образовывать сероводород и ферментацию углеводов (глюкозы, лактозы и сахарозы). Она разливается в



пробирки так, чтобы одновременно была и скошенная поверхность, и столбик.

Для приготовления среды к 1000,0 мл стерильного питательного агара добавляют: 10,0 г лактозы, 0,2 г соли Мора, 0,3 г натрия гипосульфита, 10,0 г сахарозы, 1,0 г глюкозы, 10,0 г мочевины, 10 мл 0,4%-ного раствора фенолового красного.

Предварительно порознь растворяют в небольшом количестве воды соль Мора (двойная сернокислая соль закиси железа и аммония) с натрия гипосульфитом и мочевины с углеводами. Затем растворенную соль Мора и раствор мочевины с углеводами смешивают с агаром.

После фильтрации смесь разливают в пробирки по 5,0-6,0 мл, стерилизуют текучим паром или в автоклаве. Среда получается бледно-розового цвета. Перед употреблением ее расплавляют и скашивают.

#### *Среда Кесслер (модифицированная)*

Среда Кесслер идентична зарубежной среде МакКонки.

Для ее приготовления в 1000,0 мл дистиллированной воды помещают 10,0 г пептона, 50,0 мл желчи, затем кипятят 30 минут, фильтруют через вату. После этого добавляют 2,5 г лактозы, доводят объем дистиллированной водой до первоначального и вносят 2,0 мл 1%-ного водного раствора генцианового фиолетового.

Среду разливают в пробирки с поплавками по 10,0 мл и стерилизуют в автоклаве в течение 15 минут. Среда имеет фиолетовый цвет.

#### *Среда Клиглера*

К 1,5-1,7 % МПА добавляют по 10,0 г лактозы и сахарозы и 1,0 г глюкозы. После растворения углеводов добавляют по 10,0 мл 2% раствора сернокислого железа, 0,8% раствор тиосульфата натрия и 0,4% раствора сульфита натрия. Эта смесь служит реактивом на сероводород. Добавляют 24,0 мл 1% водно-спиртового раствора фенолового красного.

### *Среды Гисса*

Среды Гисса могут быть жидкими и полужидкими. Их готовят на пептонной воде, куда добавляют различные сахара и многоатомные спирты.

Среды Гисса предназначены для дифференциации микроорганизмов по их способности сбраживать конкретные сахара (спирты) только до кислоты или до кислоты и газа. В результате питательная среда изменяет первоначальный цвет, а поплавков при наличии газа всплывает.

В полужидких средах цвет изменяется так же, а газообразование отмечают по появлению пузырьков воздуха в столбике среды.

Вначале готовят пептонную воду, для чего к дистиллированной воде прибавляют 1% сухого пептона, 0,5% натрия хлорида и кипятят до полного растворения. Устанавливают рН 7,8-8,0, фильтруют через бумажный фильтр до полного просветления, разливают и стерилизуют в автоклаве при 120°C 20 минут.

В приготовленную 1% пептонную воду с рН 7,0-7,2 добавляют 1% индикатора бромтимолового синего или Андрее. Затем нагревают эту смесь до 80-100 °С, делят на равные порции и к каждой добавляют различные сахара или спирты в концентрации 1%. Перемешивают до полного растворения сахара, затем фильтруют через бумажный фильтр, разливают по 3,0-4,0 мл в стерильные пробирки с поплавками. Стерилизуют дробно 3 дня при 100 °С в течение 30 минут.

Полужидкие среды включают 0,2-0,5 % агар-агара.

### *Цитратный агар Симмонса*

Среда Симмонса предназначена для дифференциации энтеробактерий по их способности утилизировать натрия цитрат в качестве единственного источника углерода. При расщеплении натрия цитрата образуются щелочные продукты, в результате

чего цвет среды из оливкового становится ярко-синим.

Микробиологическая промышленность выпускает готовую сухую среду.

*Среда обогащения EE (в модификации Г.П.Калины)*

Среда предназначена для накопления сальмонелл и эдвардсиелл. В ее состав входят желчь и бриллиантовый зеленый, которые подавляют развитие другой микрофлоры.

Для приготовления среды в 1000,0 мл дистиллированной воды растворяют 10,0 г пептона, 5,0 г глюкозы, 8,0 г натрия гидрофосфата, 2,0 г калия дигидрофосфата, вносят 20,0 мл бычьей желчи.

После автоклавирования добавляют 3,0 мл 0,5%-ного водного раствора бриллиантового зеленого, разливают в стерильные пробирки по 10,0 мл.

*Среда III для видовой дифференциации протеев*

Среда является двухслойной.

Для приготовления нижнего слоя к 100,0 мл дистиллированной воды прибавляют 0,2 г глюкозы, 0,6 г агар-агара, 0,1 г фосфата калия однозамещенного, 0,04 г фосфата калия двухзамещенного, 0,5 г хлорида натрия, 0,1 г пептона, 1,0 мл водного раствора нейтрального красного. Стерилизуют автоклавированием. После чего прибавляют 1,0 мл самореализующегося раствора мочевины (50,0 г мочевины растворяют в 100,0 мл стерильной дистиллированной воде, выдерживают при комнатной температуре 2-3 суток, хранят в условиях холодильника). Разливают по 3,0-4,0 мл в стерильные пробирки и остужают столбиком.

Для приготовления верхнего слоя к 200,0 мл дистиллированной воды прибавляют 1,2-1,4 г агар-агара, 30,0 мл дрожжевого экстракта.

Стерилизуют в автоклаве. После этого прибавляют 0,4 г DL-триптофана, 0,06 г тиосульфата натрия и 0,2 г натрий-аммония фосфорнокислого, растворенных в небольшом количестве воды и

подогретых на водяной бане до 100 °С. Второй слой разливают поверх застывшего столбика нижнего слоя по 6 мл. Скашивают столбиком высотой 1,0-1,5 см.

Посев проводят штрихом по скошенной поверхности и уколом до дна пробирки. Под пробку помещают полоску фильтровальной бумаги, пропитанной реактивом на индол.

Индикаторная бумага для определения индола может быть в трех вариантах: 1 вариант – насыщенный (10% водный раствор щавелевой кислоты); 2 вариант – реактив Ковача; 3 вариант – раствор пара-диметиламинобензальдегида. При наличии индола бумаги, приготовленные по 1 и 2 вариантам, окрашиваются в розовый цвет, по 3-му варианту – синевато-розовый или интенсивно малиновый цвет.

Посевы культивируют 18-20 ч, затем определяют уреазную активность, продукцию газа и индола. Затем в пробирку наливают тест - реактив для определения триптофандеаминазы и продукции сероводорода.

Тест – реактив для определения триптофандеаминазы и продукции сероводорода готовят следующим образом. К 13,0 г хлорного железа добавляют 1,3 мл соляной кислоты, дистиллированной воды до 100,0 мл. Реактив хранят в банке с притертой пробкой.

#### *Среда обогащения для клебсиелл (по прописи Т. П. Калины)*

Среда предназначена для обнаружения клебсиелл в патологическом материале и объектах внешней среды.

Для приготовления среды в 1000,0 мл дистиллированной воды растворяют 5,0 г натрия хлорида, 0,2 г магния сульфата, по 2,0 г калия дигидрофосфата, калия гидрофосфата и раффинозы. Добавляют 2,0 мл бромтимолового синего (1,6%-ный щелочной раствор) и 20,0 мл 0,01%-ного водного раствора кристаллического фиолетового. Кипятят на водяной бане 15 мин, добавляют 4,0 мл 50%-ного раствора мочевины, разливают по

4,0-5,0 мл в пробирки.

Среды для выделения и культивирования кокковой микрофлоры.

*Агар Бэрда-Паркера*

Основа агара Бэрда-Паркера идентична агару Чистовича.

Для приготовления основы среды в 1000,0 мл дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона, 17,9 г лития хлорида шестиводного, 5,0 г мясного экстракта и 5,0 мл дрожжевого экстракта.

Вместо мясного экстракта можно использовать 1000,0 мл мясной воды, бульона Хоттингера или МПБ. В этом случае дистиллированную воду не использовать. Если в качестве основы берут мясопептонный бульон, то пептон в среду не вносят.

Все компоненты, внесенные в 1000,0 мл дистиллированной воды (МПБ или бульона Хоттингера), нагревают до полного их растворения, охлаждают до 50 °С, устанавливают рН, равный 6,8-7, разливают в колбы, автоклавируют. После этого к 90,0 мл основы среды добавляют 5,0 мл желточной эмульсии, 6,3мл раствора аминокислоты глицина (200,0 г/л), 5,0 мл раствора натрия пирувата (200,0 г/л) и 1,0 мл раствора калия теллурита (10,0 г/л). Все растворы стерилизуют фильтрованием через мембранный фильтр. Приготовленную среду разливают в чашки Петри.

Среда должна быть использована в течение 48 ч.

*Яично-желточный - солевой агар*

Для приготовления среды 1000,0 мл МПА расплавляют и растворяют в нем 95,0 г натрия хлорида, охлаждают до 45°С, добавляют 100,0 мл яично-желточной взвеси. Смесь перемешивают и разливают в чашки Петри. Среду хранят в холодильнике не более 5 суток.

### *Молочно-солевой агар*

Среда используется для культивирования стафилококков и стрептококков.

