

Киричук, О. В. Тарасова // Вестник дерматологи и венерологии. – 1998. – №6. – С. 16–19. 4. Степаняк І. Дерматози м'ясоїдних : поширення та лікування / І. Степаняк // Ветеринарна медицина України. – 1999. – № 11. – С. 36–37. 5. Иванова В. Н. Оценка эффективности лечения и прогнозирования течения синдрома эндогенной интоксикации у хирургических больных с гнойно – септическими осложнениями: Автореф. дис. канд. мед. наук / В. Н. Иванова. – Ставрополь, 2001.

Статья передана в печать 15.08.2013

УДК619:617–001.4

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКССУДАТА ИЗ ОЧАГОВ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ ДИСТАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ КОНЕЧНОСТЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Руколь В.М., Дубинина О.Л.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Исследования микробиологического состава экссудата из очагов гнойно-некротических поражений позволят на раннем этапе (in vitro) определить наиболее экономически выгодный препарат для подавления жизнедеятельности патогенных микроорганизмов.*

*Microbiological studies of fluid from the purulent -necrotic lesions at an early stage will allow (in vitro) to determine the most cost-effective drug to suppress the life of pathogenic microorganisms.*

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, гнойный, некротический, микробиологический состав, конечности, поражения

**Keywords:** cattle, purulent, necrotic, microbiological studies, extremities, lesions

**Введение.** На современном этапе развития животноводства вопрос о максимальном получении продукции и сохранении здоровья животных остается открытым. Из всех незаразных болезней крупного рогатого скота наиболее распространенными являются болезни конечностей, особенно копытцев и пальцев. По данным литературных источников, в некоторых хозяйствах у дойного стада заболевание копытцев и пальцев достигает от 10 до 30 % и более. Болезни дистального отдела конечностей имеют широкую распространенность и наносят значительный экономический ущерб, усиливают ротацию, чем сдерживают дальнейшую концентрацию поголовья и интенсификацию отрасли [1].

Лечение ран и гнойно-некротических болезней конечностей различной глубины и локализации остается одной из самых распространенных и непростых задач для врачей ветеринарной медицины [2, 3].

В современной ветеринарной медицине большинство специалистов отдадут предпочтение антибиотикам как универсальным лекарственным средствам. Конечно, невозможно переоценить их значение. Но вместе с тем стоит отметить, что применение любого антибактериального препарата может быть обосновано только результатами исследований по определению чувствительности микрофлоры в каждом отдельном случае. Бесконтрольное применение антибиотиков приводит к резкому повышению вирулентности возбудителей раневой инфекции. Наряду с плохим кормлением и неудовлетворительными условиями содержания это приводит к снижению резистентности организма животных.

Учитывая вышеизложенное, мы поставили задачу изучить этиологическую структуру возбудителей бактериальных инфекций гнойно-некротических поражений кожи дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота.

**Материалы и методы исследований.** Изучение этиологической структуры возбудителей бактериальных инфекций, гнойно-некротических поражений области пальцев крупного рогатого скота проводили на патматериале от 30 больных животных. Для микробиологического исследования материал отбирали с соблюдением правил асептики и антисептики - стерильным ватным тампоном, свернутым на одном конце тонко выструганной палочки, вмонтированной в ватную пробку и вставленной в стерильную пробирку. При взятии пробы пробирку открывали, тампон пропитывали экссудатом из патологического очага и вновь вставляли его в пробирку. Микробиологические исследования проводили в лаборатории диагностики РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Перед проведением микроскопии патматериал высевали на питательные среды, затем готовили мазки: на предметное стекло наносили каплю физиологического раствора, бактериологической петлей в нее вносили каплю экссудата и растирали. Мазки после высушивания и фиксации окрашивали по Граму, Михину и Ольту (на наличие капсул).

При дальнейшем исследовании проводили определение культуральных свойств. Микроорганизмы хорошо росли на простых питательных средах – МПА (мясопептонный агар) и МПБ (мясопептонный бульон) с рН 7,2-7,8 при температуре 35-37°C. Проводили посев также на МПА и МПБ с 10% сывороткой крови лошади и 1% глюкозы, МПБ с 5% дефибринированной крови и 1% глюкозы, МПБ с 6,5% NaCl, МПБ с 40% желчью, МПБ с рН-9,0.

