ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

УДК 619: 579.842.14

А.П. МЕДВЕДЕВ, доктор ветеринарных наук, профессор,
С.В. ДАРОВСКИХ, ассистент,
УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"

ВЛИЯНИЕ МНОГОКРАТНЫХ ПЕРЕСЕВОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА САЛЬМОНЕЛЛ

Сальмонеллез — полиэтиологическая инфекционная болезнь, вызываемая различными серотипами бактерий рода Salmonella, преимущественно сельскохозяйственных животных, характеризующаяся у молодняка при остром течении лихорадкой, септицемией, токсикозом и диареей, а при подостром или хроническом — пневмонией и артритами, у взрослых самок — абортами.

Это заболевание наносит значительный экономический ущерб животноводству, который складывается из высокой летальности заболевших, затрат на лечение животных, проведение ветеринарно-санитарных мероприятий по ликвидации и профилактике заболевания. Переболевшие животные длительное время остаются носителями, выделяют сальмонелл во внешнюю среду и служат источником возбудителя инфекции для здоровых животных.

Отслеживание эпизоотической ситуации, определение этиологической структуры сальмонеллеза — необходимое условие и основание для конструирования новых и совершенствования применяющихся специфических препаратов для лечения больных животных и профилактики болезни. Одной из причин низкой эффективности специфических препаратов против сальмонеллеза животных является то, что производимые в настоящее время в РБ биопрепараты не всегда содержат в своем составе специфические антитела против наиболее часто циркулирующих среди животных сероварианта сальмонелл.

Кроме того, при адаптации сальмонелл к питательным средам наблюдается диссоциация бактерий, что может привести к утрате культурой ее биологических свойств и непригодности для изготовления антигенов, применяемых для получения специфических биопрепаратов.

Поэтому нашей задачей являлось изучение влияния пересевов производственных штаммов сальмонелл на их морфологические, культуральные, ферментативные, антигенные и патогенные свойства.

В экспериментальной работе мы использовали производственные штаммы сальмонелл: S.cholerae sius 370, S.dublin 373, S.typhimurium 371 и изолированный нами из патматериала эпизоотический штамм S. enteritidis.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологические свойства сальмонелл мы изучали после каждого пересева. Ампулы с производственными штаммами перед использованием комиссионно вскрыли. Для получения расплодки сухие культуры (лиофильно высушенные) растворяли в пробирке с МПБ и культивировали в термальной комнате в течение 16 часов при температуре 37±1 °С.

Морфологические и тинкториальные свойства бактерий изучали путем микроскопии препаратов мазков, окрашенных по Граму.

Изучаемые штаммы сальмонелл высевали на различные питательные среды и по характеру их роста судили о культуральных свойствах микроорганизмов.

Ферментативные свойства определяли по способности сальмонелл расщеплять моно-, полисахариды и многоатомные спирты в полужидких средах Гисса, а также использовали дифференциально-диагностические среды (Эндо, Левина, висмут-сульфит агар, Плоскирева).

Образование сероводорода определяли на агаре Клиглера. При положительных результатах в столбике среды должно появиться черное пятно.

Подвижность производственных штаммов определяли путем посева их уколом в полужидкий агар.

Образование индола проверяли путем постановки реакции Легаля—Вейля.

Антигенную структуру производственных штаммов изучали в РА с применением диагностического набора агглютинирующих сальмонеллезных О- и Н-сывороток. Испытуемые культуры выращивали на скошенном мясопептонном агаре 18—24 часа при 37 °С. Первоначально проверяли культуру сальмонелл с групповыми (поливалентными) сальмонеллезными агглютинирующими О-сыворотками в РА на стекле. При получении положительного результата с двумя сыворотками серогрупповую принадлежность устанавливали по табличным данным. Для определения серотиповой принадлежности выделенных культур сальмонелл их испытывали с Н-моносыворотками 1-й и 2-й фаз. При положительной реакции агглютинация наступала сразу или в течение 1—2 минут. Агглютинация проявлялась в виде хлопьев (склеивания бактериальной массы) и полного просветления жидкости.