Перед посевом к 1000,0 мл расплавленного и охлажденного до 60°C МПА с 65,0 г натрия хлорида добавляют 100,0 мл стерильного обезжиренного молока. Устанавливают рН 7,4, перемешивают и разливают в чашки.

### *Солевой или сахарный бульон*

Чтобы приготовить среду в 100,0 мл МПБ вносят 6,0 г натрия хлорида или 1,0 г глюкозы, стерилизуют автоклавированием. Устанавливают рН равным 6,9.

### *Среда с ДНК*

В 1 л дистиллированной воды растворяют 6,1 г триаминаметана, доводят рН раствора до 9. После этого к раствору добавляют 0,3 г ДНК, 10,0 г натрия хлорида, 1,1 мл раствора кальция хлорида. Среду охлаждают до 60 °С, добавляют 9,2 мл раствора толуидинового синего, перемешивают, разливают по стерильным чашкам Петри. Хранят среду при температуре холодильника не более 7 суток.

### Среды для энтерококков

Состав *первой* среды (в расчете на 1000,0 мл): по 5,0 г глюкозы, панкреатического перевара казеина, дрожжевого экстракта, 0,4 г натрия азиды, 0,01 г метиленового синего и 15,0 г агар-агара. рН среды составляет 8,0

Состав *второй* среды (в расчете на 1000,0 мл): 12,0 г панкреатического перевара казеина, 5,0 г пептона, 3,0 г мясного экстракта, 2,0 г дрожжевого экстракта, 1,0 г крахмала растворимого, 0,015 г налидиксовой кислоты, 0,01 г полимиксина Е (колистина), 14,0 г агар-агара. рН среды составляет 7,2.

Среды для культивирования плесневых грибов и  
и дрожжей.

*Среда Сабуро*

Чтобы приготовить 1000,0 мл среды к дистиллированной воде добавляют 40,0 г глюкозы, 10,0 г пептона, 18,0 г агар-агара. Смесь подогревают до расплавления, охлаждают до 50°C, разливают в колбы и автоклавируют. рН устанавливают в пределах 6,5. Основу среды можно хранить при температуре холодильника до 14 суток.

Среда Сабуро в модификации Эммонса.

Отличие от среды Сабуро состоит в добавлении хлорамфеникола – 50,0 мг/л и циклогексимида – 500,0 мг/л.

*Сусло солодовое*

Водопроводную воду нагревают до 50 °С. К 1000,0 мл ее прибавляют 200,0 г молотого ячменного солода. Смесь перемешивают 30 минут, подогревают на водяной бане до 55 °С, оставляют на 15 минут, затем вновь нагревают до 60 °С и выдерживают смесь при этой температуре в течение 1 часа. Затем температуру доводят до 72 °С и выдерживают сусло при этой температуре до полного осахаривания.

Степень осахаривания сусла проверяют раствором Люголя. Для этого каплю сусла переносят в фарфоровую чашку и осторожно прибавляют к нему каплю раствора Люголя. Окончательно осахаренное сусло не должно менять окраску в присутствии индикатора.

Полученное сусло фильтруют через фильтровальную бумагу, доливают до 1000,0 мл и стерилизуют в автоклаве. Затем сусло декантируют (сливают с осадка), разбавляют водой до массовой доли сухих веществ 7-8 %, разливают в стерильную посуду, стерилизуют в автоклаве.

Для определения дрожжей и плесневых грибов в патологическом материале, сильно обсемененном

микроорганизмами, сусло при приготовлении подкисляют стерильным раствором лимонной или молочной кислоты.

#### *Солодовое агаризованное сусло*

К 1000,0 мл солодового неохмеленного сусла с массовой долей сухих веществ 7-8 % прибавляют 20,0 г агар-агара. Среду расплавляют на водяной бане или текучим паром и фильтруют через гигроскопическую вату или фильтровальную бумагу. Фильтрат разливают по стерильным колбам или пробиркам и стерилизуют автоклавированием или текучим паром (3 суток по 30 минут).

#### Среды для культивирования молочнокислых микроорганизмов

##### *Среда Бликфельда*

Для приготовления среды в 950,0 мл дистиллированной воды вносят 10,0 г лактозы, 10,0 г глюкозы, 5,0 г пептона, кипятят и фильтруют через бумажный фильтр. К фильтрату добавляют 20,0 мл дрожжевого экстракта, 32,0 мл раствора бромкрезолового пурпурного.

Среду разливают в стерильные пробирки и стерилизуют автоклавированием. рН должен быть равным 7,3.

##### *Среда МРС жидкая и агаризованная*

Для приготовления *жидкой* среды колбу вносят 10,0 г пептона, 20,0 мл дрожжевого экстракта, 20,0 г глюкозы, 1,0 мл твина-80, 2,0 г калия фосфата двузамещенного, 5,0 г натрия ацетата, 2,0 г триаммония цитрата, 0,2 г магния сульфата, 0,05 г марганца сульфата доливают до 1000,0 мл мясной водой. Нагревают на водяной бане до растворения компонентов и устанавливают рН (6,2).

Среду разливают по 10,0 мл в стерильные пробирки и автоклавируют. Пробирки с питательной средой хранят при температуре холодильника до 30 суток.



*Агаризованная* среда МРС готовится путем прибавления 15,0-18,0 г агар-агара к 1000,0 мл жидкой среды. Автоклавирование и хранение агаризованной среды такое же, как жидкой.

#### *Среда Рогозы*

Среда может быть в двух вариантах - жидкой и агаризованной. Агаризованная является аналогом отечественной среды – лактобакагара.

Для приготовления 1000,0 мл жидкой среды в колбу вносят: 10,0 г пептона, 25,0 мл дрожжевого экстракта, 20,0 г глюкозы, 1,0 мл твина-80, 6,0 г калия фосфата однозамещенного, 2,0 г аммония цитрата, 25,0 г натрия ацетата, 1,32 мл ледяной уксусной кислоты, 0,575 г магния сульфата, 0,12 г марганца сульфата и 0,034 г железа сульфата.

После этого доливают до 1000,0 мл дистиллированной воды, нагревают на водяной бане до растворения компонентов. Устанавливают рН до 5,4.

Среду разливают по 10,0 мл в пробирки и стерилизуют автоклавированием. Пробирки с питательной средой хранят в условиях холодильника до 30 суток.

Агаризованная среда готовится на основе жидкой с добавлением 20,0 г/л агар-агара.

#### Среды для *Pseudomonas aeruginosa*

1. На 1000,0 мл дистиллированной воды берут: 10,0 г глицерина, 1,5 г магния сульфата (оба компонента стимулируют образование пигмента), 12,0 г пептона, 10,0 г панкреатического перевара казеина, 1,4 г дикалия гидрофосфата, 14,0 г агар-агара. рН среды составляет 7,2.

#### *2. Аргинидная среда*

К 0,3г аргинина монохлорида добавляют 0,02. хлорида магния, 0,08 г однозамещенного фосфата калия, 0,1 г тиосульфата натрия, 2,0 г агар-агара, дистиллированной воды до 100,0 мл. рН среды должен быть 7,2-7,4.

Среду стерилизуют автоклавированием, разливают на 6 чашек Петри. После застывания поверхность среды заливают тонким слоем другой среды, состоящей из 2,0 г агар-агара, 0,8 г тринитрофенилтетразолий хлорида или 8,0 мл 10% водного раствора тринитрофенилтетразолий хлорида, дистиллированной воды до 100,0 мл.

В этой среде инкубацию патологического материала проводят в течение 42-44 часов при 37<sup>0</sup>С.

### *3. ЦПХ-агар*

Для приготовления среды смешивают: 20,0 г пептона 7,0 г сернокислого калия, 1,5 г хлорида магния, 2,0 г N-цетилпиридиний хлорид, 10,0 г агар-агара, доливают дистиллированной воды до 1000,0 мл. Смесь кипятят 2-3 минуты до расплавления агара, разливают в чашки Петри.

Среды для выделения и культивирования анаэробных микроорганизмов.

### *Среда Китта — Тароци*

В стерильные пробирки вносят нарезанные кусочками паренхиматозные органы (печень или почки) животного, заливают МПБ с глюкозой (10,0 г/л) и агар-агаром (1,5 г/л). Разливают в пробирки по 12,0-13,0 мл, нагревают на водяной бане до расплавления агар-агара, стерилизуют в автоклаве рН среды должен быть близким к 7,1.

### *Печеночный агар*

Для приготовления среды к 500,0 мл печеночной воды добавляют такое же количество водопроводной воды, вносят 10,0 г пептона, 5,0 г натрия хлорида и 20,0-30,0 г агар-агара. Среду кипятят до растворения агар-агара, устанавливают рН 6,8-7, разливают в пробирки или флаконы, автоклавируют.

### *Глюкозокровяной агар Цейслера*

К 3%-ному МПА прибавляют 1 % глюкозы, доводят рН до 7,2,

разливают во флаконы по 100,0 мл и автоклавируют.

Перед употреблением к расплавленной и охлажденной до 45 °С среде прибавляют 20 % свежей дефибринированной крови мелкого или крупного рогатого скота.

#### *Кровяной сахарный агар*

Кровяной сахарный 2 % агар готовят на бульоне Хоттингера, расплавляют и охлаждают до 45 °С, после этого добавляют дефибринированную кровь кролика, мелкого или крупного рогатого скота (10,0-15,0 мл/100,0 мл) и 20%-ный стерильный раствор глюкозы (10,0 мл/100,0 мл).

