

3. Белянко Л.В. Электронная микроскопия - как экспресс-метод диагностики вирусных гастроэнтеритов новорожденных телят и поросят. // Профилактика и меры борьбы с болезнями молодняка сельскохозяйственных животных. -Минск, 1990.
4. Бритова С.В., Каврук Л.С. Смешанная кишечная инфекция молодняка сельскохозяйственных животных, протекающая с участием *Morganella morganii*. // Эпизоотология, эпидемиология, средства диагностики, терапии и специфической профилактики инфекционных болезней общих для человека и животных. / Материалы Всесоюзной конференции. - Львов. -1988.-С.343-344.
5. Гайдамович С.Я. Классификация вирусов.// Общая и частная вирусология. -1982. -Т.1. -С.26-60.
6. Кузнецов В.И., Саненко В.И., Бахарева Л.П. Этиологическая структура острых кишечных инфекций, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами. // Лабораторное дело. -1991. -№4. с.62-64.
7. Пономарев А.П., Андреева О.Г., Артамонова Т.Н. Электронно-микроскопическое выявление вирусов животных в неконцентрированных вирусосодержащих суспензиях // Вестник РАСХН 2002. - №2.-с. 74-77.
8. Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий. // М., Наука. - 1968. -153 с.
9. Murphy F.A. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. // Springer Verlag Wien New York, 1995. - 586 с.

УДК 619:579

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ РОДА *PROTEUS*, ИЛИ ПРОТЕКАЮЩИХ С ИХ УЧАСТИЕМ

Н.А. ФЕОКТИСТОВА, Д.А.ВАСИЛЬЕВ, С.Н.ЗОЛОТУХИН

Энтеробактерии рода *Proteus* привлекают к себе исследователей как возбудители внутрибольничных инфекций, энтеритов у детей и взрослых людей, воспалительных процессов мочевыводящих путей, раневых инфекций, послеоперационных и ожоговых осложнений, сепсиса, дисбактериоза, токсикоинфекций и др.

Протеи вызывают маститы, эндометриты, раневые инфекции и желудочно-кишечные заболевания у животных.

Эффективность лечебных мероприятий во многом зависит от своевременной диагностики болезни, поэтому усовершенствованию методов лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами, уделяется большое внимание.

Лабораторная диагностика направлена на обнаружение возбудителя болезни в том или ином патологическом материале и может быть при-

жизненной и посмертной. Осуществляется она с помощью бактериологического и серологического методов исследования.

Для прижизненной диагностики желудочно-кишечных заболеваний молодняка животных, вызванных протеем или протекающих его участием в лабораторию направляют пробы фекалий, взятые от 5-6 больных диареей животных одной фермы, не подвергнутых лечению антибактериальными препаратами. Каждую пробу фекалий берут из прямой кишки с помощью предварительно прокипяченного резинового катетера или в момент дефекации в стерильную пробирку в количестве 2-3 г. При взятии материала на свиноферме можно использовать сборные пробы фекалий: в первую пробирку берут пробы от 2-4 больных поросят одного гнезда, во вторую пробирку - от нескольких поросят другого гнезда и т.д.. В случае невозможности быстрой доставки проб фекалий в лабораторию (через 3-4 ч после взятия), особенно в теплое время года, их консервируют стерильным 30%-ным водным раствором глицерина в соотношении 1:2.

Для посмертной диагностики в лабораторию направляют 2-3 свежих трупа погибших от диареи или убитых в предагональном состоянии больных животных. При отсутствии возможности доставки цельных трупов посылают следующий материал: голову, трубчатую кость; сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза аорты; селезенку, долю печени с желчным пузырем, почку. Одновременно с указанным материалом в отдельном целлофановом пакете направляют пораженный участок тонкого или толстого отдела кишечника, перевязанный с обоих концов лигатурой на расстоянии 1,5-2 см от места разреза, обязательно с регионарными брыжеечными лимфатическими узлами. Материал от каждого трупа животного маркируют и вместе с сопроводительной запиской доставляют нарочным в лабораторию.