Для получения изолированных колоний стафилококков материал (1-2 капли смывов), нанесенный на поверхность среды (молочно-солевой агар и солевой кровяной МПА с 8-10% поваренной соли и 5%

дефибрированной крови; кровяной МПА), втирали шпателем последовательно в 2-3 чашки так, чтобы он распределялся равномерно тонким слоем по всей поверхности среды. Посевы выдерживали в термостате при 37°C. Применение молочно-солевого и кровяного солевого агара проводили с целью дифференциации стафилококков от других микроорганизмов, что основано на способности стафилококков выдерживать высокие концентрации NaCl (до 10%).

Высокое содержание соли используют для задержки роста посторонней микрофлоры, а присутствие молока активизирует образование пигмента.

Помимо селективной среды (солевой кровяной агар) посевы делали на МПБ.

Изолированную колонию с солевого кровяного агара пересеивали в пробирки со скошенным МПА и МПБ; выросшую чистую культуру идентифицировали. Из части колонии готовили мазки, окрашивали по Граму и Михину (на наличие капсулы) и микроскопировали.

Видовую идентификацию микроорганизмов рода *Staphylococcus* проводили на основании изучения комплекса биологических свойств выделенных чистых культур. Такие свойства изучали на основании выраженности биохимической активности - по выделению сахаролитических и протеолитических ферментов, по расщеплению маннита (ферментация маннита свойственна патогенным видам), лактозы, сахарозы, глюкозы, фруктозы, мальтозы, ксилозы, глицерина с образованием кислоты без газа, восстановлению нитратов в нитриты, разложению крахмала, инулина, дульцина, салицина, раффинозы и образованию индола.

С целью выявления ферментативной активности *Proteus vulgaris* проводили посевы на дифференциально-диагностические среды.

Патогенные свойства микроорганизмов рода *Staphylococcus* определяли по реакции плазмокоагуляции. Реакцию плазмокоагуляции ставили для выявления фермента коагулазы. Суточную агаровую культуру микроорганизмов суспендировали в 0,5 мл цитратной кроличьей плазмы. Результаты реакции регистрировали через 1, 2, 4 и 18 ч инкубации проб в термостате при 37°C. Появление на дне пробирки студнеобразного сгустка свидетельствовало о наличии у изучаемого штамма фермента плазмокоагулазы. Лецитиназную активность выделенных стафилококков определяли на желточковой среде. Для ее приготовления к расплавленному и охлажденному до 46°C МПА стерильно добавляли 20% желточной взвеси (желток куриного яйца в 200 мл физраствора). Для подтверждения патогенности выделенной кишечной палочки готовили смыв суточной агаровой культуры и вводили трем белым мышам весом 15-18 г в дозе 500 млн. микробных клеток внутрибрюшинно. Патогенные свойства стрептококков определяли на 3-х белых мышах массой 18-20 грамм, которых заражали в дозе 0,5 мл суспензией точной культуры, выращенной на скошенном МПА, с концентрацией бактерий, соответствующей 5 Ед. по атипичному стандарту мутности. Для определения патогенности *Proteus vulgaris* 3 белых мышей заражали доз по 0,5 мл внутрибрюшинно культурой псевдомонад (из расчета 100-300 млн. микробных клеток суточной агаровой культуры на физрастворе). При проверке патогенности *Pseudomonas aeruginosa* суточную бульонную культуру в дозе 0,2-0,3 мл вводили подкожно трем белым мышам массой 18-20 г. Гемолитическую активность стафилококков определяли путем посева на кровяной агар с 5% дефибрированной крови кролика и солевой кровяной МПА с 10% NaCl и 5% дефибрированной крови. Чистую культуру, выросшую на скошенном МПА, пересеивали на вышеуказанные среды в чашках Петри.

Для определения гемолитической активности *Escherichia coli* и *Proteus vulgaris* проводили посевы на 5% кровяной агар в чашках Петри.

Серологическую идентификацию *E.coli* проводили путем постановки пластинчатой реакции агглютинации (РА) на стекле с монорецепторными O-копи сыворотками.