Смесь взбалтывают и разливают по чашкам Петри.

#### Среды для изучения биохимической активности микроорганизмов

##### *Кровяной агар*

Среда позволяет определять гемолитическую активность микроорганизмов.

Чтобы приготовить кровяной агар к 100,0 мл расплавленного стерильного и охлажденного до 45 °С МПА асептически прибавляют 5,0-10,0 мл стерильной дефибринированной крови животного (кролика, барана или лошади).

Готовую среду разливают в стерильные чашки Петри, подсушивают в термостате при 37 °С.

##### *Среда с калия нитратом*

Среду используют для определения восстановления нитратов в нитриты.

Согласно одному из вариантов (пропись ЦНИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова) к 500,0 мл 1%-ной пептонной воды добавляют 500,0 мл дистиллированной воды, 2,5 натрия хлорида, 0,1 г калия нитрата, перемешивают до растворения компонентов. Фильтруют через

бумажный фильтр, устанавливают рН (7,1-7,2), разливают в пробирки по 5 мл, стерилизуют автоклавированием.

Для определения нитритов пользуются тест-реактивом, содержащим а-нафтиламин (реактив Грисса). При наличии нитритов цвет среды становится красным.

#### *Среда Кларка*

Среду Кларка используют для определения промежуточного продукта разложения сахаров – ацетоина (ацетилметилкарбинола) в реакции Фогеса-Проскауэра.

Для приготовления среды к 1000,0 мл дистиллированной воды добавляют по 5,0 г пептона, глюкозы и калия фосфата двузамещенного.

Смесь подогревают до растворения компонентов, охлаждают, фильтруют через бумажный фильтр. Затем разливают по 5,0 мл в пробирки, автоклавируют.

Для определения ацетоина используют индикатор, состоящий из 6% спиртового раствора α-нафтола и 40% раствора калия гидроксида. Для этого к 2,5 мл 2-5 суточной культуры, выращенной на среде Кларка, добавляют вначале 1,0 мл раствора α-нафтола, затем 0,4 мл раствора калия гидроксида.

Присутствие ацетоина определяется по наличию красного кольца в верхней части пробирки.

#### Среды для определения чувствительности к антибиотикам

Отечественной средой является *среда АГВ*, состоящая из питательного агара сухого, крахмала растворимого, динатрия гидрофосфата, которые растворяют в дистиллированной воде.

Импортной средой является среда Мюллера-Хинтона.

### ПРИЛОЖЕНИЕ 3. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ

Определение чувствительности к антибиотикам у микроорганизмов, выделенных из патологического материала, проводят только с чистой культурой доминирующего в этом материале возбудителя. При наличии микробной ассоциации, при необходимости, целесообразно определять чувствительность всех микроорганизмов, выделенных в чистой культуре.

Обязательному исследованию на чувствительность к антибиотическим препаратам подлежат все микроорганизмы, выделенные из первично стерильных тканей (кровь, спинно-мозговая жидкость, паренхиматозные органы), а также условно-патогенные микроорганизмы, выделенные от хронически болеющих гнойно-септическими заболеваниями животных и животных с диспепсиями и дисбактериозами, у которых традиционно используемая антибактериальная терапия оказывается неэффективной.

До начала определения антибиотикочувствительности следует выделить чистые культуры микроорганизмов из клинического образца после его первичного посева на питательные среды и установления его принадлежности к определенному виду возбудителя.

В зависимости от вида микроорганизмов проводят исследование их чувствительности к определенным наборам антибиотиков: обязательному и дополнительному.

Способы определения *in vitro* чувствительности микроорганизмов к антибиотикам были разработаны в 60-70-е годы 20 столетия, но широко применяются и в настоящее время. Они включают метод серийных разведений и диффузионный метод.

Методы *серийных разведений* позволяют определить минимальную подавляющую концентрацию антибиотического препарата, т.е. ту концентрацию, которая подавляет видимый рост микроорганизмов на

плотной или жидкой питательной среде. Чтобы определить минимальную подавляющую концентрацию препарата, его вносят в питательную среду, которую затем засевают культурой и после инкубации оценивают видимый рост микроорганизмов или его отсутствие. В зависимости от объема питательной среды методы серийных разведений могут быть проведены в макро- и микроварианте.

Макрометод предусматривает постановку теста в объеме 1 мл каждого разведения антибактериального препарата и конечной концентрации исследуемого микроорганизма  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл.

Микрометод ставится в объеме 0,2 мл, что значительно сокращает расход материалов.

Вначале готовят основные растворы антибиотиков с известной активностью в концентрации 1000 мкг/мл. Для этого делают навеску на электронных весах и растворяют в 1мл растворителя. Основные растворы хранят при температуре  $-20$  °С не более 6 месяцев.

Перед применением флаконы размораживают при комнатной температуре, после чего разбавляют до рабочих растворов конкретным для каждого антибиотического препарата разбавителем. Им может быть фосфатный буфер или дистиллированная вода. Повторное замораживание основных растворов не допускается.

Из рабочих растворов готовят двукратные разведения. При расчетах берут конечную концентрацию антибиотического препарата в питательной среде, равную 1 мкг/мл с учетом разбавления растворов в питательной среде. Двукратные разведения должны быть более высокие, чем 1мкг/мл, т.е. 2; 4; 8; 16 и т.д. мкг/мл, и более низкие – 0,5; 0,25, 0, 125 и т.д. мкг/мл.

Для *макрометода* во все пробирки разливают по 0,5 мл питательного бульона (количество пробирок определяется разведением антибактериального препарата и берется дополнительно 1 пробирка для постановки отрицательного контроля). Рабочий раствор препарата вносят в первую пробирку с бульоном, перемешивают и переносят 0,5 мл во вторую

пробирку. Так поступают со всеми опытными пробирками. Из последней пробирки 0,5 мл бульона с антибиотическим препаратом удаляют. В контрольную пробирку вносят только 0,5 мл бульона.

Предварительно теститруемые микроорганизмы выращивают на неселективной плотной питательной среде в течение 24 часов. Петлей отбирают материал с верхней части нескольких колоний (5-10), переносят в стерильный физиологический раствор и доводят плотность микробной взвеси до  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл, используя стандарт 0,5 по Мак-Фарланду (смотри ниже), После приготовления эту взвесь, которую называют инокулятом, используют в течение 15 минут.

Во все опытные и контрольную пробирки вносят 0,5 мл микробной взвеси, которую готовят из взвеси стандарта 0,5 по Мак-Фарланду, разводя ее в 100 раз питательным бульоном, т.е. к 0,1 мл этой взвеси добавляют 9,9 мл бульона. При этом в 0,5 мл, вносимой в пробирки с антибактериальным препаратом взвеси, будет содержаться примерно  $10^6$  КОЕ /мл, а в пробирках с раствором антибиотиков и в контрольной – соответственно  $5 \times 10^5$  КОЕ /мл.

Все опытные пробирки инкубируют при  $35^\circ\text{C}$  18-20 часов, а контрольную пробирку помещают в холодильник при  $4^\circ\text{C}$  и хранят там до учета результатов, которые оценивают, просматривая содержимое пробирок в проходящем свете.

Минимальную подавляющую концентрацию антибактериального препарата определяют по его наименьшей концентрации, которая подавляет видимый рост микроорганизмов.

*Микрометод* ставят в 96-луночных планшетах с плоским дном, используя те же компоненты, что и при макрометоде, но конечный объем в каждой лунке бульона с антибактериальным препаратом и культурой составляет 0,2 мл.

В настоящее время предлагаются модификации микрометода определения чувствительности энтеробактерий к антибиотикам. Для этого

в питательную среду с органическими красителями вносят серийные разведения антибиотиков, наиболее часто применяемых в медицине и ветеринарии. Помещают их в 96-луночные планшеты и высушивают. При исследовании чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, готовят их суспензию в физиологическом растворе и вносят в лунки. После инкубации по изменению цвета красителя определяют степень чувствительности.

Метод *серийных разведений в агаре* позволяет одновременно определять минимальную подавляющую концентрацию к 15-30 штаммам микроорганизмов. При этом антибактериальные препараты добавляют в различных рабочих разведениях к расплавленному и остуженному до 48-50 °С агару Мюллера-Хинтона или его российского аналога - среды АГВ (или Сабуро при изучении чувствительности к антибактериальному препарату микроскопических грибов) в соотношении 1:10. Среду с препаратом перемешивают и разливают на чашки Петри толщиной 3-4 мм.

Стандартную микробную суспензию (0,5 по Мак-Фарланду) разводят в 10 раз и бактериологической петлей диаметром 3 мм переносят в виде пятна на агар со всеми концентрациями антибактериального препарата. На поверхность в этом случае наносится  $10^4$  КОЕ микроорганизмов. Засеянные таким образом чашки Петри помещают в термостат на 18-24 часа при 35°С. Учет производят, помещая чашку на темную поверхность. За минимальную концентрацию принимают ту, которая вызывает полное подавление видимого роста.

Метод *серийных разведений* является наиболее точным, но трудоемким, поэтому в клинических лабораториях чаще используют диффузионные методы.

