

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Республики Беларусь

Учреждение образования
«Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»

Кафедра микробиологии и вирусологии

ЭНТЕРОБАКТЕРИИ В ПАТОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Учебно-методическое пособие для студентов,
обучающихся по специальностям 1 - 74 03 02 «Ветеринарная
медицина» и 1 - 74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза»,
преподавателей, сотрудников НИИ, слушателей факультета повышения
квалификации и переподготовки кадров

Витебск
ВГАВМ
2017

УДК 619:579.842.17(07)

ББК 48.419.221

Э20

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная
академия ветеринарной медицины»
от 15.12.2016 г. (протокол № 2)

Авторы:

кандидат ветеринарных наук, доцент *В. Н. Алешкевич*, кандидат ветеринарных наук, доцент *А. А. Вербицкий*, кандидат ветеринарных наук, доцент *Р. Б. Корочкин*, доктор ветеринарных наук, профессор *А. П. Медведев*, кандидат ветеринарных наук, доцент *С. В. Даровских*, кандидат ветеринарных наук, доцент *А. В. Зайцева*, кандидат ветеринарных наук, доцент *А. А. Гласкович*, старший преподаватель *О. Ю. Зыбина*

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, профессор *В. В. Максимович*; доктор ветеринарных наук, профессор *В. С. Прудников*

Энтеробактерии в патологии сельскохозяйственных животных :
Э20 учеб. – метод. пособие для студентов, обучающихся по специальностям 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и 1 - 74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза», преподавателей, сотрудников НИИ, слушателей факультета повышения квалификации и переподготовки кадров / *В. Н. Алешкевич* [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2017 – 88 с.
ISBN 978-985-512-958-6.

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с программой по дисциплине «Микробиология и иммунология» для высших с.-х. учебных заведений по специальностям 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и 1 - 74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза».

Пособие содержит историческую справку, биологические особенности патогенных энтеробактерий и лабораторную диагностику болезней, обусловленных ими.

УДК 619:579.842.17(07)

ББК 48.419.221

ISBN 978-985-512-958-6

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Возбудитель колибактериоза.....	6
Возбудители сальмонеллезов.....	17
Возбудитель кишечного иерсиниоза.....	31
Возбудители протеоза.....	38
Возбудители ассоциированной кишечной инфекции молодняка сельскохозяйственных животных.....	44
Список использованной литературы.....	85
Приложение.....	86

ВВЕДЕНИЕ

Общие сведения об энтеробактериях. Энтеробактерии (от греч. entero - кишечник) своим названием обязаны тому, что большинство видов их является постоянным обитателем кишечного тракта позвоночных.

Энтеробактерии широко распространены в природе. Средой обитания энтеробактерий является почва, вода, кишечник млекопитающих. Их обнаруживают в продуктах питания, в кормах для животных. Энтеробактерии (*Family - Enterobacteriaceae*) являются одним из основных компонентов кишечной микрофлоры человека и животных. Среди них имеются патогенные, условно-патогенные и сапрофиты. Патогенные и условно-патогенные могут вызывать у животных и человека болезни, различающиеся по клиническим признакам и формам течения.

Согласно второму изданию руководства «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005)», бактерии семейства *Enterobacteriaceae* входят в домен *Bacteria*, тип *Proteobacteria*, класс *Gamma proteobacteria*, порядок *Enterobacteriales* [1].

За период, прошедший после выхода в 2008 году второго издания данного руководства, состав семейства *Enterobacteriaceae* существенно расширился. В дополнение к известным 44 родам включены еще 5 родов и исключены 2 рода бактерий, а также переклассифицированы, в основном с позиций геносистематики, многие виды известных родов и открыты более 20 новых видов.

По состоянию на 01.06.2011, семейство *Enterobacteriaceae* включает 47 родов: *Arsenophonus*, *Biostraticola*, *Brenneria*, *Buchnera*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Citrobacter*, *Cedecea*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Gibbsiella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluuyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Mangrovibacter*, *Moellerella*, *Morganella*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Saccharobacter*, *Salmonella*, *Samsonia*, *Serratia*, *Shigella*, *Shimwellia*, *Sodalis*, *Tatumella*, *Thorsellia*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella* [2, 3, 10].

Семейство *Enterobacteriaceae* – это грамотрицательные тонкие палочки шириной 0,3-1,0 мкм и длиной от 0,6-1,0 до 3-6 мкм, подвижные перитрихи (кроме *Tatumella*) или неподвижные бактерии. Они не образуют эндоспор или микроцист, не кислотоустойчивы. Растут в присутствии кислорода или без него. Хорошо развиваются в пептонных и мясных средах, обычно на среде Мак-Конки. Некоторые используют D-глюкозу как единственный источник углерода; другие требуют в качестве добавок витамины и (или) аминокислоты. Питание осуществляют за счет органических соединений; механизм метаболизма дыхательный и ферментативный; не являются галлофилами. При ферментации D-глюкозы, других углеводов и многоатомных спиртов продуцируют кислоты и газ.

Представители семейства каталазоположительны, за исключением *Shigella dysenteriae* серовара 1 и *Xenorhabdus nematophila*, оксидазонегативны (за ис-

ключением бактерий вида *Plesiomonas shigelloides*, которые продуцируют оксидазу). Нитраты редуцируют в нитриты, за исключением некоторых штаммов *Erwinia* и *Yersinia*. Ферментативные реакции положены в основу дифференциации энтеробактерий на роды, виды и подвиды.

Два представителя энтеробактерий – *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* – входят в число бактерий, являющихся индикаторами развития резистентности к антимикробным препаратам в Европе.

Содержание нуклеотидов Г+Ц в ДНК – 38-60 моль%. ДНК видов, принадлежащих к большинству родов, родственны между собой не более чем на 20%. Такая же степень родства наблюдается и к *Escherichia coli* – типовому виду всего семейства. Исключение составляют некоторые виды *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, ДНК которых имеют 10-20% родства с ДНК видов, принадлежащих к другим родам. Все изученные виды содержат энтеробактериальный общий антиген (СА), кроме *Erwinia chrysanthemi*.

Чаще всего инфекционную патологию у животных вызывают бактерии родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Yersinia*, значительно реже – энтеробактерии родов *Citobacter*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Serratia*, *Erwinia*, *Providencia*, *Morganella*, *Hafnia*, *Edwardsiella*.

К новым и редким родам энтеробактерий относятся: *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecia*, *Ewingella*, *Kluuvera*, *Koserella*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Obesumbacteria*, *Pragia*, *Pantoea*, *Photorhabdus*, *Rahnella*, *Tatumella*, *Trabusiella*, *Xenorhabdus*, *Yokenella*. Роль этих микроорганизмов как оппортунистических патогенов возможна у иммунокомпromетированных индивидуумов [11].

Возбудитель колибактериоза

Определение болезни, историческая справка, таксономия

Колибактериоз (эшерихиоз) – инфекционная болезнь в основном молодняка разных видов животных, характеризующаяся диареей, обезвоживанием организма, депрессией, нарастающей слабостью, интоксикацией, иногда – нервными явлениями, смертельным исходом. У взрослых животных эшерихии могут вызывать аборт и артриты [5, 6].

E. coli – возбудитель колибактериоза, который впервые был выделен в 1885 г. Томом Эшерихом из фекалий больного ребенка. Кишечную палочку относят к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Escherichia*. Этот род назван в честь Т. Эшериха. Род представлен 5 видами (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005):

Genus. *Escherichia*

1. *Escherichia coli*.
2. *Escherichia blattae*.
3. *Escherichia fergusonii*.
4. *Escherichia hermannii*.
5. *Escherichia vulneris*.

Впоследствии был идентифицирован еще новый вид – *Escherichia albertii*.

E. coli – постоянный обитатель толстого отдела кишечника человека, млекопитающих, птиц, рыб, рептилий, амфибий и насекомых; выполняет ряд полезных функций, в том числе антогониста патогенных кишечных бактерий (выделяет колицины), гнилостных бактерий, грибов рода *Candida*, принимает участие в синтезе витаминов группы В, Е, К₂, стимулирует иммунитет, частично расщепляет клетчатку. Микроб обитает на многих растениях. Обнаруживают его в почве, воде, кормах, пищевых продуктах и на различных предметах. Кишечные палочки рассматривают как санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ) при анализе качества воды и пищевых продуктов, и их количественное содержание определяет показатели *коли-титра* и *коли-индекса* воды. При накоплении в пищевых продуктах эшерихии могут стать причиной пищевого отравления.

Кишечную палочку применяют в генной инженерии как реципиента генов человека, ответственных за образование препаратов, необходимых в медицине (интерлейкины, инсулин и др.).

Условно-патогенные штаммы *E. coli*, обитающие в толстой кишке, при ослаблении иммунной системы организма могут вызвать у человека и животных различные гнойно-воспалительные заболевания за пределами пищеварительного тракта: пневмонии, нагноения ран и полостей, циститы, отиты, менингиты, сепсис. Помимо *E. coli*, такими свойствами, как считают медицинские специалисты, могут обладать другие представители рода: *E. hermannii*, *E. vulneris*.

Патогенные серотипы кишечной палочки, попадающие в организм извне, вызывают эшерихиоз (колибактериоз) у новорожденных сельскохозяйственных, домашних и диких животных, в т.ч. птиц.

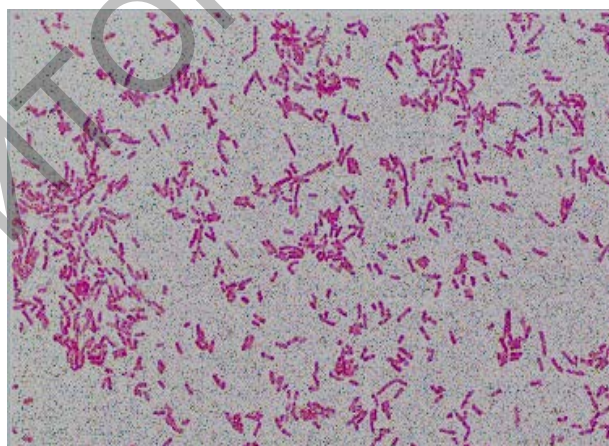
Несмотря на то, что *E. coli* объединены в один вид, среди них насчитыва-

ется большое число вариантов, отличающихся по антигенным и ферментативным свойствам, чувствительности к бактериофагам и колицинам, по степени антагонистической активности, патогенности и наличию комплекса факторов вирулентности.

В биологическом плане *E. coli* являются микроорганизмами, которые способны активно обмениваться генетической информацией (путем горизонтального переноса генов) как внутри вида *E. coli*, так и с другими энтеробактериями (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*). Как правило, интенсивный обмен генетической информацией происходит с помощью мобильных генетических элементов (плазмид, бактериофагов, IS-элементов, транспозонов и др.) путем конъюгации, трансформации или трансдукции. Процессы обмена генетической информацией происходят постоянно, как в живом организме (человека и животных), так и во внешней среде. Подтверждением этого факта является стремительное, практически неуправляемое нарастание в популяции энтеробактерий уровня резистентности к антимикробным препаратам (АМП), которое обусловлено горизонтальным переносом генов резистентности мобильными генетическими элементами.

Биологические свойства эшерихий

Морфология. *E. coli* – это полиморфные палочки с закругленными концами шириной 0,3-0,6 мкм, длиной 1-3 мкм. В препаратах они располагаются беспорядочно; грамотрицательные, не образуют спор, капсул, за исключением отдельных сероваров, например, O8, O9, O101, подвижны, но встречаются и неподвижные варианты. Кроме жгутиков, некоторые штаммы имеют ворсинки или фимбрии (пили) (микрофото 1, 2).

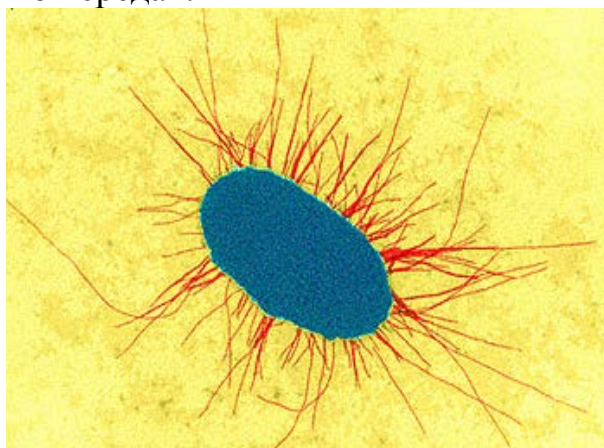


Микрофото 1 – *Escherichia coli* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/view=article&id=13348>)

Культуральные свойства. *E. coli* хорошо растет на обычных питательных средах: МПБ, МПА, МПЖ, МППЖА и дифференциально-диагностических: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфитном агаре. Оптимальная температура роста +37-38°C, pH сред – 7,2-7,4. Несмотря на это, она может развиваться как при более низкой (+15°C), так и более высокой (+46°C) температурах, а

также в кислой и щелочной средах.



Микрофото 2 – Пили по всей поверхности клетки *E. coli*
(фото с сайта <http://www.microbiologybook.org/fox/coli-2.jpg>)

Для выявления эшерихий, имеющих адгезивные антигены K99, F18 и F41, применяют 2% агар Минка (4% агар-агар в фосфатно-буферном растворе с добавлением микроэлементов, глюкозы, дрожжевого экстракта и гидролизата казеина), а выявления гемолитических свойств – кровяной агар.

Для изоляции и идентификации *E. coli* сероваров O157:H7 и O157:H- используют селективную среду с сорбитолом (сорбитом). На указанной среде эшерихии данной серогруппы образуют колонии серовато-белого цвета; колонии других серологических групп – красно-малинового цвета.

В МПБ кишечная палочка интенсивно растет, вызывая его помутнение с образованием осадка, который легко разбивается при встряхивании пробирки. На поверхности бульона может образовываться пленка или пристеночное кольцо.

На МПА через 24 ч. появляются сочные, круглые, выпуклые, с ровными краями и гладкой поверхностью (S-форма) серо-белого цвета колонии диаметром 2-3 мм. Колонии в R-форме плоские, имеют неровные края.

Среды Эндо, Левина и Плоскирева используют для первичной дифференциации энтеробактерий по способности ферментировать углевод лактозу. На среде Эндо лактозопозитивные штаммы *E. coli* образуют два типа колоний – темно-вишневые с металлическим блеском и малиново-красные с розовым ободком, диаметром 0,3-0,5 см. На среде Плоскирева – колонии розового цвета, среде Левина – темно-фиолетового цвета. Лактозонегативные штаммы кишечной палочки на данных средах формируют колонии серо-розового цвета. На висмут-сульфитном агаре колонии *E. coli* серо-белого цвета.

В МПЖ наблюдают рост по уколу в виде серо-белого стержня, разжижения среды не наступает. В полужидком агаре бактерии, в случае их подвижности, растут по всей массе агара, неподвижные – по уколу в виде серо-белого стержня.

Биохимические свойства. *E. coli* ферментирует с образованием кислоты и газа глюкозу, маннит, не изменяет адонин и инозит, образует индол, не образует сероводород, не растет на среде Симмонса, не расщепляет мочевины. Ки-

шечная палочка дает положительную реакцию с метиловым красным (розовое окрашивание – рН ниже 5,0, что регистрируется при добавлении в среду Кларка с выращенной культурой раствора метилрота) и отрицательную Фогеса-Проскауэра (желтый цвет культуры – отсутствие образования ацетилметилкарбинола из глюкозы, что регистрируется добавлением в данную питательную среду калия гидроокиси и альфа-нафтола). Наиболее важным отличительным признаком *E. coli* от других представителей семейства является ее способность ферментировать лактозу (за исключением отдельных лактозонегативных штаммов). *E. coli*, как возбудитель отечной болезни поросят, на кровяном агаре дает бесцветную зону гемолиза.

Для обнаружения расщепления мочевины используют среду с мочевиной (по Кристенсену): при ее расщеплении среда приобретает малиновый цвет, при отсутствии расщепления мочевины она окрашивается в желтый цвет.

Бактерии, способные усваивать цитрато-аммонийные соли, дают рост на агаре Симмонса с изменением его в синий цвет. При отсутствии указанного свойства роста культуры не происходит и цвет среды не изменяется.

При использовании реактива Эрлиха к двухсуточной культуре бактерий, выращенной в любой из сред для определения индола, добавляют 0,5 см³ реактива, пробирку встряхивают и через 1-2 мин. учитывают результаты. В случае образования индола верхний слой жидкости приобретает розовый цвет, при отрицательной реакции – желтый.

В случае образования индола при применении реактива Ковача верхний слой жидкости окрашивается в красный цвет, при отрицательной реакции – в желтый цвет. При применении индикаторной бумажки, пропитанной насыщенным (12%-ным) водным раствором щавелевой кислоты, в положительных случаях нижний конец индикаторной бумажки окрашивается в розовый цвет.

При изучении ферментативных свойств на агаре Клиглера и трехсахарном агаре с мочевиной по Олькеницкому для посева используют агаровую культуру бактерий, которую засевают бактериологической петлей вначале на поверхность скошенной части среды (косяка), затем уколом в столбик. Засеянные пробирки инкубируют при +37-38°C в течение 24-48 часов. На ферментацию лактозы в среде Клиглера и Олькеницкого указывает появление желтой окраски в скошенной части агара, а на ферментацию глюкозы – аналогичный цвет столбика. В культурах, ферментирующих лактозу и сахарозу, вся среда (столбик и косяк) приобретает желтый цвет. Газообразование устанавливают по наличию пузырьков в среде, разрывов агара или его отслоению от стенок пробирки. При образовании сероводорода происходит почернение среды в столбике, а при значительной его продукции – почернение всей среды. В случае гидролиза мочевины происходит окрашивание столбика и косяка среды в малиновый цвет.

Антигенная структура. Антигенная структура у *E. coli* сложная. Различают О-антиген, соматический; К-антиген, поверхностный, капсульный; Н-антиген (жгутиковый) содержащийся у подвижных штаммов; адгезивный антиген, состоящий из пилей или фимбрий [2, 3, 4].

Сочетание О-, К- и Н-антигенов характеризует серологический вариант (серовар) бактерий. Антигенное строение эшерихий принято выражать форму-

лой, за буквенным обозначением каждого антигена идут цифры, отделяемые двоеточием, например: O55:K59 /V/:H6; O111:B5:H10.

По O-антигену определяют принадлежность к серогруппам. Известно 180 серогрупп. У различных серогрупп обнаружено 104 разновидности поверхностных K-антигенов и 56 жгутиковых H-антигенов. Необходимо отметить, что в настоящее время известно более 9000 серологических вариантов эшерихий по O-, K- и H-антигенам.

O-антиген – термостабильный липополисахаридно-белковый комплекс. Белковый компонент ответственен за иммуногенные, липидный – за эндотоксические свойства, а полисахаридный – за серологическую специфичность O-антигена.

K- антиген – полисахаридной природы и включает группу поверхностных антигенов трех видов – L, B и A. L и B-антигены термолабильные, разрушаются при +100°C в течение 1 часа. A-антиген термостабильный, разрушается при автоклавировании (+121°C) в течение двух часов, содержится у бактерий некоторых серологических групп (O8, O9, O101 и др.). Поверхностные (L, B и A) антигены препятствуют агглютинации бактерий соответствующей агглютинирующей O-сывороткой, ввиду чего, при серогрупповой типизации культур эшерихий, их подвергают термической обработке: прогреванию в водяной бане или автоклавированию.

H- антиген эшерихий – белковой природы и в отличие от O- и K-антигенов относится к типоспецифическим, термолабильный.

Антигенными свойствами обладает выделяемый эшерихиями термолабильный экзотоксин. Кроме токсинов патогенетическим фактором возбудителя являются антигены фимбрий (пилей), состоящих из белка пилина и обеспечивающих прикрепление к эпителию кишечника, вследствие чего их называют адгезивными антигенами. К адгезивным антигенам относят K88, K99, 987P, A20, F18, F41, Att25 и другие.

Патогенные эшерихии одних и тех же серогрупп могут вызывать болезни у животных разных видов и человека.

Биологическая промышленность выпускает O- и H-диагностические коолисыворотки, антиадгезивные коолисыворотки (комплексные и моновалентные) для серологической типизации эшерихий.

Устойчивость. Эшерихии устойчивы к воздействию факторов внешней среды. В фекалиях и слизи бактерии выживают до 30 суток, в почве и воде – до нескольких месяцев. К высокой температуре бактерии неустойчивы. При +100°C погибают моментально, при +80°C – за 15 мин. По устойчивости к химическим дезинфицирующим средствам возбудитель относится к малоустойчивым (первая группа) микроорганизмам. Губительно действуют на эшерихий: 4%-ный горячий раствор гидроксида натрия или калия, 5%-ная эмульсия ксилонафта, 10%-ная эмульсия дезинфекционного креолина, 10%-ная взвесь свежегашеной извести, осветленный раствор хлорной извести, содержащий 3% активного хлора, и др.

Патогенность. Факторами патогенности эшерихий являются: энтеротоксин, эндотоксин, адгезия, колицины.

Колицины – это антибиотикоподобные вещества, которые продуцируют некоторые эшерихии, они подавляют рост и размножение филогенетически родственных бактерий. Их наличие – стойкий наследственный признак, обусловленный внехромосомными генетическими детерминантами, так называемыми колициногенными факторами, или плазмидами колициногенности. Доказана возможность передачи плазмиды колициногенности другим видам бактерий при конъюгации. Колициногенные культуры обладают более высокой патогенностью.

E. coli патогенна для многих видов животных, особенно для молодняка. Телята восприимчивы в первые часы и дни после рождения. Поросята болеют как в период новорожденности, так и после отъема. Ягнята восприимчивы с первых дней после рождения до 5-6 месячного возраста. Птица поражается в первые 2-4 месяца. *E. coli* может поражать эмбрионы птиц.

Источник возбудителя – больные и переболевшие животные – бактерионосители. Заражение – алиментарным путем, реже – аэрогенным.

Колибактериоз может протекать в септической, энтеротоксемической и энтеритной форме. При септической форме возбудитель быстро проникает в кровь, размножается, распространяется, вызывает гибель в течение нескольких часов, суток. При энтеротоксемической – возбудитель проникает в кишечник, брыжеечные лимфоузлы, вызывает воспаление в органах и тканях, токсикоз. При энтеритной поражается желудочно-кишечный тракт, лимфоузлы.

E. coli может быть причиной эндометрита, мастита, цистита, абсцессов и даже сепсиса у взрослых животных.

Септическую форму обуславливают штаммы, не обладающие адгезивными антигенами. Вирулентность их связана с наличием капсульных антигенов, обеспечивающих проникновение эшерихий в кровь и органы. Септическая форма характеризуется сверхострым и острым течением с высокой летальностью.

Энтеритная форма болезни связана с внедрением в организм инвазивных форм эшерихий, обладающих слабой подвижностью и не имеющих адгезивных антигенов. Такие бактерии проникают в слизистую оболочку тонких кишок, размножаются, при разрушении их образуются эндотоксины, которые вызывают диарею.

У молодняка птиц колибактериоз протекает преимущественно в септической, а у взрослых – в хронической формах.

Ведущая роль в развитии колидиареи новорожденных телят, поросят и ягнят принадлежит энтеротоксигенным штаммам эшерихий с адгезивными антигенами K88, K99, 987P, F41, F18, A20. За счет адгезивных антигенов происходит прикрепление бактерий к эпителиальным клеткам ворсинок тонкого отдела кишечника и интенсивное их размножение (колонизация), приводящие к развитию воспалительного процесса и гибели клеток с последующим проникновением эшерихий в регионарные лимфатические узлы, а иногда и кровотока.

Отечную болезнь поросят обуславливают эшерихии, продуцирующие вероцитотоксин VT2 и образующие адгезивный антиген F18a, b; в преобладающем большинстве случаев эти бактерии обладают гемолитическими свойствами.

ми. При колиэнтеротоксемии (отечной болезни), вызываемой бета-гемолитическими разновидностями эшерихий (серогрупп О9, О15, О18, О26, О138, О139, О140, О141), болеют преимущественно поросята-отъемыши с поражением центральной нервной системы и появлением отеков в различных органах и тканях.

Диарею животных с признаками геморрагического гастроэнтерита вызывают эшерихии серологических вариантов О157:Н7 и О157:Н-. Медицинские специалисты к энтерогеморрагическим штаммам *E. coli* относят О26:Н11; О103:Н2; О104:Н21; О113:Н21; О157:Н7; О104:Н4 и др. Известно около 150 различных серотипов *E. coli*, способных продуцировать шига-токсины. Бактерии выделяют не только из клинического материала, отобранного от больных людей, а также из продуктов животного и растительного происхождения [13].

Энтерогеморрагические эшерихии (ЕНЕС – от англ. enterohemorrhagic *E. coli*) выделяют цитотоксин, вызывающий гибель клеток; его образование кодирует ген, переносимый бактериофагом. Также практически все ЕНЕС образуют шигаподобный токсин 1 (веротоксин), аналогичный токсину *Shigella dysenteriae* типа 1, а большинство – шигаподобный токсин 2 (веротоксин 2, цитоксин), которые обуславливают дизентериеподобную диарею и отечный синдром. Встречаются штаммы, выделяющие оба токсина в совокупности.

Лабораторная диагностика. Лабораторную диагностику осуществляют в соответствии с «Методическими указаниями по лабораторной диагностике колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных», утвержденными ГУВ МСХ и П РБ 17.12.2007 за № 10-2-5/1118 [7].

Для посмертной бактериологической диагностики колибактериоза в лабораторию направляют 2-3 свежих трупа или убитых с диагностической целью больных животных (желательно не подвергавшихся лечению антибактериальными препаратами). В случае невозможности доставки целого трупа, в лабораторию направляют от телят, ягнят и поросят сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза сосудов, долю печени с желчным пузырем, селезенку, почки, голову (головной мозг), трубчатую кость, брыжеечные лимфатические узлы, регионарные воспаленному участку кишечника, а также пораженный отрезок тонкого отдела кишечника, перевязанный с двух концов лигатурой. Кишечник вместе с регионарными лимфатическими узлами упаковывают отдельно в полиэтиленовый пакет.

Патологический материал должен быть доставлен в лабораторию не позднее 6 ч. с момента гибели или убоя животного, при условии хранения и транспортировки его в термосе со льдом при +4-6°С. При хранении материала в обычных температурных условиях срок доставки не должен превышать 2-3 ч.

Для прижизненной бактериологической диагностики направляют пробы фекалий (не менее чем от 5-6 животных с одной фермы), не подвергавшихся лечению антибактериальными препаратами. Пробы фекалий в стерильных пробирках из последних порций стула, с примесями крови, слизи, пленок и т. п. по 2-3 г, или непосредственно взятые из прямой кишки с помощью прокипяченного резинового катетера. Пробирки обертывают ватой и вместе с сопроводительной запиской упаковывают в пенал, коробку или полиэтиленовый пакет. При невоз-

возможности быстрой доставки проб фекалий в лабораторию (через 2 часа после взятия) их консервируют глицериновым раствором: глицерин нейтральный – 300 см³, натрий хлористый – 5 г, вода дистиллированная – 700 см³. Раствор стерилизуют при 1 атм. (+121°C) в течение 20 мин или прогревают на водяной бане (+100°C) в течение 30-40 мин.

