

Из кафедры микробиологии

Зав. каф. доц. М. Д. ЖУКОВА

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАТОГЕННОСТИ КУЛЬТУР СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ У ЖИВОТНЫХ

ДОЦ. М. Д. ЖУКОВА

Стафилококки широко распространены в природе. Среди них встречается большое количество авирулентных штаммов. В связи с этим некоторые инфекционисты и клиницисты не дооценивают роли стафилококков в патологии животных, считая этих микробов банальными и безвредными. Между тем, стафилококки часто являются виновниками гнойных процессов у животных.

Для выяснения роли стафилококков в патологии животных очень важно дифференцировать патогенные стафилококки от сапрофитных, что представляет трудную задачу.

Практиковавшиеся методы определения патогенности стафилококков, такие, как учёт величины клеток (патогенный стафилококк меньше по размеру 0,6—0,8 мкм в диаметре) имеет относительное значение. Учёт пигментообразования (золотистый пигмент характерен для патогенного стафилококка) не всегда даёт постоянный результат, так как установлено, что образование пигмента зависит от многих факторов, таких как температура, качество среды, атмосферные условия и др.

Гемолитические свойства, видимо, тоже не всегда совпадают с патогенностью стафилококка. (Нефедьева 1946 г.). Биохимическая активность, определение вирулентности и некоторых других свойств также не имеют решающего значения (Фарбротер 1940 г.).

В последние годы установлено, что патогенные стафилококки в отличие от сапрофитных обладают способностью выделять фермент коагулазу, которая свёртывает плазму крови (Морозова 1930 г., Рожанский 1932—1935 г.г.).

Согласно исследований ряда авторов, проба на коагулазу на ряду с пигментной даёт наибольший процент совпадений с вирулентностью, которая определялась на опытных животных (Чепмен и др. 1940 г.).

Работы Хесиной—Лурье (1944 г.), Речменского и Щавелевой (1946 г.), показали, что для определения патогенности стафилококков, выделяемых при патологических процессах у человека, лучшим методом является комплексное исследование, а именно: определение пигментообразования, гемолитических свойств, ферментативной активности в отношении лактозы и маннита, установление вирулентности на опытных животных, определение фермента коагулазы, фибринолиза и некоторые другие тесты.

По заключению ряда авторов, пигментообразующие и коагулирующие плазму стафилококки обнаруживали наибольшую вирулентность.

Нефедьева, изучавшая стафилококки, выделенные при пищевых отравлениях, рекомендует для определения патогенности пользоваться тестом коагуляции плазмы вместо определения гемолитических свойств, так как гемолиз наблюдается и у сапрофитных стафилококков (1946 г.).

В отношении дифференциации патогенных стафилококков, выделенных от животных, нам известна работа Слянец и Мак Леод, которые изучали культуры стафилококков, полученные из молока коров, больных маститом и от здоровых.

Авторы установили, что пробы с коагулазой и гемолизом являются наиболее надёжными для определения патогенности стафилококков (1940 г.).

Изучение ферментативных, гемолитических, редуцирующих свойств культур стафилококков, выделенных из отделяемого ран лошадей, показало, что золотистые стафилококки являются наиболее активными по своим свойствам (Жукова 1943, 1947 г. г.).

Настоящей работой ставилась задача изучения стафилококков, выделенных от животных, с целью изыскания метода дифференциации патогенных стафилококков от сапрофитных.

Нами применялся комплексный метод исследования. Изучалось пигментообразование, гемолиз эритроцитов, наличие фермента коагулазы, ферментативные свойства в отношении маннита и лактозы, фактор распространения, вирулентные свойства в опытах на животных, величина клеток. Исследованы 125 культур стафилококков. Из них 59 штаммов выделены при патологических процессах у лошадей, 4 штамма от крупного рогатого скота, 2 штамма от свиней, 4 штамма от кроликов, 2 штамма от овец.

Культуры стафилококков выделены при следующих заболеваниях у лошадей:

гнойно—некротические поражения холки	—	22	штамма;
гнойные процессы в области суставов (артриты, тендовагиниты), пролежни	—	8	"
веррукозный пододежурит	—	4	"
некроз мякишного хряща	—	2	"
некроз мякишного хряща	—	2	"
гнойные раны по поводу желудочной фистулы	—	3	"
Послеоперационные раны (осложнения после кастрации)	—	8	"
Абсцессы в разных частях тела	—	9	"
Из крови трупа лошади (диагноз неизвестен)	—	1	"
у крупного рогатого скота:			
гнойная рана в области паха	—	1	"
вагинит	—	1	"
метрит и некротический вестибюлевулвит	—	1	"
мастит	—	1	"
у свиней: из гнояников паренхиматозных органов	—	2	"
у кроликов: из абсцессов кожи	—	4	"
у овец: из паренхиматозных органов	—	2	"