**Результаты исследований.** При микроскопировании в смыве обнаруживали грамположительно окрашенные кокки (диаметр 0,5-1,5 мкм), располагающиеся небольшими гроздевидными скоплениями. Некоторые из них содержались в цитоплазме лейкоцитов. Одна часть микроорганизмов имела капсулы (*Staphylococcus aureus*), а другая - нет (*Staphylococcus epidermidis*).

При микроскопировании обнаруживали грамположительные стрептококки, которые в мазках из гноя располагались в форме длинных или коротких цепочек (*Streptococcus pyogenes*). Микроскопированием обнаруживали и полиморфные палочки с закругленными концами длиной 1-3, шириной 0,3-0,6 мкм, располагающиеся одиночно, реже попарно, спор не образующих, подвижных и неподвижных сероваров, грамтрицательных. Некоторые выделенные микроорганизмы образовывали капсулу. По Ольту микробная клетка окрашивалась в красно-коричневый цвет, а капсула - в желтый. При окраске по Михину бактерии окрашивались в синий, а капсулы - в сиреневый цвет (*Escherichia coli*). Мазки из экссудата содержали также мелкие грамтрицательные палочки длиной 1,0-3,0 мкм, шириной - 0,4-0,6 мкм, не образующие капсул и спор (*Proteus vulgaris*). В зафиксированных и окрашенных по Граму мазках были также обнаружены прямые и слегка изогнутые грамтрицательные палочки с закругленными концами, размером 1-3 мкм в длину и 0,5-1 мкм в ширину, располагающиеся одиночно, парами и короткими цепочками, подвижные, спор и капсул не образующие (*Pseudomonas aeruginosa*). На второй день просматривали посевы исследуемого материала для выявления характерных особенностей выделенных микроорганизмов. При этом на плотных питательных средах обнаруживали колонии микроорганизмов размером 1-4 мм. Форма колоний была круглая, слегка выпуклая, края ровные, поверхность влажная, глянцевая. Цвет колоний был эмалево-белый и золотистый.

Таким образом, на МПА и молочно-солевом агаре эмалево-белый цвет колоний свидетельствует о выделении эпидермального стафилококка (*Staph. epidermidis*), а золотистый - золотистого стафилококка (*Staph. aureus*). На кровяном солевом агаре вокруг колоний обнаруживали зону бета-гемолиза (зона просветления).

Культуральные свойства стафилококков на МПБ характеризовались помутнением и обильным осадком. Отмечено появление пристеночного кольца или серовато-белой пленки.

Для выделения стрептококков использовали МПА с сывороткой крови. Обнаружили серо-белые, мелкие, росинчатые колонии, а на кровяном агаре колонии микроорганизмов окружены прозрачной зоной бета-гемолиза. Микроорганизмы не давали роста на МПБ с 6,5% NaCl, МПБ с 40% желчью и МПБ с pH 9,0 (*Str. pyogenes*).

При бактериологическом исследовании одновременно со стафилококками и стрептококками выделяли и кишечную палочку (*E. coli*). Этот микроорганизм является факультативным анаэробом, хорошо растет при 37–38°C, pH 7,0–7,4 на обычных питательных средах – МПА, МПБ, среде Эндо и Левина. На МПА через 24 часа появлялись сочные, круглые, с ровными краями и гладкой поверхностью (S-формы) серо-белого цвета колонии. На МПБ – интенсивное помутнение среды и наличие незначительного осадка, легко разбивающегося при встряхивании (*E. coli*).

При культивировании на МПА и МПБ обнаруживали микроорганизмы, которые давали рост, сопровождающийся неприятным гнилостным запахом. Культуральные свойства на МПА характеризовались сливающимся ростом без образования отдельных колоний (феномен роения), образованием вуалеобразного налета. Данный феномен характерен для *Proteus vulgaris*.

