

Продолжение таблицы 1

1	2	3
11. Вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит	ДНК – содержащий вирус, относящийся к семейству <i>Coronaviridae</i> , роду <i>Coronavirus</i>	Диагноз на ТГС считается установленным в одном из следующих случаев: при выявлении специфических антител в титре 1:16 и выше в сыворотке крови свиней; при выделении из биоматериала вируса ТГС и его идентификации; при положительной биопробе
12. Актинобациллярная (гемофильная) плевропневмония	<i>Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae</i>	Окончательный диагноз считается установленным при выделении из патологического материала культуры возбудителя болезни с характерными культуральными и биохимическими свойствами

Заключение. Таким образом, африканская чума свиней по эпизоотологическим особенностям, клиническим признакам, характеру патологоанатомических изменений схожа с классической чумой и рядом других инфекционных болезней этого вида животных. Решающее значение в дифференциальной диагностике этих болезней принадлежит молекулярно-генетическим исследованиям.

Литература. 1. Ятусевич, А. И. Стратегия борьбы с АЧС на современном этапе в Республике Беларусь / А. И. Ятусевич, В. В. Максимович // *Ветеринарный журнал Беларуси*. – 2015. – N1. – С. 9-11. 2. Африканская чума свиней / В. В. Макаров [и др.] // *Список МЭБ и трансграничные инфекции животных: монография*. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ» - 2012. – С. 100-112. 3. Орлянкин, Б. Г. Новые вирусы свиней / Б. Г. Орлянкин, Т. И. Алипер // *Ветеринария*. – 2015. – N8. – С. 3-8. 4. Ветеринарно-санитарные правила борьбы с африканской чумой свиней: утв. Постановлением Совета Министров Республики Беларусь 29.08.2013 г. N758. – 18 с. 5. Середа, А. Д. Сценарий мероприятий по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней в регионах Российской Федерации / А. Д. Середа, А. Е. Гогин, А. В. Луницин // *Ветеринария*. – 2016. – N1. – С.3-9. Статья передана в печать 18.03.2016 г.

УДК 619:579.86

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КОККОВЫХ ФОРМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Медведев А.П., Даровских С.В., Алешкевич В.Н., Зайцева А.В.

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

В статье представлены результаты опытной работы по дифференциации кокковых форм бактерий и выявлению наиболее информативных тестов, предлагаемых для лабораторной практики.

The article presents the results of experimental work on differentiation of coccal forms of bacteria practice and detection of the most informative tests suggested for laboratory practice.

Ключевые слова: стафилококки, стрептококки, бульон, агар, тесты, устойчивость, терморезистентность, культура, рост, среда, кокки, дифференциация, бактерии.

Keywords: staphylococci, streptococci, broth, agar, tests, resistance, thermal resistance, cultivation, growth, medium, cocci, differentiation, bacteria.

Введение. Кокки (от греч. *kokkus* – зерно, от лат. *Coccus* - ягода) – широко распространенная в природе группа шаровидных форм микроорганизмов, представленная сапрофитными, условно-патогенными и патогенными бактериями. К патогенным коккам относятся стафилококки, стрептококки, менингококки, гонококки. Эти микроорганизмы обитают на коже, слизистых оболочках пищеварительного, дыхательного и мочеполового трактов. Кокки могут вызывать гнойно-воспалительные процессы в различных органах и тканях живого организма.

Биологические свойства патогенных кокков весьма разнообразны. Так, кокки одного вида часто являются причиной различных инфекционных процессов – от местного воспаления до множественных абсцессов и сепсиса. У некоторых кокков выражена органотропность – диплококки вызывают пневмонии, мытный стрептококк – воспаление шейных лимфоузлов и протоков, менингококки – воспаление оболочек спинного и головного мозга, гонококки – гнойное воспаление слизистых оболочек, чаще мочеполовой системы.

