

рода заболеваниями, существенно отражаются на продолжительности хозяйственного использования коров. К аналогичным выводам пришли также многие исследователи, занимающиеся проблемой повышения хозяйственного долголетия животных (В.М. Кузнецов, 1990; Л.С. Жебровский, А.А. Барышев, 1992; Р. Кертиев, 1996 и др.).

Таким образом, продолжительное использование коров является одним из важнейших условий эффек-

тивной селекционной работы в молочном скотоводстве. Темпы генетического прогресса в популяции определяются сроком хозяйственного долголетия коров, воспроизводящих племенной молодняк. Генетическая обусловленность данного признака и его большая внутривидовая вариабельность дает возможность вести селекцию животных на их продуктивное долголетие.

УДК 59

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО КАНАЛА *HIRUDO MEDICINALIS*

*Е.В. Рассадина, Е.М. Романова, А.В. Ионова,  
О.М. Климина, ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»*

В последние годы на фоне усиленного внимания к лечению природными средствами повышается интерес и к гирудотерапии. В естественной среде медицинских пиявок остается все меньше, этот вид занесен в Международную Красную книгу. Для искусственного разведения необходимо знание их биологии и экологии. По вопросам бактериальной микрофлоры пиявки сведений в научной литературе практически нет.

### Материалы и методы

Целью данной работы было исследование эндогенной микрофлоры, обитающей в кишечнике медицинской пиявки.

Для исследования использовались 30 медицинских пиявок, которые к моменту проведения эксперимента находились в состоянии голода в течение месяца. У них брались пробы содержимого кишечника. Исследования проводились на базе двух кафедр: биологии, ветеринарной генетики, паразитологии и экологии и микробиологии, эпизоотологии, вирусологии и ВСЭ Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.

Анализировался характер роста колоний микроорганизмов, выделенных из кишечника пиявок, на твердой и жидкой средах. Для видовой идентификации микроорганизмов использовались диагностические тесты.

### Результаты и обсуждение

В пробах из кишечника пиявок были обнаружены *A. hydrophila* и *Proteus mirabilis*. *A. hydrophila* представляет собой при микроскопировании подвижные грамтрицательные палочки. Это бактерия-симбионт, постоянно обитающая в кишечном канале пиявки. Симбиотические взаимоотношения этих организмов объясняются отсутствием у пиявки эндогенных ферментов, участвующих в переваривании белков и углеводов.

*A. hydrophila* встречается не только в кишечном

тракте медицинской пиявки, данный вид бактерий широко распространен в водной среде и является патогенным для рыб, амфибий и млекопитающих, может вызывать заболевание аэромоноз (Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Б., 1995).

Механизмы процесса пищеварения у пиявки остаются практически неизученными. Известно, что в переваривании крови участвуют экзопептидазы, секретируемые стенкой кишечника, и эндопептидазы, продуцируемые микрофлорой пищеварительного канала пиявки. Известно также, что микрофлора медицинской пиявки включает бактерию-симбионта *A. hydrophila* или, по другим данным, *A. veronii*, которая играет основную роль в переваривании белков, жиров и углеводов. Микроорганизмы компенсируют отсутствие у пиявок эндогенных ферментов, таких, как эндопептидазы, липазы и амилазы. Исследование свойств бактерии – симбионта медицинской пиявки показало, что она является носителем антисвертывающей активности. Есть гипотеза, что выделяемое бактерией антикоагулирующее вещество, наряду с секретом слюнных желез, участвует в поддержании жидкого состояния насосанной крови (Никонов Г.И., 1998).

Микрофлора кишечника пиявки препятствует загниванию крови благодаря своим бактериостатическим свойствам. Бактерицидное и бактериостатическое действие содержимого пищеварительного канала пиявки также проявляется в способности патогенных организмов сохранять жизнеспособность при заражении ими пиявок: возбудители брюшного тифа охраняются в организме пиявки в течение 30 дней, паратифа В – 4 месяцев, сибирской язвы – 14-17 дней, туберкулеза – 28 дней, золотистый стафилококк сохраняет жизнеспособность в организме медицинской пиявки 3-10 дней, гемолитический стрептококк – 1 месяц (Шишкина И.Д., 1953).

1. Показатели ферментативной активности штаммов *A. hydrophila*

Виды ферментов	Проба									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Полуживость	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Слизь на Гравит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Результат:										
а) фермент	+	d	+	+	-	-	d	d	+	+
б) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
в) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
г) фермент	+	+	-	-	+	+	+	+	d	d
д) фермент	+	+	d	d	+	+	+	-	-	+
е) фермент	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
ж) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
з) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
и) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
к) фермент	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
л) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
м) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
н) фермент	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
о) фермент	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
п) фермент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Углекислота в среде	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Флуоресценция	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
Фосфор - Протеолитическая	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Примечание: "+" - 0-10% штаммов положительных, "d" - 20-75% штаммов положительных, "++" - 76-89% штаммов положительных, "+++" - 90-100% штаммов положительных

В целом можно сказать, что хотя и существует возможность передачи пиявками возбудителей от одного животного другому, но только в том случае, если пиявка после зараженного животного немедленно приставлялась к здоровому. При суточном перерыве между кормлениями на больном и здоровом животных возбудитель не передается (Андреев П.Н., 1923).