*Диффузионные методы* основаны на диффузии антибиотического препарата из носителя, которым может быть бумажный диск, пропитанный каким-либо антибиотиком (в этом случае метод называют диско-диффузионным) или узкая полоска полимера с нанесенными различными



концентрациями определенного антибиотика – E- тест. Диск или полоску накладывают на плотную питательную среду, засеянную культурой тестируемого микроорганизма. При наличии чувствительности микроорганизма к данному антибиотику вокруг диска или около полоски E- теста с определенной концентрацией антибиотика образуется зона подавления роста микроорганизма.

При постановке обоих методов следует иметь в виду, что концентрация суспензии изучаемого микроорганизма должна составлять  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл, что соответствует при визуальном контроле стандарту мутности 0,5 по Мак- Фарланду.

Перед постановкой диско-диффузионного теста на чашки Петри, установленные на ровной поверхности, разливают неселективную среду (среда Мюллера-Хинтона или АГВ) толщиной примерно 4 мм. Это важно, так как размер и форма зоны подавления роста культуры зависят от глубины агарового слоя. Следует иметь в виду, что среду АГВ нельзя использовать для определения активности сульфаниламидов и триметоприма, т.к. содержащиеся в ней тимин и тимидин могут подавлять активность этих антибактериальных препаратов. Среда Мюллера-Хинтона, хотя и содержит небольшие количества этих веществ, но каждую новую партию этой среды надо контролировать с помощью эталонных штаммов микроорганизмов и эталонных сульфаниламидных препаратов.

Перед посевом культуры чашки подсушивают с приоткрытой крышкой в термостате при  $35^{\circ}\text{C}$  10-20 минут. На внутренней поверхности подсушенных крышек не должен быть конденсат.

Для посева готовят инокулюм, по плотности соответствующий стандарту мутности 0,5 по Мак-Фарланду. Его также используют в течение 15 минут после приготовления. Инокулюм можно распределять стерильным ватным тампоном по поверхности агаровой пластины или покачиванием. В первом случае ватный тампон погружают в приготовленную суспензию микроорганизмов, избыток жидкости удаляют,

отжимая тампон о стенки пробирки. После этого производят посев штриховыми движениями в 3-х направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. Если инокулюм распределяют покачиванием, то в этом случае на поверхность агара его наносят в количестве 1-2 мл и осторожно покачивают чашку, чтобы инокулюм равномерно распределился по всей поверхности. Излишки удаляют стерильной пипеткой.

Засеянные чашки приоткрывают и оставляют при комнатной температуре на 10-15 минут. После этого на поверхность засеянной среды стерильным пинцетом накладывают диски, пропитанные разными антибиотиками, и осторожно их прижимают. Расстояние между дисками и от края чашки должно быть 15-20 мм. На 1 чашку Петри диаметром 100 мм можно наносить не более 6 дисков. После аппликации дисков проводят инкубацию при температуре 35°C в течение 18-24 часов.

До начала работы диски с антибиотиками хранят в холодильнике при температуре 4-8°C плотно укупороенными. Вскрытый флакон должен быть использован в течение недели. После извлечения из холодильника флакон нельзя открывать в течение 1 часа, чтобы на стенках его не образовывался конденсат.

Учет результатов производят, измеряя зону полного подавления видимого роста (в мм). Если в этой зоне обнаружены мелкие колонии, то на них внимания не обращают, за исключением тестирования стафилококков. У роящихся штаммов протей зона подавления роста может быть покрыта тонкой пленкой, на которую также не обращают внимание. При обнаружении крупных колоний исследование повторяют.

Величина зоны задержки роста, т.е. чувствительность микроорганизма к конкретному антимикробному препарату у каждого вида различна. Для оценки результатов данного теста фирма-производитель дисков предоставляет таблицы, согласно которым определяется устойчивость, умеренная устойчивость и чувствительность микроорганизма к антибиотикам. В среднем, если эта зона составляет

менее 14 мм, то это свидетельствует об устойчивости, 15-25 мм – об умеренной устойчивости, более 25 мм – о чувствительности.

*Приготовление стандарта 0,5 по Мак-Фарланду.*

Готовят 2 раствора: один раствор хлористого бария ( $\text{BaCl}_2$ ) в концентрации 1,275%, другой раствор-1% раствор серной кислоты ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). К 0,5 мл первого раствора медленно при тщательном перемешивании добавляют 99,5 мл второго раствора до получения однородной суспензии. Правильность приготовленного раствора проверяют на спектрофотометре при длине волны 625 нм (поглощение 0,08-0,1 при использовании кюветы 1 см).

Суспензию разливают по 4-6 мл в пробирки с герметично закрывающимися крышками и хранят при комнатной температуре в темноте. Перед использованием пробирки тщательно встряхивают. Стандарт мутности обновляют или проверяют на спектрофотометре ежемесячно.

При появлении видимых частиц такой стандарт использовать нельзя.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 4.

### СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Традиционные методы исследования в микробиологической практике сложились еще в начале 20 столетия. Особенностью постановки микробиологического диагноза является постепенное приближение к ответу. Вначале изучают морфологические свойства микроорганизма или микроорганизмов в присланном патологическом материале, особенности его воспринимать окраску по Граму, расположение клеток в мазке.

В зависимости от обнаруженных морфологических и тинкториальных (особенности окрашивания) признаков подбирают питательные среды для посева, условия культивирования при определенной температуре, в присутствии кислорода или в анаэробных условиях.

В случае необходимости быстрой предварительной идентификации культуры из нативного материала готовят мазки и используют метод флуоресцирующих антител, просматривая их в люминесцентном микроскопе.

У выросшей на плотных и жидких питательных средах культуры или культур изучают особенности роста, отношение к концентрации углекислого газа и кислорода. На жидкой питательной среде определяют отношение культуры к кислороду (аэробы, факультативные или облигатные анаэробы).

На плотной питательной среде визуально исследуют выросшие колонии, определяют их форму, размер, характер поверхности, края, консистенцию, наличие пигмента, запах, изменение среды вокруг колоний и т.д.

На этом этапе исследования уже могут быть идентифицированы некоторые микроорганизмы, например, способные к роению штаммы

протея и штаммы синегнойной палочки, выделяющие в питательную среду сине-зеленый пигмент и специфический метаболит с ароматом земляничного мыла.

Из выросших колоний и из жидкой питательной среды делают мазки, окрашивают их по Граму или иными методами для обнаружения спор, на кислотоустойчивость, капсулу, изучают подвижность и т.д. После этого производят посев на скошенный агар для получения чистой культуры.

У выросшей чистой культуры исследуют биохимические признаки, предварительно вновь подтверждая чистоту окрашенным мазком.

Биохимические признаки включают определение наличия дыхательных ферментов (каталазы, цитохромоксидазы), сахаролитическую активность, т.е. способность утилизировать различные углеводы и спирты до промежуточных продуктов (ацетоин) и кислоты и (или) газа, протеолитическую активность, т.е. способность неполного до пептидов или полного разложения белков до индола, сероводорода, аммиака, способность восстанавливать нитраты в нитриты, разлагать мочевины, утилизировать цитрат и многие другие признаки.

На этом этапе микробиологического исследования можно отдифференцировать бактерии до семейств и родов.

Схема идентификация бактерий до семейств и родов представлена в таблице 3.

Таблица 3. Идентификация бактерий до семейств и родов.

Аэробные и факультативно анаэробные бактерии					Анаэробные бактерии			
Палочки		Кокки			Палочки		Кокки	
Окраска по Граму					спорообразование			
Гр(-)		Гр(+)			Гр(-)	+	-	
цитохромоксидаза		Семейство микрококков			Гр(+)	Окраска по Граму		
+	-					Гр(+)	Гр(-)	Гр (+)
Ферментация ГЛЮКОЗЫ		Ферментация ГЛЮКОЗЫ		каталаза				
+		-		Род стафилококков и микрококков		Род стрептококков		
Семейство вибрионов, род хромобактерий	Род псевдомонад,	Семейство энтеробактерий	Род гемофил	Род ацинетобактерий	Роды моракселл и нейссерий	Семейство клостридий	Семейство бактероидов	

После этого определяют антигенные свойства выросшей чистой культуры с помощью реакции агглютинации.

На заключительном этапе проводят определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

При таком подходе требуется большое количество сред, одни и те же тесты повторяют многократно (например, окраска по Граму), исследование занимает очень длительное время, необходима высокая квалификация персонала, проводящего исследование. Кроме того, встречаются атипичные штаммы, у которых изучаемые биохимические и антигенные признаки не всегда проявляются в 100% случаев. Следует учитывать и то обстоятельство, что микроорганизмы на любых поверхностях (ране, слизистых оболочках) встречаются в виде сообществ, заключенных в биопленках. В биопленках микроорганизмы своими поверхностными структурами могут быть связаны друг с другом. Вследствие этого при посеве первичного материала могут вырастать в виде одной колонии тесно прилегающие друг к другу микроорганизмы разных видов, когда между балками из бактерий одного вида располагаются клетки другого вида. В этом случае выделение чистой культуры весьма сложно, даже при аккуратном взятии части колонии – «откалывании колонии».

Для ускорения процесса микробиологической идентификации возбудителей различных заболеваний, в том числе оппортунистических инфекций в настоящее время все шире используют современные методы диагностики.