Кокки ряда видов (чаще из рода *Staphylococcus*) вследствие образования энтеротоксинов обуславливают пищевые отравления у людей и кормовые – у животных (особенно плотоядных). Все патогенные кокки токсигенны, т.к. способны продуцировать различные экзотоксины и токсические ферменты. Основным и постоянным признаком всех патогенных кокков является способность

вызывать образование гноя, за что их называют гноеродными. Компоненты бактериальных клеток многих видов и их метаболиты проявляют сенсibiliзирующее действие, выражающееся в реакциях немедленного и замедленного типов, что проявляется клинически дерматитами, бронхоспастическим синдромом и т.д.

Большинство кокков имеют шаровидную или овальную форму, клетки некоторых видов могут быть бобовидными или ланцетовидными, диаметром до 1,5 мкм, в основном грамположительные (за исключением гонококков и менингококков – грамотрицательные), спор не образуют, капсул не формируют (за исключением диплококков, некоторых штаммов золотистого стафилококка), неподвижны, в основном неприхотливы к питательным средам.

У животных чаще всего инфекционную патологию вызывают стафилококки и стрептококки. Стафилококки обуславливают инфекционные болезни под общим названием стафилококкозы, которые характеризуются маститами, дерматитами, абсцессами, эндометритами, менингитами, циститами, токсикоинфекциями, пневмониями, сепсисом. Стафилококков относят (Bergey, Second Edition, Vol. 3, 2009) к домену *Bacteria*, типу *Fermicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Bacillales*, семейству *Staphylococcaceae*, роду *Staphylococcus*, включающему 36 видов стафилококков.

Стафилококки могут поражать любой орган и любую ткань макроорганизма. Они вызывают мастит у коров, коз, свиней, дерматит у свиней, стафилококкоз собак, пушных зверей, кроликов, птиц и молодняка первых дней жизни других видов животных.

В препаратах из гноя, бульонных культур бактерии располагаются по одной клетке, цепочками, небольшими скоплениями неопределенной формы. В препаратах из агаровых культур могут располагаться довольно характерно в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда (от греч. *staphyle* – гроздь).

Стафилококки хорошо растут на обычных питательных средах при pH 7,2–7,4. Температурный оптимум – 35–37°C. Бактерии неподвижны, спор и капсул не образуют, грамположительны, в старых культурах приобретают способность окрашиваться грамотрицательно. В МПБ могут образовывать инволюционные формы – крупные или очень мелкие кокки. Бактерии – факультативные анаэробы, но лучше развиваются в аэробных условиях. При росте в МПБ вызывают диффузное помутнение среды с образованием на дне пробирки рыхлого осадка. На поверхности плотной питательной среды бактерии формируют колонии диаметром 1–5 мм, которые могут быть окрашены в разные цвета. Колонии имеют грубозернистую структуру с уплотненным центром. Патогенные штаммы стафилококков на кровяном агаре образуют колонии, окруженные значительной зоной гемолиза. Под действием антибиотиков могут превращаться в карликовые и фильтрующиеся формы. В столбике желатина растут по уколу и на 4–5-е сутки на поверхности среды образуется воронка, наполненная жидкостью.

Стафилококки – биохимически активные микроорганизмы. Бактерии расщепляют до кислоты без газа глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, манит, левулёзу, свертывают молоко, восстанавливают нитраты в нитриты, выделяют аммиак и сероводород, продуцируют каталазу.

Стрептококки вызывают многочисленные инфекционные болезни под общим названием стрептококкозы. Эти болезни характеризуются разнообразными формами проявления инфекционной патологии: маститами, метритами, эндометритами, артритами, фарингитами, эндокардитами, ишемией, септициемией. Стрептококки относят к домену *Bacteria*, типу *Fermicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Lactobacillales*, семейству *Streptococcaceae*, роду *Streptococcus*.

Род насчитывает 62 вида. Чаще всего инфекционную патологию у животных вызывают: *Str. pyogenes* – возбудитель различных нагноительных процессов; *Str. agalactiae* – возбудитель мастита коров; *Str. equi subsp. equi* – возбудитель мыта лошадей; *Str. pneumoniae* – возбудитель пневмококковой инфекции телят, поросят, ягнят, жеребят, козлят.