Для диагностики колибактериоза птиц в лабораторию направляют из неблагополучных птичников 3-5 свежих трупов и 3-4 цыпленка с клиническими признаками болезни. Больную птицу убивают в лаборатории и подвергают бактериологическому исследованию.

В первый день проводят посевы из паренхиматозных органов, костного и головного мозга, брыжеечных лимфатических узлов, соскобов со слизистой тонкого кишечника павших и убитых животных в пробирки с МПБ, на подсушенную среду Эндо и Левина, а также на плотную среду с сорбитом (сорбитолом) для обнаружения эшерихий сероваров 0157:H7 и 0157:H-.

Посевы проводят путем проведения разрезанной поверхности кусочка органа (из предварительно профламбированного участка) по поверхности питательной среды или отпечатков разрезанной поверхности органа. Кровь, костный мозг, желчь наносят на поверхность среды пастеровской пипеткой и равномерно распределяют материалом стеклянным шпателем. Посев в МПБ делают пастеровской пипеткой.

Содержимое тонкого отдела кишечника и фекалии засевают только на плотные среды Эндо (или Левина). Пробы фекалий и содержимого тонкого отдела кишечника (в количестве не более 0,5 г) суспендируют в 10 см³ стерильного 0,85%-ного раствора хлорида натрия, тщательно размешивают и затем выдерживают 10-15 минут при комнатной температуре для осаждения крупных частиц. Надосадочную жидкость используют для посева на питательные среды не позднее 1-2 часов после приготовления взвесей, засевают бактериологической петлей частыми и ровными штрихами в чашки со средой Эндо (или Левина) для получения изолированных колоний. Перед посевом для задержки роста протeya поверхность сред орошают 1-2 мл 96° спирта-ректификата, непитавшийся спирт отсасывают пастеровской пипеткой, среды подсушивают в термостате в течение 10-15 минут, после чего используют для посева.

Для получения скарификата слизистой тонкого отдела кишечника предварительно удаляют содержимое, слизистую скарифицируют концом пастеровской пипетки и растирают шпателем по поверхности среды Эндо (или Левина).

Засеянные среды в чашках и пробирках помещают в термостат (+37°C) на 18-24 часа.

На второй день извлеченные из термостата чашки с культурами на агаре Эндо или Левина просматривают и отбирают 10 типичных для эшерихий колоний (5 – выросших после посева фекалий или соскобов со слизистой кишечника и 5 – из других органов и тканей, в том числе брыжеечных лимфатических узлов) круглых с гладкой, выпуклой поверхностью, ровными краями диаметром 2-4 мм красно-малинового цвета на агаре Эндо и темно-фиолетового – на агаре Левина с металлическим блеском или без него, а затем колонии нумеруют. Из отобранных колоний готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

При наличии в мазках мелких грамтрицательных палочек с закругленными концами, длиной 0,4-0,7 и шириной 1-3 мкм, не образующих спор, расположенных одиночно и попарно, делают пересевы эти колоний на пластинчатый МПА и среду Минка в чашках, разделенных на 10 секторов (каждую колонию на две среды и соответствующий пронумерованный сектор). При этом в обязательном порядке пересевают лактозоположительные колонии, имеющие слизистую тягучую консистенцию (если такие колонии содержатся в культуре) в жидкую питательную среду.

Культуры, полученные в МПБ, пересевают на агар Эндо (или Левина) в чашках Петри, которые помещают в термостат (+37-38°C) на 18-24 часа. Пересев проводят в том случае, если отсутствует рост колоний на этих средах в первичных посевах из соответствующих органов и тканей.

С чашек с культурами на среде с сорбитом, выделенными из разных органов и тканей животного, отбирают 3-4 колонии, характерные по структуре и цвету для эшерихий сероваров O157:H7 и O157:H- (средних размеров, S-формы, серовато-белого цвета). Из этих колоний готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. В случае типичных для эшерихий клеток бактерий указанные колонии пересевают в пробирки со скошенным МПА.

При исследовании на отечную болезнь поросят дополнительно пересевают с агара Эндо или Левина 5-6 колоний на кровяной агар в чашке, разделенной на соответствующее количество секторов, для изучения гемолитических свойств культур.

Лактозоположительные колонии на плотной селективной среде (Эндо или Левина), выросшие после посева материала от птиц, не пересевают на пластинчатый МПА и среду Минка. Для родовой и видовой идентификации культур и изучения их свойств отбирают 2-3 типичные для эшерихий колонии (с культур, выделенных из разных органов и тканей одной погибшей или убитой с диагностической целью птицы), из которых готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. При наличии в мазках морфологически характерных для эшерихий клеток бактерий пересевают эти колонии на скошенный МПА, среду Олькеницкого или другую комбинированную среду.

Во всех случаях засеянные среды в чашках и пробирках помещают в термостат (+37°C) на 16-20 часов.

Третий день – полученные на пластинчатом и скошенном МПА, а также кровяном МПА культуры (обладающие гемолитическими свойствами) в количестве двух-трех от каждого животного и выделенные из разных органов и тканей или фекалий подвергают изучению по биохимическим тестам с целью родовой и видовой идентификации. Для этого их засевают на среды Гисса с глюкозой, лактозой и индикатором Андрее, среду с мочевиной, агар Симмонса, среду с сернокислым железом (тест на сероводород), бульон Хоттингера или МПБ (тест на индол), мясопептонную желатину (при необходимости проводят дополнительные реакции с метилротом и Фогеса-Проскауэра), а также в 2 пробирки со скошенным МПА для определения серогрупповой принадлежности или изучения патогенных свойств культур в биопробе (при необходимости).

Для идентификации культур по ферментативным свойствам можно использовать комбинированные среды (Олькеницкого, Клиглера или др.), полужидкие среды с сахарами и индикатором ВР, бумажные диски СИБ или системы мультимикротестов.

Подвижность культур изучают в полужидком 0,3% МПА. У бактерий, обладающих подвижностью, отмечается характерный рост в виде помутнения среды; неподвижные формы кишечной палочки дают в этой среде рост по ходу укола петли.

Засеянные пробирки инкубируют при +37°C в течение 48 часов, ежедневно учитывая изменения в средах.

Четвертый день – проводят предварительный учет результатов изучения ферментативных свойств культур. Бактерии рода *Escherichia* ферментируют с образованием кислоты и газа глюкозу, маннит, лактозу (за исключением отдельных штаммов), не растут на агаре Симмонса и не изменяют его цвет (не утилизируют цитратно-аммонийные соли), не расщепляют мочевины, выделяют индол и не образуют сероводород, дают положительную реакцию с метилротом и отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра.

Культуры, не типичные по отдельным ферментативным свойствам для бактерий рода *Escherichia*, подвергают дополнительному изучению в соответствии с тестами и дифференциальной схемой, изложенными в «Методических указаниях по бактериологической диагностике ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями» (приложение 1).

Изоляты, отнесенные к виду *E. coli*, исследуют в РА на стекле с агглютинирующими антиадгезивными коолисыворотками: вначале с комплексной, а в случае положительной реакции – с моновалентными сыворотками. При этом культуры, выросшие на пластинчатом МПА, изучают с сыворотками К88, 987Р и А20; культуры на среде Минка – с сыворотками К99, F41, F18. Реакцию агглютинации проводят в соответствии с действующим наставлением по применению указанных сывороток.

Культуры эшерихий на скошенном МПА, полученные после пересева серовато-белых колоний на среде с сорбитом (не ферментирующие этот многоатомный спирт), исследуют с агглютинирующей коолисывороткой О157 в РА на стекле. Реакцию ставят с живыми культурами. При положительной реакции для исключения самоагглютинации клеток бактерий культуру исследуют с 0,85%-ным раствором хлорида натрия. В контроле с физиологическим раствором агглютинация бактерий должна отсутствовать.

Культуры эшерихий, не агглютинирующиеся с моновалентными антиадгезивными коолисыворотками и коолисывороткой серогруппы О157, подвергают исследованию на патогенность в биопробе на белых мышках (или цыплятах) или серологическому типированию по О-антигену с набором поливалентных и серогрупповых О-коолисывороток в соответствии с действующим наставлением по применению этих сывороток.

Для биопробы используют две культуры на скошенном МПА, выделенные из разных органов и тканей или фекалий одного животного. Каждую культуру

смывают 0,85%-ным стерильным раствором хлорида натрия, готовят суспензии с концентрацией 1 млрд микробных клеток/см³ по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича, затем смешивают их в равном объеме и вводят смесь бактерий внутрибрюшинно по 0,5 см³ трем белым мышам массой 14-16 г или трем цыплятам 2-3- недельного возраста (при исследовании материала от птиц). При определении патогенности культур, выделенных от птиц, для биопробы используют культуры, выделенные от двух-трех цыплят каждого птичника. Наблюдение за зараженными мышами и цыплятами проводят в течение трех суток.

Пятый день – проводят окончательный учет результатов изучения ферментативных свойств культур, предварительный учет результатов биопробы и определение серогрупповой принадлежности культур эшерихий с поливалентными и моновалентными О-колисыворотками в РА на стекле (в случае необходимости).

Для РА используют 2-3 культуры эшерихий на скошенном МПА, которые не агглютинировали с колисывороткой O157. С этих культур готовят суспензии в 0,85%-ном растворе хлорида натрия, переливают их в чистые сухие пробирки, устанавливают концентрацию бактерий 2-3 млрд микробных клеток/см³, а затем часть суспензии (1,5-2 см³) вносят еще в одну чистую сухую пробирку. Пробирки с суспензиями одних и тех же культур бактерий маркируют одноименными номерами, после чего их подвергают термической обработке: прогреванию в водяной бане (+100°C) в течение 1 часа (большую часть суспензии) и автоклавированию (меньшую часть суспензии) при 1 атм (+121°C) в течение 2 часов с целью разрушения поверхностного термостабильного А-антигена, содержащегося у некоторых штаммов эшерихий серогрупп O8, O9, O101. РА с колисыворотками этих серогрупп ставят с прогретыми при +100°C и автоклавированными антигенами.

Шестой день – проводят предварительный учет результатов биопробы, постановку пробирочной РА с антигенами эшерихий, давшими положительную реакцию в РА на стекле.

Седьмой день – окончательный учет результатов определения патогенных свойств культур эшерихий в биопробе на мышах или цыплятах и серогрупповой типизации культур в пробирочной РА. Культуры эшерихий, отнесенные к одной из патогенных серогрупп или вызывающие гибель двух и более мышей или цыплят, считают патогенными и признают возбудителями колибактериоза.

Лабораторный диагноз считают установленным в следующих случаях:

- при выделении чистых культур не менее чем из двух нижеуказанных органов и тканей: селезенка, кровь, сердце, костный и головной мозг свежего трупа животного без определения их патогенности для белых мышей или цыплят и установления серогрупповой принадлежности;

- при выделении из исследуемого материала культур эшерихий с одним, двумя и более типами адгезивных антигенов: K88, K99, 987P, F41, F18, A20;

- при выделении из патологического материала культур эшерихий, относящихся к патогенным серогруппам или обладающих патогенностью для белых мышей или цыплят.

Энзоотические вспышки колибактериоза наиболее часто вызывают патогенные штаммы эшерихий следующих серогрупп: у телят – O8, O9, O15, O20, O26, O35, O78, O86, O101, O115, O117, O119, O141, реже O2, O33, O41, O55,

O103, O127, O137; у поросят – O8, O26, O33, O101, O136, O139, O141, O142, O149, O351, O157; у ягнят – O4, O8, O9, O15, O20, O26, O35, O41, O78, O101, O137; у птиц – O1, O2, O8, O15, O18, O26, O35, O78, O111, O113, O28, O141;

- при выделении культур эшерихий от поросят-отъемышей, погибших с признаками отечной болезни, из содержимого тонкого отдела кишечника или брыжеечных лимфатических узлов, обладающих гемолитическими свойствами.

Иммунитет, биопрепараты для специфической профилактики болезни и лечения животных. У новорожденных животных факторы естественной защиты развиты слабо, поэтому в неблагополучных хозяйствах с целью создания колострального иммунитета вакцинируют стельных коров, супоросных свиноматок, суягных овец. С этой целью ОАО «БелВитунифарм» выпускает поливалентную вакцину против колибактериоза (эшерихиоза) телят, поросят, ягнят. Препарат представляет собой взвесь инактивированных эшерихий разных серологических групп, наиболее часто поражающих упомянутых животных. Для пассивной профилактики и лечения больных данное предприятие выпускает поливалентную сыворотку против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных.

Возбудители сальмонеллезов

Определение болезни, историческая справка, таксономия

Сальмонеллез – полиэтиологическая инфекционная болезнь с фекально-оральным механизмом передачи, вызываемая бактериями рода *Salmonella*, характеризующаяся разнообразными клиническими проявлениями – повышением температуры тела, энтеритом, бронхопневмонией, артритом, коликами, параличами, абортами.

Сальмонеллезом болеет преимущественно молодняк сельскохозяйственных животных – телята, поросята, ягнята, жеребята, щенки пушных зверей, молодняк птицы – цыплята, гусята, индюшата и т.д.

Болеет сальмонеллезом и человек. Болезнь у человека проявляется в виде пищевых токсикоинфекций. Резервуаром сальмонелл, представляющим опасность для инфицирования людей, является домашняя птица [4, 8].

Источники возбудителя инфекции – больные и переболевшие животные сальмонеллоносители, включая грызунов и диких птиц. Факторами передачи возбудителя являются обсемененные (контаминированные) корма, подстилка, предметы ухода за животными. У птиц возможна трансвариальная передача сальмонелл.

В 1885 г. американские ветврачи Д. Сальмон и Т. Смит выделили из трупов свиней, павших от чумы, представителя обширной группы сальмонелл, которого они ошибочно приняли за возбудителя чумы и назвали *Bact. suipestifer*.

В 1888 г. Г. Гертнер при отравлении людей обнаружил один и тот же микроб в мясе коровы и в селезенке умершего человека, употреблявшего мясо этой коровы. Он был назван *Bact. enteridis*. В 1892 г. Леффлер выделил микроб от павших мышей, который получил название *Bact. typhimurium*.

В честь Д. Сальмона Международное общество микробиологов в 1934 г.

рекомендовало именовать бактерии, выделенные им и Т. Смитом, сальмонеллами, а болезни, вызываемые ими – сальмонеллезами.

Сальмонеллы относят к (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005):

- семейству *Enterobacteriaceae*,
- роду *Salmonella*.

Род состоит из двух видов: *Sal. enterica* и *Sal. bongori*. Вид *Sal. enterica* по фенотипическим и генотипическим критериям разделен на 6 подвигов: *enterica*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, *salamae*. Многие сероварианты внутри подвида *Sal. enterica subsp. enterica* имеют названия (напр., *Sal. enterica enterica serovar choleraesuis*, *Sal. enterica enterica serovar enteritidis* и др.).

Род объединяет около 2400 сероваров, разделенных по набору соматических антигенов на 52 серологические группы, и Международный сальмонеллезный центр ежегодно регистрирует 15-20 новых серотипов.

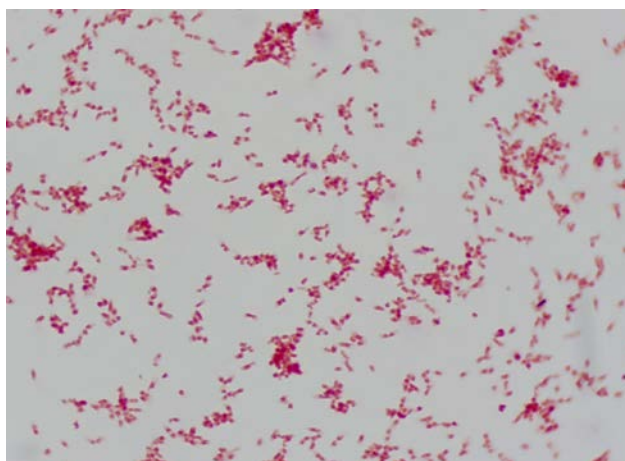
Однако возбудителями сальмонеллеза у животных являются сальмонеллы сравнительно немногих сероваров, адаптировавшихся в ходе эволюции к организму животных определенных видов. Основные возбудители сальмонеллеза животных относятся к серогруппам В, С, D, которые входят в состав вида *Sal. enterica*.

Биологические свойства сальмонелл

Морфология. Сальмонеллы – палочки с закругленными концами, длиной 2-5 мкм, шириной 0,7-1,5 мкм, грамотрицательные, спор и капсул не образуют, некоторые сероварианты формируют микрокапсулу, подвижны, перитрихи (за исключением *Sal. enterica enterica serovar Gallinarum*), в старых культурах встречаются нитевидные формы, иногда в виде стрептобактерий и коккобактерий, хорошо окрашиваются всеми анилиновыми красками (микрофото 3).

Среди сальмонелл могут быть неподвижные мутанты. Подвижность, как правило, выявляется в висячей капле бульонной культуры. Если у бактерий предполагают наличие жгутиков, а подвижность отсутствует, то нужно исследовать 6-8-часовые культуры, выращенные при комнатной температуре, или использовать конденсационную воду культур, выросших на скошенном агаре.

Сальмонеллы, выращенные на МПА, имеют меньшие размеры, чем выращенные в МПБ.



Микрофото 3 – *Salmonella* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта http://redbook.solutions.aap.org/data/Books/1484/116_27.jpeg)

Культуральные свойства. Сальмонеллы – аэробы и факультативные анаэробы. Температурный оптимум – +37°C (могут расти при температуре от 3 до +45°C); оптимальная реакция среды слабощелочная – 7,2-7,6 (могут расти при pH 4,5-9,0). Хорошо растут в МПБ, на МПА, среде Эндо, Левина и других.

Бактерии вызывают помутнение МПБ, на дне пробирки через 18-20 ч. роста образуется осадок серо-белого цвета, иногда на поверхности среды наблюдается тонкая пленка или пристеночное кольцо. На МПА сальмонеллы формируют колонии от 1 до 4 мм в диаметре серо-белого цвета с голубоватым оттенком.

Многие сероварианты сальмонелл при росте на МПА способны к валообразованию. Для его выявления культуры высевают на МПА, растут в течение суток при +37°C, а затем 1-2 суток при комнатной температуре. Валик слизистый, круто поднимающийся, сильно преломляющий свет, при микроскопии наблюдают поперечную исчерченность.

Некоторые сероварианты образуют дочерние колонии, например, *Sal. enterica enterica serovar Typhimurium*, а некоторые, например *Sal. enterica enterica serovar Abortusovis*, растут слабо, образуют мелкие колонии.

Кроме колоний в S-, R-форме, колонии могут быть в O-, D-, M-форме.

На среде Эндо колонии прозрачные розоватые; на Левина – прозрачные с голубоватым оттенком; на Плоскирева – бесцветные плотные, слегка мутноватые; на висмут-сульфитном агаре – черного цвета с металлическим блеском, при этом наблюдается окрашивание в черный цвет участка среды под колонией (исключение составляют сероварианты *Sal. enterica enterica: paratyphi A, choleraesuis, abortusuis, gallinarum* и некоторые другие, образующие светло-зеленые колонии) (рисунок 1). Для выделения и идентификации сальмонелл предложен ряд питательных сред обогащения (селенитовая среда, селенитовый бульон с аминокептидом, магниевая среда, среда Мюллера, среда Кауфмана, среда Киллиана, тетрагидратная среда).



Рисунок 1 – Рост сальмонелл на висмут-сульфитном агаре

Биохимические свойства сальмонелл варьируют в зависимости от разных сероваров. Сальмонеллы образуют при ферментации глюкозы (и ряда других

углеводов) кислоту и газ (за исключением *Sal. typhisuis* и некоторых других серотипов), выделяют лизин и орнитиндекорбоксилазы, большинство образуют сероводород, не ферментируют лактозу (кроме *Sal. arizonae* и *Sal. diarizonae*), сахарозу, адонит, салицин, не образуют индола, не продуцируют уреазы, не образуют ацетоин (отрицательная реакция Фогеса-Проскауэра), ферментируют (за небольшим исключением) мальтозу, маннит, сорбит, утилизируют аммоний и редуцируют нитраты.

Сальмонеллы растут на среде Симмонса (т.е. усваивают цитрато-аммонийные соли), в МПБ, содержащем 40% желчи крупного рогатого скота. Идентификацию сальмонелл внутри семейства энтеробактерий проводят с помощью биохимических тестов.

Антигенная структура. У сальмонелл различают О-антиген – соматический и Н-антиген – жгутиковый, а также К-капсульный.

О-антиген представляет собой термостабильный фосфолипидополисахаридный комплекс.

Н-антиген содержит белок флагелин, термолабильный, разрушающийся при кипячении. Н-антиген может быть как специфическим для определенного вида и типа, так и не специфическим.

К-антиген локализован в субстанции, покрывающей стенку бактерий – микрокапсуле. В клеточной стенке имеется Vi-антиген, который назван антигеном вирулентности, М-антиген, выявляемый у слизистых штаммов, и антиген 5.

Род сальмонелл объединяет более 2400 серовариантов, которые по О-антигену разделены на 52 группы. В настоящее время насчитывают 14 основных серогрупп. Их обозначают прописными буквами латинского алфавита – А, В, С, Д, Е и т.д.

Н-антиген разделяют на антигены 1-й фазы – специфические и антигены 2-й фазы – неспецифические, 1-я фаза обозначается строчными буквами латинского алфавита (а, в, с, d, е), 2-я фаза – арабскими цифрами 1, 2, 3 и т.д.

Во всех лабораториях мира используют диагностическую схему Кауфмана-Уайта, построенную на анализе трех основных антигенов – О, Н, Vi.

Биопромышленность готовит для микробиологической практики диагностические поливалентные и моновалентные О-сыворотки, монорецепторные Н-сыворотки, которые используют в РА на стекле.

Устойчивость. Сальмонеллы устойчивы к неблагоприятным факторам внешней среды. Бактерии сохраняются в почве, навозе, животноводческих помещениях до 10 месяцев, в воде – до 4 месяцев, в соленом и копченом мясе – 2,5–3 месяца, в твороге, масле – до 6 месяцев. В комбикорме, мясокостной муке не теряют своей жизнеспособности в течение года. При замораживании возбудитель сохраняет свою жизнеспособность до 5 месяцев. Высокие температуры действуют на сальмонеллы губительно – при температуре +70–75°C они инактивируются в течение 30 мин., при кипячении – в течение 1 минуты.

Для дезинфекции помещений используют следующие дезсредства: 3–4%-ные горячие растворы гидроксида натрия или калия, 2–3%-ные растворы формальдегида, хлорсодержащие препараты (однохлористый йод, хлорная известь и др.) с содержанием не менее 2% активного хлора, 10%-ная эмульсия креоли-

на, 20%-ная водная взвесь свежегашеной извести, 5%-ная эмульсия ксилонафта при экспозиции не менее одного часа.

Сальмонеллы чувствительны к антибиотикам, но у них быстро развивается устойчивость к используемым препаратам.

Патогенность. Сальмонеллы патогенны для всех видов сельскохозяйственных, домашних и промысловых животных, домашних и диких птиц. Болеет молодняк: телята в возрасте от 10 дней до 2 месяцев, поросята с первых дней жизни до 4 месяцев, ягнята в первые дни жизни, жеребята – в первую неделю после рождения и до 3 месяцев, цыплята – до 15-18-дневного возраста.

Из лабораторных животных наиболее восприимчивы к сальмонеллам белые мыши, морские свинки, кролики. Источником возбудителя являются больные и переболевшие животные. Заражение происходит через желудочно-кишечный тракт, органы дыхания.

Наиболее патогенными для крупного рогатого скота являются сероварианты подвида *Sal. enterica enterica* – *Sal. dublin*, *Sal. typhimurium*, для свиней – *Sal. choleraesuis*, *Sal. typhimurium*, овец – *Sal. abortusovis*, лошадей – *Sal. abortusegui*, для песцов и лисиц – *Sal. dublin*, *Sal. choleraesuis*, *Sal. typhimurium*, кур – *Sal. gallinarum*, *Sal. enteritidis*, водоплавающей птицы – *Sal. typhimurium*.

Факторы патогенности у сальмонелл – экзотоксин и эндотоксин. Основной компонент эндотоксина – полисахарид, состоящий из полисахарида и липида А, который определяет токсичность всей молекулы.

Патогенные свойства сальмонелл более выражены, чем у *E. coli*, но в организме бактерионосителей они не проявляются, т.е. сальмонеллы – типичные условно-патогенные микроорганизмы.

Лабораторная диагностика включает микроскопию препаратов-мазков и препаратов-отпечатков из материала с помощью световой и люминесцентной микроскопии (РИФ), выделение чистой культуры возбудителя болезни и изучение его морфологических, тинкториальных, культуральных, ферментативных, антигенных (с агглютинирующими поливалентными О-сыворотками и с монорецепторными О- и Н-сыворотками) и при необходимости патогенных свойств, фаготипирование. Ее проводят согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике сальмонеллезов животных и обнаружению сальмонелл в кормах и объектах внешней среды», утвержденным ГУВ МСХ и П РБ 18.01.2007 [7].

Для бактериологического исследования от трупов животных отбирают паренхиматозные органы или их части (печень с желчным пузырем и лимфатическими узлами, селезенку, почку, мезентеральные лимфатические узлы, трубчатую кость, сердце, перевязанное лигатурой у основания аорты). Погибшие в 12-18-дневном возрасте эмбрионы птиц (до 30 шт.) и павшую птицу (до 10 гол.), абортированные плоды с плодными оболочками и околоплодной жидкостью, а также свежие трупы мелких животных в лабораторию направляют целиком. При подозрении на хроническое течение, кроме перечисленных органов, у телят берут измененные участки легких, от свиней – слепую кишку с содержимым, от кур – измененные фолликулы яичника. Кишечник направляют отдельно от других органов.

Для установления сальмонеллоносительства исследуют печень, селезенку, фолликулы.

Материалом для прижизненной диагностики служат кровь больных животных, истечения из матки при абортах, а для серологического исследования в РА – сыворотка крови.

Не рекомендуется брать материал от животных, подвергавшихся лечению антибиотиками.

Объектами исследования являются корма животного и растительного происхождения, смывы с различного оборудования и других предметов, подозреваемых в качестве фактора передачи возбудителя.

Патологический материал следует доставлять в лабораторию в возможно короткий срок, но не позднее 12 ч. после отбора, фекалии – не позднее 3-4 ч.

В случае невозможности доставки в указанные сроки материал посылают в консервированном виде. Консервированный материал до исследования хранят при +4-6°C не более 24 ч. Патологический материал от животных допускается направлять в замороженном виде – в термосе со льдом.

Период бактериемии при сальмонеллезах очень короткий, поэтому кровь для прижизненной диагностики необходимо брать в наиболее ранние сроки заболевания (на 1-4-й день). Кровь берут стерильным шприцем по общепринятым методикам от больных животных в количестве 5-10 мл. Посев на среды целесообразно проводить сразу же после взятия крови.

Фекалии отбирают сразу же после дефекации из последних порций с помощью стерильной стеклянной палочки или деревянного шпателя. При наличии патологических примесей (слизь, кровь, гной и т.п.) их включают в отбираемую пробу. В случае невозможности получения фекалий после дефекации материал берут непосредственно из прямой кишки с помощью ректального тампона, вводя его в прямую кишку на 8-10 см. Отобранные пробы помещают в стерильную посуду.

