Ученые записки ВВИ. - 1973. - Т. 26.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКОПЛАЗМ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ЭНЗООТИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИИ СВИНЕЙ, К НЕКОТОРЫМ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

КОЛЬЦОВА Т. Г., ЗУЕВ В. В.

При микробиологическом исследовании патологического материала от 11 вынужденно убитых поросят с признаками энзоотической пневмонии от двух животных выделены микоплазмы антигенно родственные *Mycoplasma hyorhinis*, которая описана Хубриком в ГДР при энзоотической пневмонии свиней. Выделенные штаммы микоплазм обозначали С-4 и С-8, так как были выделены они от поросят, принадлежащих совхозу «Селюты» Витебской области, стационарно неблагополучному по респираторным заболеваниям свиней. Методы выделения, морфологические и биологические свойства штаммов С-4 и С-8 описаны нами в Ученых записках Витебского ветеринарного института (Т. Г. Кольцова, В. В. Зуев, Т. И. Малахова, 1972).

В связи с тем, что патогенные свойства микоплазм, выделенных при энзоотической пневмонии свиней и других заболеваниях сельскохозяйственных животных, установлены рядом исследователей (Д. Ф. Осидзе, В. В. Зуев, Т. И. Трапезникова, 1967; В. В. Зуев, Д. Ф. Осидзе, 1970; Т. И. Малахова, В. В. Зуев, Л. А. Павлович, Д. Ф. Осидзе, 1970; Х. З. Гафаров, 1970; П. И. Притулин, 1970; Р. В. Душук, 1971; Я. Р. Коваленко, М. А. Сидоров, Э. А. Шегидевич, 1971; Т. Г. Кольцова, В. В. Зуев, Т. И. Малахова, 1972; T. Hubrig, 1966, 1969; I. Sorodoe, T. Hubrig, D. Schimmel, 1967; N. T. Fries, 1970, и др.), одним из важных вопросов является изучение их чувствительности к действию некоторых физико-химических факторов. Эти исследования необходимы в целях успешной идентификации и хранения микоплазм, а также для разработки лечебных и профилактических мероприятий.

Целью наших исследований было определение чувствительности микоплазм (штаммы С-4 и С-8) к различным температурам, эфиру и хлороформу, дезинфицирующим веществам и к лиофильному высушиванию.

Изучая влияние температуры 60°, микоплазмосодержащую аллантоисную жидкость с титром 10^6 ЕЛД$_{50/мл}$ в разведении 1:10 разливали в пробирки по 1 *мл*, помещали в ультратермостат при 60° и выдерживали 30 и 60 минут. При определении влияния температуры 100° в пробирку с аналогичным материалом вводили термометр и помещали ее в сосуд с кипящей водой. Заданную температуру поддерживали 1—5 минут. Результаты термоинактивации микоплазм проверяли путем заражения куриных эмбрионов.

Титрованием материала, прогретого при температуре 60° в течение 60 минут, установили понижение титра микоплазм на 4,0—4,5 логарифма, температура 100° в течение одной минуты вызывала полную инактивацию этих микроорганизмов.

При определении устойчивости микоплазм к дезинфицирующим веществам готовили 0,5; 1; 2 и 5%-ные растворы едкого натра, молочной кислоты, фенола, формальдегида и разливали в пробирки по 4,5 *мл*. Контролем была дистиллированная вода в том же объеме. Во все пробирки вносили по 0,5 *мл* бульонной культуры микоплазм, перемешивали и после минутной экспозиции высевали содержимое пробирок на полутвердый агар. Посевы инкубировали в термостате 5—6 суток и просматривали под малым увеличением микроскопа, чтобы выявить рост колоний.

Исследованиями установлено, что микоплазмы инактивировались в течение минуты в результате воздействия 0,5%-ного раствора формальдегида, 0,5%-ного раствора молочной кислоты, 1%-ного раствора едкого натра и 1%-ного раствора фенола.