Нередко стрептококки обуславливают осложнения вирусных и бактериальных инфекций.

Патогенных стрептококков обнаруживают на кожном покрове и слизистых оболочках организма животных и человека. Многие стрептококки – представители нормальной микрофлоры животных и людей. Известно 20 серогрупп стрептококков, которые обозначены латинскими буквами от A до V. Патогенные стрептококки относятся к группам A, B, D, C, F, Z.

Стрептококки – бактерии сферической формы, диаметр клеток – от 0,6 до 1 мкм, грамположительны, неподвижны, спор и капсул не образуют (образуют капсулу – *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *Str. agalactiae*). В поле зрения микроскопа в препаратах могут располагаться одиночно, попарно длинными и короткими цепочками (от греч. *streptos* – цепочка).

Стрептококки – факультативные анаэробы, некоторые разновидности – аэробы, более требовательны к питательным средам, чем стафилококки. Температурный оптимум роста – 37–38°C, pH сред – 7,2–7,4. Хорошо растут в МПБ с добавлением 1% глюкозы и 15–20% сыворотки крови лошади, на МПА – 1% глюкозы и 10% дефибринированной крови барана или кролика.

В жидкой питательной среде наблюдают придонный и пристеночный рост, помутнение бульона, образование крошковидного осадка. На МПА бактерии формируют мелкие (0,5–1 мм в диаметре) серовато-белые колонии. На кровяном агаре вокруг колоний образуется зона просветления – β-гемолиз. Стрептококки могут вызывать α-гемолиз, т.е. вокруг колоний наблюдают зеленую зону гемолиза, вследствие превращения гемоглобина в метгемоглобин.

Патогенные стрептококки биохимически малоактивны. Наиболее активен маститный стрептококк. Он ферментирует глюкозу, сахарозу, мальтозу, салицин, свертывает молоко, некоторые штаммы способны ферментировать раффинозу, трегалозу, инулин и непостоянно салицин.

Стрептококки могут вызывать болезни у лошадей, крупного рогатого скота, овец, коз, собак, пушных зверей, многих видов птиц и рыб. Факторами патогенности у стрептококков являются токсины

(гемолизин, лейкоцидин, некротоксин), ферменты (фибринолизин, гиалуранидаза) и эндотоксин (обуславливает аллергические реакции). Некоторые патогенные стрептококки продуцируют нефротоксин, дезоксирибонуклеазу, нейроминидазу, амилазу, лигазу и другие ферменты патогенности.

Стрептококки проникают в организм животного через поврежденную кожу, слизистые оболочки желудочно-кишечного и полового трактов и вызывают гнойно-воспалительные процессы. Эндотоксины могут разрушать эндотелий сосудов, в результате чего происходит выход эритроцитов в ткани (диапедез) и, как следствие, обильные кровоизлияния на серозных покровах и слизистых оболочках.

Как видно из приведенного материала, патогенные кокки из родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* обладают аналогичными биологическими свойствами и, чаще всего, вызывают у животных сходные по клинической картине гнойно-воспалительные процессы. Поэтому дифференциация бактерий упомянутых видов является важным условием постановки достоверного диагноза и, следовательно, целенаправленного лечения больных животных и принятия необходимых мер по ликвидации и профилактике стафилококкозов и стрептококкозов. Для дифференциации стафилококков от стрептококков используют многие тесты: определяют гемолитические свойства, устойчивость к желчи, терморезистентность, редукцию метиленового синего, рост на среде с 10% поваренной соли, рост на среде с 0,07% теллуриата калия, чувствительность к оптохину, каталазную пробу.

Целью нашей работы явилась апробация тестов дифференциации стафилококков от стрептококков и выбора наиболее информативных и приемлемых из них для лабораторной практики.