При невозможности посева на питательные среды в течение 3-4 часов после отбора материала, фекалии помещают в пробирку с консервирующим раствором. В качестве консерванта применяют глицериновую смесь или буферный раствор фосфорнокислых солей (рН 8,0). В пробирку наливают 5 мл консерванта, количество же помещенных фекалий должно составлять пятую часть объема консерванта.

Исследование фекалий следует начинать в возможно более ранние сроки. Лишь в исключительных случаях допускается хранение материала не более суток в холодильнике при +2-6°C.

Мочу для исследования собирают после тщательного туалета наружных половых органов. Первую порцию мочи не берут для исследования, остальную в количестве 20-30 мл собирают в стерильную посуду и доставляют в диагностическую лабораторию. Мочу центрифугируют 15 мин. при 3000 об/мин и в дальнейшем используют осадок. Допускается высеивать нативного материала.

Пробы жидких и полужидких кормов (заменитель цельного молока - ЗЦМ, ацидофилин) отбирают после тщательного перемешивания в количестве около 200 г.

Пробы мяса животных для исследования отбирают согласно ГОСТ 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа», мяса птицы – по ГОСТ 7702.2-74 «Мясо птицы. Методы бактериологического анализа».

Яйца отбирают по 5 шт. из шести разных мест обследуемой партии; в первую очередь берут яйца, хранившиеся более 7 дней.

При отборе проб яичного порошка руководствуются ГОСТ 2858-82 «Яичный порошок», меланжа – ГОСТ 49197-83 «Продукты яичные мороженые».

Отбор проб комбикормов и сырья, используемого при его производстве (кроме зерна), проводят по ГОСТ 13496.0-86 «Комбикорма, сырье. Методы отбора проб», зерна – по ГОСТ 13586.3-83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», мясокостной муки – по ГОСТ 25311-83 «Мука кормовая животного происхождения. Методы бактериологического анализа».

Для исследования сухого ЗЦМ отбирают из пяти мешков одной партии по 80-100 г продукта, который тщательно перемешивают и помещают в стерильную банку. Всего отбирают 4-5 сборных проб ЗЦМ.

Отбор проб смывов с объектов внешней среды осуществляют стерильными ватными или ватно-марлевыми тампонами. Тампоны монтируют на деревянной палочке или проволоке, пропущенной через пробку, помещают в пробирку и стерилизуют в течение 30 минут при температуре +120°C. Затем в каждую пробирку наливают 2 мл предварительной среды обогащения – забуференной пептонной воды рН 7,0. Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют, наклоняя пробку, излишек влаги отжимают об стенку пробирки. Смывы берут с площади не менее 100 см², если нет специальных указаний для данного объекта. При взятии смывов с яичной скорлупы один тампон используют для исследования 10 яиц.

При отборе стоков животноводческих объектов смывы делают со стенок и дна навозного желоба у приемка.

При наличии в помещении гидросмыва тампон, не увлажняя предварительной средой обогащения, погружают в жидкую навозную массу на 2-3 мин., после чего помещают в пробирку с 2 мл среды обогащения.

Материал, подлежащий исследованию, помещают в стерильную посуду (банки, пробирки, флаконы), стерильные полиэтиленовые пакеты, стерильную пергаментную бумагу, тщательно укупорируют и упаковывают.

Пробы можно брать в стаканы или стеклянные банки, прокипяченные 15 минут. Обработка посуды дезинфицирующими средствами не допускается.

Каждую пробу снабжают этикетками с наименованием материала и источника его получения (дата, месяц и год отбора патматериала, хозяйство, ферма и т.д.).

В сопроводительном документе необходимо указать, какое учреждение направляет материал, эпизоотическую ситуацию в хозяйстве, дату заболевания, клинические признаки, патологоанатомические изменения, предполагаемый диагноз или показания к обследованию, дату и час взятия пробы материала, фамилию и должность лица, посылающего материал. При направлении проб продуктов и объектов внешней среды дополнительно указывают, какой из продуктов подозревается в качестве причины заболевания животных.

Посмертная диагностика. Первый день исследования. Посевы на питательные среды делают из крови сердца, печени, желчного пузыря, селезенки, почки, измененных лимфатических узлов и костного мозга, околоплодной жидкости абортированных плодов, хориоаллантаической жидкости и содержимого желточного мешка замерших эмбрионов; при подозрении на хроническое течение делают дополнительные посевы из легких – от телят, слепой кишки – от свиней, измененных желтков яичника – от кур. Патологический материал засевают на МПБ, чашки Петри с МПА и одной из дифференциальных сред (Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар). В связи с тем, что *Sal. abortusovis* плохо растет на обычных питательных средах, высевы из абортированных плодов овец необходимо делать также и на сывороточно-глюкозные среды. При подозрении на хроническое течение сальмонеллеза посевы обязательно проводят и на одну из сред накопления (селенитовая, Мюллера, Кауфмана, магниевая, тетрационатная).

При исследовании суспензии органов от животных на сальмонеллоносительство, пробу массой не менее 20 г растирают в ступке и высевают в одну из сред обогащения (селенитовую или магниевую) в соотношении 1:5 и одновременно на дифференциально-диагностические среды.

Посев на чашки делают кусочком исследуемого органа (путем нанесения отпечатков разными сторонами пробы на поверхность питательной среды в чашках). Перед посевом кусочки органов погружают в спирт и два раза обжигают с поверхности, а затем срезают стерильными ножницами и наносят отпечатки на среды. На каждую чашку МПА берут новую порцию любого посевного материала. На МПБ посев производят пастеровской пипеткой или бактериологической петлей.

Исследуемый жидкий материал высевают на МПА в чашки пастеровской пипеткой и распределяют шпателем по всей поверхности среды.

Посевы также можно делать из суспензии, для чего кусочки органов тщательно растирают в стерильной ступке (кишечник отдельно от других органов), заливают физиологическим раствором хлорида натрия в соотношении 1:4-1:5, полученную взвесь отстаивают 20-30 минут и из верхней части надосадочной жидкости делают посевы пастеровской пипеткой.

Засеянные пробирки и чашки помещают в термостат при температуре +37°C на 18-20 ч. При использовании тетрационатной среды, посевы инкубируют при +42-43°C.

Наряду с высевом на питательные среды проводят микроскопическое исследование методами световой и люминесцентной микроскопии.

Для световой микроскопии мазки готовят из трупного материала и органов абортированных плодов и окрашивают по Граму.

Для исследования методом флуоресцирующих антител готовят препараты-мазки и препараты-отпечатки из патологического материала и обрабатывают их согласно действующим ТНПА.

Второй день исследования. Через 18-24 часа просматривают посевы на плотных средах в чашках Петри и отбирают типичные колонии, а также делают высевы из жидких питательных сред на плотные дифференциальные среды.

В связи с тем, что *Sal. arizonae* и *Sal. diarizonae* ферментируют лактозу, необходимо использовать в качестве дифференциально-диагностической не только среду Эндо, но и висмут-сульфитный агар.

Для отбора типичных колоний посева на чашках со средами Эндо, Плоскирева и Левина просматривают невооруженным глазом с помощью лупы в проходящем дневном или искусственном свете; посева в чашках с висмут-сульфитным агаром просматривают в проходящем свете.

Сальмонеллы на среде Эндо растут в виде прозрачных, слегка голубоватых нежных колоний, иногда слегка розоватых. На среде Плоскирева они также бесцветны, но выглядят несколько более плотными и могут быть слегка мутноватыми. На среде Левина они прозрачные, иногда с легким фиолетовым оттенком. На висмут-сульфитном агаре почти все сальмонеллы растут в виде черных колоний с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается окрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют сальмонеллы из группы С, которые при росте на висмут-сульфитном агаре образуют светлые нежно-зеленоватые колонии. Просмотр чашек с висмут-сульфитным агаром проводят через 24 и 48 часов после посева.

Рост на МПА и МПБ некоторых возбудителей сальмонеллезов имеет различия.

Возбудители сальмонеллезов телят, свиней и птиц на МПА в первые сутки роста образуют округлые колонии средней величины сероватого цвета с голубым оттенком. При длительном хранении культуры колонии становятся мутноватыми, отдельные образуют слизистые валы. МПБ мутнеет, впоследствии на дне пробирки образуется осадок, а на поверхности – часто пленка или пристеночное кольцо.

Возбудитель сальмонеллеза овец в отличие от других сальмонелл растет на питательных средах довольно скудно в виде просвечивающихся мелких колоний с приподнятым центром и радиальной исчерченностью без валика. В МПБ вызывает равномерное помутнение с незначительным осадком без пленки и пристеночного кольца. При добавлении к средам сыворотки крови (5-10%) или глюкозы (0,2%) рост улучшается.

Возбудитель сальмонеллезного аборта кобыл в МПБ образует равномерную муть со слизистым осадком, на МПА – серовато-белые колонии, легко снимающиеся петлей с поверхности агара, также могут образовываться и шероховатые, сухие, врастающие в среду колонии.

При обнаружении роста типичных колоний их исследование начинают с изучения морфологии в мазке, окрашенном по Граму. Все отобранные культуры пересевают в пробирку с МПБ. После 4-5-часового выращивания в термостате проводят посев из МПБ с целью определения ферментативных свойств на среды Гисса с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом, среду с мочевиной, сернокислым железом, цитратный агар Симмонса, Кларка для постановки реакции Фогеса-Проскауэра, а также МПА для постановки реакции агглютинации.

При посеве бактерий с отобранных колоний на комбинированные среды (Клигера, Олькеницкого, Ресселя) исключают пересев из МПБ на среды Гисса с глюкозой и лактозой, и при высеве на среду Клигера, кроме того, с сернокис-

лым железом. При посеве на среду Олькеницкого – на среды с лактозой и мочевиной.

Также колонии высевают на МПБ или 1% пептонную воду для определения образования индола и сероводорода. С этой целью под пробку с бульоном или пептонной водой помещают две индикаторные бумажки. При наличии индола соответствующая бумажка краснеет, при выделении сероводорода – другая бумажка чернеет. Определение индола можно проводить и с помощью реакции Эрлиха. Для этого к 5 мл бульонной культуры вносят 2 мл эфира, встряхивают и дают отстояться. Затем под слой эфира пастеровской пипеткой подслаивают 0,5-1 мл реактива (парадиметиламидобензальдегида - 1,0 г, спирта 96° – 100 мл, соляной кислоты х.ч. – 20 мл). Образование красного кольца на границе эфира и бульона указывает на наличие индола.

Подвижность сальмонелл определяют при посеве культуры уколом в полужидкий агар (0,2% агар-агара) или при посеве в полужидкие среды Гисса. Неподвижные микробы растут только по ходу укола, подвижные дают диффузный рост и помутнение всей среды.

Третий день исследования. Проводят идентификацию выделенных культур по биохимическим свойствам на цветном ряду, изучение антигенной структуры в реакции агглютинации на стекле с монорецепторными сальмонеллезными сыворотками, просмотр чашек Петри с посевами из жидких питательных сред.

Если на цветном ряду обнаружены бактерии, не ферментирующие лактозу и сахарозу, ферментирующие глюкозу, не образующие индола, то такую культуру подвергают испытанию в реакции агглютинации на стекле с сальмонеллезными агглютинирующими поливалентными О-сыворотками групп В, С₁, С₂, D₁, E₁, а в случае необходимости – и других (редких) групп.

Реакцию агглютинации ставят следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносят каплю сыворотки, затем петлей вносят 20-часовую агаровую культуру и тщательно растирают ее. О-агглютинация наступает немедленно, и агглютинат имеет вид плотных, с трудом разбивающихся комочков и зернышек.

При получении положительной реакции с одной из поливалентных О-сывороток ставят реакцию агглютинации отдельно с каждой из О-сывороток, входящих в поливалентную, для определения, к какой из групп по схеме Кауфмана-Уайта принадлежит культура.

После установления О-группы такую культуру испытывают с монорецепторными Н-сыворотками, сначала первой фазы, а затем – второй. При этом Н-сыворотки применяют в порядке, соответствующем распространению типов сальмонелл в данной местности. Н-агглютинация наступает быстро, и агглютинат имеет вид крупных, рыхлых, легко разбивающихся хлопьев.

Для агглютинации с О-сыворотками культуру следует брать с верхней части скошенного агара, для агглютинации с Н-сыворотками – с нижней части агара, где расположены наиболее подвижные особи.

В лаборатории нельзя готовить смесь из отдельных О- и Н-монорецепторных сывороток, так как они не подлежат разведению.

Если выделенная культура обладает типичными морфологическими, куль-

туральными и биохимическими свойствами и дает четкие результаты в реакции агглютинации с определенными монорецепторными сыворотками, дают ответ о выделении сальмонелл установленного серологического типа.

Определяют чувствительность выделенных культур к антибиотикам.

Если в первичных посевах на твердых питательных средах роста характерных колоний не выявлено, то при просмотре чашек с посевами из жидких питательных сред проводят отбор типичных колоний и исследуют в указанном выше порядке.

Если характерных колоний нет в чашках с прямыми посевами, в чашках с высевом из жидких питательных сред, дают ответ об отрицательном результате исследования.

Четвертый день исследования. Проводят учет ферментативной активности культур, пересеянных накануне на цветной ряд, и серологическое исследование их, а также проводят учет результатов определения чувствительности к антибиотикам.

Прижизненная диагностика. Исследование фекалий. *Первый день исследования.* Посев материала на питательные среды. Фекалии засевают в чашки Петри с плотными дифференциальными средами (Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар).

Так как не все серологические типы сальмонелл одинаково хорошо растут на указанных средах, посев следует проводить на две чашки с двумя различными средами (высокоселективной и низкоселективной). На каждую чашку следует брать новую порцию посевного материала в небольшом количестве, чтобы получить изолированный рост колоний.

Если фекалии доставлены в консерванте, то капли взвеси наносят пастеровской пипеткой на поверхность дифференциальных питательных сред у края чашки, тщательно растирают стеклянным шпателем на небольшой площади, а затем, оторвав шпатель от питательной среды, не прожигая его, делают посев на остальной поверхности среды.

Фекалии, доставленные без консерванта, суспензируют в физиологическом растворе в соотношении 1:10, отстаивают в течение 20-30 минут и проводят посев из верхнего слоя надосадочной жидкости, как указано выше.

Учитывая, что такие селективные среды, как среда Плоскирева и висмут-сульфитный агар, подавляют рост кишечных сапрофитов, целесообразно увеличить количество посевного материала на этих средах в 2-3 раза по сравнению со средами Эндо и Левина.

Необходимым условием для получения изолированных колоний является отсутствие конденсата на поверхности питательной среды, что достигается разливом среды, охлажденной до +50°C, и ее подсушиванием. Готовить среду лучше накануне.

Одновременно проводят посев фекалий в среды обогащения (селенитовая, магниевая, Кауфмана или Мюллера), при этом соблюдают соотношение посевного материала к среде 1:5.

Чашки и пробирки с посевами помещают в термостат при температуре +37°C на 18-20 ч.

Остатки проб исследуемого материала хранят в холодильнике, пока не будут просмотрены чашки с посевами, т.к. возможны неудачи первичного посева (отсутствие роста или сплошной рост).

Второй день исследования. Через 18-24 ч. просматривают посевы на чашках Петри и отбирают типичные колонии, а также делают высев из сред обогащения в чашки Петри с плотными дифференциальными средами.

При обнаружении в чашках роста типичных колоний изучают 2-3 колонии, а при наличии нехарактерных колоний изучают 3-5 колоний с каждой чашки. Изучаемые колонии снимают и пересевают в пробирки на трехуглеводную среду с мочевиной или короткий цветной ряд (среды Гисса с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом) и МПА. На трехуглеводную среду с мочевиной посев делают сначала штрихом по скошенной поверхности, а затем – уколом в глубину столбика.

Одновременно может быть проведена предварительная реакция агглютинации с сальмонеллезными агглютинирующими сыворотками.

Третий день исследования. Изучают выделенные культуры по биохимическим свойствам, просматривают чашки Петри с посевами из сред обогащения и отбирают типичные колонии, которые пересевают на трехуглеводную среду с мочевиной.

Если характерных колоний нет в чашках с прямыми посевами, а также в чашках с высевом из сред обогащения, дают ответ об отрицательном результате исследования.

Изучение выделенных культур начинают с учета их ферментативной активности на трехуглеводной среде с мочевиной (предварительно следует визуально убедиться в чистоте культуры).

На этой среде при ферментации глюкозы изменяется цвет среды в столбике, при ферментации лактозы и сахарозы – в скошенной части агара. Если при ферментации сахаров, помимо кислоты, образуется газ – в среде появляются пузырьки. При расщеплении мочевины изменяется цвет всей среды.

Если культуры, засеянные на трехуглеводную среду с мочевиной, сбрасывают лактозу, сахарозу, глюкозу с образованием газа (столбик и косяк – синие при применении среды с реактивом ВР), то они принадлежат к разновидностям кишечной палочки. Если культура расщепляет мочевину (среда оранжевого цвета), они относятся к роду протей.

Культуры, не расщепляющие лактозу, сахарозу и мочевину, но ферментирующие глюкозу (столбик зеленовато-голубоватого цвета, косяк – розовый), предварительно определяют как сальмонеллезные. Такие культуры пересевают на цветной ряд, а для определения выделения сероводорода и индола – на МПБ или 1% пептонную воду.

Четвертый день исследования. Проводят учет ферментативной активности культур, пересеянных с трехуглеводной среды с мочевиной, и учет серологического исследования их. Таким образом, на четвертый день заканчивают исследование культур, выделенных из первичного посева.

В тех случаях, когда сальмонелл из первичных посевов не выделено, проводят идентификацию культур, высеянных накануне на трехуглеводную

среду с мочевиной, по ферментации лактозы, сахарозы, глюкозы и мочевины. При подозрении на наличие сальмонелл делают пересев на цветной ряд, а также МПБ или 1% пептонную воду для определения индола и сероводорода.

Пятый день исследования. Проводят учет биохимических и серологических свойств культур, пересеянных накануне с трехуглеводной среды с мочевиной.

Исследование крови. *Первый день исследования.* Кровь засевают в 6-7 пробирок или 2-3 флакона с МПБ с 10-20% бычьей желчи в соотношении посевного материала к среде 1:10. При отсутствии желчи кровь может быть засеяна в обычный МПБ.

Посев крови следует проводить сразу же после взятия. Для посева также можно использовать сгустки крови (после измельчения). Засеянные пробирки или флаконы помещают в термостат при температуре +37°C на 18-24 ч.

Второй день исследования. Через 18-24 ч. делают высев из бульона с желчью или обычного МПБ на чашки Петри с плотными дифференциальными средами. Засеянные жидкие среды продолжают инкубировать.

Третий день исследования. Просматривают посеvy на дифференциальных средах и отбирают типичные колонии, дальнейшее изучение которых проводят, как описано выше. При отсутствии роста типичных колоний делают повторный высев из жидких сред на 2, 5 и 7-е сутки.

Исследование кормов и смывов. При исследовании проб кормов делают навеску массой 25 г и высевают предварительно в среду обогащения в соотношении 1:5-1:10 в зависимости от способности к набуханию. Инкубируют 5 часов в термостате, после чего взбалтывают и отстаивают. Надосадочную жидкость пересевают на две (по выбору) среды обогащения (селенитовая, магниевая, Мюллера, Кауфмана) в соотношении 1:5. После 16-18 ч. инкубирования при температуре +37°C из сред обогащения производят посеvy в чашки (по две) с дифференциально-диагностическими средами.

Смывы, внесенные предварительно в среду обогащения, инкубируют в термостате при температуре +37°C 16-20 ч. После инкубирования в пробирки с посевом смывов добавляют 10 мл второй среды обогащения (селенитовая или магниевая). После инкубирования в термостате в течение 24 ч. делают пересев на дифференциально-диагностические среды. Просматривают посеvy на дифференциальных средах и отбирают типичные колонии, дальнейшее изучение которых проводят, как описано выше.

Пробы мяса животных и птиц, яичного порошка исследуют согласно действующим ГОСТам.

Дополнительные исследования. В случае выделения культур сальмонелл с отклонениями от типичных свойств для их окончательной дифференциации проводят дополнительные исследования. Эти отклонения могут быть следующими: а) культура дает четкую реакцию агглютинации с О- и Н-сыворотками, но нетипична по ферментативным свойствам; б) культура типична по ферментативным свойствам, но не агглютинирует или слабо реагирует с О- и Н-сальмонеллезными сыворотками.

В первом случае, прежде всего, необходимо убедиться в чистоте культуры,

для чего проводят рассев ее на чашки Петри с МПА и одной из дифференциальных сред, затем отбирают 5-6 наиболее типичных колоний и изучают их биохимические свойства и антигенную структуру.

Во втором случае необходимо проверить, не является ли культура одной из разновидностей бактерий из рода эшерихий с замедленной ферментативной активностью. Для этого проводят посев культуры в среды Гисса с лактозой и сахарозой, которые инкубируют в термостате при +37°C до 21 суток с ежедневным учетом результатов. Для более быстрого выявления ферментативной активности культур рекомендуется засеивать их в среды Гисса с 4% лактозы и 4% сахарозы. Необходимо также проверить отношение таких культур к салицину (сальмонеллы не ферментируют салицин). Следует иметь в виду, что *Sal. typhisuis* не ферментирует маннит.

В случае, когда культура типична по своим ферментативным свойствам, но не дает четкой агглютинации, рекомендуются повторные пассажи культуры (4-5) на 10% желчный бульон и скошенный агар, после чего проводят рассев на чашку Петри с МПА с последующим отбором типичных колоний и повторным их исследованием в РА.

Если культура не агглютинируется О- и Н-сыворотками, ее следует испытать в отношении к сальмонеллезному О-фагу согласно инструкции по его применению.

При серологической идентификации сальмонелл иногда возникает трудность в определении жгутикового антигена или одной из его фаз, что может быть связано с утратой Н-антигена (потери подвижности) либо с преобладанием в популяции какой-либо одной фазы. При этом следует помнить, что для некоторых сальмонелл характерно отсутствие подвижности (*Sal. pullorum-gallinarum*) или первой фазы (*Sal. choleraesuis* var. *kunzendorf*, *Sal. typhimurium* var. *binus*).

Для выявления специфической фазы жгутикового Н- антигена можно использовать феномен роения в чашках Петри по Свену-Гарду. Для чего исследуемую культуру в виде бляшки засеивают в центр чашки с 0,8-1%-ным питательным агаром. К остуженному до +50°C агару (перед тем как заливают чашку) добавляют 2-3 капли агглютинирующей Н-сыворотки той фазы жгутикового антигена, которая была выявлена у данной культуры и которую желательнее подавать. Через 24 ч. инкубации при +37°C бактерии с искомой фазой Н-антигена оказываются на периферии макроколонии.

Если подозреваемая на содержание сальмонелл культура имеющимися монорецепторными сыворотками не типифицируется, ее необходимо направить в вышестоящую лабораторию.

Следует отметить, что при идентификации культур, подозреваемых на принадлежность к сальмонеллезным, наиболее важное значение имеет подробное изучение биохимических свойств (ферментация дульцита, арабинозы, рамнозы, раффинозы, салицина, адонита, инозита; расщепление мочевины, рост на бульоне Штерна, реакция Фогеса-Проскауэра и с метиловым красным). Использование в целях идентификации культур только метода агглютинации бактерий на стекле с колоний, прямо с чашки первичного посева или даже со сре-

ды Расселя может явиться источником серьезных диагностических ошибок, так как ряд микроорганизмов других родов семейства *Enterobacteriaceae* (например, род *Escherichia* и др.) могут иметь общие антигены с сальмонеллами.

В необходимых случаях проводят биологическое исследование. Наиболее восприимчивыми лабораторными животными являются белые мыши (массой 15-18 г). Культуру вводят подкожно белым мышам в дозе 0,2-0,3 мл при концентрации 50-100 млн микробных тел в 1 мл. Животные гибнут в сроки от 3 до 10 суток.

Диагноз на сальмонеллез основывается на эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, а также результатах бактериологических и серологических исследований.

Диагноз на основании лабораторных исследований считается установленным, если выделенная культура сальмонелл обладает типичными морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами и дает четкие результаты в РА с определенными монорецепторными сыворотками.

Иммунитет, биопрепараты для специфической профилактики болезни и лечения животных. Отечественная биопромышленность выпускает формолквасцовую концентрированную вакцину против сальмонеллеза телят. Препарат представляет собой смесь инактивированных сальмонелл *Sal. typhimurium* 371, *Sal. dublin* 373, выращенных на бульоне Хоттингера.

ОАО «БелВитунифарм» производит для нужд свиноводства ассоциированную поливалентную вакцину против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней. В состав препарата входят вакцинные штаммы: *Sal. choleraesuis* 370, *Sal. typhimurium* 371, *P. multocida* 877, 14, 655, 656, *Str. fecalis* 13, 345, «Соколово», «Константиновский», выращенные на жидкой питательной среде и инактивированные формалином.

Для пассивной профилактики болезни и лечения больных животных используют гипериммунную поливалентную сыворотку против сальмонеллеза животных.

Биологическая промышленность России выпускает 8 живых сухих, 5 инактивированных вакцин против сальмонеллеза разных видов животных и птиц, а также гипериммунную сыворотку для специфической пассивной профилактики болезни и лечения больных.

Возбудитель кишечного иерсиниоза

Общие теоретические сведения об иерсиниях

Иерсинии – это микроорганизмы, которые способны вызывать у животных и человека инфекционные болезни под общим названием иерсиниозы. К иерсиниозам относят чуму, псевдотуберкулез, кишечный иерсиниоз [5].

Чума – инфекционная болезнь животных (чаще верблюдов) и человека, относящаяся к группе особо опасных инфекций, характеризующаяся интоксикацией, поражением лимфатической системы, тенденцией к септицемии.

Псевдотуберкулез – природно-очаговая инфекционная болезнь, характеризующаяся интоксикацией, узелковым поражением внутренних органов (легкие,

печень, селезенка, почки, лимфоузлы) и общей аллергической реакцией. Поражения в органах животных схожи с поражениями при туберкулезе. Поэтому в 1883 году Эберт предложил термин «псевдотуберкулез».

Иерсинии широко распространены в природе, хорошо приспособлены к сапрофитному образу жизни. Микробы обладают адгезивными свойствами, высокой инвазивностью и способностью противостоять фагоцитозу, неприхотливы к питательным средам, имеют высокую биохимическую активность.

Определение болезни, историческая справка, таксономия

Кишечный иерсиниоз – инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением органов пищеварения и диареей, а при тяжелом и осложненном течении – геморрагическим диатезом, дерматитами, артритам, маститами, абортами. У человека болезнь характеризуется поражением желудочно-кишечного тракта, опорно-двигательного аппарата, интоксикацией.

Впервые иерсинии как возбудители чумы открыли и выделили в чистой культуре в 1894 г. Э. Киттазато и А. Иерсен во время эпидемии чумы в Гонконге. В честь А. Иерсена эти бактерии получили название «иерсинии». Детальное изучение возбудителя началось с 1934 года после работ Мак Ивера и Пике.

