

О МЕТОДИКЕ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ РОЖИ СВИНЕЙ ИЗ ПОЧВЫ, КАЛА И ДРУГИХ МАТЕРИАЛОВ

Методы выделения чистых культур возбудителей бактериальных инфекций из почвы, навоза, кала, кормов, воды естественных водоемов и других материалов являются наиболее актуальной и в то же время наименее разработанной областью практической бактериологии. Исследования в этом направлении начаты в конце прошлого столетия Р. Кохом и его учениками, предложившими плотные питательные среды (желатин и картофель) для выделения чистых культур бактерий из почвы, воды и воздуха. Последующие многочисленные исследования привели к созданию и применению различных питательных сред: элективных, для накопления, индикаторных, дифференциальных, диагностических, специальных и других, на которых отдельные виды микробов получают возможность преобладающего развития и накопления, что облегчает их выделение.

Большинство питательных сред были предложены для выделения бактерий обширного кишечного семейства, микобактерий туберкулеза и некоторых других. Конради и Дригальский первые предложили среду с кристаллвиолетом для выделения бактерий кишечного тифозной группы, Эндо — среду для выделения тифозных и паратифозных бактерий. Ряд исследователей изменяли среду Эндо, добавляя к ней различные вещества для подавления вульгарной, сапрофитирующей микрофлоры, не действующие на паратифозные, дизентерийные и тифозные бактерии: И. Е. Минкевич и Д. Я. Рабинович ввели трипафлавин, А. А. Эггер — фенол, М. Г. Киченко — розоловую кислоту и т. д. Для этой же цели предложены элективные среды с анилиновыми

красками, солями желчных кислот, хлористым натрием, антибиотиками и др. Что касается других видов патогенных бактерий, то методика их выделения из естественных субстратов разработана неполно, а для некоторых ее совсем нет. Недостаточно разработана методика выделения бактерий рожи свиней из объектов внешней среды и кала животных.

А. И. Мершант (1946) для выделения возбудителя рожи свиней из загрязненных материалов предложил питательную среду: мясо-пептонный агар с содержанием в нем кристаллвиолета 1 : 100 000 и азида натрия 1 : 1000. Сент Иваня (1951) для выделения бактерий рожи свиней из кала и почвы использовал мясо-пептонный агар с содержанием кристаллвиолета 1 : 200 000 и азида натрия 1 : 5000. Тилга В. В. (1958) для изоляции бактерий рожи свиней из почвы, кала и мочи свиней изменил среду Сента Иваня, добавив к МПА кристаллвиолет 1 : 150 000 и азид натрия 1 : 4000.

Обоснование этих прописей следующее. Исследуемые материалы (почва, навоз, кал и др.) содержат разнообразную грамположительную микрофлору, которая подавляется кристаллвиолетом, и грамотрицательные бактерии, не развивающиеся в присутствии азида натрия. В примененных концентрациях указанные компоненты среды не препятствуют развитию возбудителя рожи свиней.

Предлагаемые исследователями различные концентрации краски и азида натрия, вероятно, обуславливаются тем, что употребляемые ими химические вещества имели различную степень чистоты и активности.

Мы в своей работе не использовали полностью компоненты указанных авторов. В частности, мы не применяли азид натрия, так как это вещество нестойкое, трудно синтезируется, обладает специфическими свойствами. Вместо него после испытания ряда препаратов, способных подавлять грамотрицательную микрофлору, принимая во внимание способность бактерий рожи свиней оставаться жизнеспособными в щелочной среде при рН 9,5 (Пирогов, 1926) и учитывая, что основания являются ингибиторами дыхательных ферментов у грамотрицательных бактерий (Дюбо, 1945), мы остановились на едком натрии, добавляемом в таком количестве, чтобы довести рН среды до 9,4—9,5.

