

ПОДБОР СЕЛЕКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ К ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ *B.BRONCHISEPTICA*

Ю.Б. Васильева, кандидат ветеринарных наук, доцент,
А.В. Мاستиленко, кандидат биологических наук, доцент,
Д.Г. Сверкалова, кандидат биологических наук, ст. преподаватель,
Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор
grant-ugsha@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: *Bordetella bronchiseptica*, селективные добавки, диагностика бордетеллёза.

В статье приводятся результаты исследований чувствительности бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* к химиотерапевтическим средствам с целью подбора селективных компонентов к питательным средам для индикации возбудителя бордетеллёза животных. В качестве оптимальных селективных компонентов отобраны цефтриаксон, цефазолин, цефатоксим, линкомицин. Определена их максимальная подавляющая концентрация. Полученные данные могут быть использованы для совершенствования диагностики заболевания путем разработки новой селективной добавки.

«Золотым стандартом» диагностики бордетеллёза животных остается бактериологическое исследование, при котором окончательный ответ выдается через 3-5 суток. Выявление возбудителя этим методом не превышает 25%. В этой связи актуальным представлялся поиск путей повышения эффективности бактериологической диагностики [1, 2, 4, 5, 11].

Основными питательными средами для культивирования бордетелл, выпускаемыми отечественной биопромышленностью, являются казеиново-угольный агар и его аналог бордетелагар [1, 5, 7, 8]. В нашей стране в качестве ингибитора сопутствующей микрофлоры многие десятилетия используется пенициллин. В зарубежной практике для этих целей используется цефалексин и амфотерицин В [10]. Данные исследований выявили возможность использования в качестве селективной добавки цефазолина, ампициллина и флуконазола [1, 5].

Недостатками выпускаемых селективных добавок является то, что часть бордетелл может проявлять чувствительность к антибиотикам, входящим в их состав, вследствие чего рост возбудителя подавляется и определенный процент заболевания остается нераспознанным. Кроме того, в связи с повышением агрессивности сопутствующей микрофлоры, селективные добавки полностью не подавляют рост ассоциантов [1, 5, 11].

В связи с вышеизложенным, одной из актуальных проблем клинической микробиологии является разработка новых селективных добавок, позволяющих устранить вышеуказанные недостатки, что является целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследований. Экспериментальную часть работы выполняли в лицензированной для работы с микроорганизмами 3–4 групп патогенности лаборатории МИП «Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и биотехнологии».

Объектами исследования послужили 4 лабораторных штамма *B.bronchiseptica* (№ 1, № 7, № 29, № 22-067, № 2). Все штаммы, полученные из музейных коллекций микроорганизмов, в соответствии с паспортными данными, обладали типичными для бактерий этих видов морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами. Для проведения опытов использовали биоматериал – назофарингеальные мазки от животных.

Для выбора селективных компонентов были использованы 57 антимикробных средств [9].

В работе использовали общепринятые в микробиологии методы и соответствующие реактивы, среды и лабораторную посуду [3, 6].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты определения резистентности штаммов *B.bronchiseptica* к химиотерапевтиче-