Иерсинии относятся к (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005):

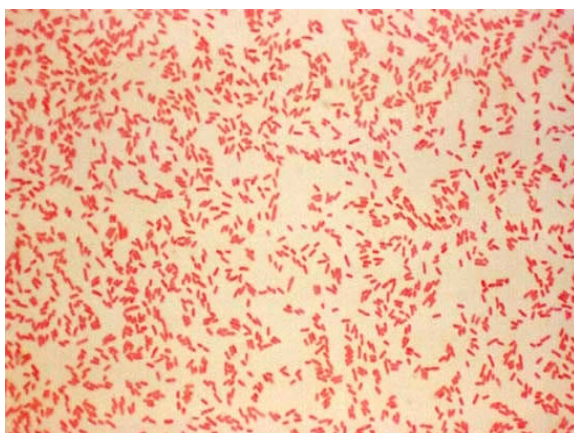
- домену *Bacteria*,
- типу *Proteobacteria*,
- классу *Gamma proteobacteria*,
- порядку *Enterobacteriales*,
- семейству *Enterobacteriaceae*,
- роду *Yersinia*.

Род включает 11 видов, в том числе *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. rhodei*, *Y. aldovae*, *Y. ruckeri*. Из них только *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и некоторые штаммы *Y. enterocolitica* являются патогенными для теплокровных животных и человека. Возбудителем кишечного иерсиниоза является *Y. enterocolitica*.

Y. enterocolitica является очень гетерогенным видом, объединяющим штаммы с различными биохимическими и антигенными свойствами. Многие из представленных в роде *Yersinia* видов первоначально являлись биоварами очень неоднородного вида *Y. enterocolitica*, однако при последующей реклассификации были выделены в качестве отдельных видов.

Биологические свойства иерсиний

Морфология. *Y. enterocolitica* представляет собой палочковидные бактерии шириной 0,5-0,8 мкм, длиной 1-3 мкм. В поле зрения микроскопа располагаются одиночно, парами, иногда короткими цепочками (микрофото 4). В препаратах из молодых культур могут иметь вид длинных нитей. Грамотрицательные, спор и капсул не образуют, могут окрашиваться биполярно, подвижны (перитрихи). Подвижность выражена в культурах, выращенных при 30°C, и утрачивается у культур, выращенных при 37°C.



Микрофото 4 – *Y. enterocolitica* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта <http://www.britannica.com/science/Yersinia-enterocolitica>)

Культуральные свойства. *Y. enterocolitica* хорошо растет на обычных питательных средах. Для микроорганизма характерны некоторые особенности сапрофитного существования, поэтому оптимальный температурный оптимум лежит ниже температуры культивирования патогенных бактерий, то есть в пределах +25-28°C, оптимальное значение pH сред – 7,2-7,4. Бактерии являются факультативными анаэробами и хемоорганотрофами.

На агаре Эндо 48-часовые культуры микроорганизма имеют розовый оттенок, часто приобретают более темное окрашивание по центру колонии (рисунок 2), на среде Плоскирева – колонии с голубоватым оттенком, то есть в обоих случаях *Y. enterocolitica* образуют типичные для лактозонегативных бактерий колонии; на висмут-сульфитном агаре колонии возбудителя имеют черный цвет.

При росте в МПБ вызывают равномерное помутнение среды с образованием осадка. На МПА возбудитель кишечного иерсиниоза образует колонии в S-форме в диаметре 0,1-0,5 мм, гладкие с ровным краем, прозрачные, с голубоватым оттенком. В старых культурах наблюдается незначительная диссоциация изолята в сторону образования R-колоний, что совпадает в основном с потерей бактерией своей вирулентности.



Рисунок 2 – Колонии *Y. enterocolitica* на среде Эндо
(фото с сайта)

<http://www.bacteriainphotos.com/yersinia%20enterocolitica.html>

Биохимические свойства. *Y. enterocolitica* не ферментирует лактозу, оксидазонегативна, каталазопозитивна, ферментирует сахарозу, маннит, сорбит и мальтозу, не разлагает рамнозу, образует уреазу, не разжижает желатин, дает положительную реакцию Фогеса-Проскауэра.

Y. enterocolitica является очень неоднородным по биохимическим и культуральным свойствам видом, что дало основание выделить его шесть биотипов. Из них пять биотипов (обозначены 1В и 2-5) признаны патогенными для животных, у человека наиболее часто выделяют биотипы 2-4.

Устойчивость. Возбудитель кишечного иерсиниоза, обладая свойствами сапрофитного микроорганизма, относительно устойчив во внешней среде, особенно к низким температурам и может размножаться при температуре +4°C, что используется в методе т.н. «холодового обогащения», то есть предварительного выдерживания исследуемого материала в холодильнике в течение 7-10 дней.

На бактерии губительно действуют 2%-ный раствор натрия гидроксида, 2%-ный раствор формальдегида, 2%-ный раствор хлорной извести и другие дезрастворы. Указанные растворы вызывают гибель иерсиний в течение одного часа.

Патогенность. Вид *Y. enterocolitica* очень широко распространен в природе, обладая некоторой способностью к сапрофитному существованию. С большой частотой микроорганизм обнаруживают в кишечном тракте млекопитающих, птиц и хладнокровных животных, а также в объектах внешней среды (как сухопутных, так и водных). Тем не менее, большинство экологических изолятов являются авирулентными. Наиболее часто патогенные для человека штаммы микроорганизма изолируют из кишечника свиней, в меньшей степени от кошек, собак и овец.

Иерсиниозом могут болеть крупный рогатый скот, лошади, овцы, олени, свиньи, кролики, домашние животные – собаки, кошки, однако наиболее тяжело кишечным иерсиниозом болеет человек. По данным официальной статистики, микроорганизм *Y. enterocolitica* является шестым по частоте возбудителем инфекций желудочно-кишечного тракта после *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, энтеротоксикогенных *E. coli* и *Vibrio*.

Y. enterocolitica обладает полным набором факторов патогенности. Основные из них кодированы генами хромосом (факторы адгезии и энтеротоксин), остальные определяются генами плазмиды, обозначаемой pYV. Фактор адгезии фактически представляет собой набор трех различных протеинов (Ail, YadA, инвазин), которые обеспечивают не только прикрепление бактерий к интестинальным клеткам, но и их внедрение в ткани. Белок инвазин обеспечивает прикрепление бактерии к рецепторам эпителиальных клеток кишечника.

Энтеротоксин является вторым по важности фактором патогенности и очень схож по действию с термостабильным энтеротоксином *E. coli*. Тем не менее, он продуцируется бактерией только при температуре ниже +30°C, поэтому его образование происходит только во внешней среде (хранящееся при низких температурах молоко, мясо и другие продукты питания и корма). Для лабораторного подтверждения присутствия термостабильного энтеротоксина *Y. enterocolitica* в материале

предложен метод внутрижелудочного введения его экстракта подсосным мышам.

Дополнительные факторы патогенности кодируются генами плазмиды рYV, поэтому обнаруживаются только у вирулентных штаммов бактерий. Это в основном факторы резистентности к фагоцитозу нейтрофилами и опсонизации. О наличии плазмиды вирулентности рYV косвенно судят по феномену аутоагглютинации при +35-37°C, подавлению роста культуры с низким содержанием ионов кальция, окрашиванию кристалвиолетом при +35-37°C, резистентности к человеческой нормальной сыворотке и способности вызывать конъюнктивит у мышей и морских свинок (положительный тест Шереня - Sereny test). Однако исследованиями установлено, что полная экспрессия генов плазмиды вирулентности определяется отдельными хромосомными генами, то есть в значительной степени зависит от сероварианта и штамма микроорганизма.

Источником выделения иерсиний являются больные животные и бактерионосители. В естественных условиях возбудитель сохраняется благодаря циркуляции среди диких птиц, зайцев, крыс, мышей. Резервуаром инфекции могут быть крупный рогатый скот, овцы, свиньи, кролики. Заражение животных происходит чаще всего алиментарным путем.

Антигенная структура. Возбудитель кишечного иерсиниоза имеет O- и H-антигены. Главным из них является соматический O-антиген, имеющий липополисахаридную природу. Описано 57 серовариантов по O-антигену и 19 вариантов по H-антигену. Наиболее часто от животных и людей на Европейском континенте выделяют иерсинии сероваров O3 (относится к биотипу 4) и O9 (биотип 2), в США – серовариант O8 (биотип 1B).

При детальном исследовании антигенных свойств возбудителя было установлено, что соматический O-антиген сероварианта O9 *Y. enterocolitica* имеет общие эпитопы с соматическим антигеном микроорганизма *Brucella abortus*, что может быть причиной диагностических ошибок при серологическом исследовании на бруцеллез.

Жгутиковый H-антиген является лишь вспомогательным антигеном при серотипизации возбудителя и в основном используется при более детальном эпизоотическом или эпидемическом анализе изолята.

Полная идентификация патогенного штамма требует определения не только серотипа возбудителя, но и его биотипа, потому что некоторые штаммы могут содержать общий O-антиген.

Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика проводится с помощью микроскопического, бактериологического, биологического и серологического методов исследования.

Материал для исследования. В зависимости от формы заболевания материалом для бактериологического исследования при жизни служат фекалии, кровь, содержимое, моча. Фекалии берут в количестве 0,5-1 г в первые 6 дней болезни и в период обострения, кровь для серологического исследования берут в объеме 5 мл.

Для исследования трупов домашних и диких животных берут содержимое кишечника, мезентериальные лимфатические узлы, внутренние органы, желчь. Некрупных домашних животных, покрытых шерстью, и диких грызунов перед вскрытием погружают в 3-5% мыльный раствор. После того, как стечет жидкость с шерсти, их укрепляют на вскрывочной доске приколывающими. У вскрытых животных тщательно осматривают все внутренние органы и лимфатические узлы (паховые, шейные, брыжеечные).

Желчь и содержимое кишечника засевают в объеме 1-2 мл. Мезентериальные лимфатические узлы измельчают, растирают в ступках, для посева отбирают 1-2 г.

Исследованию подвергают также корма. Делают смыв с поверхности овощей. Одним тампоном смывают до 10 штук корнеплодов одного вида. Салаты заливают 0,85%-ным раствором натрия хлорида из расчета 1:10, хорошо перемешивают и для посева используют 5,0 мл надосадочной жидкости. Для исследования также берут 5 мл молока. Можно отбирать смывы с поверхности оборудования.

Ход исследования: I этап. Исследуемый материал засевают петлей на одну из плотных селективных сред: Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитную, агар с дезоксихолатом натрия и др. Посевы инкубируют в течение 24 ч. при +37°C, а затем дополнительно – 24 ч. при +20-22°C. Одновременно засевают в одну из сред накопления: буферную смесь, мясопептонный бульон или пептонную воду рН 7,2. Эти же среды можно использовать как консерванты при доставке материала. Исследуемый материал засевают в среды накопления из расчета 1:10. При этой фекалии в количестве 0,5 мл вносят в 5 мл среды, а кровь, воду, смывы по 5 мл – в 50 мл среды. Посевы помещают при температуре +4-5°C и выдерживают от 10 до 30 дней, периодически высевая через каждые 3-5 дней на плотные селективные среды: *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* размножаются в этих средах при низкой температуре. Чаще всего культуры выделяются после 7 суток выдерживания при низкой температуре.

II этап. Просматривают посевы на твердых средах и отбирают характерные колонии. Через 48 ч. *Y. enterocolitica* образует округлые колонии величиной от 0,5 до 2 мм в диаметре. На среде Эндо колонии имеют серовато-розовый цвет, на среде Плоскирева – сероватый, на висмут-сульфитной среде мелкие колонии цвета среды, а крупные окрашены в коричневый цвет.

Y. pseudotuberculosis на среде Эндо образует серовато-розовые матовые колонии.

Типичные колонии с плотных питательных сред отсевают на дифференциальную среду Клиглера или на среду Ресселя. Сеют штрихом по скошенной поверхности и затем уколом в столбик среды, выдерживают при +37°C в течение 24 часов.

Этап III. При изменении столбика среды Клиглера в желтый цвет или столбика на среде Ресселя в малиновый проводят дальнейшее исследование. Из культур готовят мазки, окрашивают по Граму, просматривают под микроскопом. При обнаружении грамотрицательных палочек культуру отсевают на агар Хоттингера для последующего определения оксидазы, на поверх-

ность скошенного агара в пробирку для постановки фенилаланиновой пробы, на среду Кристенсена или Маслена для определения уреазной активности, а также на среды Гисса с сахарозой, рамнозой, арабинозой, маннитом и сорбитом. Посевы помещают при +37°C на 24 часа. Для определения подвижности культуру засевают уколом в столбик 0,3%-ного полужидкого агара. Делают два параллельных посева. Один выращивают при +37°C, другой – при +22°C в течение 18-24 часов.

Этап IV. Учитывают изменения в средах, засеянных на предыдущем этапе. Ставят пробу на оксидазу и дезаминазу фенилаланина. Идентификацию выделенных культур и дифференциацию от сходных микроорганизмов (псевдотуберкулезный микроб, сальмонеллы, шигеллы, ишерихии, протеи) проводят на основании определения признаков, указанных в таблице. Представители семейства *Enterobacteriaceae* не обладают индофенолоксидазной активностью. Дезаминазу фенилаланина образуют все виды рода *Proteus*, в отличие от всех вышеуказанных бактерий. Наличие кислоты в среде с арабинозой и отрицательный фенилаланиновый тест позволяют исключить присутствие бактерий рода *Proteus*, а образование уреазы – отрицать наличие *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*.

Положительный тест на уреазу, ферментация глюкозы, арабинозы, маннита, подвижность при +22°C и отсутствие при +37°C дают возможность предполагать наличие *Y. enterocolitica* или *Y. pseudotuberculosis*. Отсутствие ферментации рамнозы и образование кислоты с сахарозой у большинства штаммов, а также ферментация сорбита и образование газа на некоторых углеводах – признаки, дифференцирующие *Y. enterocolitica* от *Y. pseudotuberculosis*.

При обнаружении указанных свойств культуры засевают в среды для определения декарбоксилаз лизина, аргинина, орнитина. Ставят пробу с поливалентным псевдотуберкулезным фагом, делают посев на пластинку агара Хоттингера с 15 ед/мл пенициллина и пробу на наличие пенициллиназы, засевают в расширенный пестрый ряд и посевы выдерживают в течение суток при +37°C.

Выделенные культуры идентифицируют по биохимическим свойствам. Подвижность бактерии определяют при двух температурных режимах – +37°C и +22-24°C.

Биопробу ставят на 3 белых мышах. Их заражают орально или внутрибрюшинно в дозе 1 мл с концентрацией микробных клеток 10^8 . Срок наблюдения за мышами – 7 суток. Мыши обычно погибают в течение 3-4 суток.

Серологическое исследование заключается в постановке РНГА. Для постановки реакции исследуют сыворотку крови с промышленно-выпускаемым эритроцитарным диагностикумом в отношении серовариантов O3 и O9. При положительном результате отмечают значительное нарастание титра антител. Положительным считается титр 1:200.

Диагноз на иерсиниоз считают установленным в случае выделения из патматериала культуры *Y. enterocolitica*, патогенной для белых мышей, а также в случае обнаружения антител в титре 1:200 и выше после однократного исследования сыворотки крови или четырехкратного и более нарастания титра антител при исследовании парных проб сыворотки крови, отобранных в интервале

10 суток.

Иммунитет, биопрепараты для специфической профилактики болезни и лечения животных. Иммунитет при иерсиниозе животных изучен плохо. Специфических препаратов для профилактики болезни и лечения животных не предложено.

Возбудители протеоза

Определение болезни, историческая справка, таксономия.

Протеоз – инфекционный процесс, обусловленный протеем, как нозологическая единица до сих пор остается неопределенной. Данные микроорганизмы вызывают остропротекающую инфекционную болезнь молодняка всех видов животных с признаками септицемии или профузного поноса, тяжелой интоксикацией и обезвоживанием организма, болезнь может сопровождаться менингитом и поражением мочевыводящих путей.

Патологоанатомические изменения у погибших животных имеют картину катарального или катарально-геморрагического гастроэнтерита, нередко с множественными кровоизлияниями в слизистой желудка, под капсулой селезенки, почек; иногда отмечается очаговая катаральная пневмония и отек легких.

Микроорганизмов данной группы впервые выделил Hauser (1885) из гниющего мяса. В основу названия рода легла способность его представителей менять внешнее проявление роста на плотных средах (в честь сына Посейдона – водяного божества Протея, способного менять свой облик).

Протеи относят к (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005):

- семейству *Enterobacteriaceae*,
- роду *Proteus*.

Род состоит из четырех видов: *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *Pr. mxyofaciens*, *Pr. penneri*.

Биологические свойства

Морфология. Протеусы имеют форму палочек размером, в среднем аналогичном таковому у других энтеробактерий (длиной 1-3 мкм, шириной 0.4-0,8 мкм), встречаются нитевидные формы (микрофото 5). Однако протеям в большей мере присущи проявления полиморфизма, обнаружение при микроскопии мазков кокковидных и неправильных очертаний инволюционных форм, при некоторых условиях возможно образование сферопластов. У некоторых штаммов *Pr. mirabilis* обнаружены фимбрии. Протеусы грамотрицательные, не образуют капсул и спор, как правило, подвижны, причем более выраженная подвижность имеет место при выращивании культур при температуре 20-22°C.



Микрофото 5 – *Pr. vulgaris* в мазке из культуры (окраска по Граму)
(фото с сайта <https://www.pinterest.com/pin/459930180671386583>)

Культуральные свойства. Протеусы являются факультативными анаэробами, хорошо растут на простых питательных средах с образованием гнилостного запаха в широком диапазоне температур (от +10 до +43°C).

На МПБ бактерии рода *Proteus* образуют поверхностную пленку в виде вуалеобразного налета с придонным ростом и неприятным запахом.

Характерной особенностью роста протей на МПА является роение и образование вуалеобразного налета в виде концентрических колец роста по периферии центральной колонии. Поверхность роящихся культур покрывается тонким слоем налета с голубоватым оттенком (Н-формы колоний). При наличии в составе питательных сред солей желчных кислот (среда Плоскирева, висмут-сульфитный агар и др.) происходит подавление роения, и протей образует выпуклые, сероватые, бесцветные колонии (О-формы).

На среде Плоскирева протей формирует изолированные, крупные, правильных очертаний, слегка выпуклые, полупрозрачные колонии желтоватого (перламутрового) цвета. В зоне роста среда подщелачивается и желтеет. При более длительном хранении чашек с посевами колонии мутнеют, а центр их приобретает бурю окраску.

На висмут-сульфитном агаре через 48 часов культивирования образуются серо-коричневые колонии, а под ними формируется черно-коричневая редукционная зона.

На агаре Мак-Конки и Эндо протей формирует бесцветные колонии.

Для выделения чистой культуры посев производят в конденсационную жидкость скошенного агара (посев по Шукевичу), при этом наблюдают рост по всей поверхности среды.

Биохимические свойства. Общими свойствами представителей рода *Proteus* является способность к росту в присутствии калия цианида (KCN), положительная реакция с метиловым красным и отрицательная реакция Фогеса-Проскауэра.

Для изучения биохимических свойств протеев делают посев изучаемых культур на среды с углеводами. Протеи не ферментируют лактозу, арабинозу, дульцит, не обладают декарбоксилазой лизина, дегидролазой аргинина, не утили-

лизируют малонат. Выраженная гетерогенность протеев проявляется в вариабельности их по отношению к манниту, сахарозе, адониту, глицерину, инозиту, мальтозе, салицилину, инозиту, мальтозе, салицину, мочеvine, сероводороду, утилизации цитрата в среде Симмонса (таблица 1).

Таблица 1 – Дифференциация видов рода *Proteus*

Тест	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. mxyofaciens</i>	<i>P. penneri</i>
Сероводород	+	+	-	±
Индол	+	-	-	-
Маннит	-	-	-	-
Мальтоза	+	-	-	+
Орнитин	-	+	-	-
Цитрат Симмонса	x	+	+	-
Роение	+	+	x	+(35%)

Важнейшим признаком, отличающим протеев от других видов энтеробактерий, является способность дезаминировать фенилаланин. Для этого к однодвухсуточной культуре на среде с фенилаланином в наклонном положении добавляют 10-12 капель 10%-ного раствора хлористого железа ($FeCl_3 \cdot H_2O$). При положительной реакции через 2-3 минуты культура окрашивается в зелено-синий или зелено-голубой цвет. В случае отрицательной реакции цвет культуры не изменяется.

Антигенная структура сходна в принципе с таковой у других представителей семейства *Enterobacteriaceae*: она формируется из соматических О-антигенов и жгутиковых Н-антигенов, адгезивных антигенов, в некоторых случаях у протеев обнаруживали и поверхностные соматические К-антигены. О-антигены термостабильны, представляют собой липополисахаридно-белковые комплексы; Н-антигены термолабильны, имеют белковую природу. В настоящее время известно более 150 О-антигенов и 80 Н-антигенов. Сочетание О- и Н-антигенов в микробной клетке определяет принадлежность возбудителей к той или иной О-серогруппе или серовару.

Некоторые штаммы *P. vulgaris* имеют общий антиген с риккетсиями, обуславливающими тиф, японскую речную лихорадку (цуцугамуши) и лихорадку Скалистых гор, за счет которого объясняется появление антител к протеем (реакция Вейля-Феликса). Микроорганизмы, объединяемые в группу *Providencia*, очень тесно примыкают к представителям рода протеев, отличаясь от них только некоторыми биохимическими свойствами.

Устойчивость. Протеи сравнительно устойчивы во внешней среде. Они переносят нагревание до $+60^{\circ}C$ в течение часа и воздействие слабых растворов дезинфицирующих веществ, неустойчивы к высушиванию, обладают устойчивостью ко многим антибиотикам.

Патогенность. Бактерии относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Они способны вызывать пищевые и кормовые токсикоинфекции соответ-

ственно у человека и животных. Кроме того, они вызывают нагноение ран, энтериты, перитониты и сепсис. Проникая через яичную скорлупу птиц, протей вызывают замирание зародышей птиц. Протеи проявляют патогенные свойства при ослаблении естественной резистентности, особенно среди молодняка сельскохозяйственных животных, постоянно выделяются в ассоциации с патогенными эшерихиями при колибактериозе.

К факторам патогенности относят способность к «роению», наличие фимбрий, бактериальных протеаз и уреазы, а также гемолизин.

Лабораторная диагностика включает микроскопическое исследование исходного патматериала, его посева на питательные среды, идентификацию выделенных культур по культурально-биохимическим свойствам, заражение лабораторных животных, при необходимости серологическое типирование. Ее ведут согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике протозоозов телят», утвержденным ГУВ МСХ и П РБ 20.12.2006 [7].

Для посмертной диагностики в лабораторию направляют от 2-4 свежих трупов или убитых с диагностической целью животных: сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза сосудов, долю печени с желчным пузырем, селезенку, почки, голову (головной мозг), трубчатую кость, брыжеечные лимфатические узлы, регионарные воспаленному участку кишечника, а также пораженный отрезок тонкого отдела кишечника, перевязанный с двух концов лигатурой (в отдельной посуде или полиэтиленовом пакете), замершие эмбрионы птиц. Патологический материал исследуют в день его поступления.

Для прижизненной бактериологической диагностики направляют корма, рвотные массы, отделяемое ран, пробы фекалий от 5-6 больных животных одной фермы в стерильных пробирках из последних порций стула, с примесями крови, слизи, пленок и т. п. по 2-3 г, или непосредственно взятые из прямой кишки с помощью прокипяченного резинового катетера. Пробирки вместе с сопроводительной запиской упаковывают в полиэтиленовый пакет или картонную коробку. Материал допускается хранить не более суток в холодильнике при температуре +4°C или в морозильной камере.

Посев материала в МПБ и на скошенный МПА проводят пастеровской пипеткой, и на чашки Петри – путем отпечатков разрезанной поверхностью органа из предварительно профлампированного участка или вносят материал пастеровской пипеткой на поверхность агара, а затем равномерно распределяют стеклянным шпателем.

Пробы фекалий и содержимого тонкого отдела кишечника (в количестве не более 0,5 г) суспензируют в 10 см³ стерильного 0,85%-ного раствора хлорида натрия, тщательно размешивают и затем выдерживают 10-15 минут при комнатной температуре для осаждения крупных частиц. Надосадочную жидкость используют для посева на питательные среды не позднее 1-2 часов после приготовления взвесей, засевают бактериологической петлей частыми и ровными штрихами в чашки со средой для получения изолированных колоний.

Для получения чистых культур протей посев делают в конденсационную жидкость свежеприготовленного скошенного питательного агара. Н-формы протей, быстро размножаясь и роясь на нем, через 16-18 часов достигают верх-

ней части косяка в чистой культуре, обособляясь из микробных ассоциаций.

Патологический материал засевают в пробирки с МПБ, на скошенный МПА и на плотные дифференциально-диагностические среды в чашках: среду Эндо или Левина, среду Плоскирева, висмут-сульфитный агар, SS-агар, агар Мак-Конки. Чашки и пробирки с посевами на жидких и плотных питательных средах инкубируют при температуре +37-38°C в течение 24-48 часов и проводят осмотр на наличие и характер роста выросших культур.

На МПА наблюдают характерный сливающийся рост без формирования отдельных колоний (феномен роения) с образованием вуалеобразного налета. При наличии в составе среды солей желчных кислот (среда Плоскирева, висмут-сульфитный агар, SS агар и др.) происходит подавление роения (рост протея в О-форме).

На среде Плоскирева образуются крупные (2-7 мм) колонии, слегка выпуклые с желтовато-розовым перламутровым оттенком; среда в месте роста подщелачивается и приобретает желтизну.

На висмут-сульфитном агаре через 48 часов культивирования колонии протея имеют грязно-коричневый цвет, а после их снятия на среде остается темно-коричневая редукционная зона.

В МПБ протеи вызывают равномерное помутнение с тонкой пленкой на поверхности среды и осадок.

После инкубации в течение 18-24 часов при +37°C чашки с посевами просматривают и отмечают колонии, подлежащие дальнейшему исследованию. Если рост 18-24-часовой культуры однородный, то для дальнейшего изучения используют не менее 3 колоний. При росте разных колоний их берут больше, различных по внешнему виду.

Наличие характерного в виде тонкого муарообразного налета, поднимающегося вверх от конденсата на свежескошенном агаре, резкого гнилостного запаха, неспорообразующих граммотрицательных палочек в мазках указывает на присутствие бактерий рода *Proteus*.

Для определения родовой принадлежности штамма изолированной колонии из нее делают посев в пробирку с МПБ, а затем после 4-5-часовой инкубации бульона при +37°C из него производят посев на следующие среды:

- агар с фенилаланином для определения фермента фенилаланиндезаминазы;
- бульон или пептонную воду для определения индола;
- среду с мочевиной для определения фермента уреазы;
- среду с 0,5% мальтозы.

Среды помещают в термостат при +37°C на 16-18 часов.

Наличие фермента фенилаланиндезаминазы определяют путем наслоения на скошенную поверхность среды 4-5 капель 10%-ного раствора хлорного железа. Появление интенсивной окраски свидетельствует о его наличии.

Гидролиз мочевины (наличие фермента уреазы) устанавливают по изменению цвета среды из желтого в красный.