Различные отечественные и зарубежные фирмы поставляют на рынок так называемые хромогенные среды. В частности, созданы агары хромогенные для выделения и идентификации актиномицетов, бацилл, аэромонад, клебсиелл, морганелл, цитобактера, протеев, энтерококков, стафилококков, кишечной палочки, кандид.

Выпускают наборы для идентификации различных видов аэробных и анаэробных бактерий за 4 часа, 24 часа или 48 часов.

Среды и наборы включают различные питательные субстраты, и поэтому идентификация основана на определении биохимической активности различных микроорганизмов по признакам:

1. *Изменению рН сред.* Рост микроорганизмов на питательной среде сопровождается ферментацией содержащихся в ней субстратов. При этом метаболиты выделяются в среду и изменяют ее рН. Подкисление или защелачивание среды определяют по изменению ее цвета в результате изменения цвета предварительно добавленных в нее реактивов (лакмус, фенолфталеин, фуксин и т.д.). Например, при росте на среде Эндо с лактозой и фуксином бактерии семейства кишечной палочки имеют различной окраски колонии в зависимости от ферментации этого углевода.

2. *Выделению в среду флюорогенных и хромогенных субстратов.* Например, при росте псевдомонад в среду могут выделяться флуоресцеин, который определяется в ультрафиолетовых лучах, или пигмент - поверхностно-активное вещество (N-ацетилпиридоний хлорид), которое окрашивает среду в характерный сине-зеленый цвет.

3. *Использованию меченых радиоактивным изотопом соединений,* в частности, углерода, которые включаются в питательный субстрат и захватываются растущими микробными клетками. Радиоактивную метку можно определять в культурах еще до появления видимого роста.

4. *Выявление летучих и нелетучих метаболитов.* Это можно определить в жидкой культуре при помощи газо-жидкостной хроматографии. Компьютерный анализ результатов и сравнение их с библиотечными данными позволяют осуществлять идентификацию культур. Это особенно важно при росте медленно растущих культур, в частности, микобактерий, анаэробов, микоплазм.

5. *Визуальное выявление роста.* Метод основан на способности микроорганизмов к усвоению компонентов субстрата. Положительным является появление помутнения, определяемого с помощью спектрофотометрии.



В настоящее время в практике работы клинической лаборатории используют коммерческие тест-системы и персональный компьютер. Тест-системы позволяют одновременно изучить от 12 до 30 биохимических признаков. Полученные результаты сравнивают с банком данных эталонных культур. Такой подход позволяет идентифицировать новые виды микроорганизмов.

Имеется 2 типа тест-систем. Наибольшее распространение получили тест-системы первого типа - индивидуальные системы, рассчитанные на определение одной культуры.

Второй тип тест-систем позволяет определить несколько видов культур. Эти тест-системы представляют собой полистироловые 96-луночные планшеты. В каждую лунку внесен определенный субстрат, например, глюкоза, лактоза, мочевины и т.д. Экспериментатор должен внести суспензию изучаемой культуры в лунку, инкубировать от 2 до 72 часов (время указано в прилагаемой инструкции) и затем учесть результат. Учет проводят визуально или с помощью считывающих устройств – ридеров. Положительному результату присваивают цифру от 1 до 7, отрицательному результату – 0. Полученный «профиль» подвергают компьютерной обработке.

Разработаны тест-системы, позволяющие идентифицировать культуру за 4-6 часов инкубации. Это необходимо в чрезвычайных ситуациях, например, при обнаружении особо опасных микроорганизмов, которые могут служить оружием биотерроризма.

Экспресс-методом является *метод флуоресценции*, когда с помощью сыворотки, специфической к определенному микроорганизму, меченой флуорохромом, можно быстро определить вид возбудителя. Для этого метода необходим набор сывороток и люминесцентный микроскоп. Используя метод флуоресценции, в клинических лабораториях определяют в патологическом материале хламидии и микоплазмы, которые трудно культивировать и

идентифицировать другими методами. Вместе с тем этот метод имеет недостаток, т.к. он достаточно субъективен.

В последние годы бурно развивается *иммуноферментный анализ*. Принцип его основан на том, что к специфическим антителам присоединяют фермент, и эти комплексы «сажают» на полистирол. Поэтому метод сокращенно называют ELISA (ensym linked immunosorbent assay). Для этого метода используют обычно 96 - луночные полистироловые планшеты.

Вначале в лунку вносят антитела, связанные с ферментом, затем исследуемый материал, содержащий антиген. Если антиген в материале комплементарен, т.е. соответствует антителу, то происходит их взаимодействие. Затем вносят в эту же лунку антитела против искомого антигена. Если вначале произошла реакция антиген – антитело, то последующее внесение антител будет нерезультативно, т.к. все антигенные детерминанты уже связаны с первым антителом. Визуализация, т.е. видимое проявление реакции осуществляется добавлением в лунку субстрата, на который действует фермент, связанный с антителом. В случае положительной реакции цвет лунки изменяется. Интенсивность окраски лунки позволяет судить о количестве микроорганизмов или их антигенов в изучаемом материале. Интенсивность окраски определяют на спектрофотометре с вертикальным ходом луча.

ELISA позволяет заменить классические серологические реакции: РСК, РА, РНГА и другие.

В некоторых лабораториях применяют метод *иммунохроматографии*. Он основан на выявлении комплементарности антител и антигена, т.е. на образовании иммунных комплексов. Антитела адсорбируют на частицах латекса или золота и помещают на определенное место на хроматографической бумаге, которое называют «окном учета». 5-7 капель исследуемого материала наносят на «стартовое окно» той же бумаги. За счет капиллярности материал начинает двигаться к «окну учета». Если антитела комплементарны антигену, то образуется иммунный комплекс в виде

полоски в месте их встречи. Полоска будет голубого цвета, если использован лактекс, или коричневого цвета, если использовано золото. Такой метод используют для обнаружения хламидий, листерий, стрептококков без выделения чистой культуры. Это позволяет сократить время до 43 часов. Однако чувствительность метода не всегда достаточна.

Существуют *генетические методы* обнаружения возбудителя: метод ДНК-зондов, полимеразная цепная реакция – ПЦР.

*Метод ДНК-зондов* основан на специфическом взаимодействии (гибридизации) радиоактивно меченого участка ДНК, так называемого ДНК-зонда, с комплементарными участками плазмидной или хромосомной ДНК штаммов микроорганизмов. Для постановки этого метода на нейлоновый фильтр, помещенный в чашку Петри, наносят бактериальную взвесь. Затем культуру убивают парами хлороформа, после чего бактериальные клетки лизируют. При этом высвобождается из них хромосомная и плазмидная ДНК. На этот фильтр с лизатом бактерий наносят меченый радиоактивной меткой фрагмент ДНК определенного микроорганизма (ДНК-зонд). Если происходит гибридизация, то ДНК исследуемого микроорганизма включает в свой состав радиоактивный ДНК-зонд. Результат оценивают по засвечиванию рентгеновской пленки, на которой при положительной реакции образуется темное пятно.

Чаще используют *ПЦР-диагностику*. Особенно она необходима при небольшом количестве микроорганизмов в патологическом материале и при затруднении, в силу ряда причин, выделения из него различных видов микроорганизмов. В основе ПЦР лежит «расплетение» двунитевой ДНК микроорганизма и достройки на каждой «нити» второй цепи ДНК. Этот процесс возможен только при наличии соответствия азотистых оснований (комплементарности) ДНК «расплетенной нити» азотистым основаниям «затравки», т.е. короткому одноцепочечному фрагменту ДНК, который добавляют к этим «нитям» и с которого начинается построение второй нити ДНК. Эти фрагменты ДНК называют праймерами. При правильно

подобранных праймерах количество ДНК увеличивается во много раз. Для определения результатов используют электрофорез в агарозном геле.

ПЦР является высокоспецифичной и чувствительной, но не гарантирует от появления ложноположительного и ложноотрицательного результата. Для постановки ПЦР необходимо специально оборудованное помещение с отдельными входами и особое оснащение. В работе рядовых клинических лабораториях этот метод еще не нашел своего выражения.

*Сигнальные молекулы*, которые включают гены патогенности и выделяются различными условно-патогенными микроорганизмами при чувстве кворума (ацилированные лактоны гомосерина, олигопептиды, хинолоны, фурановые соединения), можно определять с помощью хромато-масс-спектрометрии.

## ЛИТЕРАТУРА

Антибактериальные препараты в клинической практике/Под ред. Козлова С.Н., Козлова Р.С. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009.- 232 с.

Бакулов, И.А. Эпизоотология с микробиологией/ И.А. Бакулов., В.А. Ведерников, А.П. Семенихин; под ред. И.А. Бакулова.- М.: Колос,1997.- 481 с.

Балтрашевич, А.К. Микробы семейства Bacteroidaceae в патологии человека и животных/А.К. Балтрашевич //ЖМЭИ.- 1979.-№10.- с.14-20.

Биологические показатели безопасности кормов/Л.И. Ефанова [и др.]//Ветеринария.-2010.-№4.- С.35-40.

Биоритмы антибиотикорезистентности микроорганизмов/ О.В. Бухарин [и др.] // ЖМЭИ.-2008.-№5.- С.35-38.

Бокарев, А.В. Диагностика и лечение воспалений пальцев у собак/А.В. Бокарев, М.А. Нарусбаева, А.А. Стекольников// Ветеринария.- 2010.- №3.-С. 52-62.