Для проведения бактериологической диагностики в лаборатории исследуют тот же материал, что и при исследовании для выделения эшерихий.

Исследование материала проводят в соответствии с действующими "Методическими указаниями по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями", утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ 1999г.

Пробы фекалий и содержимое кишечника засевают на плотные селективные питательные среды - Эндо, Плоскирева или висмут-сульфит агар. Для подавления феномена «роения», вызывающего затруднения при выделении чистых культур других видов микроорганизмов, рекомендуется использовать среды, содержащие соли желчных кислот (агар Плоскирева), желчь, 0,1%-ный раствор хлоралгидрата или предварительное

орошение плотной питательной среды перед посевом материала 96%-ным этиловым спиртом-ректификатом (М.А. Сидоров и др., 1995).

До начала посевов плотные селективные среды в чашках подсушивают в термостате.

Патологический материал от погибших или убитых с диагностической целью животных (за исключением содержимого кишечника) засевают в пробирки с МПБ, на скошенный МПА, агар Эндо, Плоскирева или висмут-сульфит агар. Посевы материалов в МПБ и на скошенный МПА проводят пастеровскими пипетками; посевы на плотные среды в чашках - путем отпечатков разрезанной поверхностью органа из предварительно профламбированного участка или вносят материал пипеткой на поверхность питательной среды, а затем равномерно растирают его стеклянным шпателем. Разведенные фекалии и содержимое кишечника засевают петлей широкими, частыми штрихами по всей поверхности среды в чашки. Засеянные пробирки и чашки инкубируют при температуре 37-38°C в течение 18-24 ч. При наличии в МПБ равномерного помутнения культуру микроскопируют (окраска по Граму) и в случае обнаружения мелких грамотрицательных палочек с закругленными концами, пересевают её на агар Эндо, Плоскирева или висмут-сульфит агар в чашках, которые затем помещают в термостат (37-38°C) на 18-24 ч. Пересев бульонных культур на плотные селективные среды проводят в том случае, если отсутствует рост колоний на этих средах в первичных посевах из соответствующих органов и тканей.

Выросшие в чашках на агаре Плоскирева и Эндо колонии лактозоотрицательных бактерий или при наличии на агаре Эндо (или Левина) роящегося налета, характерного для роста протей, пересевают их на скошенный МПА. Чашки и пробирки с посевами инкубируют 18-20 часов при той же температуре.

Первичные культуры на скошенном МПА и агаровые культуры, полученные после пересева колоний лактозоотрицательных бактерий с культур на плотной селективной среде в чашках, микроскопируют (окраска по Граму) и при наличии в мазках мелких грамотрицательных палочек с закругленными концами, не образующих спор, располагающихся одиночно и попарно, подвергают дальнейшему изучению с целью родовой и видовой идентификации, а также определения патогенных свойств.

Видовую принадлежность культур устанавливают на основе определения морфологических и культурально-биохимических свойств.

Ферментативные свойства изучают у 2-6 агаровых культур бактерий, выделенных из одного патологического материала, на наборе сред с углеводами и индикатором Андреде или полужидких средах с индикатором ВР, куда входят среды с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом,

мальтозой, а также на средах с мочевиной, сернокислым железом, (определение сероводорода), агаре Симонса, в бульоне Хоттингера (определение индола, МПЖ, среде с фенилаланином). В качестве дополнительных тестов ставят реакции с метилротом и Фогес-Проскауэра, а также определяют подвижность микроорганизмов.