Грамотрицательные бактерии, гидролизующие мочевины, дезаминирующие фенилаланиндезаминазу, относят к роду *Proteus*. Штаммы, ферментирующие

щие мальтозу и образующие индол, относят к *P. vulgaris*; штаммы не ферментирующие мальтозу и не образующие индол относят к *P. mirabilis*.

Важным дифференциальным признаком, отличающим протеев от бактерий родов *Providencia* и *Morganella*, является способность 85-100% изолятов рода *Proteus* давать феномен «роения» на плотных питательных средах и вызывать покраснение скошенной части лизино-железного агара, что обусловлено дезаминированием лизина и образованием кетокислот, дающих оранжево-красное окрашивание в присутствии хлорида железа.

Дифференциальным признаком бактерий рода *Providencia* является:

- способность у 25-40% изолятов образовывать на агаре полиморфные структуры в виде деревьев, протуберанцев, но не классических концентрических кругов, свойственных для протеев.

- образование от бесцветных до оливково-зеленых колоний при росте на висмут-сульфитном агаре и желтых колоний на селективной среде с колистином (100 мкг/мл) и инозитом (1%).

- выделение провиденций на РАМ-агаре, предложенном Сениором. Принцип выделения основан на отсутствии у провиденций, способности ферментировать ксилозу, галактозу и маннит. Выросшие колонии провиденций окрашиваются в красный цвет, прочие оксидазо-отрицательные бактерии образуют лимонно-желтые колонии.

Дифференциальным признаком, отличающим морганелл от протеев, является отсутствие покраснения скоса лизино-железного агара, что обусловлено отсутствием способности дезаминировать лизин и образовывать кетокислоты.

Характерная для рода *Proteus* реакция дезаминировать фенилаланин проявляется и у *M. morgani*, но она менее интенсивно выражена и дает слабое зеленое окрашивание.

Серологическое исследование – штаммы, отнесенные по основным биохимическим свойствам к роду *Proteus*, подвергают серологическому типированию при помощи диагностических поливалентных и типовых О- и Н-сывороток в РА на стекле. Для типирования используют суточную агаровую культуру. При нечетких результатах, полученных в РА на стекле с живой культурой, проводят РА в пробирках или на стекле с прогретой (1 час при +100°C), отцентрифугированной культурой. Серологический вариант определяют в соответствии со схемой Кауфмана и Перча.

Для определения патогенных свойств бактерий используют агаровые культуры на скошенном МПА, выделенные из двух внутренних органов и тканей погибших животных или фекалий больных животных. Из каждой из двух культур одного вида бактерий готовят смывы стерильным физиологическим раствором, устанавливают взвесь бактерий в концентрации 1 млрд м.к. в 1 мл, после чего их смешивают в равной пропорции и заражают по три белые мыши массой 16-18 г внутрибрюшинно в дозе 1 млрд микробных клеток по стандарту мутности. Наблюдение за зараженными животными проводят в течение трех суток. Культуру признают патогенной в случае гибели двух и более мышей в течение трех суток после заражения.

Общий срок бактериологического исследования патологического материала

ла – до 7 суток, однако положительный ответ может быть выдан на 4-5-е сутки.

Лабораторный диагноз на протеоз считают установленным в случае выделения из исследуемого материала культуры микроорганизмов с характерными свойствами для протей и определения патогенности выделенных культур.

Иммунитет, средства специфической профилактики болезни и лечения животных. Иммунитет изучен слабо. Специфическая профилактика отсутствует. Профилактика протеоза у животных в условиях промышленного производства основана на строгом соблюдении ветеринарно-санитарных и зоогигиенических правил ухода за животными; создании оптимальных условий содержания и кормления; своевременной диагностики болезни и изоляции источника возбудителя, на повышении резистентности организма животных, а также на предотвращении заражения новорожденных возбудителем болезни через объекты внешней среды; своевременной и качественной очистки и дезинфекции помещений для животных и территории ферм; дератизации.

Возбудители ассоциированной кишечной инфекции молодняка сельскохозяйственных животных

Определение болезни, историческая справка, таксономия. Ассоциированная кишечная инфекция – остропротекающая инфекционная болезнь молодняка разных видов сельскохозяйственных животных, которая имеет полиэтиологическую природу и вызывается двумя-тремя и более видами патогенных энтеробактерий, относящихся к родам *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Edwardsiella*, *Serratia*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Providencia*, *Pantoea* и др. [7].

Помимо указанных микроорганизмов возбудителями болезни могут быть также бактерии других родов и семейств – *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium* и пр. Наряду с бактериальными агентами, нередко (особенно на крупных фермах) болезнь обуславливают корона- и ротавирусы.

Энтеробактерии широко распространены в природе, в организме животных, особенно в желудочно-кишечном тракте. Ассоциированная кишечная инфекция возникает в первые дни и недели жизни животных и проявляется чаще в виде энзоотической вспышки, развитию которой способствуют различные факторы, связанные с несоблюдением технологических и ветеринарно-санитарных требований воспроизводства стада, а также нарушением режимов содержания и кормления молодняка.

Ассоциированная кишечная инфекция может протекать в кишечной (энтеритной) и септической формах. При кишечной форме возбудители болезни локализируются только в желудочно-кишечном тракте и брыжеечных лимфоузлах, регионарных пораженным участкам кишечника; при септической форме – в паренхиматозных органах, различных тканях, а также в кишечнике и брыжеечных лимфоузлах.

Основными клиническими признаками болезни являются потеря аппетита, понос, переходящий в профузный, нарастающая слабость, депрессия, учащенное дыхание и сердцебиение, обезвоживание организма (при затяжном тече-

нии); нередко наблюдается поражение центральной нервной системы (возбуждение, судороги), иногда пневмония, артриты; температура тела в пределах нормы, в отдельных случаях повышена на 0,5-1°C, в предагональном состоянии она снижается ниже нормы.

Патологоанатомические изменения у погибших животных имеют картину катарального или катарально-геморрагического гастроэнтерита, на слизистой желудка, тонкого отдела кишечника и слепой кишки могут встречаться язвы, нередко отмечаются множественные точечные, полосчатые и пятнистые кровоизлияния на слизистой желудка, толстого и тонкого отделов кишечника, под капсулой селезенки, эпи- и эндокарде (клапанах); иногда отмечается очаговая катаральная пневмония и отек легких, дистрофия печени; регионарные брыжеечные лимфатические узлы, как правило, увеличены, отечны, на разрезе розового или красно-вишневого цвета; при вскрытии черепной коробки – гиперемия кровеносных сосудов и отек ткани головного мозга. Указанные изменения могут быть в отдельных или одновременно в нескольких органах.

Биологические свойства возбудителей ассоциированной кишечной инфекции

Учитывая, что биологические свойства некоторых возбудителей ассоциированной кишечной инфекции уже приведены при изучении отдельных заболеваний, далее они будут рассмотрены только для родов *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Shigella*, *Edwardsiella*, *Serratia*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Providencia*, *Pantoea*.

Род *Citrobacter*

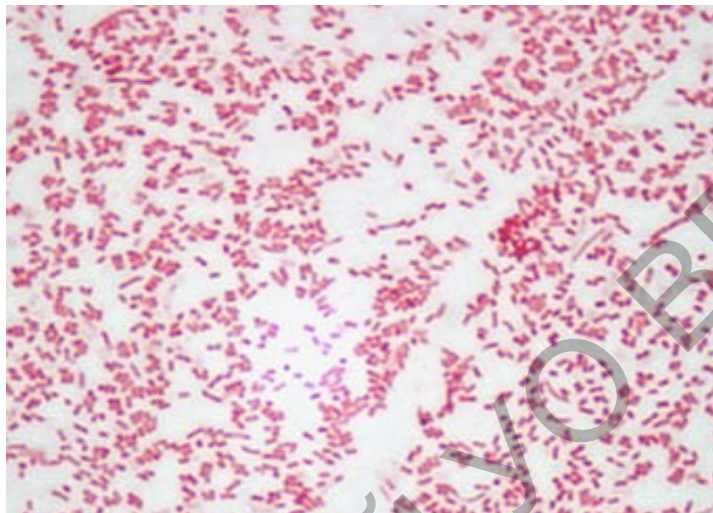
Историческая справка, таксономия. Род получил такое название, благодаря способности утилизировать цитрат натрия (от лат. citrus – лимон, bacter – мелкие палочки) и использовать его в качестве единственного источника углерода. Название рода *Citrobacter* было предложено С. Werkman, Y. Gillen (1932). Отдельные представители этого рода первоначально были включены в другие роды и были известны под различными названиями [8, 9]. По Берги (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005), данный род включает 11 видов, типовой – *Cit. freudii* (название было дано в честь бактериолога А. Freund).

Genus. *Citrobacter*

1. *Citrobacter freundii*.
2. *Citrobacter amalonaticus*.
3. *Citrobacter braakii*.
4. *Citrobacter farmer*.
5. *Citrobacter gilleni*.
6. *Citrobacter koseri*.
7. *Citrobacter murlinae*.
8. *Citrobacter rodentium*.
9. *Citrobacter sedlakii*.
10. *Citrobacter werkmanii*.
11. *Citrobacter youngae*.

Морфология. Бактерии рода *Citrobacter* – мелкие палочки длиной 2-6 мкм, шириной до 1 мкм, располагаются одиночно или парами, как правило, подвижные (перитрихи), спор и капсул не образуют, грамотрицательные (микрофото б).

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на обычных питательных средах при +37-38°C, pH среды – 7,4±0,2. Пробирки, чашки с посевами инкубируют в течение 18-24 часов.



Микрофото б – *Citrobacter freundii* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта <http://www.rci.rutgers.edu/microlab/CLASSINFO/thiswkinlab/gram%20negative%20enterobacteriaceae.html>)

В отличие от эшерихий рост цитробактеров на средах, содержащих желчные соли, желчные кислоты и бриллиантовый зеленый, не подавляется. На среде Эндо лактозоположительные варианты *Citrobacter* образуют колонии, окрашенные в розовый или красный цвет, но лишенные типичного для *E. coli* металлического блеска; у лактозоотрицательных вариантов колонии бесцветные или сероватые с розовым оттенком, более темным в центре.

На среде Плоскирева лактозоотрицательные штаммы образуют слегка опалесцирующие выпуклые колонии, окрашенные в тон среды (слегка розоватые); лактозоположительные колонии имеют более интенсивную розово-красную окраску с темным центром.

На висмут-сульфит агаре через 48 ч. инкубации цитробактеры дают обильный рост, образуя светло-зеленые, коричневые или черные колонии без окрашивания участка среды под колонией. Рост их на этой среде более обильный, чем у сальмонелл, и отличается неприятным запахом. На жидких средах дают гомогенное помутнение.

На среде Мак-Конки лактозоотрицательные штаммы образуют выпуклые бесцветные или бледнорозовые колонии с темным центром; лактозоположительные – красные колонии (рисунок 3).

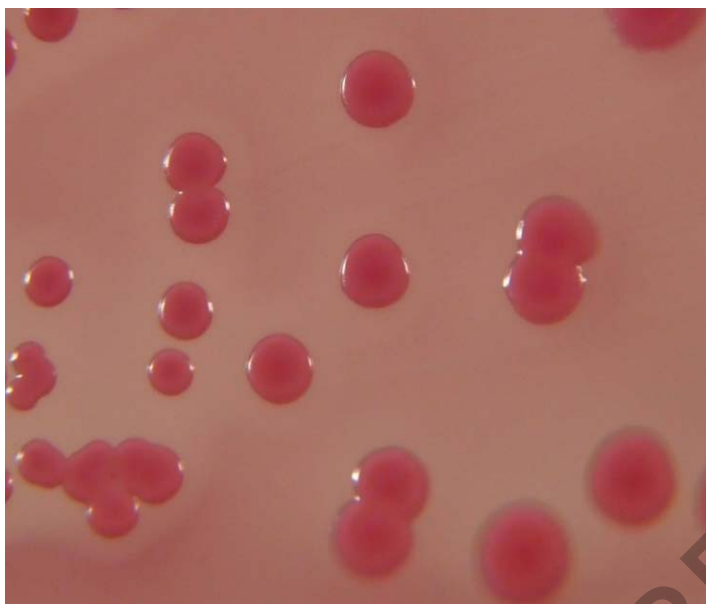


Рисунок 3 – рост *Cit. freundii* на среде Мак-Конки (лактозонегативные штаммы)

(фото сайта [http://www.bacteriainphotos.com/citrobacter % 20freundii.html](http://www.bacteriainphotos.com/citrobacter%20freundii.html))

Биохимические свойства служат основой дифференциации энтеробактерий (таблицы 2, 3). Бактерии рода *Citrobacter* растут в присутствии желчи, усваивают цитрато-аммонийные соли и растут на среде Симмонса, ферментируют глюкозу с образованием газа, ферментируют лактозу в разные сроки (встречаются лактозоотрицательные штаммы), а также ферментируют маннит, рамнозу, сорбит, арабинозу, ксилозу, мальтозу.

Цитробактеры обычно не ферментируют инозит, не имеют ферментов лизиндекарбоксилазы, фенилаланиндезаминазы и желатиназы, восстанавливают нитраты. Мочевину гидролизуют очень слабо и медленно или вообще не гидролизуют. Большинство штаммов образует сероводород и не образует индол. Вариабельны в отношении сахарозы, салицина, дульцита, рафинозы и адонита. Положительные в реакции с метиловым красным и отрицательные в реакции Фогеса-Проскауэра.

Антигенная структура представлена O- и H-антигенами. Характерна мозаичность антигенов ряда серологических групп. Различают 42 O-группы и более 90 H-антигенов *Cit. freundii*. В группах O5 и O29 встречаются штаммы, содержащие Vi-антиген, а в O27 – L-антиген. O-антигены некоторых групп состоят из основного антигена и парциальных факторов, общих с другими O-группами. Основные O-антигены обозначаются арабскими цифрами, а парциальные – латинскими буквами. H-антигены также имеют сложное строение и зачастую состоят из нескольких факторов. По антигенной структуре цитробактеры близки к сальмонеллам.

Таблица 2 – Биохимические свойства бактерий рода *Citrobacter*

Тесты или субстраты	Реакция	Тесты или субстраты	Реакция
Адонит	x	Индол	x
Арабиноза	+	Сероводород	x
Глюкоза (газ)	+	Мочевина (гидролиз)	-, (+)
Дульцит	x	Желатин (22° С)	-
Инозит	-, (+)	Фенилаланиндезаминаза	-
Ксилоза	+	Лизиндекарбоксилаза	-
Лактоза	+, (+)	Аргининдегидролаза	x
Мальтоза	+	Глутаминовая кислота	x
Маннит	+	Орнитиндекарбоксилаза	-
Рамноза	+	Цитрат Симмонса	+
Салицин	x	Восстановление нитратов	-
Сахароза	x	Малонат	x
Сорбит	+	Мукат	+
Трегалоза	+	D-тартрат	+
Реакция с метиловым красным	+	β-галактозидаза	+
Реакция Фогеса-Проскауэра	-	KCN	+

Примечания: «+» – ферментация сахара, образование индола, расщепление мочевины и т.д.; «(+)» – замедленная ферментация; «-» – отсутствие ферментации сахара, образования индола, расщепления мочевины и т.д.; (-, +) – не ферментируют, крайне редко наблюдаются положительные реакции; (+, -) – ферментируют, но встречаются штаммы, не ферментирующие данный углевод; [+ , (+)] – ферментация чаще в 1-е сутки, реже – позднее; x – различные реакции.

Таблица 3 – Дифференциация *Cit. freundii* и *Cit. amalonaticus* по биохимическим реакциям

Тест или субстрат	Виды	
	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
Инулин	-	+
Малонат	-, +	-
Индол	-	+
Сероводород	+, -	-
Мочевина	-, +	-
Адонит	-	-
KCN	+	+

Устойчивость. В почве бактерии сохраняются более 6 месяцев, в навозе – до 11 месяцев, в воде – до 10 месяцев. Они хорошо переносят замораживание, при +60°С погибают в течение 30 минут, при +100°С – моментально, при использовании дезинфектантов (1-2% раствор хлорамина, 2,5% раствор формалина, 5% раствор карболовой кислоты) – через 15 мин.

Патогенность. Цитробактеры повсеместно распространены в природе, могут быть выделены из кишечного содержимого домашних животных, человека,

воды, почвы, продуктов питания. Могут вызвать как спорадические случаи, так и вспышки заболеваний, протекающих по типу гастроэнтеритов, диспепсий или пищевых токсикоинфекций. Они могут быть выявлены в качестве этиологического агента при инфекциях моче- и желчевыводящих путей, отитах, остеомиелитах, менингитах человека, лошадей, крупного рогатого скота, собак, грызунов, птиц, рептилий и насекомых, морских, а также аквариумных рыб.

Основными факторами вирулентности являются пили, поверхностный белок адгезии, эндотоксин, энтеротоксин.

Род *Klebsiella*

Историческая справка, таксономия. Клебсиелы впервые описал немецкий исследователь Е. Klebs (1875), в чистой культуре выделил Фридлиндер (1882) от людей, умерших от крупозного воспаления легких. Род *Klebsiella* включает 6 видов: типовой вид – *Kl. pneumoniae* (*Kl. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Kl. pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *Kl. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*).

Genus. *Klebsiella*

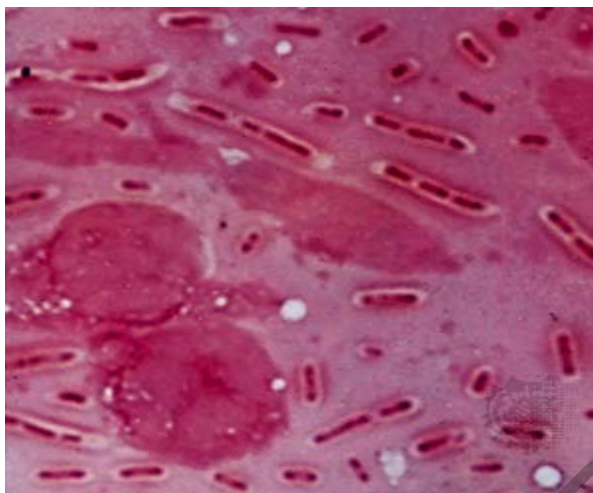
1. *Klebsiella pneumoniae*:
 - a. *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*;
 - b. *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*;
 - c. *Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*.
2. *Klebsiella granulomatis*.
3. *Klebsiella mobilis* (син. *Enterobacter aerogenes*).
4. *Klebsiella oxytoca*.
5. *Klebsiella planticola*.
6. *Klebsiella terrigena*.

В патологии животных наибольшее значение имеют виды *Kl. pneumonia* и *Kl. oxytoca*.

Морфология. Бактерии рода *Klebsiella* грамотрицательные, короткие, толстые, неподвижные палочки с закругленными концами, размером 0,3-1,0 × 0,6-6 мкм, располагающиеся одиночно, парами или короткой цепочкой. Обычно они локализованы в капсуле, которая является характерным морфологическим признаком у штаммов, непосредственно выделенных от животных (микрофото 7). При высушивании и окрашивании размеры их уменьшаются. Спор не образуют. Значительное число штаммов клебсиелл образует фимбрии.

Культуральные свойства. Для клебсиелл оптимальная температура роста +37-38°C, крайние границы – +12-43°C, рН среды – 7,4±0,2. Непременной особенностью клебсиелл считается пышный рост и образование на питательных средах больших (3-4 мм) влажных колоний, частично сливающихся друг с другом, нередко очень слизистых, выпуклых. Но они могут образовывать обычные, а также мелкие, неслизистые, суховатые колонии. Значительная часть клебсиелл растет на средах Эндо и Плоскирева с образованием лактозопозитивных колоний, напоминающих колонии эшерихий, с металлическим блеском или без него. На этих средах возможно образование лактозонегативных колоний разно-

го размера, слизистых и неслизистых, красных, розовых, белых, прозрачных и непрозрачных, бесцветных, бежевых или желтых.



Микрофото 7 – *Klebsiella pneumoniae* (окраска Конго красным)
(фото сайта [http://www.britannica.com/science/Klebsiella pneumoniae](http://www.britannica.com/science/Klebsiella_pneumoniae))

На селективно-дифференциальной среде (с инозитом) для выделения клебсиелл колонии этого микроорганизма крупные слизистые, бледно- или ярко-желтые, диаметром 4-5 мм.

В жидких питательных средах клебсиеллы растут с образованием однородной мути, осадка, пленки на поверхности или кольца на стенке пробирки.

Биохимические свойства. Клебсиеллы ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа, а также лактозу (+ и –), сахарозу, маннит, салицин, рамнозу, ксилозу, сорбит, арабинозу, раффинозу, адонит, инозит, глицерин, целлобиозу, нерастворимый крахмал (таблица 4). Они вариабельно ферментируют дульцит, не образуют индола (кроме *Kl. oxytoca*) и сероводорода, не разжижают желатин, не имеют фенилаланиндезаминазы, орнитиндекарбоксилазы, аргининдегидролазы, при наличии лизиндекарбоксилазы и уреазы дают различную реакцию с метилротом и Фогеса-Проскауэра.

Клебсиеллы обладают каталазой, В-галактозидазой, растут в среде с цианидом калия, часто обладают уреазой. Утилизируют цитрат Симмонса и малонат натрия. При идентификации культур их дифференцируют с близкими родами семейства *Enterobacteriaceae*.

Kl. planticola отличается от *K. pneumoniae* комплексом положительных реакций с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра (ацетоин), ростом при температуре +10°C, отсутствием газообразования при ферментации лактозы при +44°C, часто положительной реакцией на индол и отсутствием ферментации дульцита.

Для дифференциации видов *Kl. pneumoniae* и *Kl. oxytoca* используют тесты на продукцию индола, способность к ферментации лактозы при +43°C и к росту при +10°C (таблица 5).

Таблица 4 – Биохимические свойства бактерий рода *Klebsiella*

Тесты или субстраты	Реакция	Тесты или субстраты	Реакция
Адонит	+	Индол	-, +
Арабиноза	+	Сероводород	-
Глюкоза (газ)	+	Мочевина (гидролиз)	(+)
Глицерин	+	Нерастворимый крахмал	+
Дульцит	-, +	Желатин (22° С)	-
Инозит	+	Фенилаланиндезаминаза	-
Ксилоза	+	Лизиндекарбоксилаза	+
Лактоза	+	Аргининдегидролаза	-
Мальтоза	+	Орнитиндекарбоксилаза	-
Маннит	+	Цитрат Симмонса	+
Рамноза	+	Целлобиоза	+
Рафиноза	+	Малонат	+
Салицин	+	D-тарtrat	-, +
Сахароза	+	KCN	+
Сорбит	+	Цитрат Кристенсена	+
Сорбоза	-, +	Ацетатная среда	+
Реакция с метиловым красным	-, +	Реакция Фогеса-Проскауэра	+, -

Таблица 5 – Дифференциация *Kl. pneumoniae* и *Kl. oxytoca*

Тест	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. oxytoca</i>
лактоза (43°С)	+	-
рост при +10°С	-	+
продукция индола	-(85%)	+

Антигенная структура. У клебсиелл имеются О- и К-антигены. По О-антигену клебсиеллы подразделяют на 11 серотипов, а по капсульному К-антигену – на 82. Серологическое типирование клебсиелл основано на определении К-антигенов. Группоспецифический антиген обнаружен почти у всех штаммов клебсиелл. Некоторые К-антигены родственны К-антигенам стрептококков, эшерихий и сальмонелл. Обнаружены О-антигены, родственные О-антигенам *E. coli*.

Основными факторами патогенности клебсиелл являются К-антиген, подавляющий фагоцитоз, и эндотоксин. Помимо них, *Kl. pneumoniae* может продуцировать термолабильный энтеротоксин – белок, по механизму действия подобный токсину энтеротоксигенной кишечной палочки. Клебсиеллы обладают выраженными адгезивными свойствами, имеют антигены фимбрий.

Устойчивость. Клебсиеллы в фекалиях и слизи сохраняются до 40 дней, в воде и почве – до нескольких мес. Они устойчивы к действию низких температур, могут расти в условиях холодильника (при +4°С). К высокой температуре и

дезинфекционным средствам устойчивы слабо. При +100°C погибают мгновенно, при +80°C – в течение 20 мин., при нагревании до +65°C – в течение часа. В молочных продуктах клебсиеллы выживают и размножаются как при комнатной температуре, так и в холодильнике.

Губительно действуют на клебсиелл: 4%-ный горячий раствор натрия гидроксида, 5%-ная эмульсия ксилонафта, 10%-ная эмульсия креолина, 20%-ная взвесь свежегашеной извести, осветленный раствор кальция гипохлорида, содержащий 3% активного хлора и др.

Патогенность. *Kl. pneumoniae subsp. pneumoniae* относится к постоянной микрофлоре кишечника, но может играть роль этиологического фактора как возбудитель клебсиеллеза животных, пневмоний у человека и животных, пищевых токсикоинфекций, ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных.

Факторы патогенности клебсиелл – полисахаридная капсула, эндотоксин и фимбрии, обеспечивающие адгезию к эпителию. Помимо фимбриальных, адгезию к эпителию опосредуют плазмидные факторы, кодирующие образование поверхностных белков, обуславливающих диффузную адгезию. Определенный вклад вносит сидерофорная система бактерий, связывающая ионы Fe^{2+} и снижающая их содержание в тканях. Следует отметить, что способность конкурировать за железо характерна для большинства представителей семейства; у клебсиелл выявлены хелаторы железа энтеробактин (энтерохелин) и аэробактин. У различных изолятов выявлены термолабильные и термостабильные токсины:

- термо- и кислотостабильный токсин (примерно 5 кД) по структуре и механизму действия (активация системы «гуанилат циклаза-цГМФ») аналогичен термостабильному энтеротоксину *E. coli*;

- термолабильный токсин (26 кД) обнаружен у капсулированных штаммов, инактивируется при температуре +100-120°C, проявляет цитотоксический эффект и опосредует проникновение бактерий в кровоток.

Род *Morganella*

Историческая справка, таксономия. *Morganella morganii* была впервые выделена из кала младенцев и описана британским бактериологом Р. Х. де Моргана в 1906 году как палочка Моргана. В настоящее время в роду *Morganella* один вид *Mor. morganii*, который имеет 2 подвида: *Mor. morganii subsp. morganii* и *Mor. morganii subsp. sibonii*.

Этот род выделен из рода *Proteus* на основании особенностей строения ДНК, серологической обособленности, неидентичности фенилаланиндезаминазы и уреазы роду *Proteus*.

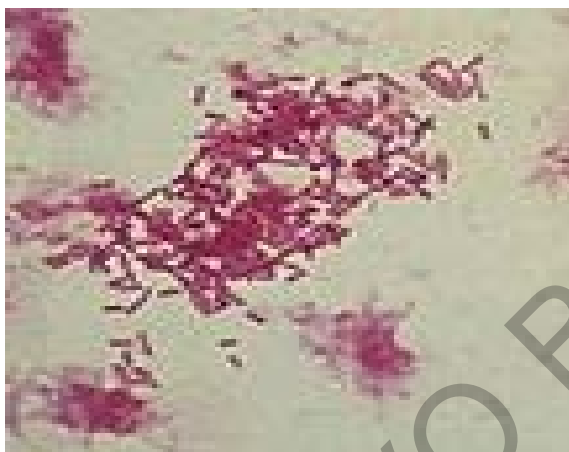
Genus. *Morganella*

1. *Morganella morganii*:

a. *Morganella morganii subsp. morganii*;

b. *Morganella morganii subsp. sibonii*.