Кроме того, для сравнения изучались культуры стафилококков, выделенные со слизистой оболочки носа у лошадей — 20 штаммов; выделенные из пыли воздуха — 24 " с кожи рук — 10 "

МЕТОДИКА РАБОТЫ

Для выделения чистой культуры стафилококков посе́вы производились в чашки Петри с мясо-пептонным агаром. Выделение чистых

культур и идентификация стафилококков производилась обычными методами. Пигментообразование определялось после 3-х суточного роста колоний стафилококка, на мясо-пептонном агаре в чашках Петри. Гемолитические свойства культур стафилококков изучались на 5 проц. кровяном мясо-пептонном агаре в чашках Петри (употреблялась дефибринированная кровь лошади или барана). Ферментативная активность определялась на средах с лактозой и маннитом (с индикатором Андраэ).

Вирулентность устанавливалась по Дольду на кроликах, которым внутрикожно вводилось $0,2 \text{ см}^3$ 1 миллиардной взвеси суточной агаровой культуры стафилококков. Проба на коагулазу производилась по следующей методике: оксалатная плазма лошади разбавлялась 2 частями физиологического раствора, разливалась по 0,5 в узкие пробирки и к ней добавлялось $0,2 \text{ см}^3$ суточной бульонной культуры стафилококка. Контролем служили: 1 пробирка с 0,5 плазмы и 0,2 МПБ, 2-я пробирка с 0,5 плазмы и 0,2 суточной бульонной культуры *Bact. coli* и 3-я пробирка с 0,5 плазмы и 0,2 заведомо коагулирующей культуры стафилококка. Пробирки тщательно встряхивались и ставились в термостат. Учёт производился через 1, 2, 3, 4 и 24 часа.

Фактор проницаемости изучался на кроликах по следующей методике: 0,75% раствор трипановой синьки смешивался поровну с суточной бульонной культурой стафилококка, 0,2 такой смеси вводилось внутрикожно кролику справа, а слева в то же место вводился 0,75% раствор трипановой синьки в смеси с мясо-пептонным бульоном (поровну) в дозе 0,2.

Наблюдение производилось через 4, 10 и 20—24 часа. При наличии фактора распространения, трипановая синька в смеси с культурой, обычно окрашивала в 2—3 раза большую площадь, чем та же синька в смеси с мясо-пептонным бульоном

Данные по изучению величины, пигмента, гемолитичности, ферментации маннита и лактозы, коагуляции плазмы представлены в таблице 1.

Таблица 1. Распределение стафилококков по основным их свойствам

ПИГМЕНТУ	Величине			Коагуляция плазмы	Гемолизу	Ферментации		
	малые	средние	большие			Маннита	Лактозы	
Золотистые	46	26	20	0	32	36	32	33
Белые	60	16	37	7	15	23	20	30
Лимонно-жёлтые	16	2	10	4	1	1	4	3
Без пигмента	3	0	2	1	0	0	0	0

Как показывает таблица 36,8% было золотистых стафилококков, белых — 48%, лимонно-жёлтых — 12,8% и без пигмента — 2,4%. С гемолитическими свойствами обнаружено 48%, плазмокоагулирующих — 38,4%, ферментирующие маннит в 44,8% и лактозу в 52,8%.

При сравнении свойств различных видов стафилококков отмечается ярко выраженная активность у золотистых стафилококков. Так, гемолитические свойства выражены в 78% случаев, коагуляция плазмы у 69,5% культур, тогда как у белых стафилококков гемолиз эритроцитов у 38,3% культур, плазмокоагуляция у 25%, у лимонно-жёлтого — только у 8,3%.

В зависимости от источника выделения все штаммы распределены на 4 группы: первую группу составляют культуры, выделенные при различных патологических процессах у животных, вторую группу — стафилококки, выделенные со слизистой носа у лошадей, третью группу —

стафилококки, выделенные с кожи рук и четвёртую группу—стафилококки, выделенные из воздуха. Свойства культур стафилококков по группам имеют существенные различия, что и представлено в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика культур стафилококков по группам