Материалы и методы исследований. В опытной работе были задействованы культуры бактерий *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus faecalis*. В процессе исследований использовали следующие тесты: устойчивость бактерий к желчи, их терморезистентность, способность микроорганизмов вызывать редукцию метиленового синего, рост на среде с 10% поваренной соли, рост микробов в средах с добавлением в них 40% желчи, 0,07% оптохина. Кроме этого ставили каталазную пробу, изучали сахаролитические и гемолитические свойства бактерий.

Культуры стафилококков и стрептококков выращивали с использованием обычных сред, а также применяли среды с добавлением 1% глюкозы, 10% сыворотки крови кролика, кровяной агар, молочно-солевой агар и другие среды.

Для определения устойчивости к желчи ее добавляли в мясо-пептонный бульон до 40% и вели выращивание бактерий в течение суток. Среда без видимых изменений первоначального цвета и прозрачности свидетельствовала об отсутствии роста, а помутневшие среды с осадком – о росте и размножении бактерий.

Терморезистентность кокков определяли путем прогревания культур при 60°C и последующего выдерживания их в термостате в течение 24-48 часов. Наличие роста расценивали как терморезистентность, присущую бактериям, а отсутствие – как неустойчивость их к температурному фактору.

С целью выявления способности микробов обесцвечивать метиленовый синий, их засеивали в пробирки с молоком, содержащим индикатор в концентрации 1:1000 и помещали в термостат на 24 часа, после чего пробирки подвергали визуальному просмотру, отмечая изменение цвета их содержимого.

Рост бактерий в мясопептонном бульоне с 10% поваренной соли выявляли путем посева их в среду и выдерживания пробирок со средой в течение суток, а затем результаты культивирования оценивали визуально по характеру роста бактерий или его отсутствию.

Для выявления роста бактерий на мясопептонном агаре с 0,07% теллуриата калия их высевали на поверхность среды и через 24 часа выдерживания чашек Петри с агаром в термостате вели учет результатов.

Каталазную пробу ставили путем внесения культуры кокков в каплю свежеприготовленного 3%-ного раствора перекиси водорода и через 2–3 минуты учитывали реакцию. При появлении пузырьков газа реакцию считали положительной.

Чувствительность кокков к оптохину определяли высевом их на агар, содержащий 1:50000 вещества. Посевы помещали в термостат и через сутки учитывали результат, отмечая рост бактерий или же его отсутствие.

Биохимическую активность бактерий исследовали путем посева их в жидкие среды Гисса с индикатором Андрэде. По изменению цвета сред судили о способности микробов расщеплять определенные углеводы и спирты.

Результаты исследований. Проведенная опытная работа позволила получить следующие результаты.

В мясопептонном бульоне стафилококки хорошо росли, вызывая интенсивное помутнение среды с образованием обильного осадка. В отличие от стафилококков, стрептококки давали придонный и пристеночный рост с незначительным помутнением бульона и формированием крошковидного осадка.

На обычном агаре стафилококки формировали колонии диаметром от 1 до 5 мм с ровными краями, выпуклой, влажной, глянцевой поверхностью. Стрептококки на этой среде образовывали мелкие (0,5–1 мм в диаметре) серовато-белые колонии, которые появлялись через 2–3 суток выдерживания среды в термостате.

На поверхности кровяного агара как стафилококки, так и стрептококки вызывали образование вокруг колоний зоны просветления (β -гемолиз), но колонии стафилококков были в 3 раза крупнее колоний стрептококков.

На молочно-солевом агаре культура *Staphylococcus aureus* вызывала образование колоний в диаметре до 3 мм, а культура *Streptococcus faecalis* не формировала видимых колоний. Необходимо

отметить, что колонии *Staphylococcus aureus* были золотистого цвета.

В мясопептонном бульоне с добавлением 40% желчи стафилококки росли, вызывая помутнение среды и образование осадка, и засеянные в эту среду стрептококки не вызывали ее видимых изменений, т.е. не росли. Бульонная культура стафилококков выдерживала прогревание при 60°C в течение 30 минут и культура стрептококков оказывалась тоже терморезистентной.