Таблица - Определение максимальной подавляющей концентрации антибиотиков

№ разведения	Концентрация АБ мг/мл	Суспензия <i>B. bronchiseptica</i> 29, 10 ⁶ КОЕ/мл				
		Рост в МПБ				Рост в МПА через 48 ч инкубации
		цвет	Мутность	осадок	пленка, кольцо	
ЦЕФАЗОЛИН						
1	500	Светло-желтый	-	-	-	Рост по штриху с отдельными колониями
2	50	Светло-желтый	-	-	-	Рост по штриху с отдельными колониями
3	5	Светло-желтый	±	-	-	Рост по штриху с отдельными колониями
4	0,5	Светло-желтый	+	мелкая взвесь	-	Сплошной рост по штриху
5	0,05	Светло-желтый	+	-	Сверху хлопья	Сплошной рост по штриху
Контроль (+)	-	Светло-желтый	+	-	-	Обильный рост по всему штриху
Контроль (-)	-	Светло-желтый	-	-	-	Рост отсутствует
ЦЕФТРИАКСОН						
1	500	Светло-желтый	-	Незначительные хлопья	-	слабый рост в начале штриха
2	50	Светло-желтый	-	Легкий осадок	-	Рост по штриху с различными колониями
3	5	Светло-желтый	±	Осадок нет	Желе сверху	Сплошной рост по штриху
4	0,5	Светло-желтый	+	Осадок в виде облаков	Пленка	Сплошной рост по штриху
5	0,05	Светло-желтый	+	Облака в 1 см от дна	Пленка	Сплошной рост по штриху
Контроль (+)	-	Светло-желтый	+	-	-	Обильный рост по всему штриху
Контроль (-)	-	Светло-желтый	-	-	-	Рост отсутствует
ЦЕФАТОКСИМ						
1	500	Ярко-желтый	-	-	-	-
2	50	желтый	±	-	-	Рост по штриху с различными колониями
3	5	Светло-желтый	+	мутный осадок	-	Рост по штриху с различными колониями
4	0,5	Светло-желтый	+	-	Пленка	Сплошной рост по штриху
5	0,05	Светло-желтый	+	-	Кольцо	Сплошной рост по штриху
Контроль (+)	-	Светло-желтый	+	-	-	Обильный рост по всему штриху
Контроль (-)	-	Светло-желтый	-	-	-	Рост отсутствует
ЛИНКОМИЦИН						
1	500	Светло-желтый	-	-	-	Роста нет
2	50	Светло-желтый	-	+	-	Рост по штриху
3	5	Светло-желтый	+	+	Пленка	Сплошной рост по штриху
4	0,5	Светло-желтый	+	-	Пленка	Сплошной рост по штриху
5	0,05	Светло-желтый	+	-	Кольцо	Сплошной рост по штриху
Контроль (+)	-	Светло-желтый	+	-	-	Обильный рост по всему штриху
Контроль (-)	-	Светло-желтый	-	-	-	Рост отсутствует

ским средствам показали, что бордетеллы высокочувствительны к мономицину, колистину, цефопиразону, офлоксацину, азитромицину, рокситромицину, доксициклину, ципрофлоксацину, левомицетину и хлорамфениколу.

Исследуемые нами штаммы *B. bronchiseptica*, чувствительны к оксалиновой кислоте, карбенициллину, амоксициллину, амикацину, неомицину, канамицину, гентамицину, сизомицину, фурадонину, бацитроцину, цефоперазону, цефалотину, цефотаксиму, цефаклору, цефопиму, цефамандолу, левофлоксацину, энрофлоксацину, норфлоксацину, тетрациклину, имипенему, колексину, тетрациклину.

Исследуемые нами референс-штаммы *B. bronchiseptica*, малочувствительны к бацитрацину и цефепиму.

Нами зарегистрирован высокий уровень устойчивости бордетелл к бензилпенициллину, ампициллину, амоксиклаву, бициллину, стрептомицину, ванкомицину, оксациллину, фуразолидону, фурагину, эритромицину, олеандомицину, кларитромицину, фузидину, фурадипану, нистатину, интраконазолу, клотримазолу, флуконазолу, амфотерину В, рифампицину, линкомицину, клиндамицину, цефазолину, цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону, дитриму, отибиовету, оптохину.

Учитывая, показатели антибиотикочувствительности носоглоточной флоры (биоматериал

от животных), для конструирования селективной добавки мы выбрали 4 антимикробных средства: цефтриаксон, цефазолин, цефатоксим, линкомицин.

Мы провели количественное определение максимальной подавляющей концентрации антибиотиков методом серийных разведений в бульоне.

Результаты количественного определения оптимальной концентрации антибиотиков представлены в таблице.

Результаты проведенных исследований показали, что концентрация цефтриаксона и цефазолина в субстрате не должна превышать 500 мг/мл, цефатоксима и линкомицина - 50 мг/мл. При этом носоглоточная микрофлора полностью подавлялась в данных концентрациях антибиотиков.

Таким образом, в качестве оптимальных селективных компонентов для питательных сред нами рекомендованы цефтриаксон, цефазолин, цефатоксим, линкомицин. Полученные данные могут быть использованы для совершенствования бактериологической диагностики заболевания путем разработки и внедрения новой селективной добавки к питательным средам для выделения и культивирования бактерий *Bordetella bronchiseptica*.