Источник выделения культуры	Пигменту	Величине			Гемолизу	Коагуляции плазмы	Ферментации	
		малая	средняя	большая			маннита	лактозы
Пиогенные инфекции	Золотистые 35	20	15	0	31	30	29	28
	Белые 30	10	19	1	17	12	10	20
	Лимонно-жёлтые 5	1	3	1	1	1	2	1
	Без пигмента 1	0	0	1	0	0	0	0
	Итого: 71	31	37	3	49	43	41	49
Слизистая носа лошади	Золотистые 4	3	1	0	3	2	2	3
	Белые 11	3	6	2	3	1	5	4
	Лимонно-жёлтые 3	0	3	0	0	0	1	1
	Без пигмента 2	0	2	0	0	0	0	0
	Итого: 20	6	12	2	6	3	8	8
Кожа рук	Золотистые 2	1	1	0	1	0	0	1
	Белые 4	1	2	1	1	1	1	1
	Лимонно-жёлтые 4	0	3	1	0	0	0	0
	Итого: 10	2	6	2	2	1	1	2
	Воздух	Золотистые 5	2	3	0	1	0	1
Белые 15		2	10	3	2	1	4	5
Лимонно-жёлтые 4		1	1	1	0	0	1	1
Итого: 24		5	14	4	3	1	6	7

Сравнение культур стафилококков, выделенных из различных источников, показывает, что при пиогенных инфекциях по количеству преобладают золотистые стафилококки—49,2 проц., в то время как из воздуха, с кожи рук—золотистые стафилококки—в 20 проц.

Стафилококки первой группы характеризуются активностью гемолита эритроцитов (у 67,6 проц. культур), коагуляция плазмы проявлена у 60,5 проц. в то время как у стафилококков четвёртой группы (воздух) плазмокоагуляция только у 4,1 проц. культур, гемолитические свойства у 12,5 проц.

Особенно резко выражена активность золотистых стафилококков первой группы (пиогенные инфекции), у которых гемолитические свойства обнаружены у 88,5 проц., плазмокоагуляция у 85,7 проц., тогда как у белых стафилококков гемолитические свойства у 56,6 проц., плазмокоагуляция у 40 проц., у лимонно-желтых стафилококков эти свойства выражены только у 20 проц. культур.

Вирулентность и фактор распространения изучены у 15 культур. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Источник выделения культуры	Пигмент	Виру- лентность по Дольду	Плазмо коагулаза	Гемоли- тичность	Фактор распрост- ранения	Ферментация	
						маннита	лактозы
Пиогенные инфекции лошади	Золотистые 7	7	6	7	5	7	6
	Белые 2	1	1	2	1	1	2
Воздух	Золотистые 1	0	0	1	0	1	0
	Белые 4	0	0	0	0	0	0
Кожа рук	Золотистые 1	0	0	1	0	0	0
	Итого: 15	8	7	11	6	9	8

Изучение вирулентности в опытах на кроликах, фактора распространения, реакции плазмокоагуляции, гемолитических и ферментативных свойств показало, что стафилококки, выделяемые при пиогенных инфекциях дают в большинстве положительные результаты. Однако, полного совпадения показаний по вирулентности, плазмокоагуляции и фактору распространения не имеется. Из таблицы видно, что стафилококки из воздуха и с кожи рук при наличии золотистого пигмента и гемолитических свойств, не обнаруживают фактора распространения, фермента коагулазы и дают отрицательную пробу на вирулентность по Дольду.

Таким образом, из наших исследований можно сделать следующие выводы:

1. При гнойных процессах у животных в большом количестве выделяются культуры золотистых стафилококков, которые обладают активной ферментативной способностью в отношении маннита и лактозы и большинство которых гемолизует эритроциты и коагулирует плазму.

2. Плазмокоагулирующие культуры золотистых стафилококков обнаруживали фактор распространения и давали положительную пробу на вирулентность по Дольду в большинстве случаев.

3. Культуры золотистого стафилококка, выделенные из воздуха и с кожи рук, при наличии гемолитических свойств, не имели фактора распространения и фермента коагулазы.

4. Для дифференциации патогенных стафилококков лучший метод — комплексное исследование. Как простой метод определения патогенности стафилококка можно использовать реакцию коагуляции плазмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозова. Журнал микробиологии, эпидемиологии и паразитологии, т. IX, № 3, 1930 г.
2. Рожанский. Новый хирургический архив, т. XXVII, кн. 8, 1932 г.
3. Рожанский. Советская хирургия № 5, 1935 г.
4. Чепмен и др. Журнал бактериологии т. 23 № 20, 1940 г.
5. Хесина-Лурье. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, № 6, 1944 г.
6. С. С. Речменский А. П. Щавелева. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, № 5, 1946 г.
7. Н. П. Нефедьева. Журнал Гигиена и санитария, № 7—8, 1946 г.
8. Слянец, Мак Леод. Советская ветеринария № 8—9, 1940 г.
9. Фэрбротер. Журнал патологии и бактериологии 50, № 1, 1940 г.
10. М. Д. Жукова. Труды военной ветеринарной академии, 1943 г.
11. М. Д. Жукова. Труды военной ветеринарной академии, т V, 1947 г.