Было установлено, что при засеве культуры стрептококков в пробирки с молоком, содержащим метиленовый синий в концентрации 1:1000, бактерии обесцвечивали индикатор в течение 24 часов. Стафилококки такой способностью не обладали.

Бактерии *Streptococcus faecalis*, в отличие от бактерий *Staphylococcus aureus*, не росли в мясопептонном бульоне с 10% поваренной соли.

При посеве чистой культуры стрептококков на агар, содержащий 1:50000 оптохина, роста бактерий обнаружено не было, а также на этой среде не росли и стафилококки.

На поверхности мясопептонного агара в присутствии 0,07% теллурита калия *Streptococcus faecalis* формировали колонии черного цвета. Такие же колонии образовывали и стафилококки.

При постановке каталазной пробы было замечено, что стафилококки в отличие от стрептококков вызывали пенообразование, что являлось свидетельством их способности продуцировать каталазу.

При изучении биохимических свойств стафилококков установили, что они расщепляли маннит, лактозу, сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу с образованием кислоты без газа. Бактерии разжижали желатин, продуцировали сероводород, аммиак, свертывали кровяную сыворотку и молоко, не выделяли индола. Стрептококки слабо ферментировали глюкозу, сахарозу, мальтозу и совершенно не расщепляли маннит.

Заключение. Проведенная опытная работа свидетельствует, что определение культуральных свойств стафилококков и стрептококков, постановка многочисленных тестов по их дифференциации требует наличия многих питательных сред, химических веществ, значительных материальных затрат, труда и времени.

В этой связи анализ результатов опытной работы позволяет заключить, что рост бактерий в средах с 10% поваренной соли, расщепление маннита, образование каталазы являются характерными свойствами стафилококков, которыми не обладают стрептококки.

Поэтому считаем, что при дифференциации стафилококков от стрептококков вполне достаточной является постановка тестов по ферментации маннита, образованию каталазы и роста на средах с добавлением 10% поваренной соли. Эти тесты как самые информативные должны в первую очередь применяться в лабораторной практике.

Литература. 1. Микробиология и иммунология : учебник / Под. ред. А. А. Воробьева. – Москва : Медицина, 1999. – 464 с. 2. Мурадова, Е. О. Микробиология / Е. О. Мурадова, К. В. Ткаченко. – Москва : Эксмо, 2009. – 335 с. 3. Ветеринарная микробиология : учебное пособие для ветеринарных ВУЗов. – Минск : Выш. школа, 1979. – 224 с.

Статья передана в печать 25.02.2016 г.

УДК 619:615.28:636.2

ВИРУЛИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ

*Палий А.П., *Корнейков А.Н., **Дубин Р.А.

*Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, Украина

**Луганский национальный аграрный университет, г. Харьков, Украина

Экспериментальным путем установлено, что новые дезинфицирующие препараты «ДЗПТ-2» и «ФАГ» владеют вирулицидными свойствами. Дезинфектант «ДЗПТ-2» инактивирует возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота при применении в концентрации 1,0% по ДВ при экспозиции 30 минут, а препарат «ФАГ» – активный в концентрации 1,0% при экспозиции 60 минут. Данные препараты могут применяться на сельскохозяйственных предприятиях для неспецифической профилактики и ликвидации вирусной диареи крупного рогатого скота.

It was experimentally established that the new disinfectants "DZPT-2" and "FAG" possess virucidal properties. Disinfectant "DZPT 2" inactivates the pathogen of the viral diarrhea of the cattle at application in concentration of 1,0% by active substance during 30 minutes of exposure, and the medicine "FAG" in an active concentration of 1,0% at 60 minutes of exposure. These medicines can be used on farms for the prevention and elimination of non-specific viral diarrhea in cattle.

Ключевые слова: дезинфицирующий препарат, вирулицидные свойства, ДЗПТ-2, ФАГ, культура клеток, вирус, концентрация, экспозиция.

Keywords: disinfecting medicine, virucidal properties, DZPT-2, FAG, cell culture, virus, concentration, exposure.