Е.П. Сиволодским с соавт. (1992) была разработана и испытана питательная среда «Proteus-PPM» для одноэтапного выделения и идентификации бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Основой действия среды является выявление фермента триптофандезаминазы бактерий, специфичной для протея, морганелл и провиденций. Культуры этих бактерий образуют зоны темно-коричневой окраски среды вокруг колоний указанных микроорганизмов. Для дальнейшей идентификации выделенных культур авторы предлагают пересевать их на среды с мочевиной и Д-маннозой. Бактерии, ферментирующие мочевины и маннозу относят к роду *Morganella*, ферментирующие только маннозу – к роду *Providencia* и не ферментирующие маннозу, но разлагающие мочевины – к роду *Proteus*. Испытание среды, как указывают авторы, показали, что она обладает высокой чувствительностью, имеет 100%-ную специфичность и позволяет значительно ускорить идентификацию бактерий.

Патогенные свойства определяют у культур бактерий, относящихся к роду *Proteus* в биопrobe на белых мышах методом внутрибрюшинного введения 0,5 млрд. микробных клеток изучаемых бактерий. Для этого используют агаровые культуры микроорганизмов, выделенные из двух органов и тканей погибших или фекалий больных животных. Взвесьми протея заражают по три белых мыши. Культуру признают патогенной в случае гибели двух или более мышей в течение трех суток после заражения и относят ее к возбудителям болезни.

Культуры микроорганизмов относят к возбудителям болезни в следующих случаях:

- выделение чистых культур протея не менее чем из двух ниже указанных органов и тканей: селезенки, крови сердца, костного мозга, головного мозга свежего трупа животных без определения их патогенности;
- выделения из патологического материала штаммов протея, обладающих патогенностью для белых мышей.

К сожалению, определение серогрупповой принадлежности бактерий рода *Proteus* в ветеринарных бактериологических лабораториях страны в настоящее время не проводится, что является причиной отсутствия статистических данных о выделении из патологического материала от больных и павших животных патогенных штаммов протея, принадлежавших к определенным серологическим группам.

О серогрупповой принадлежности патогенных штаммов протей, выделенных от животных, сообщается в работах отдельных авторов (Е.Т. Парайко, И.Н. Парайко, 1990).

Не разработаны и методы фагодиагностики заболеваний и фаготипирования протеев из-за отсутствия стандартных наборов бактериофагов.

Поэтому перед исследователями поставлена задача, направленная на решение этих проблем.

УДК 619 : 579

РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПАРАМЕТРОВ СООТНОШЕНИЯ КУЛЬТУРЫ И ФАГА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ С ВЫСОКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

С.Н. Золотухин, Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев

В последние годы благодаря работам отечественных и зарубежных исследователей расширилось представление о роле бактерий рода *Citrobacter* в патологии животных и человека.

Постановка бактериологического диагноза на заболевания, вызываемые данными микроорганизмами, имеет ряд трудностей. Одной из них является идентификация цитробактеров по их биологическим свойствам. Это длительный и трудоёмкий процесс, который не позволяет быстро и точно идентифицировать микроорганизмы. Поэтому возникла необходимость поиска альтернативных методов лабораторной диагностики, которые будут менее трудоёмкими, более быстрыми и доступными для любого уровня. Таким методом является фагодиагностика.

Для индикации и идентификации микроорганизмов с помощью бактериофагов необходимо иметь набор фагов с определёнными биологическими свойствами, одним из которых является их высокая литическая активность.

Для решения этой проблемы мы поставили перед собой задачу: найти оптимальное соотношение фага и культуры при его пассировании с целью получения фага с высокой активностью, который в дальнейшем будет использоваться для конструирования диагностического препарата.

Материалом для исследований послужили: фаг № 3, выделенный из сточных воды и выращенный на индикаторной тест-культуре *C.freundii* (7 часов при 37°С и затем до 18 часов при комнатной температуре), и индикаторная культура – *Citrobacter freundii*, полученная из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ УГСХА, находящаяся в «S» форме, выращенная на МПБ при 37°С в течение 18 часов.

Селекцию фага проводили методом пассирования его на индикаторной тест-культуре.