Морфология. Бактерии рода *Morganella* – грамотрицательные, прямые палочки с закругленными концами, около 0,6-0,7 мкм в диаметре и 1,0-1,7 мкм в длину. Спор и капсул не образуют. Этот организм движется с помощью перитрихальных жгутиков, но некоторые штаммы не образуют жгутики при 30°C. В мазках из бульонных и агаровых культур в поле зрения располагаются одиночно, реже – попарно, скоплениями (микрофото 8).



Микрофото 8 – *Morganella morganii* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото сайта https://en.wikipedia.org/wiki/Morganella_morganii)

Культуральные свойства. Бактерии неприхотливы к питательным средам и хорошо размножаются на всех простых средах в аэробных и анаэробных условиях при температуре от +12 до +43°C, оптимальными режимами роста являются температура +37-38°C и pH 7,0-7,4.

Mor. morganii на плотных питательных средах (МПА, агаре Хоттингера) в течение 18-24 часов образует округлые с ровными краями, выпуклые, с гладкой блестящей поверхностью, серовато-белые колонии диаметром 1-3 мм. Феномен «роения» морганеллы не дают. При многократных пересевах характерные S-формы колоний морганелл могут переходить в шероховатые R-формы из-за диссоциации культур. S-R диссоцианты – причина многих диагностических ошибок.

На Плоскирева и Эндо колонии лактозоотрицательных штаммов, имеющих S-форму, росинчатые, полупрозрачные, с голубоватым оттенком или голубовато-серого цвета, к 2-3 суткам культивирования они приобретают серовато-белый цвет.

На висмут-сульфитном агаре колонии морганелл округлые, с ровным краем, гладкие, блестящие, более плоские, чем на МПА, имеют зеленовато-оливковый цвет.

В жидких средах (МПБ, бульоне Хоттингера, пептонной воде) через 18-24 ч. дают рост в виде равномерного помутнения среды, осадок легко разбивается при встряхивании пробирки.

Биохимические свойства. *Mor. morganii* ферментирует глюкозу с образованием газа или без него, образует индол, дает положительную реакцию с ме-

тиловым красным и отрицательную, реакцию Фогеса-Проскауэра, расщепляет мочевины, выделяет каталазу, не ферментирует лактозу, мальтозу, манит, ксилозу, рамнозу, адонит, сахарозу. Однако некоторые штаммы в поздние сроки ферментируют сахарозу и сорбит.

Mor. morganii не усваивает цитрато-аммонийные соли и малонат натрия, не образует сероводород, не разжижает желатину, не образует лизиндекарбоксилазу и аргининдегидролазу, но синтезирует орнитиндекарбоксилазу, дезаминирует фенилаланин и триптофан (что сближает их с бактериями родов *Proteus* и *Providencia*), синтезирует уреазу, восстанавливает нитраты в нитриты, растет на средах с KCN (таблица 6).

Таблица 6 – Основные дифференциально-диагностические тесты для группы *Proteus-Providencia-Morganella*

Тесты	<i>Providencia</i>	<i>Morganella</i>	<i>Proteus</i>
Фенилаланиндезаминаза	+	–	+
Уреаза	–*	+	+
Цитрат Симмонса	+	–	х
Феномен истинного роения	–	–	+
Индол	+	+	–**
Желатина	–	–	+
Ксилоза	–	–	+
Манноза	–	+	–
Адонит	х	–	–

Примечания: *- исключая *P. rettgeri* и некоторых штаммов *P. stuartii*;

** - исключая *P. vulgaris*.

Антигенная структура. Диагностическая антигенная схема включает в настоящее время 32 серологические О-группы и 25 Н-антигенов, у 2 серогрупп (О29 и О34) имеется К-антиген. Антигенные связи *Morganella* с другими представителями группы *Proteus-Providencia-Morganella* относительно редки и слабо выражены.

Устойчивость. Морганеллы сравнительно устойчивы в окружающей среде. Они выдерживают нагревание до +60°C в течение часа, при +100°C погибают мгновенно. Могут длительно сохраняться в слабых дезинфицирующих растворах.

Патогенность. Морганеллы выделяют из кишечного содержимого млекопитающих и рептилий. Могут вызывать диарею у телят, поросят и молодняка других видов животных.

Морганеллы патогенны для белых мышей и крыс, хомяков, морских свинок, кроликов, котят, о чем свидетельствуют сообщения многих исследователей. Парентеральное введение бульонных культур или суспензий, приготовленных с агаровых культур, в небольших дозах вызывает гибель указанных видов животных от септицемии через 12-48 ч., реже – на третьи сутки после заражения. Вирулентность у разных штаммов бактерий может сильно варьировать.

Наиболее характерными симптомами у зараженных животных являются

паралич задних, а затем и передних конечностей, судороги, учащенное дыхание; иногда возникает понос с наличием примеси крови в фекалиях. При вскрытии трупов погибших животных отмечается (наиболее ярко у морских свинок, кроликов) воспаление толстого, реже – тонкого отделов кишечника, нередко с множественными точечными и полосчатыми кровоизлияниями на слизистой оболочке, переполнение желчного пузыря, набухание или увеличение селезенки. В случае быстрой гибели животных (в первые сутки после заражения) перечисленные патологоанатомические изменения могут не наблюдаться. Наличие у них септицемии подтверждается результатами бактериологического исследования паренхиматозных органов и крови, из которых удается выделять культуры морганелл, использованные для заражения животных.

Факторы патогенности. Патогенность морганелл обусловлена комплексом факторов, степень выраженности которых определяет вирулентность определенного штамма. Подобно другим видам патогенных энтеробактерий, морганеллы образуют эндо- и экзотоксины. Эндотоксин оказывает действие на центральную нервную систему и толстый отдел кишечника и не обладает специфическим свойством, так как аналогичное действие проявляет эндотоксин и других видов энтеробактерий. Помимо эндотоксина морганеллы могут образовывать термолабильный экзотоксин, в частности, энтеротоксин, свойства которого изучены недостаточно.

Электронно-микроскопическими исследованиями установлено у некоторых штаммов морганелл наличие фимбрий, располагающихся вокруг микробной клетки, благодаря которым бактерии проявляют адгезивные свойства и колонизируют эпителий слизистой кишечника. Адгезия бактерий приводит к разрушению клеток ворсинок слизистой оболочки кишечника и возникновению воспалительного процесса.

Преобладающее большинство патогенных штаммов морганелл продуцирует гемолизины, вызывающие лизис эритроцитов разных видов животных и человека.

Наряду с указанными факторами морганеллы вырабатывают патогенные ферменты – декарбоксилазы, за счет которых происходит распад аминокислот, входящих в состав белка, или промежуточных продуктов азотистого обмена, в частности, орнитина, глютаминовой кислоты. Декарбоксилирование аминокислот сопровождается образованием биогенных аминов (гистамина, триптамина, агмитамина, тирамина и др.), обладающих токсическим действием и способных всасываться из кишечника в кровь.

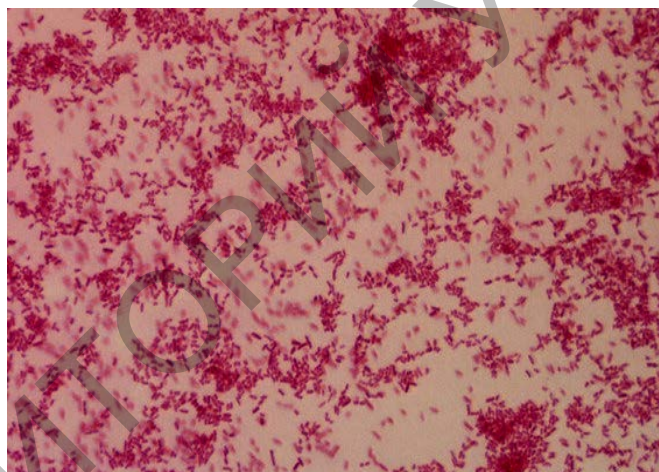
Род *Enterobacter*

Историческая справка, таксономия. Название *Enterobacter* предложено Е. Normasche и Р. Edwards в 1960 г. и утверждено в 1963 г. на заседании Подкомитета по семейству *Enterobacteriaceae* Международного таксономического комитета и в дальнейшем на заседании Юридической комиссии того же подкомитета в 1970 г. Многие ученые считают этот род типовым родом сем. *Enterobacteriaceae*. В него входят 12 видов, типовым видом является *Ent. cloacae*.

Genus. *Enterobacter*

1. *Enterobacter cloacae*.
2. *Enterobacter amnigenus*.
3. *Enterobacter asburiae*.
4. *Enterobacter cancerogenus*.
5. *Enterobacter cowanii*.
6. *Enterobacter dissolvens*.
7. *Enterobacter gergoviae*.
8. *Enterobacter hormaechei*.
9. *Enterobacter kobei*.
10. *Enterobacter nimipressuralis*.
11. *Enterobacter pyrinus*.
12. *Enterobacter sakazakii*.

Морфология. Бактерии рода *Enterobacter* – 1,2-3 × 0,6-1 мкм подвижные грамотрицательные палочки с перитрихальным расположением жгутиков (*Ent. asburiae* – неподвижный вид), некоторые штаммы имеют капсулу, спор не образуют. В мазках располагаются одиночно, парами, реже – короткими цепочками (микрофото 9).



Микрофото 9 – *Enterobacter cloacae* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта <http://www.corbisimages.com/stock-photo/rights-managed/42-20490637/enterobacter-aerogenes-bacteria>)

Культуральные свойства. Энтеробактеры хорошо растут на обычных плотных питательных средах (рисунок 4) и селективно-диагностических средах с образованием колоний обычного размера, слизистых и неслизистых, напоминающих колонии эшерихий или клебсиелл (лактозоположительные варианты), малиновых или розовых, с металлическим блеском или без него; замедленно расщепляющие лактозу штаммы растут на лактозосодержащих дифференциальных средах подобно патогенным кишечным бактериям, образуя бесцветные колонии с розовым или бежевым оттенком на среде Эндо или с желтоватым на среде Плоскирева. На SS-агаре энтеробактеры формируют крупные слизистые колонии желтого или коричневого цвета. В косопрходящем свете по методу Landy колонии обычно имеют зеленовато-желтоватый оттенок.



Рисунок 4 – рост *Enterobacter cloacae* на МПА
 (фото с сайта https://en.wikipedia.org/wiki/Enterobacter_cloacae)

Биохимические свойства. Энтеробактеры не образуют индол и H_2S , не имеют фенилаланиндезаминазы, утилизируют цитрат, слабоактивны при гидролизе мочевины, вариабельны в тестах с малонатом и аминокислотами, большинство штаммов замедленно разжижают желатин (таблицы 7, 8, 9).

Таблица 7 – Биохимические свойства *Enterobacter cloacae*

Тесты или субстраты	<i>Enterobacter cloacae</i>	Тесты или субстраты	<i>Enterobacter cloacae</i>
Адонит	x	Индол	–
Арабиноза	+	Сероводород	–
Глюкоза (газ)	+, –	Мочевина (гидролиз)	(+)
Глицерин (газ)	–	Алгинат	–
Дульцит	x	Желатин	(+)
Инозит	–, +	Фенилаланиндезаминаза	–
Ксилоза	+	Лизиндекарбоксилаза	–
Лактоза	+	Аргининдегидролаза	+
Мальтоза	+	Орнитиндекарбоксилаза	+
Маннит	+	Цитрат Симмонса	+
Рамноза	+	Малонат	+, –
Рафиноза	+	Мукат	x
Салицин	x	D-тартрат	x
Сахароза	+	Цитрат Кристенсена	+
Сорбит	+	Ацетатная среда	+
Целлобиоза	+	Реакция Фогеса-Проскауэра	+
Эскулин	–, +	Реакция с метиловым красным	–
KCN	+		

Бактерии рода *Enterobacter* характеризуются выраженной сахаролитической активностью, расщепляя (чаще с газообразованием) глюкозу, обычно – маннит, лактозу, сахарозу, встречаются штаммы, не ферментирующие последних два углевода или с замедленно положительной реакцией; ферментируют рамнозу, ксилозу, мальтозу, сорбит, арабинозу, рафинозу, вариабельно – инозит, дульцит, салицин, адонит.

Таблица 8 – Дифференциация *Enterobacter cloacae* и *Klebsiella mobilis* (син. *Ent. aerogenes*) по биохимическим свойствам

Тесты или субстраты	<i>Ent. cloacae</i>	<i>Klebsiella mobilis</i>	Тесты или субстраты	<i>Ent. cloacae</i>	<i>Klebsiella mobilis</i>
Адонит	х	–	Индол	–	–
Арабиноза	+	–	Сероводород	–	–
Глюкоза (газ)	+, –	+	Мочевина (гидролиз)	(+)	–
Глицерин (газ)	–	+	Алгинат	–	–
Дульцит	х	–	Желатин	(+)	–, (+)
Инозит	–, +	+	Фенилаланиндезаминаза	–	–
Ксилоза	+	+	Лизиндекарбоксилаза	–	+
Лактоза	+	+	Аргининдегидролаза	+	–
Мальтоза	+	+	Орнитиндекарбоксилаза	+	+
Маннит	+	+	Цитрат Симмонса	+	+
Рамноза	+	+	Малонат	+, –	+
Рафиноза	+	+	Мукат	х	+
Салицин	х	+	D-тарtrat	х	х
Сахароза	+	+	Цитрат Кристенсена	+	+
Сорбит	+	+	Ацетатная среда	+	+
Целлобиоза	+	+	Реакция Фогеса-Проскауэра	+	+
Эскулин	–, +	+	Реакция с метиловым красным	–	–

Таблица 9 – Дифференциация основных видов рода *Enterobacter*, *Klebsiella mobilis* и *Pantoea agglomerans*

Вид	Тесты					
	лизин	агринин	уреаза	инозит	малонат натрия	желатин. активность
<i>Klebsiella mobilis</i> (син. <i>Ent. aerogenes</i>)	+	-	-	+	+	+/-
<i>Pantoea agglomerans</i> (син. <i>Ent. agglomerans</i>)	-	-	x	x	+/-	x
<i>Ent. cloacae</i>	-	+	+/-	x	+/-	+
<i>Ent. gergoviae</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Ent. sakazakii</i>	-	+	-	(+)	(-)	+

Характерной особенностью *Enterobacter* является способность ферментировать гексозы с образованием ацетилметикабинола, или ацетоина (положительная реакция Фогеса-Проскауэра). Они отрицательны в реакции с метиловым красным.

Антигенная структура. Энтеробактерии имеют О- и Н-антигены. У *Ent. cloacae* обнаружен К-антиген, отнесенный к слизистому М-антигену. У штаммов *Ent. cloacae* выявлена мозаичная антигенная структура, выделяют 19 О-серогрупп. Описано антигенное родство этого вида с сальмонеллами, шигеллами Бойда, клебсиеллами. Антигенная структура других видов изучена еще слабее и идентификация возможна на основании ферментативной активности.

Устойчивость. Такая же, как и у всех энтеробактерий. Бактерии довольно устойчивы к различным дезинфектантам, отмечается наличие множественной лекарственной устойчивости.

Патогенность. Энтеробактерии широко распространены в природе: в воде, почве, пищевых продуктах, в сточных водах, на растениях, выделяются из кишечного содержимого животных и человека. Вызывают кишечные, респираторные, урогенитальные, гнойно-воспалительные заболевания, иногда септицемию и менингит. Являются возбудителями ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных, септицемии саранчи.

Факторы патогенности: микроворсинки, обеспечивающие колонизацию этих бактерий; эндотоксин – токсическое вещество, аналогичное тому, которое вырабатывает энтеротоксигенная кишечная палочка.

В числе резервуаров энтеробактерий наряду с человеком и позвоночными животными ряд авторов называют и представителей беспозвоночных, прежде всего насекомых. Патологию у них, в том числе и у медоносных пчел, вызывают виды *Ent. aerogenes*, *Ent. cloacae*.

Род *Shigella*

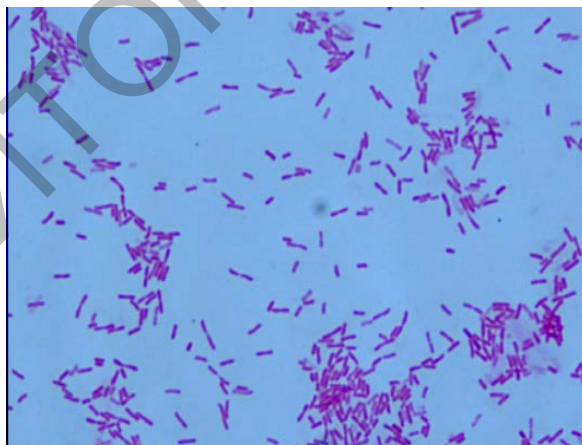
Историческая справка, таксономия. Род *Shigella* (шигеллы названы в честь японского врача и микробиолога Киёси Шига) включает 4 вида, типовой вид – *Sh. dysenteriae*. Возбудитель бактериальной дизентерии (*Sh. dysenteriae*) впервые был описан в 1888 г. А. Chantemesse и F. Widal. Изучением шигелл в России занимался А.В. Григорьев (1891), в Японии – К. Shiga (1898), в Германии – W. Kruse (1900) и др.

Genus. *Shigella*

1. *Shigella dysenteriae*.
2. *Shigella boydii*.
3. *Shigella flexneri*.
4. *Shigella sonnei*.

Морфология. Бактерии рода *Shigella* – грамотрицательные палочки с закругленными концами $1-3 \times 0,7-1$ мкм, не образуют спор, капсул и жгутиков, располагаются одиночно, парами, небольшими скоплениями (микрофото 10), некоторые представители имеют фимбрии (*Sh. flexneri*).

Культуральные свойства. Шигеллы хорошо растут в аэробных условиях на обычных питательных средах. Оптимальная температура роста соответствует $+37^{\circ}\text{C}$, *Sh. sonnei* может размножаться при температуре от $+10$ до $+45^{\circ}\text{C}$. Оптимальная рН составляет 7,2. При росте в бульоне гладкие (S) формы дают равномерное помутнение, шероховатые (R) формы вызывают образование осадка, благодаря чему надосадочная часть бульона остается более или менее прозрачной. Иногда можно заметить на поверхности бульона тонкую пленку.



Микрофото 10 - *Shigella boydii* (окраска по Граму)

(фото с сайта https://www.wiv-isp.be/qml/activities/external_quality/rapports/ATLAS-2012/Bacteriology/Gram-negative-aerobic-and-facultative-rods.pdf)

На пластинчатых дифференциально-диагностических средах шигеллы образуют небольшие (1-1,5 мм) круглые, слегка выпуклые, с ровными краями, бесцветные колонии с блестящей поверхностью, полупрозрачные, мягкой консистенции, легко снимающиеся петлей с поверхности агар. На пластинчатых

средах при диссоциации культуры могут одновременно находиться колонии гладкой, шероховатой и переходной формы.

Sh. sonnei на слабоселективных средах или питательном агаре часто образует два типа колоний: небольшие, гладкие колонии правильной формы – так называемая I фаза и крупные, плоские колонии с неровными краями, напоминающие виноградный лист – II фаза. Встречаются и промежуточные формы. *Sh. dysenteriae* и *Sh. flexneri* формируют более мелкие и нежные колонии.

Биохимические свойства. В биохимическом отношении бактерии рода *Shigella* малоактивны (таблицы 10, 11). Они не образуют сероводород из неорганических соединений серы, не гидролизуют мочевины, не утилизируют малонат натрия, ацетат, цитрат в среде Симмонса и D-тарtrat, не продуцируют ацетон в реакции Фогеса-Проскауэра, не обладают фенилаланиндезаминазой, лизиндекарбоксилазой и желатиназой, не вызывают щелочения среды Кристенсена, не растут в присутствии KCN, не ферментируют сахарозу, салицин, адонит и инозит, но дают положительную реакцию с метиловым красным. Ониvariably ферментируют глюкозу, лактозу, маннит.

Отсутствие ферментации маннита свойственно представителям *Sh. dysenteriae* и *Sh. flexneri* серовара 6 (биовар *Newcastle*). Шигеллы не образуют газа при ферментации глюкозы, кроме биоваров *Manchester* и *Newcastle Sh. flexneri* серовара 6 и *Sh. boydii* серовара 14. Продукция индола свойственна *S. dysenteriae* сероваров 2, 7, 8, а также *Sh. flexneri* подсероваров 3а, 4а, серовара 5 и *Sh. boydii* сероваров 5, 7, 9, 11, 13, 15.

Таблица 10 – Биохимические свойства бактерий рода *Shigella*

Тесты или субстраты	Реакция	Тесты или субстраты	Реакция
Адонит	–	Индол	–, +
Арабиноза	х	Сероводород	–
Глюкоза (газ)	–, +	Мочевина (гидролиз)	–
Глицерин	х	Желатин (22° С)	–
Дульцит	х	Фенилаланиндезаминаза	–
Инозит	–	Лизиндекарбоксилаза	–
Ксилоза	х	Аргининдегидролаза	х
Лактоза	–, +	Орнитиндекарбоксилаза	–, +
Мальтоза	х	Цитрат Симмонса	–
Маннит	+, –	Целлобиоза	–
Рамноза	х	Малонат	–
Рафиноза	х	Мукат	–
Салицин	–	D-тарtrat	–
Сахароза	–	Цитрат Кристенсена	–
Сорбит	х	Ацетат	–
Целлобиоза	–	Реакция Фогеса-Проскауэра	–
KCN	–	Реакция с метиловым красным	+

Таблица 11 – Биохимические свойства шигел различных видов

Тест или субстрат	Реакции				
	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>		<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella sonnei</i>
		серовары 1-5	серовар 6		
Глюкоза (газ)	–	–	–, +	–	–
Лактоза	–	–	–	–	(+)
Маннит	–	+	+, –	+	+
Сахароза	–	–	–	–	(+)
Дульцит	–, +	–	x	x	–
Сорбит	x	x	+, (+)	x	–
Арабиноза	x	x	x	+	+
Рафиноза	–	x	–	–	x
Рамноза	x	x	–	–	+, (+)
Мальтоза	x	x	+, (+)	x	+, (+)
Ксилоза	x	–	x	x	x
Трегалоза	+, (+)	+, (+)	+, (+)	+, (+)	+
Целлобиоза	–	–	–	–	x
Глицерин	x	–	+, (+)	x	x
Индол	–, +	–, +	–	–, +	–
Аргининдегидролаза	x	–	x	x	–
Орнитиндекарбок- силаза	–	–	–	–	+
Мукат	–	–	–	–	–, +
β-Галактозидаза	–, +	–	–	–, +	+

Антигенная структура. Шигеллы обладают О- и К-антигенами. Среди шигелл одного серовара могут встречаться штаммы, как имеющие К-антиген, так и не имеющие его. Одной из особенностей биологических свойств *Sh. dysenteriae* является способность продуцировать экзотоксин. Доказано, что высокоочищенный препарат токсина Шига обладает тремя видами активности: энтеро-, нейро- и цитотоксической. Другие виды шигелл способны также продуцировать токсины, подобные токсину Шига, но в значительно меньшем количестве.

Большое значение для диагностики имеет антигенное родство шигелл и других энтеробактерий. Имеется антигенная близость (вплоть до идентичности некоторых О-антигенов) с родом *Escherichia*. Например, идентичны О-антигены *Sh. dysenteriae* серовара 2 и эшерихий O112a, с, серовара 3 и эшерихий O124, *Sh. flexneri* серовара 2в и эшерихий O147, *Sh. boydii* серовара 1 и эшерихий O149 и т.д. Установлены антигенные связи шигелл со многими представителями условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), особенно с родами *Hafnia*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia*. Установлена общность некоторых антигенов шигелл с вибрионами, плезиомонадами и даже лептоспирами. Поэтому во избежание диагностических ошибок необходимо вначале четко уста-

новить принадлежность выделенного штамма к роду *Shigella*, а затем завершить его видовую серологическую идентификацию.

Устойчивость. Шигеллы малоустойчивы к воздействию физических, химических и биологических факторов окружающей среды. В воде, почве, пищевых продуктах, на предметах, посуде, овощах, фруктах шигеллы живут в течение 5-14 дней. Хорошо выдерживают низкие температуры до -160°C и воздействие ультрафиолетом. Погибают при температуре $+60^{\circ}\text{C}$ через 15-20 минут, при $+100^{\circ}\text{C}$ – мгновенно. Прямой солнечный свет губит шигелл в течение 30-40 минут. При отсутствии солнечного света, повышенной влажности и умеренной температуре шигеллы сохраняют жизнеспособность в почве до 3-4 месяцев. В желудочном соке шигеллы могут выживать лишь несколько минут. В пробах кала шигеллы погибают от действия кислой реакции среды и бактериоантагонистов через 6-10 часов. В высушенном или замороженном кале шигеллы жизнеспособны в течение 4-5 месяцев. Наиболее устойчивым к внешним воздействиям является вид шигелл *Sh. sonnei*, наименее устойчивым – *Sh. dysenteriae*. Быстрая гибель шигелл наступает при воздействии дезинфицирующих веществ.

Патогенность. Все виды шигелл являются возбудителями дизентерии у человека. Они могут передаваться через пищу, включая различные виды фруктов, овощей, мясо, молоко и молочные продукты. Контаминация обычно происходит фекально-оральным путем. Шигеллы также могут распространяться через предметы ухода, воду и с помощью механических переносчиков, в частности, насекомых (мух). На лапках насекомых бактерии остаются жизнеспособными до 3 дней. Садясь на пищевые продукты, мухи инфицируют их. Контаминированная вода и антисанитарное хранение пищевых продуктов способствует распространению шигелл во внешней среде.

Шигеллы могут являться возбудителями ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных, на что указывают отдельные авторы [7].

К факторам патогенности относятся:

1. Факторы адгезии и колонизации: пили, ворсинки, белки клеточной стенки, которые способны разрушить слизь, муцин слизи. Ферменты: муциназы, нейроамидазы.

2. Факторы инвазии: проникают внутрь эпителиоцитов, макрофагов и размножаются там. Клетка погибает, наступает ее апоптоз. Факторы инвазии кодируются генами плазмид.

3. Факторы эндо- и экзотоксикоза. Экзотоксины продуцирует только палочка Шига, остальные – эндотоксины. Палочка Шига вызывает тяжелую дизентерию с кровавым поносом. Экзотоксин сходен с гемотоксином эшерихий, сальмонелл. Ген, отвечающий за токсинообразование, входит в состав умеренного фага – передается из клетки в клетку. Эндотоксины – липополисахаридные комплексы, оказывающие пирогенное и общетоксическое действие. Эндотоксинообразование кодируется плазмидными генами.