Для определения чувствительности микоплазм к эфиру и хлороформу в качестве микоплазмосодержащего материала также использовали аллантоисную жидкость инфицированных куриных эмбрионов в разведении 1:10. К аллантоисной жидкости добавляли эфир (20%) или хлороформ (10%) и выдерживали полученную смесь при 4° в течение часа, постоянно помешивая на магнитной мешалке. После обработки эфиром аллантоисную жидкость помещали в термостат для испарения эфира. Хлороформ отделяли путем центрифугирования. В качестве контроля использовали неинфицированную аллантоисную жидкость и микоплаз-

мосодержащую аллантоисную жидкость, к которой вместо эфира и хлороформа добавляли физиологический раствор. Биологическую активность исследуемых материалов проверяли на куриных эмбрионах.

В результате серии опытов было установлено, что куриные эмбрионы, инфицированные микоплазмосодержащей аллантоисной жидкостью, обработанной эфиром и хлороформом, оставались живыми. Аналогичный материал, не подвергавшийся воздействию эфира и хлороформа, вызывал их 100%-ную гибель. Феномен высокой чувствительности микоплазм к эфиру и хлороформу может быть использован для дифференциации этих микроорганизмов от возбудителей группы ОЛТ, которые обладают устойчивостью к этим веществам.

Для лиофильного высушивания использовали микоплазмосодержащую аллантоисную жидкость инфицированных куриных эмбрионов, а в качестве стабилизаторов — обезжиренное молоко (50%) и пептон (5%) с глюкозой (1%). После перемешивания стабилизирующей среды в аллантоисной жидкости смесь разливали по 1 *мл* в ампулы емкостью 5 *мл*. Лиофилизацию проводили на установке КС-6 при следующем режиме: ампулы с материалом замораживали до —50°, доводили вакуум до 400μ. В процессе высушивания температуру постоянно повышали с —50 до 29°С при одновременном понижении вакуума до 45μ. При этой температуре досушивали в течение 3—4 часов. Степень биологической активности препаратов до и после высушивания и при длительном хранении определяли титрованием на куриных эмбрионах.

Исследования показали, что активность микоплазмосодержащей аллантоисной жидкости, высушенной без стабилизатора, снижалась на 2,0—2,5 логарифма, а со стабилизаторами (обезжиренное молоко, пептон с глюкозой) не изменялась. Лиофильное высушивание позволяет сохранить микоплазмы в биологически активном состоянии в течение двух лет (срок наблюдения).

Выводы

1. Микоплазмы (штаммы С-4,С-8), выделенные из легких и лимфоузлов свиней, больных энзоотической

пневмонией, полностью инактивируются при температуре 100° в течение 1 минуты, при нагревании до 60° через час титр снижается на 4,0—4,5 логарифма.

2. Выделенные микоплазмы высокочувствительны к некоторым химическим веществам. В результате воздействия фенола и едкого натра (1%-ные растворы), молочной кислоты и формальдегида (0,5%-ный раствор) микоплазмы инактивировались в течение минуты, а при воздействии эфира (20%) и хлороформа (10%) — через час.

3. Микоплазмы (С-4,С-8) сохраняют жизнеспособность до 2 лет (срок наблюдения) при лиофильном высушивании. В качестве стабилизаторов могут быть использованы обезжиренное молоко (50%) и пептон (5%) с глюкозой (1%).

К ПАТОГЕНЕЗУ ОТЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПОРОСЯТ

МАТЮШЕВ П. С.

Сообщение H. I. Heidrich (1966) об экспериментальной отечной болезни, успешное воспроизведение нами синдрома этой болезни у поросят инъекциями раствора гистамина, результаты биохимических исследований гистамина у здоровых и больных отечной болезнью поросят, наконец, высокая эффективность антигистаминных препаратов при этом заболевании свидетельствуют о том, что в патогенезе отечной болезни значительную роль играет избыточное накопление гистамина в крови.

Источником образования гистамина в животном организме является распространенная в тканях и органах аминокислота гистидин. Известно, что декарбоксилирование гистидина в тканях происходит под действием патогенных факторов (бактериальные токсины, проникающая радиация, гипоксия и др.) с помощью тканевой гистидиндекарбоксилазы, а в кишечнике — с помощью гистидиндекарбоксилазы бактерий (В. И. Успенский, 1963).

С целью выяснения роли гистамина, образованного в результате бактериального декарбоксилирования ги-