*A. hydrophila* бактерия-симбионт, постоянно обитающая в кишечном канале пиявки и обеспечивающая процессы пищеварения и бактерицидное действие пиявочного секрета (постоянная бактериофлора играет важную превентивную роль против поселения в кишечном тракте других бактерий).

Выделенные нами штаммы бактерий *A. hydrophila* хорошо росли на простых питательных средах: МПА, МПБ, среде Эндо.

При посеве на МПА культуры образовывали выпуклые, округлые, блестящие, полупрозрачные с беловато-желтым оттенком колонии. На МПБ вызывали равномерное помутнение с образованием серовато-серебристой поверхностной пленки и хлопьевидного серого осадка.

Изучение ферментативных свойств бактерий рода *Aeromonas* способствовало установлению их видовой принадлежности. Все выделенные нами штаммы принадлежали к виду *A. hydrophila*, они не разжижали желатину, выделяли сероводород, ферментировали сахарозу, глюкозу, лактозу и маннит. Результаты изучения биохимических свойств штаммов аэромонасы

представлены в таблице 1.

Имеются многочисленные данные о присутствии *A. hydrophila* в продуктах животноводства, питьевой воде и продуктах моря.

Присутствие *A. hydrophila* в пищеварительном канале медицинской пиявки обуславливает риск заражения пациентов при гирудотерапии.

В целях профилактики аэромоназы при гирудотерапии предложена обработка места укуса антибиотиками, а также профилактическая антибиотикотерапия пациентов.

Кроме данного вида бактерий в кишечниках всех пиявок был также обнаружен *P. mirabilis*. Это грамотрицательные подвижные аэробные палочки, способные вызывать заболевания у человека и животных только в тех случаях, когда выходят за пределы своего нормального места обитания (кишечный тракт). Протеи нередко обнаруживают при хронических инфекциях мочевыводящих путей, а также при сепсисе, пневмониях и очаговых поражениях у ослабленных больных.

Выделенные нами штаммы бактерий *P. mirabilis* хорошо росли на простых питательных средах: МПА, среде Эндо.

При посеве на МПА культуры быстро покрывали (в течение 18-24 часов) всю поверхность агара. На среде Эндо через 12-18 часов бактерии группы протея росли в виде бесцветных наложений с характерным запахом сероводорода. На полужидком агаре культуры давали обильное помутнение серовато-белого цвета с наличием на дне пробирки осадка, легко разбиваю-

Таблица 1. Показатели протейной ферментативной активности штаммов *P. mirabilis*, выделенного из пищеварительного тракта животных

Тест и субстрат	Пробы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Свободная Глутамат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Реакция на:										
сахарозу	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]
глицерину	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лактозу	d	d	d	-	-	-	d	d	d	-
маннит	-	-	-	d	-	d	-	-	-	d
мальтозу	d	-	-	-	-	-	-	d	-	-
глюкозу	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
инсулин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
катализу	[+]	[+]	[+]	+	+	+	+	[+]	[+]	[+]
гидролиз	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]
сыро по Дрод	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]
Реакция с нитритом	-	-	d	d	-	-	d	-	-	d
Фосфат – Провидера	d	-	-	-	d	d	-	-	-	d

Примечание: "-" – 0-10% штаммов положительное, "d" – 20-75% штаммов положительное, "[+]" – 76-89% штаммов положительное, "+" – 90-100% штаммов положительное

щегося при встряхивании. результаты изучения биохимических свойств штаммов протей представлены в таблице 2.

Изучение ферментативных свойств бактерий рода *Proteus* способствовало установлению их видовой принадлежности. Все выделенные нами штаммы принадлежали к виду *P. mirabilis*, они разжижали желатину, выделяли сероводород, ферментировали сахарозу, практически не ферментировали глюкозу, лактозу и маннит.

**Выводы**

1. В пробах крови из кишечника *H. medicinalis* были

обнаружены бактерии родов *Aeromonas* (вид *A. hydrophila*) и *Proteus* (вид *P. mirabilis*) из семейства *Enterobacteriaceae*.

2. *A. hydrophila* - постоянный обитатель кишечного тракта пиявки, находящийся с ней в симбиотических отношениях.
3. В целях профилактики аэромоноза при гирудотерапии необходимо обрабатывать места укуса антибиотиками, а также проводить профилактическую антибиотикотерапию пациентов.

**Литература**

1. Андреев П.Н. О сохраняемости микроорганизмов и иммунных тел в пищеварительном канале пиявки и о роли последних в распространении заразных заболеваний// Архив научно-практической ветеринарии, 1923. - №1. - С. 54-59.
2. Никонов Г.И. Медицинская пиявка. Основы гирудотерапии. – СПб.: СДС, 1998. – 294 с.
3. Определитель бактерий Берджи. Т.1.: Пер. с англ./Под ред. Дж. Хоулта и других – М.: Мир, 1997. – 257 с.
4. Покровский В.И. Медицинская микробиология – М., 1999. – 350 с.
5. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Б. Определитель зоопатогенных микроорганизмов – М.: Колос, 1995. – 250 с.
6. Шишкина И.Д. Влияние медицинских пиявок на микроорганизмы и на организм человека: автореф. дис. ... канд.