Патогенные свойства культур определяли на 20 белых мышах массой 14—16 г. На каждый серовариант использовали по 5 голов. Животных заражали смывом суточной агаровой культуры сальмонелл. Для смыва использовали стерильный физиологический раствор. Затем путем последовательных разведений получали взвесь, содержащую $1x10^4$ микробных клеток в 1 см³. Каждому животному полученную суспензию вводили подкожно в дозе 0,1 см³. За животными вели наблюдение в течение

10 дней, регистрируя павших и выживших.

После первичного посева на питательные среды мы делали по 10 пересевов всех используемых для получения антигена сероварианта сальмонелл, каждый раз изучая биологические свойства бактерий.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате нами установлено, что в процессе пересевов морфологические и тинкториальные свойства сальмонелл существенно не изменяются, за исключением некоторого укрупнения бактерий после их пятикратного пересева. Данные по изучению биологических свойств, производственных сероварианта сальмонелл представлены в таблице.

Таблица

Морфологические, культуральные, биохимические, патогенные и серологические свойства изучаемых сероварианта сальмонелл

Свойства	Показатель	Сероварианта			
		Salmonella dublin	Salmonella typhimurium	Salmonella enteritidis	Salmonella choleraesuis
Морфологические	Окраска по Граму	Грамотрицательные палочки, с закругленными концами, расположенные одиночно и беспорядочно, не образующие спор и капсул. Размер 2—3 х 0,2—0,5 мкм.			
Культуральные	Рост на МПА	Округлые колонии до 3 мм в диаметре, серо-белого цвета с голубоватым оттенком.			
	Рост на МПБ	Помутнение среды и образование серо-белого осадка на дне пробирки.			
	Рост на ПЖА	Рост по всему объему среды.			
Биохимические	Рост на среде Эндо	Колонии с ровными краями и гладкой поверхностью бесцветные, с розовым оттенком.			
	Рост на среде Левина	Колонии мелкие, прозрачные с легким фиолетовым оттенком.			
	Рост на среде Плоскирева	Мелкие, бесцветные, мутноватые, уплотненные, с ровными краями колонии.			
	Рост на висмут-сульфит агаре	Черные с металлическим блеском колонии, при этом участок среды под колонией прокрашивался в черный цвет.			Светло-нежные зеленоватые колонии
Биохимические	Глюкоза, маннит, ксилоза, сорбит, арабиноза, дульцит	+	+	+	+
	Лактоза, сахароза	—	—	—	—
	Образование H_2S	+	+	+	+
	Образование индола	—	—	—	—
Патогенные	Заражали выделенными культурами белых мышей п/к в дозе 0,1 см^3	Все зараженные животные пали в течение 5 дней.			
Антигенные	Ставили РА с О- и Н-агглютинирующими диагностическими сыворотками	O_9, H-g, p	O_4, H-i; 1,2	O_9, H-g,m; (1,7)	O_7, H-c; 1,5

При увеличении числа пересевов наблюдалось ускорение роста сальмонелл и более интенсивное накопление биомассы. При первичном посеве лиофилизированной культуры видимый рост S.dublin, S.typhimurium и S. enteritidis был зарегистрирован через 8 часов культивирования, а S.cholerae suis — 10 часов. Трехкратный пересев этих культур на МПБ давал визуально определяемый рост уже через 5—7 часов выдерживания посевов в термостате при 37±1 °С. При пятикратном пересеве сальмонелл рост регистрировался через 3—5 часов, а дальнейшие пересевы не вели к сокращению лагфазы.

Интенсивность наращивания биомассы от пересева к пересеву увеличивалась и достигала максимума к пятому пересеву, составляя 2 млрд.м.т. в 1 см^3 среды против 1 млрд.м.т./см^3 при двухкратном пересеве микробных культур.

По мере увеличения количества пересевов нарастала степень диссоциации сальмонелл. Количество колоний сальмонелл в R-форме составила после 10 пересевов 35% от общего числа их на плотной питательной среде (МПА).