При бактериологическом исследовании одновременно с *E. coli* и *Proteus vulgaris* выделяли *Pseudomonas aeruginosa*. Псевдомонады культивировали на МПА и МПБ с добавлением 1-2% глюкозы в аэробных условиях при 37–38°C в течение 24–48 часов. На МПА в чашках Петри вырастали округлые, выпуклые колонии с изрезанными краями, блестящей поверхностью и кратерообразным углублением в центре, а на скошенном МПА микроорганизмы давали рост в виде блестящего налета. На МПБ через 24 часа псевдомонады вызывали помутнение бульона с образованием сероватой пленки на его поверхности и с осадком на дне пробирки. После 48 часов роста псевдомонады изменяли цвет питательной среды до сине-зеленого, в связи с образованием пигмента пиоцианина. На кровяном агаре *Pseudomonas aeruginosa* вызывал гемолиз эритроцитов.

Для обнаружения пигмента пиоцианина в пробирку с суточной бульонной культурой добавляли 4-5 капель хлороформа, энергично встряхивали и давали отстояться. Синее окрашивание на дне осевшего хлороформа свидетельствовало о наличии пиоцианина.

При видовой идентификации микроорганизмов рода *Staphylococcus* исследованиями обнаруживали хорошо выраженную биохимическую активность микроорганизмов (*Staph. aureus*) и (*Staph. epidermidis*), т.к. они активно выделяли сахаролитические и протеолитические ферменты. Они расщепляли маннит, лактозу, сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу, ксилозу, глицерин с образованием кислоты без газа, восстанавливали нитраты в нитриты, не разлагали крахмал, инулин, дульцин, салицин, раффинозу, не образовывали индол. Выделяли аммиак и сероводород, продуцировали каталазу, уреазу, фосфатазу и аргиназу. Разжижали желатин, свертывали кровяную сыворотку, свертывали и пептонизировали обычное и лакмусовое молоко.

В биохимическом отношении *Staph. aureus* отличается от *Staph. epidermidis* тем, что золотистый стафилококк расщеплял маннит и не ферментировал глицерин, а эпидермальный стафилококк был биохимически не активен по отношению к обоим вышеуказанным тестам.

Биохимическая активность *Str. pyogenes* характеризовалась ферментацией лактозы, сорбита и маннита.

При выявлении ферментативной активности *Proteus vulgaris* на висмут-сульфитном агаре через 48 часов культивирования колонии протея имели грязно-коричневый цвет, а после их снятия оставалась темно-коричневая редукционная зона. Протеи давали положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра. Протеи не ферментировали маннит, лактозу, арабинозу, дульцин, не обладали декарбоксилазой лизина и дегидролазой аргинина, не лизировали малонат, ферментировали сахарозу, мальтозу, гидролизировали желатин, мочевины, вырабатывали индол и сероводород (*Proteus vulgaris*).

На этом этапе также изучали и проводили видовую идентификацию *E. coli*. Этот микроорганизм обладал высокой ферментативной активностью – ферментировал глюкозу, лактозу, маннит с образованием кислоты и газа; ферментировал непостоянно сахарозу и дульцин, не изменял адонит и инозит, образовывал индол, не образовывал H<sub>2</sub>S, желатин не разжижал; на среде Симмонса рост не наблюдался, давал положительную реакцию с метиловым красным (ярко-розового цвета), отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра (среда желтого цвета), мочевины не расщеплял. На среде Эндо *E. coli* образовывали колонии темно-вишневого цвета с металлическим блеском диаметром 2-3 мм. На среде Левина колонии были темно-фиолетового цвета. Выделенные культуры псевдомонад ферментировали в аэробных условиях глюкозу, галактозу, арабинозу, с образованием кислоты без газа, свертывали и пептонизировали молоко (молоко приобретало желто-зеленый цвет, особенно в верхнем слое, вследствие образования пигмента пиоцианина), разжижали желатин.

Реакцией плазмокоагуляции при исследовании обнаруживали положительную реакцию уже через 1 час в чистых культурах, полученных из колоний эмалево-белого и золотистого цвета. Таким образом, культуры стафилококков – *Staph. epidermidis* и *Staph. aureus*, давшие положительную реакцию плазмокоагуляции, являлись патогенными. При определении лецитиназной активности выделенных стафилококков на желточной среде было установлено, что на этой среде вокруг колоний микроорганизмов, выделяющих лецитиназу, образовывалась зона помутнения с радужным венчиком на периферии (светящийся ореол). При исследовании обнаруживали положительную реакцию у части колоний, имеющих золотистый цвет, у колоний эмалево-белого цвета – реакция отрицательная. Таким образом, *Staph. aureus* являлся лецитиназоактивным, а *Staph. epidermidis* – лецитиназоотрицательным.