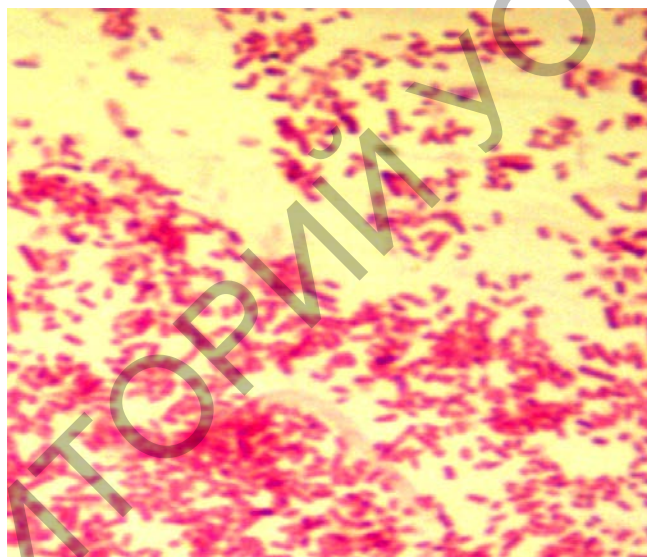
Род *Edwardsiella*

Историческая справка, таксономия. Впервые *Edwardsiella tarda* выделена из организма прудового угря ученым Hoshina в 1962 году. Название рода происходит от фамилии американского бактериолога R. Edwards, изучавшего данный микроб. Изучением данных микроорганизмов также занимались Ewing и Sakazaki с соавторами. В последующем эдвардсиеллы выделены в самостоятельный род в 1972 году.

Genus. *Edwardsiella*

1. *Edwardsiella tarda*.
2. *Edwardsiella hoshinae*.
3. *Edwardsiella ictaluri*.

Морфология. Бактерии рода *Edwardsiella* – прямые грамтрицательные палочки с закругленными концами 1,0 x 2-3 мкм, располагаются одиночно или парами, не образуют капсул и спор, подвижны (перитрихи), за исключением отдельных неподвижных штаммов (микрофото 11).



Микрофото 11 – *Edw. tarda* в мазке из культуры (окраска по Граму)
(фото с сайта <http://www.academicjournals.org/article/article/1380733465>
Wang%20et%20al.pdf)

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. Культивируются при +37°C в течение 24 часов, за исключением *Edw. ictaluri*, которая отличается более медленным ростом. Для культивирования *Edw. ictaluri* предпочтительнее температура +25-30°C.

На плотных питательных средах (Плоскирева, Эндо) эдвардсиеллы растут в виде бесцветных полупрозрачных мелких колоний (диаметр около 0,5-1 мм), сходных с колониями патогенных энтеробактерий. На висмут-сульфитном агаре, SS-агаре (рисунок 5) металлический блеск у колоний отсутствует, не отмечают и почернения среды под колонией. В средах обогащения (селенитовой, магниевой, тетрационатной) не размножаются, но и не отмирают. Культурам эдвардсиелл не присущ какой-либо характерный специфический запах.



Рисунок 5 – Рост *Edw. tarda* на Сальмонелла-Шигелла агаре (SS-агаре)
(фото с сайта <http://www.academicjournals.org/article/article1380733465>
Wang%20et%20al.pdf)

Биохимические свойства. По сравнению с другими энтеробактериями, эдварсиеллы проявляют большую инертность к углеводам, особенно *Edw. ictaluri*. Эдварсиеллы дают отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра, не гидролизуют мочевины, не разжижают желатин, не утилизируют цитрат в среде Симмонса, не ферментируют лактозу, дульцит, салицин (за исключением некоторых штаммов *Edw. hoshinae*), адонит, инозит, сорбит, раффинозу, рамнозу (таблица 12).

Эдварсиеллы (в зависимости от вида и штамма) ферментируют глюкозу, сахарозу, манит, мальтозу, маннозу, арабинозу, трегалозу с образованием кислоты и (за очень редким исключением) газа. Ферментация глицерина большинством штаммов осуществляется медленно, восстанавливают нитраты. Не выделяют сероводород, за исключением некоторых штаммов *Edw. tarda*; индол – *Edw. ictaluri* и некоторые штаммы *Edw. hoshinae*. Они обладают декарбоксилазами лизина и орнитина, но не имеют фенилаланиндезаминазы.

Дифференциацию *Edw. tarda* проводят с сероводородопозитивными энтеробактериями: сальмонеллами, цитробактерами, протейями (таблица 13). Кроме минимальных биохимических тестов протейи, кроме того, выделяют себя и по характерному запаху.

Антигенная структура. Антигенное строение представлено O- и H-антигенами. Диагностическая антигенная схема эдварсиелл включает в настоящее время 148 сероваров (49 O-групп и 37 H-антигенов).

Устойчивость. Такая же, как и всех энтеробактерий.

Таблица 12 – Биохимические свойства видов бактерий рода *Edwardsiella*

Тесты или субстраты	Реакция		
	<i>Edw. hoshinae</i>	<i>Edw. ictaluri</i>	<i>Edw. tarda</i>
Индол	p	-	+
Метилрот	+	-	+
Фогес-Проскауэра	-	-	-
Цитрат	-	-	-
Сероводород	-	-	p
Мочевина	-	-	-
Фенилаланин	-	-	-
Лизин	+	+	+
Аргинин	-	-	-
Орнитин	+	p	+
Подвижность	+	-	+
Желатин	-	-	-
Малонат	+	-	-
Газ из глюкозы	p	p	p
Лактоза	-	-	-
Сахароза	+	-	p
Маннит	+	-	p
Дульцит	-	-	-
Салицин	p	-	-
Адонит	-	-	-
Инозит	-	-	-
Сорбит	-	-	-
Раффиноза	-	-	-
Рамноза	-	-	-

Примечания: (+) - положительный результат у 90 % шт.; (-) - отрицательный результат у 90% шт.; p - различные реакции у разных шт.

Таблица 13 – Биохимическая дифференциация вида *Edw. tarda*

Тест	<i>Edw. tarda</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Proteus</i>
Индол	+	-	+/-	x
Мочевина	-	-	x	+
Цитрат Симмонса	-	+/-	+	+/-
Фенилаланин	-	-	-	+
Лизин	+	+	-	-
Маннит	-	+	+	-

Патогенность. Бактерии широко распространены в объектах окружающей среды, главным образом в воде открытых водоемов. Факторами патогенности являются: инвазивность, гемолизин, термостабильный энтеротоксин, дермоток-

син, кодируемые генами вирулентности, присутствующие только у патогенных штаммов. Основными носителями эдвардсиелл являются холоднокровные животные (змеи, ящерицы, черепахи – водоплавающие и степные, которых многие держат дома), крокодилы, аллигаторы, вараны, лягушки, пресноводные (часто – угри) и морские рыбы, птицы, питающиеся этими холоднокровными животными: пеликаны, цапли, чайки, журавли. Реже бактерионосителями эдвардсиелл являются теплокровные животные, включая коров, свиней, собак, обезьян, леопардов и т.д.

Эдвардсиеллы условно патогенны для человека (выделены от больных с диареей) и животных. *Edw. tarda* является возбудителем эдвардсиеллеза угрей и других рыб, обуславливает диарею у молодняка разных видов животных и является возбудителем ассоциированной кишечной инфекции.

Основными факторами патогенности бактерий *Edw. tarda* являются инвазивные свойства, Р-гемолизин и термостабильный энтеротоксин (продуцируется только некоторыми штаммами и обуславливает развитие диарейных синдромов).

Edw. ictaluri является возбудителем кишечной септицемии канальных сомов.

Род *Serratia*

Историческая справка, таксономия. Определение рода было дано В.Р. Davis и W. Ewing (1957). Название рода связывают с именем итальянского физика XVIII века Serafino Serrati (по другим данным название связывают с именем лодчана Серафино Соррати).

Интерес к изучению этих бактерий ранее был обусловлен их способностью к продукции красного пигмента. В средневековье появление «красных» пятен на продуктах считали дьявольским наваждением. Микробную природу их установил Б. Бизио (1879).

Genus. *Serratia*

1. *Serratia marcescens*.
2. *Serratia entomophila*.
3. *Serratia ficaria*.
4. *Serratia fonticola*.
5. *Serratia grimesii*.
6. *Serratia liquefaciens*.
7. *Serratia odorifera*.
8. *Serratia plymuthica*.
9. *Serratia proteamaculans*:
 - a. *Serratia proteamaculans subsp. proteamaculans*;
 - b. *Serratia proteamaculans subsp. ouinovora*.
10. *Serratia rubidaea*.

Морфология. Грамотрицательные палочки размером 0,9-2,0 x 0,5-0,8 мкм (микрофото 12). Сerratии подвижны (перитрихи), спор не образуют, отдельные штаммы могут образовывать капсулу и фимбрии.



Микрофото 12 – *Serratia marcescens* в мазке из культуры (окраска по Граму)

(фото с сайта <http://www.eyerounds.org/cases/34-setoninfection.htm>)

Культуральные свойства. Температурный оптимум для роста серраций составляет +25-30°C. Некоторые из культур серраций (*Ser. marcescens*, *Ser. rubidaea* и *Ser. plymuthica*) способны продуцировать розовый, красный или фуксинового цвета пигмент. Однако образование пигмента (продигиозина) свойственно не всем представителям этого рода: оно также может варьировать в зависимости от условий культивирования, в частности, от состава питательных сред. Беспигментные варианты серраций встречаются с различной частотой и в клинических материалах. Пигмент, образуемый серрациями, не диффундирует в питательную среду, растворяется в петролейном эфире.

В МПБ вызывают равномерное помутнение с выпадением осадка к концу суточного культивирования.

На кровяном агаре *Ser. marcescens* и *Ser. rubidaea* образуют прозрачные серовато-белые колонии, гладкие или мелкозернистые. Через 24-48 ч. при комнатной температуре они производят красный пигмент. На дифференциальных средах колонии серраций бесцветные, гладкие, слегка выпуклые. На агаре с ДНК-азой и толуидиновым синим они образуют колонии с характерным синим ободком, в то время как колонии других энтеробактерий его не имеют. Идентификацию выделенных культур проводят исключительно с помощью биохимических тестов.

Биохимические свойства. Серрации ферментируют глюкозу без газообразования или с образованием небольшого количества газа, большинство штаммов лактозоотрицательны или ферментируют лактозу слабо и замедленно (через 5-21 день). Маннит, сахарозу, мальтозу, салицин, сорбит, глицерин, трегалозу серрации ферментируют постоянно, а адонит, инозит, ксилозу и целлобиозу – вариабельно (таблицы 14, 15).

Серрации обычно дают отрицательную реакцию с метиловым красным и положительную реакцию Фогеса-Проскауэра (исключая *Ser. fonticola*), растут на цитратных средах Симмонса, Кристенсена, а также на ацетатной среде, не утилизируют малонат и мукат, непостоянно, слабо и замедленно гидролизуют мочевины.

Таблица 14 – Биохимические свойства видов рода *Serratia*

Тесты или субстраты	Реакция	
	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Индол	-	-
Метилрот	p	p
Фогес-Проскауэра	p	+
Цитрат	+	+
Сероводород	-	-
Мочевина	-	p
Фенилаланин	-	-
Лизин	+	+
Аргинин	-	-
Орнитин	+	+
Подвижность	+	+
Желатин	+	+
Малонат	-	-
Газ из глюкозы	p	p
Лактоза	-	-
Сахароза	+	+
Маннит	+	+
Дульцит	-	-
Салицин	+	+
Адонит	+	+
Инозит	-	p
Сорбит	p	+
Раффиноза	+	-
Рамноза	p	-

Примечания: (+) - положительный результат у 90 % шт.; (-) - отрицательный результат у 90% шт.; p - различные реакции у разных шт.

Серрациям обычно свойственны быстрое разжижение желатина, способность декарбоксилировать лизин и орнитин и отсутствие дезаминирования фенилаланина. Они не обладают дегидролазой аргинина. Индолотрицательны (за исключением некоторых штаммов *Ser. odorifera*). У некоторых штаммов серраций выявлено наличие лецитиназной, ДНК-азной и цитотоксической активности.

Выделяемая W. Ewing (1973) в самостоятельный вид *Ser. liquefaciens* (*Ent. liquefaciens*) проявляет более выраженные биохимические реакции при инкубации в условиях +22-25°C в сравнении с +35-37°C.

Для *Ser. marcescens* различия в температуре инкубации не имеют такого значения. Не образующие пигмента культуры серраций дифференцируются от клебсиелл по наличию орнитиндекарбоксилазы, подвижности, быстрому разжижению желатина, слабому газообразованию в среде с глюкозой, отрицательной реакции с малонатом; от *Ent. cloacae* – по наличию лизиндекарбоксилазы и отсутствию аргининдегидролазы, по отношению к рамнозе и раффинозе.

Таблица 15 – Внуривидовая дифференциация бактерий рода *Serratia*

Тест или субстрат	<i>Ser. mar- cescens</i>	<i>Ser. liquefaciens</i>	<i>Ser. rubidaea</i>
Глюкоза (газ)	–, +	+, –	x
Лактоза	–	x	+
Адонит	x	–, +	+, (+)
Арабиноза	–	+	+
Сорбит	+	+	–
Цитрат Симмонса	+	+	+, –
Малонат	–	–	+, –
Лизиндекарбоксилаза	+	x	x
Орнитиндекарбоксилаза	+	+	–
Пигмент (розовый или красный)	+, –	–	+, –

Устойчивость такая же, как и всех энтеробактерий. Сerratии характеризуются высоким уровнем устойчивости к используемым в клинике антибиотикам, не уступая в этом синегнойной палочке.

Антигенная структура. Антигенная структура бактерий рода *Serratia* изучена недостаточно. У вида *Ser. marcescens* установлено 15 различных О-антигенов и 16 Н-антигенов. Описано 46 сероваров. Нет сведений об антигенных связях с другими энтеробактериями. Известно о наличии у некоторых штаммов сerratий К-антигена и фибриллярных антигенов.

Патогенность. Микроорганизмы данного рода обнаруживают у теплокровных, насекомых, в воде, почве, пищевых продуктах, на растениях. В медицинской практике установлена их активная роль в возникновении внутрибольничных инфекций, в этиологии пневмоний, эндокардитов, отитов, менингитов, инфекциях мочевыводящих путей и даже инфарктов миокарда.

Ser. marcescens, *Ser. liquefaciens* являются патогенными для насекомых, а также выделяются у животных при маститах, ассоциированной кишечной инфекции и при других болезнях инфекционной этиологии.

Факторы патогенности: эндотоксин, холероподобный термолабильный энтеротоксин, новый тип гемолизина – энтерогемолизин, адгезивная активность.

Род *Hafnia*

Историческая справка, таксономия. Определение рода *Hafnia* и его наименование связано с историческим названием города Копенгаген, было дано V. Moller (1954). Первые исследования бактерий с такими свойствами проведены С. Stuart и R. Rustigian (1943). Род *Hafnia* был включен в семейство *Enterobacteriaceae* в 1958 г. В литературе прежних лет и некоторых современных руководствах они упоминаются под разными названиями: биотип 32011, группа *Hafnia*, *Ent. alvei*, *B. asiaticus*, *Ent. hafniae* (Edwards P., Ewing W., 1972; Cowan S., 1974).

Genus. *Hafnia*

1. *Hafnia alvei* (возбудитель гафниоза пчел), который в генотипическом отношении является гетерогенным видом, состоящим как минимум из двух генотипов. По современным данным (Huys G., et al., 2010), первый из них предлагается считать видом *Hafnia alvei*; для второго предложено собственное видовое название – *Hafnia paralvei* [11, 13].

Морфология. Бактерии рода *Hafnia* представляют собой грамотрицательные подвижные при +21-22°C и чаще – не подвижные при температуре +37°C палочки, не образующие спор и капсул. Палочки имеют размер 0,5-1 x 2-5 мкм, располагаются одиночно, парами, беспорядочно.

Культуральные свойства. Температурный оптимум для роста бактерий рода *Hafnia* составляет +30-37°C. Растут на простых питательных средах, pH 7,2–7,4. На пластинчатых средах, используемых для выделения энтеробактерий (Плоскирева, Эндо, ЭМС-агар), *Hafnia* растут в виде полупрозрачных мутноватых колоний S-типа, бесцветных, имеющих оттенок цвета среды культивирования (розоватый или сероватый), напоминая по виду и размерам колонии некоторых лактозоотрицательных энтеробактерий, в частности, шигелл. На среде Плоскирева растут скудно и нередко напоминают колонии шигелл, на висмут-сульфитном агаре не растут.

На комбинированных средах для выделения и первичной идентификации чистых культур (среды Ресселя, Клигlera, Олькеницкого и др.) при отсутствии выраженного газообразования (что возможно при температуре 37°C) и реакции на сероводород необходима дифференциальная диагностика гафний и шигелл, а в ряде случаев – и других энтеробактерий.

При росте на агаре в первые сутки обнаруживаются мелкие голубоватые полупрозрачные колонии, сливающиеся на вторые сутки в общее наложение с мутноватым оттенком, в последующем отмечается побурение центра колонии. При росте на МПБ среда мутнеет, иногда появляются пленки на поверхности.

Биохимические свойства. Характерной особенностью бактерий рода *Hafnia* является изменение их ферментативной активности в зависимости от температуры культивирования. Эта особенность используется с целью дифференциальной диагностики *Hafnia* от сходных культур при постановке реакции с метиловым красным, Фогеса-Проскауэра, при учете ферментации глюкозы (наличие газообразования), утилизации цитрата в среде Симмонса, а также в ряде случаев при определении подвижности.

Бактерии рода *Hafnia* ферментируют глюкозу обычно с образованием газа, маннит, арабинозу, глицерин, ксилозу, мальтозу, рамнозу, трегалозу; не ферментируют лактозу, адонит, дульцит, инозит, сорбит, рафинозу и эскулин. Вариабельные реакции проявляют в отношении сахарозы, салицина, целлобиозы, утилизации цитрата в среде Симмонса и малоната, а также в тестах с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра.

Гафнии не образуют индол и сероводород, не разжижают желатин и не гидролизуют мочевины, не обладают фенилаланиндезаминазой и аргининдегидролазой, но декарбоксилируют лизин и орнитин. Биохимические реакции бактерий рода *Hafnia* приведены в таблице 16. В ней приведены реакции ти-

пичных представителей рода *Hafnia*, выявленные у 90% (или более) изученных культур. В практической работе нельзя исключать случаи выделения культур с атипичными реакциями, при изучении которых особое значение приобретают расширение набора изучаемых признаков и унификация методов, условий определения.

Таблица 16 – Биохимические свойства бактерий рода *Hafnia*

Тесты или субстраты	Реакция	Тесты или субстраты	Реакция
Адонит	–	Индол	–
Арабиноза	+	Сероводород (37°C)	–
Глюкоза (газ), (22°C)	+	Сероводород (22°C)	(+)
Глюкоза (газ), (37°C)	+, –	Мочевина (гидролиз)	–
Глицерин	+	Желатин (22° С)	–
Дульцит	–	Фенилаланиндеаминаза	–
Инозит	–	Лизиндекарбоксилаза	+
Ксилоза	+	Аргининдегидролаза	–
Лактоза	–	Орнитиндекарбоксилаза	+
Мальтоза	+	Цитрат Симмонса (37°C)	(+), –
Маннит	+	Цитрат Симмонса (22°C)	+
Рамноза	+	Малонат	+, –
Рафиноза	–	Мукат	–
Салицин	x	D-тарат	–
Сахароза	x	β- галактозидаза	+
Сорбит	–	Трегалоza	+
Целлобиоза	x	Эскулин	–
KCN	+	Реакция Фогеса-Проскауэра (37°C)	+, –
Реакция с метиловым красным (37°C)	+	Реакция Фогеса-Проскауэра (22°C)	+
Реакция с метиловым красным (22°C)	–	Подвижность (22°C) (37°C)	+
			+, –

В качестве дополнительного теста при дифференциации гафний от шигелл и клебсиелл может быть использована реакция на наличие фермента каталазы с 1% раствором перекиси водорода. При растирании суточной агаровой культуры в капле перекиси водорода на предметном стекле культуры *Hafnia* дают бурное газообразование, более интенсивное, чем другие энтеробактерии, в частности, клебсиеллы и шигеллы.

Для подтверждения родовой принадлежности культур к роду *Hafnia* первоочередное значение наряду с реакциями, учитываемыми на комбинированных средах типа Ресселя, Клигера, Олькеницкого, имеют реакции с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра, воспроизведенные после инкубации посевов при +37°C и +22°C, а также тест на наличие лизиндекарбоксилазы.

При лабораторной диагностике необходимо проводить дифференциальную диагностику гафний от шигелл (таблица 17), однако у гафний могут наблю-

даться сходные биохимические реакции и с представителями других родов, требующие для правильной идентификации некоторые дополнительные тесты.

Таблица 17 – Биохимические свойства, дифференцирующие бактерии рода *Hafnia* от рода *Shigella*

Тесты или субстраты	<i>Hafnia</i>	<i>Shigella</i>
Реакция с метиловым красным (37°C)	+	+
Реакция с метиловым красным (22°C)	–	–
Реакция Фогеса-Проскауэра (37°C)	+, –	–
Реакция Фогеса-Проскауэра (22°C)	+	–
Подвижность (37°C)	+, –	–
Подвижность (22°C)	+	–
Лизиндекарбоксилаза	+	–
Малонат	+, –	–
Цитрат Симмонса (22°C)	+	–

Антигенная структура. Наиболее полное изучение антигенной структуры и антигенных связей гафний было проведено японскими исследователями, установившими 68 серологических О-групп и 34 – Н-антигена, образующих 192 серовара. В России наиболее распространены бактерии серогрупп О4, О6, О37. При выделении гафний проводят дифференциацию с шигеллами, сероводородотрицательными протейями, провиденциями, а также с клебсиеллами и энтеробактерами.

Устойчивость. Возбудитель гафниоза в пустых инфицированных ульях при хранении их на пасеке сохраняет жизнеспособность до 270 дней, в перге – до 300 дней, а в меде при комнатной температуре – до 90 дней. Кипячение в воде вызывает его гибель в течение 1-2 мин., а температура +60°C – в течение 30 мин., 0,1% раствор гидроксида натрия при температуре +18-20°C убивает микроорганизмы в течение 3 ч., а 0,5% – через 35-85 мин; 3-5%-ный раствор фенола или формалина – 1-5 мин. Бактерия сохраняет устойчивость в 2%-ном растворе перекиси водорода 15 мин., в 0,5%-ном растворе формальдегида – 30 мин.

Патогенность. Бактерии рода *Hafnia* нередко обнаруживают у млекопитающих, включая человека, в различных продуктах животного происхождения, в частности, молочных, а также в таких объектах окружающей среды, как вода открытых водоемов, сточные воды, почва, с поверхности различных овощей. Выделяются при кишечных инфекциях (напр., ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных), уроинфекциях, пневмонии, сепсисе. Бактериологическое исследование проводят так же, как при выделении других условно-патогенных энтеробактерий.

Некоторые штаммы гафний (до 30%) продуцируют бактериоцины.

Род *Erwinia*

Историческая справка, таксономия. Первые упоминания о роде *Erwinia*, входящем в трибу *Erwinieae*, относятся к 1917–1920 гг., когда по предложению ряда американских бактериологов был создан новый род, объединивший патогенные для растений бактерии. Род был назван *Erwinia* в честь известного специалиста в области патологии растений Erwin F. Smith, который однако не считал обоснованным объединение в одном роду многообразных бактерий лишь по признаку их патогенности для растений. Типовым видом рода *Erwinia* стал *Erw. amylovora*, возбудитель бактериального ожога груши.

Несколько видов эрвиний иногда выделялись в отдельный род *Pectobacterium*, но к концу 1990-х годов этот род перестал использоваться, хотя и был одобрен. В 1998 году Хаубен с соавторами на основании изучения 16S рРНК предложил восстановить его и отнес к роду *Pectobacterium* ряд подвигов *Erw. carotovora* (как *Pec. carotovorum*), *Erw. cacticida*, *Erw. chrysanthemi* и *Erw. cypripedii* (*Pec. cacticidum*, *Pec. chrysanthemi* и *Pec. cypripedii* соответственно). Кроме того, *Erw. alni*, *Erw. nigrifluens*, *Erw. paradisiaca*, *Erw. quercina*, *Erw. rubrifaciens* и *Erw. salicis* были вынесены ими в новый род *Brenneria*. Обоснования целесообразности выделения рода *Pectobacterium*, однако, большей частью научного сообщества не были признаны убедительными. В настоящее время для видов спорного таксономического положения используются оба синонима, а классификация рода *Erwinia* периодически пересматривается. Так, подвидам *Pec. carotovorum* (син. *Erw. carotovora*) предложено придать ранг вида (*Pec. atrosepticum*, *Pec. betavascularum* и *Pec. wasabiae*), а *Pec. chrysanthemi* (син. *Erw. chrysanthemi*) и *Brenneria paradisiaca* (син. *Erw. paradisiaca*) перенести в род *Dickeya*. Типовым видом является *Erw. amylovora*.

Genus. *Erwinia*

1. *Erwinia amylovora*.
2. *Erwinia aphidicola*.
3. *Erwinia billingiae*.
4. *Erwinia mallotivora*.
5. *Erwinia persicina*.
6. *Erwinia psidii*.
7. *Erwinia pyrifoliae*.
8. *Erwinia rhapontici*.
9. *Erwinia tracheiphila*.

Морфология. Грамотрицательные палочки 1-3 х и 0,5-1 мкм, подвижны (перитрихи), спор и капсул не образуют, одиночные, в парах и иногда в коротких цепочках.

Культуральные свойства. Аэробы или факультативные анаэробы. Оптимальной температурой для их роста является +25-27°C, при +37°C они могут не расти или давать скудный, замедленный рост. По культуральным характеристикам их сравнивают с колиформными энтеробактериями.

Erw. amylovora на МПА образует круглые, маленькие, с ровными краями, иногда опалесцирующие, маслянистой консистенции колонии. На МПБ обра-

зуют небольшую зернистую пленку, при этом бульон мутнеет.

Биохимические свойства. Катаболизируют глюкозу и другие углеводы с образованием кислоты; газ большинство видов не образуют. Реакция Фогеса-Проскауэра положительная. По лизин- и орнитиндекарбоксилазе, а также аргининдегидролазе – отрицательные. Нитраты большинство видов не восстанавливают. Как источники углерода и энергии используют ацетат, глюконат, малат, сукцинат и фумарат, но не бензоат, оксолат или пропионат.

Антигенная структура. Антигенная структура представлена О- и Н-антигенами.

Устойчивость. Такая же, как и всех энтеробактерий.

Патогенность. Представители рода *Erwinia* являются паразитами, сапрофитами или составной частью эпифитной микрофлоры растений, их находят и в семенах растений, и во фруктах, в травах, почве и воде. Фитопатогенные бактерии этого рода могут вызывать некрозы, ожоги и увядания, а также типичные «мокрые» или «мягкие» гнили, которые относятся к паренхиматозным, сосудистым и гиперпластическим заболеваниям. Например, бактерии вида *Erwinia amylovora* являются возбудителем ожога яблонь и груш; *Erw. rhapontici* вызывает гниль ревеня и гиацинтов, порчу зерна пшеницы; *Erw. tracheiphila* – сосудистое увядание тыквенных.

Начиная с 60-х годов, в научных изданиях участилось появление сообщений о выделении эрвиний из различных материалов от животных, а также от здоровых и больных людей (из мочи, желчи, испражнений, крови, спинномозговой жидкости, отделяемого ран; гноя, мокроты и других клинических образцов) и при внутрибольничных инфекциях.