Сальмонеллы, вне зависимости от кратности пересевов, ферментировали с образованием кислоты и газа глюкозу, маннит, дульцит, арабинозу, сорбит, ксилозу и не изменяли лактозу, сахарозу, раффинозу.

Антигенная структура бактерий в процессе пересевов не изменялась и выражалась для каждого вида сальмонелл своей антигенной формулой.

Патогенные свойства культур после трех пересевов составили 98%, пяти — 95%, семи — 88%, десяти — 82%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная опытная работа позволяет сделать следующие выводы.

Пятикратный пересев производственных штаммов сальмонелл ведет к ускорению их роста, сокращению лагфазы, интенсифицирует накопление биомассы, что является свидетельством адаптации бактерий к питательной среде. Многократные пересевы существенно не влияют на морфологические, ферментативные свойства сальмонелл и их антигенную структуру. Однако по мере увеличения количества пересевов нарастает степень диссоциации бактерий и снижаются их патогенные свойства.

Эти данные необходимо учитывать при приготовлении формолантигена, предназначенного для гипериммунизации волов — продуцентов сыворотки против сальмонеллеза животных, а также при изготовлении многих противосальмонеллезных препаратов, и не допускать более пяти пассажей бактерий через питательные среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кириллов, Л.В. Оценка качества производственных штаммов микроорганизмов/Л.В. Кириллов, Н.Т. Татаринцев //Сборник научных трудов/Всерос. гос. НИИ контроля, стандартизации и сертификации вет. препаратов — Центр качества вет. препаратов и кормов. — Москва, 2001. — Т.62. — С.97—100.

2. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и иммунология/Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов: учебник для студентов вузов по спец. "Ветеринария". — 3-е изд., перераб. и доп. — Москва: КолосС, 2003. — 432 с.: ил. — Библиогр.: с.404.

3. Микробиология/А.А. Воробьев [и др.]. — Москва: Медицина, 1998.—335 с.

Intervet
Schering-Plough Animal Health

МАСТИЕТ ФОРТЕ® —

надежное средство для лечения клинических и субклинических маститов у коров в период лактации.
Мастиет Форте® специально разработан для профилактики и лечения маститов у коров в период лактации

Каждый 8-граммовый шприц содержит уникальную комбинацию препаратов:
— 250 мг окситетрациклина,
— 250 мг неомицина,
— 2000 МЕ бацитрацина,
— 10 мг преднизолона.

В Мастиет Форте® входят специальные, запатентованные жировые эмульсии, способствующие постепенному и равномерному выделению действующих веществ в вымени в течение длительного времени.

Основные свойства препарата:

— Комбинация антибиотиков в Мастиете Форте® обеспечивает абсолютно достаточный спектр антимикробной активности по отношению к патогенным микроорганизмам, которые наиболее часто являются возбудителями мастита.

— Высокий клинический эффект объясняется наличием синергизма бактерицидного действия 3 антибиотиков, которые входят в состав Мастиета Форте®.

— Все три антибиотика действуют последовательно в разные стадии развития бактерий, многократно усиливая действие друг друга, и уничтожают весь спектр основных известных возбудителей маститов.

— Включение гормонального препарата преднизолона в состав Мастиета Форте® обеспечивает повышение терапевтической активности вследствие мощного противовоспалительного и противоотечного действия кортикостероидов. Снижение отечности тканей молочной железы облегчает проведение доения и тем самым обеспечивает более полное сдаивание инфицированного молока из пораженных четвертей вымени. Все это способствует быстрому восстановлению молочной продуктивности.

— Также в Мастиет Форте® входят специальные компоненты, способствующие быстрой и равномерной абсорбции препарата в пораженных тканях вымени.

Мастиет Форте® — один из самых популярных антимаститных препаратов в Европе.

Например, во Франции каждый второй используемый антимаститный шприц — Мастиет Форте®

Курс лечения: субклинические и клинические маститы: как правило, достаточно однократного введения Мастиета Форте® в пораженные доли вымени. При необходимости можно повторить введение препарата через 24 часа.

Клинические испытания, проводившиеся во многих странах мира, свидетельствуют, что эффективность лечения Мастиетом Форте® составляет более 90%.