Результаты посевов различных материалов, содержащих возбудителя рожы свиней

Что засеяно	Количество опытов	Результаты посева
Чистые культуры возбудителя	32	Обильный рост бактерий рожы свиней в виде типичных колоний через 36—48 часов
Почва, искусственно инфицированная культурами возбудителя рожы свиней	5	Рост типичных, характерных для бактерий рожы свиней колоний через 36—48 часов; одиночные колонии бактерий типа сенной палочки
Каловые массы свиней, искусственно инфицированные культурами возбудителя рожы свиней	3	Рост бактерий возбудителя рожы свиней в виде типичных колоний. Редкие колонии бактерий типа кишечной палочки
Содержимое кишечника крыс и мышей, искусственно инфицированное культурами возбудителя рожы свиней	12	Рост типичных, характерных для бактерий рожы свиней колоний; редкие колонии других бактерий
Содержимое кишечника белых мышей, павших от экспериментальной рожы свиней	10	Умеренный рост бактерий рожы свиней в виде типичных колоний; одиночные колонии других бактерий
<i>Контроль</i>		
Чистые культуры кишечной палочки	29	Роста нет в течение 10 суток
Нестерильная почва	15	Рост отсутствует, в трех пробах одиночные колонии бактерий типа сенной и картофельной палочек
Каловые массы здоровых белых мышей	2	Рост одиночных колоний бактерий типа кишечной палочки

Для подавления грамположительной микрофлоры мы применили кристаллвиолет, который в наших опытах оказался активным в разведении 1 : 300 000. Указанное

значение рН и концентрация краски были определены путем постановки специальных исследований.

Чистые культуры возбудителя рожи свиней и кишечной палочки, почва, каловые массы свиней и содержимое кишечника крыс и мышей, искусственно инфицированных чистыми культурами бактерий рожи свиней, а также содержимое кишечника трупов белых мышей, павших от экспериментальной рожи, суспензировали в стерилизованном физиологическом растворе хлористого натрия из расчета 1:10 и высевали на мясо-пептонный агар в чашки Петри при рН 9,4—9,5 с кристаллвиолетом в концентрации 1:300 000 с расчетом получения изолированных колоний. Засеянные чашки помещали в термостат при температуре 37—38° на двое-десять суток.

Как видно из данных таблицы, бактерии рожи свиней в чистых культурах из почвы, содержимого кишечника и кала свиней, крыс и мышей на нашей среде вполне удовлетворительно развивались в течение 36—48 часов в форме типичных, характерных для данного вида микробов колоний. Другие бактерии (грамположительные и грамотрицательные), находящиеся в большом количестве в указанных материалах, явно были подавлены, не развивались или вырастали значительно позднее в виде одиночных колоний, не мешающих росту возбудителя рожи свиней.

Имеется полная возможность изолировать колонии, растущие аналогично бактериям рожи свиней, с последующей их дифференциацией и определением.

После окончания опытов по данной теме мы ознакомились с работой Д. Ш. Ахмерова (1960), который в подтверждение данных Л. С. Пирогова и наших установил возможность развития возбудителя рожи свиней на питательных средах при рН до 10,6; однако при рН выше 9,8, по его данным, бактерии сильно изменяются в своих свойствах.

ЛИТЕРАТУРА

Ахмеров Д. Ш. 1960. К вопросу о выживаемости рожистой палочки в почве, Автореферат канд. дисс. Казань.

Дюбо Р. 1948. Бактериальная клетка. Изд-во иностранной литературы.

Киченко М. Т. 1941. Замена среды Эндо. «Лабораторная практика», 5, 6.

- Минкевич И. Е., Рабинович Д. Я. 1935. Применение среды Эндо с трипафлавином. ЖМЭИ, 14 (3).
- Вилявин Г. Д. 1955. Эризипелонд. М., Медгиз.
- Тилга В. В. 1958. Эпизоотология рожи свиней в Эстонской ССР. Доктор. дисс. МВА.
- Эггер А. А. Новая модификация среды карбол-Эндо. «Военно-санитарное дело», 1, 8.