Болезни свиней. Справочник: Учебное пособие/ Сост. А.А. Лимаренко, И.А. Болоцкий, А.И. Баранников.- СПб.: Изд-во «Лань», 2008.- 640 с.

Бондаренко, В.М. Идеи И.И.Мечникова и современная микроэкология кишечника человека / В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед//ЖМЭИ.-2008.- №5.- С. 23-28.

Борисов, Л.П. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология/ Л.П. Борисов.- Изд. четвертое, доп. и перераб.- М.: Медицинское информационное агентство, 2005.- 734 с.

Бутко, М.П. Профилактики инфекционных болезней животных/ М.П. Бутко, В.С.Тиганов, В.С. Фролов // Ветеринария.- 2009.- №4.- С.33-36.

Бухарин, О.В. Динамика видового состава антилизоцимной активности и антибиотикорезистентности возбудителей хирургической инфекции мягких тканей/ О.В. Бухарин, С.Б. Фадеев, Б.А. Исайчев // ЖМЭИ.-1997.-№4.- С.51-54.

Васильева, Г.И. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами/ Г.И. Васильева, И.А. Иванова, С.Ю. Тюкавкина // Иммунология.-2000.-№5.- С.11-17.

Виноходов, Д. О. Диагностикум для определения антибиотикочувствительности энтеробактерий/ Д.О. Виноходов, А.И. Гинак, Т.И. Прийма // Матер.4 съезда Общества биотехнологов России им. Овчинникова, Пушкино-7 дек. 2006 г.- М.,2006. – С. 36-37.

Влияние биогенного амина серотонина на рост и профиль белков чумного микроба в условиях культивирования на плотных питательных средах/Т.Н. Щуковская [и др.]// Проблемы особо опасных инфекций.- 2008.- №2.- С.35-39.

Войно-Ясенецкий, М.В. Биология и патология инфекционных процессов/ М.В. Войно-Ясенецкий.- Л.: Медицина, 1981.- 208 с.

Гасанов, А.Б. Иммунодепрессивные состояния при хирургических вмешательствах и в условиях интенсивной терапии/ А.Б. Гасанов, Ш.М. Мусаев, В.С. Рагимов // Иммунология.-2008.-№2.-С.116-118.

Гиллеспи, З.Г. Наглядные инфекционные болезни и микробиология: пер с англ./З.Г. Гиллеспи, К.Б. Бамфорд; под ред. чл.-кор. РАМН С.Г. Пака, проф. А.А. Еровиченкова.- М.: ГЭОТАР - Медиа, 2009- 131 с.

Глушакова, Н.А., Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro*/ Н.А. Глушакова, Б.А. Шендеров// ЖМЭИ.-2005.-№2.- С.56-61.

Гостева, В.В. Взаимодействие *Clostridium difficile* с бактериальными сообществами пристеночной биопленки толстой кишки мыши/ В.В. Гостева, Н.В. Клицунова, В.М. Бондаренко// Журн. микробиол. -2009.-№1.- С.3-6.

Гречухин, А.Н. Современный подход к терапии при ассоциированных инфекциях/ А.Н. Гречухин, Т.Б. Юхина // Ветеринария.-2009.-№9.-С.8-10.

Григорьева, Е.Г. Госпитальная инфекция в многопрофильной хирургической клинике/Е.Г. Григорьева, А.С. Коган -2-е изд.- Владивосток: Дальнаука, 2005.- 208 с.

Гринберг, Л.М. Сепсис и теория системной воспалительной реакции: попытка клинико-морфологического консенсуса/Л.М. Гринберг, В.А. Руднов // Арх. патол.- 2007.- № 4.- С.56-59.

Грушкин, А.В. О морфофункциональных особенностях микробиоты рубца жвачных животных и роли целлюлозолитических бактерий в рубцовом пищеварении/ А.В. Грушкин, Н.С. Шевелев // Сельскохозяйственная биология.- 2008.- №2.- С.12-19.

Дамбаева С.В. Новые подходы к оценке фагоцитоза при различных видах иммунологической недостаточности: дис...канд. мед. наук.- М., 2001

Действие серотонина (5-окситриптамина) на рост дифференциацию микроорганизмов/А.В.Олескин и др.// Микробиология.-1998.-Т.67,№3.- С.305-312.

Добрица, В.П. Современные иммуномодуляторы для клинического применения: Руководство для врачей/В.П. Добрица, Н.М. Ботерашвили, Е.В. Добрица.- СПб.:Политехника.-2001.- 249с.

Долгушин, И.И. Взаимодействие нейтрофилов с различными бактериальными агентами/ И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, Е.С. Плеханова // ЖМЭИ.- 2008.- №5.- С. 103-105.

Дорош, М.В. Болезни лошадей/М.В. Дорош.- М.: Вече.- 2007.- 176с.

Ерошенко, Г.А. Основные направления современных исследований биологии холерных вибрионов/Г.А. Ерошенко// Проблемы особо опасных инфекций.- 2008.- Вып.1(95).- С.37-41.

Ершов, П.П. Этиологическая значимость дрожжевых грибов рода *Malassezia* при кожных заболеваниях животных: автореф. дис.... канд. вет. наук/ Ершов, П.П.- М., 2008.- 21с.

Жарикова, Г.Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена: учебник для студентов высших учебных заведений/ Г.Г. Жарикова, - М.: изд.центр «Академия», 2005.- 304 с.

Жилина, С.В. Ацинетобактерии при инфекциях кожи и мягких тканей/ С.В. Жилина, А.Ю. Миронов, С.В. Поликарпова // Курск. науч.- практич. вест. «Человек и его здоровье».-2007, №4.-С.45-56.

Зыкин, Л.Ф. Клиническая микробиология для ветеринарных врачей. (Учебники и учебные пособия для студентов высш. учеб. заведений)/ Л.Ф. Зыкин, З.Ю. Хапцев.- М.: КолосС.- 96 с.

Иванов, Д.В. Чувствительность к антибиотикам и молекулярные механизмы устойчивости к цефалоспорином штаммов *Escherichia coli*, выделенных у больных при внутрибольничных инфекциях/Д.В. Иванов // Антибиотики и химиотерапия.- 2005.-Т.50,№ 10-11, С.40-43.

Издепский, В.И. Роль грибов при гнойно-воспалительных процессах конечностей у коров/ В.И. Издепский // Ветеринария.- 2008.- №3.- С.27-30.

Иммуногенные свойства рекомбинантных белков F и L наружной мембраны *Pseudomonas aeruginosa*/А.А. Калошин и др.// ЖМЭИ.-2008.-№5.- С.76-79.

Интраназальная форма иммуноглобулиновых препаратов – перспективы использования в медицинской практике/ Л.И. Новикова [и др.] //ЖМЭИ.- 2008.-№5.- С.29-35.

Использование лечебно-профилактического препарата мидивет/М.Е. Дмитриева [и др.]// Ветеринария.-2009-№8.- С.16-17.

Исследование морфологии поверхности клеток *Azotobacter chroococcus* в условиях гипертермии/Л.И. Олюнина [и др.] // Матер. науч. конф. «Постгеномная эра в биологии и проблемы битехнологии», Казань. 17-18 июня 2004г.- Москва, 2004.- С.66-67.

Итоги экспериментального и клинического изучения поликомпонентной вакцины из антигенов условно-патогенных



микроорганизмов/ Н.Б. Егорова [и др.]// Журн. микробиол.- 1997.- №6.- С. 96-100.

Караулов, А.В. Исследование изменений апоптоза лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови у пациентов с хроническим обструктивным бронхитом на фоне комплексной терапии с включением полиоксидония/ А.В. Караулов, Н.Е. Самойлова, Д.В. Кокушков// Иммунология.-2007.-Т.28,№2.- С.93-95

Ковальчук, Л.В. Учение о воспалении в свете новых данных: развитие идей И.И. Мечникова/ Л.В. Ковальчук// ЖМЭИ.- 2008.- №5.- С.10-15.

Кольницкая, О.И. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов животного происхождения, содержащих антибиотики/ О.И. Кольницкая, Б.В. Уша, Э.А. Мишиев // Ветеринария.- 2010.-№2.- С.61-63.

Компоненты клеточных стенок штамма *Staphylococcus aureus* с двойной устойчивостью к грамицидину S и актиномицину/Т.И.Орлова [и др.]// Антибиотики и химиотерапия.-2007.- Т.52,№6.- С.3-8.

Коротяев, А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. вузов /А.И. Коротяев, С.А. Бабичев.- 4-е изд., испр. и доп. - СПб.: СпецЛит, 2008.- 767 с.

Коррекция иммунного статуса у высокопродуктивных коров/И.А. Шкурова [и др.]// Ветеринария.-2008-№2.- С.11-12.

Костылева, О.А. Проявление пневмоний стафилококковой этиологии у собак и кошек/О.А. Костылева // Вест. Крас. ГАУ.- 2006.- №13.- С.233-235.

Костюченко, Б.М. Раны и раневая инфекция/ Б.М. Костюченко, А.М. Светухин; под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченка.- М., 1990.

Кравчик, А. Самостоятельная ветпомощь собаке: Справочник/А. Кравчик, С. Спирин, А. Санин.- Минск: Хэлтон, 2000.-297 с.