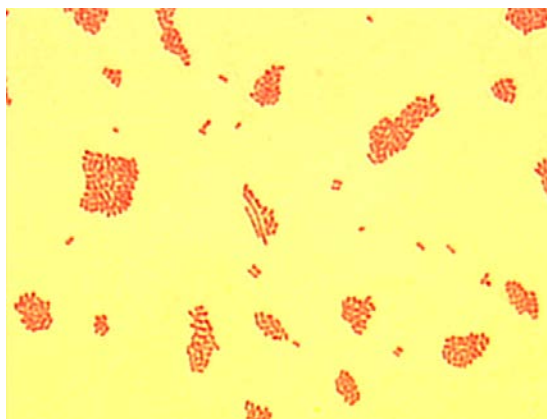
Род *Providencia*

Историческая справка, таксономия. Бактерии рода *Providencia* ранее относили к роду *Proteus*, но выявленные биохимические отличия (неспособность образовывать сероводород, ферментировать глюкозу с образованием газа, инертность к различным углеводам – мальтозе, трегалозе, сахарозе, ксилозе и др.), а также исследования ДНК послужили основанием для выделения бактерий в отдельный род. Самостоятельное название род *Providencia* получил лишь в 1963 году на основе Международной классификации семейства *Enterobacteriaceae*. Типовой вид: *Prov. alcalifaciens*.

Genus. *Providencia*

1. *Providencia alcalifaciens*.
2. *Providencia heimbachae*.
3. *Providencia rettgeri*.
4. *Providencia rustigianii*.
5. *Providencia stuartii*.

Морфология. Прямые грамотрицательные палочки размером 0,6-0,8 x 1,5-2,5 мкм. Подвижны (перитрихи), спор и капсул не образуют, располагаются одиночно, парами, скоплениями, иногда короткими цепочками (микротофо 13).



Микрофото 13 – *Providencia rettgeri* (окраска по Граму)
(фото с сайта

<https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/prov.htm>)

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. Температурный оптимум для роста бактерий $+37^{\circ}\text{C}$. Трудно дифференцируются от представителей родов *Proteus* и *Morganella*. Посевы проводят на дифференциально-диагностические среды Эндо, Левина, Плоскирева.

На среде Эндо образуют блестящие, прозрачные небольших размеров колонии бледно-розового цвета, нередко имитирующие рост шигелл (рисунок 6).

На среде Плоскирева колонии прозрачные, желтоватого оттенка. До 25% штаммов *Prov. stuartii* и 40% штаммов *Prov. rettgeri* на простом агаре могут давать феномен роения в виде деревьев, протуберанцев, но не концентрических тел, как у *Pr. vulgaris*. Установлено, что значительно большее число штаммов способно к роению после инкубации при температуре $+30^{\circ}\text{C}$ или при снижении плотности агара (1,3%). Рекомендуют использовать среду с колистином (100 мкг/мл), инозитом (1%), на котором провиденции образуют большие желтые колонии.

Можно использовать РАМ-агар Сениора, в состав которого входят галактоза, ксилоза и манит. Колонии провиденции на этой среде имеют красный цвет, в то время как у всех других оксидазо-отрицательных бактерий они лимонно-желтые.



Рисунок 6 – рост *Providencia rettgeri* (лактозонегативные штаммы) на среде Эндо

(фото с сайта <http://www.bacteriainphotos.com/providencia%20rettgeri.html>)

Биохимические свойства. Провиденции ферментируют углеводы с образованием кислоты (таблица 18). Они в большинстве случаев лактозонегативные, за исключением отдельных изолятов *Prov. rettgeri*, проявляющих лактозоферментирующую активность, детерминированную генами плазмиды передаваемой при конъюгации. Особенно часто такие штаммы провиденций выделяют от больных с инфекцией мочевыделительной системы.

Таблица 18 – Биохимические свойства бактерий рода *Providencia*

Тест	<i>Prov. alcalifciens</i>	<i>Prov. heimbachae</i>	<i>Prov. rettgeri</i>	<i>Prov. rustigianii</i>	<i>Prov. stuartii</i>
Индол	+	-	+	+	+
Среда Симмонса	+	-	+	(-)	+
Гидролиз мочевины	-	-	+	-	x
Рост в присутствии KCN	+	-	+	+	+
Образование газа из D-глюкозы	(+)	-	-	x	-
Образование кислоты из:					
D-адонитола	-	+	+	-	-
D-арабитола	-	+	+	+	-
D-галактозы	-	+	+	-	+
миоинозитола	-	x	+	-	+
D-маннитола	-	-	+	-	-
L-рамнозы	-	+	x	-	-
трегалозы	-	-	-	-	+

Провиденции образуют индол (исключая *Prov. heimbachae*), реакция с метилротом положительная, Фогеса-Проскауэра – отрицательная. Не расщепляют лизин, аргинин и орнитин. Не проявляют уреазной активности (за исключением *Prov. rettgeri*). Не образуют сероводород (исключая *Prov. stuartii*). Характерно дезаминирование фенилаланина и триптофана, разложение тирозина.

При выделении провиденций необходимо ставить тесты биохимического дифференцирования прежде всего от шигелл и морганелл.

Антигенная структура. Антигенная структура представлена O- и H-антигенами. Первая антигенно-диагностическая схема разработана в 1954 году Ewing с соавт., в последствии она была дополнена и в настоящее время включает 62 O-группы и 32 H-антигена. В общей сложности сейчас известно более 150 сероваров провиденций.

Устойчивость. Такая же, как и всех энтеробактерий.

Патогенность. Провиденции – условно-патогенные бактерии. Природный резервуар провиденций – человек (основной) и пингвины. Широко распространены в природе: в воде, почве, пищевых продуктах, в сточных водах, на расте-

ниях, выделяют от животных и человека при гнойно-воспалительных процессах и наиболее часто – из содержимого кишечника. Вызывают кишечные (напр., ассоциированную кишечную инфекцию молодняка животных), респираторные, урогенитальные гнойно-воспалительные заболевания.

Все виды выделяют из фекалий при диарее, из мочи при инфекциях мочевыводящих путей, из гнойного отделяемого ран, ожоговых поражений, а также из крови.

Род *Pantoea*

Историческая справка, таксономия. Род *Pantoea* описан в 1989 году. Его образуют бактерии, ранее относимые к комплексу *Ent. agglomerans* (*Ent. agglomerans*, *Erw. herbicola*, *Erw. milletiae*). Название рода указывает на экологические различия его членов (*Pantoea* от греч. «собранные отовсюду»).

Genus. *Pantoea*

1. *Pantoea agglomerans* (син. *Erwinia herbicola*).
2. *Pantoea ananatis*.
3. *Pantoea citrea*.
4. *Pantoea dispersa*.
5. *Pantoea punctata*.
6. *Pantoea stewartii*:
 - a. *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*;
 - b. *Pantoea stewartii* subsp. *Indologenes*.
7. *Pantoea terrea*.

Морфология. Род представлен грамотрицательными подвижными прямыми палочками (кроме *Pan. stewartii*) размером 0,5-1 x 1-3 мкм. Спор и капсул не образуют, располагаются одиночно, парами, беспорядочно.

Культуральные свойства. Бактерии рода *Pantoea* являются факультативными анаэробами. Оптимальная температура для роста бактерий составляет +30°C. Они хорошо растут на обычных жидких, плотных питательных средах и селективно-диагностических средах. По культуральным характеристикам их сравнивают с колиформными бактериями. *Pan. agglomerans* обладает способностью образовывать желтый пигмент, подобный каротиноидному (рисунок 7).



Рисунок 7 – рост *Pantoea agglomerans* на шоколадном агаре
(фото с сайта http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Pantoea&lang=1)

Биохимические свойства. *Pan. agglomerans* ферментируют глюкозу, чаще – без образования газа; постоянно ферментируют маннит, мальтозу, сахарозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу; вариабельно относятся к лактозе, инозиту, салицину и глицерину. Они отрицательны в реакции с метиловым красным, но вариабельны в реакции Фогеса-Проскауэра и при утилизации малоната, не образуют индол и сероводород, не гидролизуют мочевины, разжижают желатин, растут на цитратной среде Симмонса (таблица 19).

Таблица 19 – Биохимические свойства *Pantoea agglomerans*

Тесты или субстраты	Реакция	Тесты или субстраты	Реакция
Адонит	–	Индол	–
Арабиноза	+	Сероводород	–, +
Глюкоза (газ)	–	Мочевина (гидролиз)	–
Глицерин	х	Желатин (22°C)	+
Дульцит	–	Фенилаланиндезаминаза	х
Инозит	х	Лизиндекарбоксилаза	–
Ксилоза	+	Аргининдегидролаза	–
Лактоза	х	Орнитиндекарбоксилаза	–
Мальтоза	+	Цитрат Симмонса	+
Маннит	+	Малонат	х
Рамноза	+	Ацетат	х
Салицин	х	Трегалоза	+
Сахароза	+	Эскулин	х
Сорбит	х	KCN	х
Реакция Фогеса-Проскауэра	х	Пигмент	+, –
Реакция с метиловым красным	–	Подвижность	+, –

Pan. agglomerans ведут себя вариабельно в тесте на фенилаланиндезаминазу, но отрицательно – в тестах на лизин- и орнитиндекарбоксилазы и аргининдегидролазу, что в совокупности помогает дифференциации их от ряда родов энтеробактерий.

Pan. dispersa дифференцируют от *Pan. agglomerans* по отсутствию гидролиза эскулина, ферментации салицина, утилизации малоната и наличию у большинства штаммов фенилаланиндезаминазы (таблица 20).

Таблица 20 – Дифференциация видов рода *Pantoea*

Тест	<i>Pan. agglomerans</i>	<i>Pan. dispersa</i>
Фенилаланиндезаминаза	(+)	-
Малонат	+	-
Образование кислоты из:		
L-арабинозы	+	x
глицерола	-	(-)
мио-инозитола	-	x
лактозы	(-)	-
салицина	+	-
муката	-	x
Тартрат (среда Джорданса)	-	x
Гидролиз эскулина	+	-
Восстановление нитрата	+	x

Антигенная структура представлена O- и H-антигенами.

Устойчивость такая же, как и всех энтеробактерий.

Патогенность. Сапрофиты, обнаруживаются на поверхности овощей, фруктов, их выделяют из почвы, воды, с поверхности растений, семян, в организмах животных, насекомых; обуславливают оппортунистические инфекции у человека (раневая инфекция, поражения дыхательных путей, конъюнктивы и др.) и животных на фоне иммуносупрессии. Патогенные свойства изучены плохо.

Лабораторная диагностика ассоциированной кишечной инфекции.

Диагноз на ассоциированную кишечную инфекцию в хозяйствах устанавливают на основании совокупности эпизоотологических данных (возраст заболевших животных, массовость поражения, стационарность и др.), клинических признаков болезни, патологоанатомической картины и результатов бактериологического (при необходимости еще и вирусологического) исследования патологического материала от больных или погибших животных. Лабораторную диагностику проводят согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике ассоциированной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», утвержденным ГУВ МСХ и П РБ 17.12.2007 за № 10-2-5/1107 [7].

Материал для исследования – 2-4 свежих трупа погибших или убитых с диагностической целью больных животных (желательно не подвергавшихся лечению антибактериальными препаратами). В случае невозможности доставки целого трупа посылают голову, трубчатую кость, сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза сосудов и аорты, селезенку, долю печени с желчным пузырем, брыжеечные узлы, регионарные воспаленному участку кишечника, а также пораженный участок тонкого отдела кишечника, перевязанный с двух концов лигатурой (в отдельной посуде). Указанный патматериал исследуют в день поступления его в лабораторию. Для прижизненной бактериологической диагно-

стики посылают фекалии больных диареей животных, не подвергавшихся лечению антибиотиками.

Патматериал (исключая содержимое кишечника и фекалии) засевают на МПБ, скошенный МПА и плотные дифференциально-диагностические среды в чашках Эндо (или Левина) и Плоскирева. Содержимое тонкого отдела кишечника и фекалии засевают только на указанные выше плотные среды в чашках. Для выделения из фекалий сальмонелл неразведенные пробы фекалий засевают еще в одну из сред обогащения (селенитовый бульон, магниевую, Мюллера или др.) в соотношении 1:5.

Пробирки с посевами в МПБ, на МПА, Эндо, Плоскирева инкубируют при +37-38°C в течение 18-24 ч. При наличии в МПБ помутнения среды культуру микроскопируют и в случае обнаружения грамотрицательных палочек пересевают на среду Эндо (Левина) и Плоскирева (при отсутствии роста на дифференциальных средах). При наличии колоний подобных на рост эшерихий или сальмонелл дальнейшую диагностику ведут согласно методическим рекомендациям по диагностике сальмонеллеза и колибактериоза [7].

При наличии на агаре Эндо (Левина) роящегося налета, характерного для протей, пересевают его на скошенный МПА (культуры из 2-3 внутренних органов, тканей или фекалий). Следует учитывать, что у бактерий рода *Proteus* встречаются нероящиеся штаммы, образующие при росте на плотных питательных средах мелкие круглые колонии S- формы сероватого цвета. Важными признаками родовой идентификации таких штаммов является их способность дезаминировать фенилаланин и разжижать желатин.

После просмотра культур на дифференциальных средах проводят пересев их на МПБ и МПА (по 1-2 колонии с культур из 2-3 внутренних органов, тканей или фекалий, каждую колонию отдельно в пробирку). У выделенных культур исследуют ферментативные, патогенные и антигенные свойства, а также (при необходимости) определение подвижности в полужидком МПА. Из ферментативных свойств изучают ферментацию глюкозы, лактозы, сахарозы, маннита, мальтозы, а также мочевины, выделение сероводорода, аммиака, рост на агаре Симмонса, МПЖ, на среде с фенилаланином, при необходимости проводят дополнительные тесты (таблица 21, приложение).

Родовую и видовую принадлежность культур устанавливают по показателям биохимической активности, морфологическим и культуральным свойствам. Изучение ферментативных свойств культур энтеробактерий можно проводить также с помощью тест-системы для биохимической идентификации энтеробактерий. Серологическую идентификацию культур энтеробактерий ведут в соответствии с действующими методическими указаниями в РА с типовыми агглютинирующими сыворотками.

Патогенные свойства определяют у культур бактерий, относящихся к родам *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, а также родам *Escherichia* и *Morganella*, *Shigella*, не имеющих адгезивных антигенов и не типизируемых по О-антигену, в биопробе на белых мышах. Для определения патогенных свойств бактерий используют агаровые культуры вышеуказанных микроорганизмов, выделенные из двух внутренних органов и тканей погибших или фекалий больных животных.

С каждой из двух культур одного вида бактерий готовят смывы стерильным физиологическим раствором, устанавливают взвесь бактерий в концентрации 1 млрд микробных клеток/см³ (10 единиц по оптическому стандарту мутности), после чего их смешивают в равной пропорции. Взвесьми культур каждого вида бактерий заражают по три белые мыши массой 14-15 г внутрибрюшинно в дозе 0,5 млрд микробных клеток. Культуру признают патогенной в случае гибели двух и более мышей в течение трех суток после заражения и относят ее к возбудителю болезни.

Таблица 21 – Биохимические свойства некоторых видов и родов семейства *Enterobacteriaceae*

Род, вид бактерий	Тесты												
	Эскулин	Уреаза	Манноза	Арабиноза	Лизин-декарбоксилаза	Орнитин-декарбоксилаза	Лактоза	Сахароза	Адонит	Триптофан-дезаминаза	Индол	Маннит	Нитратредуктаза
<i>Kleb. oxytoca</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Kleb. pneumonia subsp. pneumonia</i>	+	+/-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
<i>Kleb. mobilis</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Enterobacter spp.</i>	+	-/+	+	+	+/-	+/-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	- / +	-	-	+	+
<i>Hafnia alvei</i>	-/+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>Providencia rettgeri</i>	+	+	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	+	+
<i>Providencia stuartii</i>	-	-/+	+	-	-	-	-	-/+	-	+	+	-	+
<i>Providencia alcalifaciens</i>	-	-	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	-	+
<i>Edwardsiella tarda*</i>	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>Morganella morganii</i>	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+

Род, вид бактерии	Тесты												
	Эскулин	Уреаза	Манноза	Арабиноза	Лизин-декарбоксилаза	Орнитин-декарбоксилаза	Лактоза	Сахароза	Адонит	Триптофан-деаминаза	Индол	Маннит	Нитратредуктаза
<i>Kluyvera ascorbata</i>	+	-	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+
<i>Citrobacter freundii</i> *	-	-	+	+	-	-	- / +	-/+	-	-	-	+	+
<i>Citrobacter koseri</i>	-	-	+	+	-	+	- / +	-/+	+	-	+	+	+
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	-	-	+	+	-	+	- / +	-/+	-	-	+	+	+
<i>Shigella spp.</i>	-	-	+	+/-	-	-/+	-	-	-	-	- / +	+	+/-
<i>Proteus vulgaris</i>	-/+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Proteus penneri</i>	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+

Примечания: «+» - положительный результат; «-» - отрицательный результат;
«-/+» - положительный результат у менее 50% штаммов;
«+/-» - положительный результат у более 50% штаммов;
«*» - образуют сероводород на среде Клиглера.

Бактериологический диагноз на ассоциированную кишечную инфекцию молодняка сельскохозяйственных животных устанавливают на основании выделения из патологического материала культур, принадлежащим к двум и более родам энтеробактерий: *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Yersinia* и др., а также бактерий других родов и семейств в каждом из следующих случаев:

- при выделении культур, относящихся к одному виду того или иного рода, из селезенки, печени, крови сердца, головного, костного мозга (не менее, чем из двух перечисленных органов и тканей) свежего трупа животного или убитого клинически больного животного без определения их патогенности для белых мышей и установления серогрупповой принадлежности;

- при выделении из патологического материала культур, относящихся к вышеуказанным возбудителям на основании результатов серологической идентификации (*Escherichia*, *Salmonella*);

- при выделении культур, относящихся к одному виду того или иного рода,

обладающих патогенностью для белых мышей.

Общий срок бактериологического исследования патологического материала – до 7 суток. При необходимости определяют антибиотико-чувствительность каждого вида выделенной бактериальной культуры.

Иммунитет, средства специфической профилактики болезни и лечения животных. Иммунитет изучен слабо. При выделении из патологического материала патогенных эшерихий, сальмонелл проводятся мероприятия согласно инструкциям по профилактике данных заболеваний. Соблюдаются зоогигиенические правила содержания и кормления сельскохозяйственных животных.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Список использованной литературы

1. Классификация возбудителей инфекционных болезней бактериальной этиологии : учебно-методическое пособие для преподавателей, сотрудников НИИ, ветеринарных работников, студентов и слушателей факультета повышения квалификации и переподготовке кадров / В.Н. Алешкевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 84 с.
2. Лысак, В.В. Важнейшие группы микроорганизмов : пособие / В.В. Лысак, О.В. Фомина. – Минск : БГУ, 2012. – 92 с.
3. Лысак, В.В. Микробиология : учебное пособие / В.В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 426 с.
4. Поздеев, О.К. Медицинская микробиология : учебник для вузов / О.К. Поздеев ; под ред. В.И. Покровского. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2007. – 765 с.
5. Практикум по частной микробиологии : учебное пособие для студентов сельскохозяйственных вузов по специальности «Ветеринарная медицина» / А. А. Солонко [и др.]. – Минск : Ураджай, 2000. – 250 с. : ил.
6. Радчук, Н.А. Ветеринарная микробиология и иммунология / Н.А. Радчук, Г.В. Дунаев, Н.М. Колычев ; под ред. Н.А. Радчука. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 383 с.
7. Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии / сост. А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская. – Минск : Белтаможсервис, 2008. – 824 с.
8. Сиволодский, Е.П. Систематика и идентификация энтеробактерий / Е.П. Сиволодский. – Санкт-Петербург: ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, 2011. – 21 с.
9. Энтеробактерии : руководство для врачей / И.В. Голубева [и др.] ; под ред. В.И. Покровского. – Москва : Медицина, 1985. – 321 с.
10. Энтеробактерии в животноводстве / Л. К. Эрнст [и др.] ; под ред. академика РАСХН Л.К. Эрнста. – Москва : ВНИТИБП РАСХН, 2011. – 342 с.
11. Garrity, G.M. Bergey, Second Edition, Vol. 2, Proteobacteria / G.M. Garrity, D.J. Brenner, N.R. Krieg // Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manual of systematic [Electronic resource]. – 2005. – Mode of access : http://books.google.by/books/about/Bergey's_Manual_of_Systematic_Bacter.htm?id=5zSYmcq0GdgC&redir_esc=y. – Date of access : 17.03.2013.
12. Huys, G. *Hafnia paralvei* sp. nov., formerly known as *Hafnia alvei* hybridization group 2 / G. Huys, M. Cnockaert, S.L. Abbott // International Journal of Systematics Evol. Microbiology. – 2010. – Aug. – Vol.60, Pt. 8. – P. 1725–1728.
13. Shiga toxin / verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU / EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104 / Technical Report of EFSA / ECDC. – Mode of access : http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1_106_TER_EColi_joint_EFSA.pdf. – Date of access : 17.03.2013.

Дифференциация родов семейства *Enterobacteriaceae* по биохимическим тестам

Род микроорганизмов	Индол	Метилрот	Фогес-Проскауэр	Цитрат	Сероло-род	Мочевина	Фенилаланин	Лизин	Аргинин	Орнитин	Подвижность	Желатин	Малонат	Газ из глюкозы	Лактоза	Сахароза	Маннит	Дульцит	Салицин	Адонит	Инозит	Сорбит	Раффиноза	Раминаза
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	+	+	-	P	-	P	-	-	P	+	+	-	P	+	P	P	+	-	P	-	-	+	-	+
<i>Citrobacter diversus</i>	+	+	-	+	-	P	-	-	P	+	+	-	+	+	P	P	+	P	P	+	-	+	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	-	+	P	P	-	-	P	P	+	-	P	+	P	P	+	P	-	-	-	+	P	+
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	P	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	P	-	+	+	-	P	-	-	-	-	-
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	P	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ewardsiella tarda</i>	+	+	-	-	P	-	-	+	-	+	+	-	-	P	-	P	P	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+	-	P	-	-	+	+	+	-	P	+	+	+	+	P	P	P	P	+	+	+
<i>Enterobacter sakazakii</i>	P	P	+	+	-	-	P	-	+	+	+	-	P	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-	-	-	-	P	P	P	P	-	-	+	+	P	+	P	P	-	-	+	P	P
<i>Hafnia alvei</i>	-	P	P	-	-	-	-	+	-	+	+	-	P	+	-	-	+	-	P	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	P	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	P	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	-	+	-	P	-	-	-	P	-	-	-	-	-	P	P	P	+	-	+	+	+	P	+	P
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	-	P	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	P	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae ihinoscleromatis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	P	+	-	+	+	+	+	P	+
<i>Marganella morganii</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	P	P	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus myxofaciens</i>	-	+	+	P	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	P	+	+	+	-	-	-	+	+	-	P	-	+	-	-	P	P	-	-	-	-
<i>Salmonella I</i>	-	+	-	+	+	-	-	+	P	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella II</i>	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella III-Arizona</i>	-	+	-	+	+	-	-	+	P	+	+	-	+	+	P	-	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>Salmonella IV</i>	-	+	-	+	+	-	-	+	P	+	+	-	-	+	-	-	+	-	P	P	-	+	-	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	P	P	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	P	-	+	+	-	+	+	-	P	+	P
<i>Serratia marcescens</i>	-	P	+	+	-	P	-	+	-	+	+	+	-	P	-	+	+	-	+	+	P	+	-	-
<i>Shigella boydii</i>	P	+	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	P	-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	P	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	P
<i>Shigella flexneri</i>	P	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	P	P	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	P

Примечания: (+) - положительный результат - у 90 % шт.; (-) - отрицательный результат у 90% шт.; p - различные реакции у разных шт.

УО «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины является старейшим учебным заведением в Республике Беларусь, ведущим подготовку врачей ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарных врачей, провизоров ветеринарной медицины и зооинженеров.

Вуз представляет собой академический городок, расположенный в центре города на 17 гектарах земли, включающий в себя единый архитектурный комплекс учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 5 факультетов: ветеринарной медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; заочного обучения; довузовской подготовки, профориентации и маркетинга. В ее структуру также входят Аграрный колледж УО ВГАВМ (п. Лужесно, Витебский район), филиалы в г. Речице Гомельской области и в г. Пинске Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМиБ).

В настоящее время в академии обучается около 6 тысяч студентов, как из Республики Беларусь, так и из стран ближнего и дальнего зарубежья. Учебный процесс обеспечивают около 350 преподавателей. Среди них 7 академиков и членов-корреспондентов Академии наук, 25 докторов наук, профессора, более чем две трети преподавателей имеют ученую степень кандидатов наук.

Помимо того, академия ведет подготовку научно-педагогических кадров высшей квалификации (кандидатов и докторов наук), переподготовку и повышение квалификации руководящих кадров и специалистов агропромышленного комплекса, преподавателей средних специальных сельскохозяйственных учебных заведений.

Научные изыскания и разработки выполняются учеными академии на базе НИИ ПВМиБ, 24 кафедральных научно-исследовательских лабораторий, учебно-научно-производственного центра, филиалов кафедр на производстве. В состав НИИ входит 3 отдела: научно-исследовательских экспертиз, биотехнологический, экспериментально-производственных работ. Располагая уникальной исследовательской базой, научно-исследовательский институт выполняет широкий спектр фундаментальных и прикладных исследований, осуществляет анализ всех видов биологического материала (крови, молока, мочи, фекалий, кормов и т.д.) и ветеринарных препаратов, кормовых добавок, что позволяет с помощью самых современных методов выполнять государственные тематики и заказы, а также на более высоком качественном уровне оказывать услуги предприятиям агропромышленного комплекса. Активное выполнение научных исследований позволило получить сертификат об аккредитации академии Национальной академией наук Беларуси и Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь в качестве научной организации.

Обладая большим интеллектуальным потенциалом, уникальной учебной и лабораторной базой, вуз готовит специалистов в соответствии с европейскими стандартами, является ведущим высшим учебным заведением в отрасли и имеет сертифицированную систему менеджмента качества, соответствующую требованиям ISO 9001 в национальной системе (СТБ ISO 9001 – 2009).

www.vsavm.by

210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11, факс (0212)51-68-38,
тел. 53-80-61 (факультет довузовской подготовки, профориентации и маркетинга);
51-69-47 (НИИ ПВМиБ); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

Учебное издание

Алешкевич Виталий Николаевич,
Вербицкий Анатолий Анатольевич,
Корочкин Рудольф Борисович и др.

ЭНТЕРОБАКТЕРИИ В ПАТОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск А. А. Вербицкий
Технический редактор Е. А. Алисейко
Компьютерный набор А. К. Глод
Компьютерная верстка и корректор Е. В. Морозова

Подписано в печать 13.03.2017. Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.
Печать ризографическая. Усл. п. л. 5,50. Уч.-изд. л. 4,88.
Тираж 250 экз. Заказ № 1656.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/362 от 13.06.2014.
ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 51-75-71.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
<http://www/vsavm.by>

ISBN 978-985-512-958-6

