

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 pH 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 pH-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%

дефибринированной 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 желточной 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 внутривентрально. 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 внутривентрально 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% дефибринированной крови кролика и солевой кровяной МПА с 10% NaCl и 5% дефибринированной 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 вызвали 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 H₂S, 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 β -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 О8 и О9.

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, %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14	46,2
<i>Proteus vulgaris</i>	12	39,6
<i>Escherichia coli</i>	16	52,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	26,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	59,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	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-nekrotichesky 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.