Красильникова, А.П. Микробиологический словарь-справочник /А.П. Красильникова, Т.Г. Романовская.- изд. второе, доп. и перераб.- Минск: Асар, 1999.- 400 с.

Краткий определитель бактерий Берги.- М.: Мир,1980.- 495с.

Кулинич, С.Н. Идентификация микроскопических грибов, поражающих копытцевый рог, и их роль при пододерматите у коров/С.Н. Кулинич//Сельскохозяйственная биология.- 2008.- №2.- С.92-97.

Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник; под ред. профессора В.В. Меньшикова.- М.: Медицина, 1987.- 365 с.

Лабораторный контроль безопасности продуктов животного происхождения и кормов в Российской Федерации/ М.В.Калмыков [и др.]// Ветеринария.-2010.-№3.- С.3-6.

Лазарева, Д.Н. Действие лекарственных средств при патологических состояниях/Д.Н. Лазарева.-2-е изд., перераб. и доп.- М.: Медицина, 1990.- 288 с.

Лебедев, К.А.Роль белков теплового шока в формировании конфликта организма человека с его микрофлорой/ К.А. Лебедев, И.Д. Понякина // Физиол.человека.- 2007.- Т.33, № 3 .- С.100-107.

Леванова, Л.А.Роль микрoэкологичеcких нарушений слизистой зева у медицинского персонала в развитии заболеваний верхних дыхательных путей/Л.А. Леванова, Ю.В. Захарова // Докл. [ Науч. конф. с междунар. Участием «Актуальн. вопр. региональной инфекционной патологии», посвящ. 95-летию Ин-та эпидемиол. и микробиол. НЦМЭ ВСНЦСО РАМН, Иркутск, 2007] // Бюл. Вост.-Сиб. Науч. центра СО РАМН.- 2007,№3, прил. – С. 39-42.

Леонов, А.В. Апоптоз при тяжелой черепно-мозговой травме и его изменение при иммуномодуляции ронколейкином/А.В. Леонов, Г.К. Иванов // Иммунология.-2006.-№4.- С.246-248.

Литвинов, А.М. Малассезиозы животных/А.М. Литвинов, О.В. Ивченко, А.И. Касьянов // Ветеринария.- 2010.- №6.- С.13-15.

Локальная антибиотикорезистентность в многопрофильном стационаре: достаточна ли ежегодная ее оценка?/ Э. А. Ортенберг [и др.] // Урал. мед. журн.- 2007, №6.- С.54-58.

Лямин, А.В. Характеристика микрофлоры верхних дыхательных путей у доноров медицинских и немедицинских специальностей/ А.В. Лямин //Урал. мед. журн.- 2007. -№8.- С.38-40.

Малицкая, Е.В. Особенности течения хирургической инфекции мягких тканей второго уровня в зависимости от вида возбудителя и его биологических свойств: автореф. дис....канд. мед. наук/ Малицкая Е.В., Оренбург: Оренбургский гос. мед. акад.- 2006.- 26 с.

Мари, П.Р. Клиническая микробиология. Краткое руководство: пер. с англ./П.Р. Мари, И. Р. Шер. - М.: Мир, 2006.- 425 с.

Машковский, Д.М. Лекарственные средства: в 2 т., Т.2/ Д.М.Машковский.- 14-е изд., перераб, испр. и доп. – М.: ООО «Издательство новая Волна»: издатель С.Б. Дивов, 2001.- 608с.

Меженский, А.А. Лечение лошадей при увеите (Обзор литературы)/ А.А. Меженский//Ветеринария.-2010.- №5.- С.46-48.

Меньшикова, Е.Д. Микробная этиология пневмоний у больных реанимационного профиля: автореф. дис.... канд. мед. наук. Моск. НИИ эпидемиол. и микробиол/ Меньшикова Е.Д. - М, 2008, 27 с.

Механизмы выживания бактерий/ О.В. Бухарин [и др.] М.: Медицина, 2005.

Механизмы нарушения цитокинопосредованной кооперации эозинофилов и иммуноцитов при формировании феномена эозинофилии // Иммунология.-2007.-Т.28,№2.- С.123-127.

Микробиологическая диагностика инфекционных заболеваний/Е.Р. Красноженов [и др.] - Ростов-на-Дону: Феникс; Томск: Сибирский Государственный Медицинский университет.- 2006.- 298 с.

Микробиологический контроль мяса животных, птицы, яиц и продуктов их переработки. Справочник/ С.А.Артемьева и [др.] - М.: КолосС.- 288 с.

Микроэкология и показатели гуморального иммунитета влагалища женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий/ Е.А. Воропаева [и др.] // ЖМЭИ.- 2005.- №3.- С. 65-69.

Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология/ А.П. Авцын [и др.] - М.: Медицина, 1991.- 496 с.

Минаев, М.Ю. Аспекты санитарно-микробиологического контроля охлажденного мяса/М. Ю. Минаев, Д.С.Батаев, М.А. Краснова/ / Все о мясе. Сырье.- 2008.- №6.- С. 48-50.

Министерство здравоохранения СССР. Приказ № 535, 22апреля 1985г.

Науменко, З.С. Устойчивость *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам/ З.С. Науменко, Л.В. Розова// Гений ортопедии.-2007, №2.- С.36-38.

Николаенко, В.П.Применение антисептика бактерицид в ветеринарии/ В.П. Николаенко, И.Н. Щедров // Вет. с./х. животных.- 2007, №9.- С.66-68.

Никулин, Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса/Б.А. Никулин.- М.: изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2008.- 375 с.

Нил Майкл Дж. Наглядная фармакология: пер с англ./Майкл Дж. Нил; под ред. проф. Р.Н. Аляудина.- М.: РЭОТАР – Медия, 2008.- 104 с.

Новиков, В.С. Психофизиологическая характеристика и коррекция экстремальных состояний информационно-семантического генеза/ В.С. Новиков, В.В. Горанчук // Военно-медицинский журнал.-1994.-№9.-С.53-58.

Носкова, А.В. Новые дезинфицирующие средства/А.В. Носкова // Ветеринария.- 2009.- №9.- С.43-45.

Олескин, А.В. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов/А.В. Олескин, И.В. Ботвинко, Е.А. Цавкелова // Микробиология, 2000.-Т.69, №3.- С.309-327.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.- 91 с.

Опыт применения вакцины «пиопол» для иммунизации доноров-добровольцев / Н.А. Михайлова [и др.]// Иммунол.- 2006.-№2.- С.80-83.

Оценка состояния антиоксидантной активности слезной жидкости/ Грицук А.И. [и др.]//Биомедицинская химия.-2006.- Т.52, вып.6.- С.601-607.

Пат. № 21228620 Бесклеточная антистафилококковая вакцина для лечения хронической стафилококковой инфекции /Ефремова В.Н., Егорова Н.Б., Малюкова С.А., опубли. 08.12.98.

Пащенко, М.В. Физиология клеток врожденной иммунной системы: дендритные клетки / М.В. Пащенко, Б.В. Пинегин //Иммунология.-2006.- №6.- С.368-377.

Петров, Р.В. Иммунопрофилактика иммунодефицитов/Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология.-1997.-№4.-С.4-6.

Пинегин, Б.В. НК-клетки: свойства и функции/Б.В. Пинегин, С.В. Дамбаева //Иммунология.-2007.-Т.28,№2.- С.105-113.

Пинегин, Б.В. Дисбактериозы кишечника/Б.В. Пинегин, В.Н. Мальцев, В.М. Корпунов.- М.: Медицина, 1984.- 143с.

Пичугина, Л.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение/Л.В. Пичугина, Б.В. Пинегин //Иммунология.-2008.- Т.29,№1.- С.55-63.

Плейфайер, Дж.Х.Л. Наглядная иммунология: пер.с англ./ Дж.Х.Л. Плейфайер, Чейн Б.М.; под ред.А.В. Караулова.-2-е изд. перераб. и доп.- М.: ГЭОТАР- Медиа, 2008.- 120 с.

Подопригора, Г.И. Применение гнотобиотических животных в микробиологических исследованиях//Теоретические и практические основы гнотобиологии/Г.И. Подопригора.- М.: Колос,1983.- Гл. VII.-С.196-231.

Поздеев, О.К. Энтеробактерии: Руководство для врачей/О.К. Поздеев, Р.В. Федоров.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.- 720с.

Полиоксидоний – препарат нового поколения иммуномодуляторов с известной структурой и механизмом действия/Р.В. Петров и др.// Иммунология.- 2000.- №5.- 24-28.

Поляк, М.С. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии/М.С. Поляк, В.И. Сухаревич, М.Э. Сухаревич, - СПб.: ЭЛБИ- СПб.-2008.-352с.

Поляк, М.С. Стандартизация контрольных исследований при определении чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диск-диффузионным методом с использованием отечественных питательных сред/М.С. Поляк, С.В. Азанчевская, И.А. Цветкова // Клин. лаб. диагност.-2004, №.1.- С.53-56.

Практика лабораторных исследований при инфекционных заболеваниях; под общей ред. проф. Ю.В.Лобзина.- СПб.: ЭЛБИ-СПб, -275 с.

Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии: под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.И. Козлова.- М, 2002.- 271 с.

Применение иммуномодуляторов продуктивным животным/ А.В. Деева [и др.]// Ветеринария.-2008-№6.- С.8-12.