При определении патогенности было установлено, что *E. coli* является патогенной, так как в течение 5 суток погибли все 3 белые мыши. Культуру стрептококков считали патогенной, так как в течение 3-х суток погибли все 3 белые мыши (*Str. pyogenes*). Культуру *Proteus vulgaris* признали патогенной, так как в течение 18 – 36 часов погибли все три белые мыши. Культуру *Pseudomonas aeruginosa* считали

патогенной, гибель мышей наступила через 3 суток. При определении гемолитической активности стафилококков через 18–20 часов образовывалась зона бета-гемолиза (зона просветления), что свидетельствует о гемолитической активности Staph. aureus и Staph. epidermidis. Культуры кишечной палочки и протей выделяли гемотоксин, т.е. микроорганизмы были гемолитически активными, с образованием  $\beta$ -гемолиза (вокруг колоний обнаруживали бесцветную прозрачную зону). На кровяном агаре Pseudomonas aeruginosa также вызывали гемолиз эритроцитов. У Proteus vulgaris гемолитической активности не обнаружено.

При серологической идентификации E. coli установлено, что во всех 30 пробах патматериала выделены E. coli сероваров O8 и O9.

Обобщенные и проанализированные данные, полученные при изучении этиологической структуры возбудителей бактериальных инфекций из гнойно-некротических поражений крупного рогатого скота, представлены в таблице.

**Таблица - Результаты выделения микрофлоры от коров с гнойно-некротическими болезнями в области пальцев**

Вид микроорганизма	Количество положительных результатов	Процент выделяемости, %
Staphylococcus epidermidis	14	46,2
Proteus vulgaris	12	39,6
Escherichia coli	16	52,8
Streptococcus pyogenes	8	26,4
Staphylococcus aureus	18	59,4
Pseudomonas aeruginosa	30	100,0

**Заключение.** Проведенными микробиологическими исследованиями установлено, что при гнойно-некротических болезнях в дистальных областях конечностей у крупного рогатого скота наиболее часто выявляются микроорганизмы Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis, Proteus vulgaris, Streptococcus pyogenes. Другие виды микроорганизмов обнаруживаются реже.

**Литература.** 1. Валев, Н. О. Лечебно-профилактические мероприятия при гнойно-некротических заболеваниях пальцев у коров: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н. О. Валев. – СПб, 1998. – 21 с. 2. Веремей, Э. И. Лечение коров при гнойно-некротических процессах в области копытцев и пальцев / Э. И. Веремей, В. А. Журба, В. А. Лапина // Ветеринария. – № 3. – 2004. – С. 39–41. 3. Ортопедия ветеринарной медицины: учебное пособие / Э. И. Веремей [и др.]. – Санкт-Петербург: Лань, 2003. – 352 с.

Статья передана в печать 09.08.2013

УДК 619:619.15:615.849.5

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТНОГО РАСТВОРА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ КОРОВ С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ В ОБЛАСТИ ПАЛЬЦЕВ

**Руколь В.М.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Гнойно-некротические болезни конечностей имеют довольно широкое распространение и диагностируются у 48,4 % от общего числа высокопродуктивного скота голштино-фризского происхождения. Внутривенное применение раствора гипохлорита натрия концентрацией 350 мг/л при хирургической патологии, совместно с местной обработкой патологического процесса, обладает выраженным противомикробным и противовоспалительным действием, а также ускоряет регенерацию тканей.*

*Is purulent-nekroticheskyy illnesses of finitenesses have enough wide circulation and are diagnosed for 48,4 % from the general number of highly productive cattle golshfino-frizskogo origins. Intravenous application of a sodium hypochlorite solution concentration of 350 mg/l at a surgical pathology, together with local processing of pathological process, possesses expressed antimicrobial and anti-inflammatory action and as accelerates regeneration of fabrics.*