Библиографический список:

1. Бордетеллез домашних животных: характеристика заболевания и возбудителя, разработка методов диагностики / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова [и др.] // Монография. - Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. – 2014. – 190 с.
2. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 233-235.
3. Васильев Д.А. Методы общей бактериологии. Учебно-методическое пособие / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.М. Никишина // Ульяновск, 1998. – 151 с.
4. Васильева, Ю.Б. Разработка методов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №3 (23). С. 46-51.
5. Васильева, Ю.Б. Основы подбора компонентов питательных сред для первичного выделения *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова, А.Г. Семанин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. № 1 (25). С. 85-92.
6. Методические указания «Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий». – М. – 2008.
7. Никульшина, Ю.Б. Культивирование *Bordetella bronchiseptica* на различных селективных средах / Ю.Б. Никульшина, Д.Г. Сверкалова, Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Н. Хлынов // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования». – Ульяновск: УГСХА. - Т. IV. - 2008. – С. 57-59.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / Методические указания. - МУК 4.2.1890-04.
9. Gilchrist M.J.R. *Bordetella*/ In Manual of clinical microbiology. 5th ed./ Ed. Balows A., Hansler W.J., Herr-

mann K.L., Isenberg H.D., Shadomy H.J. Washington, D.C., 1991.- P. 471-477.

10. Vasilyeva, Yu.B. Selection of the complex of microbiological tests for *Bordetella bronchiseptica* typing / Yu.B. Vasilyeva / Вестник Орловского государственного аграрного университета. - 2013. - Т. 43. - № 4. - С. 44-46.

SELECTION OF SELECTIVE COMPONENTS TO THE NUTRIENT MEDIUM FOR THE ISOLATION B.BRONCHISEPTICA

Y.B. Vasilyeva, A.V. Mastilenko, D.G. Sverkalova, D.A. Vasilyev,
S.N. Zolotukhin

Keywords: *Bordetella bronchiseptica*, selective supplements, diagnostics bordetellëza.

The article presents the results of sensitivity studies the bacterium *Bordetella bronchiseptica* to chemotherapeutic agents in order to select the components to selective breeding ground for display pathogen bordetellëza animals. As an optimal selective components selected ceftriaxone, cefazolin, tsefatoksim, lincomycin. Determine their maximal inhibitory concentration. The data obtained can be used to improve diagnosis of the disease through the development of new selective supplements.

УДК 619:616.9:597.2/5

ВЛИЯНИЕ МОНОГЕНЕТИЧЕСКИХ СОСАЛЬЩИКОВ НА РАЗВИТИЕ КАРПА В ПРУДОВЫХ ХОЗЯЙСТВАХ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

О.М. Голенева, кандидат биологических наук, старший преподаватель,
Тел.: 8 8(422) 55-95-38, klimina-83@mail.ru

Е.М. Романова, доктор биологических наук, профессор
Тел.: 8 8(422) 55-95-38, vvr-emr@yandex.ru

В.Н. Любомирова, кандидат биологических наук, ассистент
Тел.: 8 8(422) 55-95-38, nvaselina@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»,

Ключевые слова: рыба, моногенетические сосальщики, дактилогироз карпа, вспышка заболевания рыб, выростные пруды.

Работа посвящена определению влияний паразитарных инвазий вызываемых моногенетическими сосальщиками из рода *Dactylogyrus* на рыб прудовых хозяйств и установлению причины возникновения.

Введение. Наиболее простой, дешевый и эффективный путь производства пищевого белка это разведение рыбы и моллюсков. Рыба - важный источник белковой пищи, и роль ее в питании человека значительна. Достаточно указать, что если мировое производство товарного мяса составляет 80 млн. т, то рыбы и других продуктов моря и пресных вод - 58,4 млн. т (1966 г.), или свыше 42% от общей мясной продукции [2,4,7].

Уплотненные посадки рыб в прудах предусматривают современные формы ведения прудового рыбоводства, что обуславливает тесный контакт выращиваемых рыб, а отсюда и благоприятные условия для распространения различных болезней. У рыб паразитирует большое число видов гельминтов, относящихся к различным классам: сосальщики (трематоды), ленточные черви (цестоды), круглые черви (нематоды) и др.[1,3,5]