Проблемы распространения и резистентности нозокомиальных штаммов *Klebsiella pneumoniae* в стационарах России/Е.П. Рябкова [и др.]// Антибиотики и химиотерапия.- 2005, Т.50,№ 8-9, С.43-51.

Псевдомоноз сельскохозяйственных животных в краснодарском крае/ А.К. Васильева [и др.]//Ветеринария.-2008.- №12.- С.20-23.

Равилов, А.З. Микробиологические среды/А.З. Равилов, Р.Я. Гильмутдинов, М.Ш. Хусаинов.- Казань: Фэн, 1999.- 398 с.

Разработка и оценка диагностической ценности питательной среды для накопления и выделения гемокультуры/Султанов З.З. [и др.]// ЖМЭИ.-2005.- №3.- С.19-22.

Роль инфекционного фактора в патогенезе мочекаменной болезни/С.И. Улейманов [и др.]// Клиническая лабораторная диагностика.-2010.-№7.- С.18-23.

Роль микробного фактора в возникновении и развитии мастита у коров/Н.Т. Климова [и др.]//Ветеринария.-2008.-№12.-С.33-36.

Роль молочнокислых бактерий в распространении генов лекарственной устойчивости среди здоровых людей/ Н.А. Зигангирова и др.// ЖМЭИ.- 2006.-№2.- С.106-109.

Руководство по микробиологии и иммунологии; под общ. ред. д.в.н., проф. Н.М. Колычева, д.в.н, проф. В.Н. Кисленко.- Новосибирск: Арта, 2010.- 256 с.

Рябиченко, Е.В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и ее экзотоксина в патологии человека/Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко //ЖМЭИ.- 2007.-№3.- С.103-111.

Сбойчаков, В.Б. Микробиология с основами эпидемиологии и методами микробиологических исследований: учебник для средних медицинских учебных заведений/В.Б. Сбойчаков - СПб.: СпецЛит, 2007.- 592 с.

Селье, Г. На уровне целого организма/Г. Селье. - М.: Наука.- 493с.

Сенченко, Б.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животного и растительного происхождения. Серия «Технология пищевых производств»/Б.В.Сенченко.- Ростов-на/Дону: изд. центр «МарТ», 2001.- 704 с.

Сидоркин, В.А. Испытание дезинфицирующей активности препарата ГАН/В.А. Сидоркин, М.А. Улизко // Ветеринария.-2008.- №1.- С.12-13.

QS-системы у бактерий и перспективы создания новых метаболитных пробиотических препаратов/Л.Н. Петров и др.// Вестник Рос. АМН.-2006.- №1.-С.38-44

Содержимое рубца травоядных животных как перспективный источник биологически активных добавок антиоксидантного действия/ Л.С. Ермолова [и др.]// Сельскохозяйственная биология.- 2008.- №2.- С.20-24.

Соколов, В.Е. Кожный покров млекопитающих/В.Е. Соколов. - М.: Наука, 1973.- 487с.

Сравнительная характеристика ультраструктурных изменений легких и почек при ожоговом сепсисе/Б.В. Втюрин и др.//Арх. патол.-2008.-№1.- С.29-34.

Тец, Г.В. Совместное действие антибиотиков и дезоксирибонуклеазы на бактерии/Г.В. Тец, К.Л. Артеменко// Антибиотики и химиотерапия.-2006.- Т.51,№6.- С.3-6.

Туркутюков, В.Б. Особенности формирования биологических пленок штаммами *Pseudomonas aeruginosa* при внутрибольничных пневмониях/В.Б. Туркутюков, Э.В. Слабенко, Д.В. Фомин// Дальневост. мед. журн.- 2008.- №1.- С.59-61.

Урбан, В.П. Болезни молодняка в промышленном животноводстве/В.П. Урбан, И.Л. Найманов.- М.: Колос, 1984.- 207 с.

Усвяцов, Б.Я. Взаимодействие бактерий и эритроцитов/ Б.Я. Усвяцов, Е.А. Ханина, О.В.Бухарин// ЖМЭИ.- 2005.- №4.- С.89-95.

Условно-патогенная микрофлора в микробиоценозе кишечника у медицинских работников многопрофильного стационара/ Ю.В. Захарова [и др.] //Вест. РАМН.- 2008,№4.- С.19-23.

Ферменты патогенности клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*/О.В. Агапова [и др.]// ЖМЭИ.- 1999.- №2.- С.58.

Формирование биопленок клиническими штаммами бактерий комплекса *Burkholderia serasia* в зависимости от их фенотипических и генотипических характеристик/И.А. Шагинян [и др.]// ЖМЭИ.- 2007.- №1.- С.3-9.

Фрейдлин, И.С. Современные представления о фагоцитарной теории/И.С. Фрейдлин // ЖМЭИ.- 2008.- №5.- С. 4-10.

Хазиев, А.Ф. Взаимодействие  $\alpha$ -токсина *Staphylococcus aureus* с клетками эукариотов и их мишенями/А.Ф. Хазиев, Н.А. Михайлова, Л.П. Блинкова // ЖМЭИ.- 2006.-№2.- С.110-114.

Хаитов, Р.М. Иммунология. Учебник для вузов с компакт диском/Р.М. Хаитов.- М.: изд. группа «ГЭОТАР- Медиа», 2006.- 311с.



Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник/Р.М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И.Т. Сидорович. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 2002.- 536с.

Хаитов, Р.М. Роль паттернраспознающих рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете/Р.М. Хаитов, М.В. Пашенко, Б.В. Пинегин// Иммунология.-2009.- №1.-С. 66-76.

Хаитов, Р.М. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения/Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин// Иммунология.-2000.- №5.- С. 4-7.

Хайдрих, Х.-Д., Болезни крупного рогатого скота. Справочник: пер. с нем. Пресняковой Е.С./ Х.-Д. Хайдрих, И. Грунер; под ред. канд. биол. наук Бесхлеунова В.А.- М.: Агропромиздат, 1985.- 304 с.

Хирургический сепсис: клинико–патолого-анатомические аспекты/В.С. Савельев [и др.]// Арх. патол.- 2007.- № 4.- С.59-63.

Чахава, О.В. Микробиологические и иммунологические основы гнотобиологии/О.В. Чахава, Е.М. Горская, С.З. Рубан.- М.: Медицина, 1982.- 159 с.

Чумаков, В.Ю. Применение лимфотропной терапии при уролитиазе кобелей и котов/ В.Ю. Чумаков, Е.Ю. Складнева // Ветеринария.- 2006.-№6.- С.58-59.

Шварцман, Я.С. Местный иммунитет/Я.С. Шварцман, Л.Б. Хазенсон. - Ленинград: Медицина, 1978.- 224с.

Шрайбер, В. Патолофизиология желез внутренней секреции/В.Шрайбер.- Прага: Авиценум, медицинское из-во, 1987.- 493с.

Эффективные способы предупреждения и лечения заболеваний скота в фермерском хозяйстве/ авт.-сост. А.Ф. Зипер.- М.: АСТ; Донецк: Сталкер, 2005.- 159 с.

American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis//Crit. Care Med.-1992.-Vol.20.- P.864-874.

Beekhuizen, H. Gamma interferon confers resistance to infection with *Staphylococcus aureus* in human vascular endothelial cells by cooperative proinflammatory and enhanced intrinsic antibacterial activities/H. Beekhuizen, J.S. Van De Gevel// *Infec. and Immun.*- 2007.- Vol.75, N12.- P.5615-5626.

B-lactam antibiotics induce the SOS response and horizontal transfer of virulence factors in *Staphylococcus aureus*/ E. Maiques [et al.]// *J. Bacteriol.*, 2006. - Vol.188, N7.- P. 2726-2729.

Hogan, D. A. Talking to themselves/D.A. Hogan // *Eukariot. Cell.*- 2006.- Vol 5, N4.- P.613-619.

Mc Dougald, D. Bacterial quorum sensing and interference by natural occurring biomimics/ D. Mc Dougald, S.A. Rice, S. Kjelleberg// *Anal. and Bioanal. Chem.*- 2007.- Vol. 387,N 2.- P. 445-453.

Mosaic tetracycline resistance genes are widespread in human and animal fecal samples/ A.J. Patterson [et al.] // *Antimicrob. Agents and Chemother.* – 2007. - Vol.51, N3.- P. 1115-1118.

Novitsky, T.J. Limulus amoebocyte lysate (LAL) detection of endotoxin in human blood/ T.J. Novitsky// *J. Endotox. Res.*-1994.-Vol.1.-P.253-260.

Parry, S. H. Intestinal immune response to *E. coli* antigens in germ-free chicken/S.H. Parry, W.D. Allen, P. Porter// *Immunology.*-1977.-Vol.33, N 5.- P.731-741.

Payers patches: morphologic studies/ W.P. Faulk [et al.] // *Cell. Immunol.*- 1970.- Vol.1.- P. 500-520.

Potentiation of antimicrobial activity of aminoglycosides by carnosol from *Salvia officinalis*/ Horichi [et al.]// *Biol. And Pharm. Bull.* - 2007.- Vol. 30,N2.- P.287-290.

Qualitative structure of atrobone bacteria and fungi in dairy barn and nearby environment/K. Matcovic [et al.]//*Czech. J. Animal. Sci.*- 2007.- Vol.52, N8.- P.249-253.