

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра микробиологии, эпизоотологии и вирусологии

КУРС ЛЕКЦИЙ

по дисциплине: **Б1.В.ДВ.1 Ветеринарная микробиология** для аспирантов
2 курса по направлению подготовки 36.06.01 Ветеринария и зоотехния, на-
правленность: «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология», квалификация – Иссле-
дователь. Преподаватель исследователь

Краснодар 2014

Курс лекций для аспирантов подготовили:

Заведующий кафедрой микробиологии,
эпизоотологии и вирусологии,
д.в.н., профессор Шевченко А.А.

Профессор кафедры микробиологии,
эпизоотологии и вирусологии,
д.б.н., профессор Гугушвили Н.Н

Курс лекций рассмотрен и утвержден на заседании
методической комиссии факультета ветеринарной медицины
протокол № 10 от «23» июня 2014 г.

Председатель методической комиссии факультета ветеринарной медицины
профессор Шевченко А.А.

© Шевченко А.А.

© Гугушвили Н.Н.

Лекция 1

Тема: Основные этапы становления, развития и внедрения в ветеринарной микробиологии. Успехи в области генной инженерии, микробиологического синтеза, промышленной биотехнологии.

Основные этапы становления, развития и значение микробиологии

Микробиология (от греч. *micro* – малый, *bios* – жизнь, учение) – наука, изучающая морфологию, физиологию и генетику микробов, взаимодействие их с живой и мёртвой природой, методы использования полезных микробов в производственной деятельности человека (промышленность, с.-х.), а также специфические методы борьбы с инфекционными болезнями человека, животных и растений, вызываемыми патогенными микроорганизмами.

Объектами изучения служат бактерии и некоторые микроскопические грибы, простейшие, а также вирусы.

Микробиология соответственно названным объектам подразделяется на самостоятельные, дисциплины: бактериологию, микологию, протозоологию и вирусологию.

В соответствии с научными и практическими задачами микробиология подразделяется на:

- общую, промышленную, или техническую (производство кормовых дрожжей, белково-витаминных концентратов, сухих форм бактериальных удобрений и др.), сельскохозяйственную, медицинскую, ветеринарную, геологическую микробиологию (применение бактерий для выщелачивания руд), космическую микробиологию (изучение проблем жизни в космосе), микробиологическая промышленность.

Весьма значителен вклад микробиологии в развитие молекулярной биологии, генетики, биохимии, биофизики.

На микробных моделях были установлены генетическая функция нуклеиновых кислот, механизм мутагенеза и генетические рекомбинации, изучена тонкая структура гена. Вместе с тем микробиология широко пользуется методами др. наук – химии, физики, генетики, ботаники и др.

Ветеринарная микробиология изучает возбудителей инфекции болезней с.-х., промысловых и диких животных, а также возбудителей болезней, общих для животных и человека.

Частная (специальная) микробиология – изучает свойства возбудителей инфекционных болезней животных, вопросы патогенеза, лабораторную диагностику, специфическую профилактику и терапию инфекционных болезней.

Медицинская микробиология изучает морфологию, физиологию обмена веществ, факторы патогенности, механизмы их реализации на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях у возбудителей инфекционных заболеваний человека и разрабатывает специфические методы их диагностики, лечения и профилактики.

В процессе развития микробиологии от нее отделились новые дисциплины: вирусология, микология, санитарная микробиология, иммунология.

Иммунология – наука, изучающая биологические механизмы самозащиты организма, направленные на распознавание и уничтожение с помощью специальных иммунных систем любых чужеродных веществ и клеток, проникающих в него или образующихся в нем, и способствующие поддержанию его структурной и функциональной целостности и биологической индивидуальности.

С именем А. Левенгука связано открытие мира микробов – период зарождения микробиологии как науки и ее становления. С помощью своего микроскопа, дающего увеличение до 300 раз, он в 1674 г. обнаружил и описал эритроциты человека, лягушек и рыб, в 1675 г. – простейших, в 1677 г. – сперматозоиды. А. Левенгук наблюдал клетки более

чем 200 видов растений и животных. Свои наблюдения он описывал в письмах" (всего их было около 300), направляя их в Лондонское Королевское Общество.

В 1683 г. А. Левенгук подробно описал и зарисовал основные формы бактерий. Этот период получил название микрографического, так как изучение микроорганизмов сводилось лишь к описанию различных их форм, доступных исследованию при помощи далеко не совершенного микроскопа. Их биологические свойства и значение для человека долго еще оставались во многом непонятными.

Первые сведения о микроорганизмах были весьма скудными, поэтому **К. Линней** в XVIII в. выделил их в один род под названием Chaos и отнес к червям. В развитии микробиологии в этом периоде, продолжавшемся до середины XIX в., большое значение имели работы русских исследователей М. М. Тереховского (1740–1796) и Д. С. Самойловича (Сущинского).

Большая заслуга М.М. Тереховского состоит в том, что он одним из первых использовал экспериментальный метод в микробиологии: он изучал влияние на микроорганизмы электрических разрядов разной силы, температуры, различных химических веществ; изучал их размножение, дыхание и т. п. Однако, его работы были мало известны в то время и не смогли оказать большого влияния на развитие микробиологии.

Английский врач Э. Дженнер (XVIII - XIX вв.) впервые успешно осуществил древнюю мечту человечества: обуздать одну из самых страшных болезней человека – натуральную оспу с помощью вакцинации (искусственных прививок возбудителя коревой оспы).

В 1786 г. О. Мюллер выделил два рода бактерий – Monas и Vibrio -и отнес их к группе инфузорий.

Большой вклад в систематику микробов внес Л. С. Ценковский (1822–1887) установил место бактерий в системе живых существ, указав на близость их к растениям. Описал 43 новых вида микроорганизмов. Независимо от Л. Пастера, он получил сибиреязвенную вакцину.

Вывод Л. С. Ценковского о природе бактерий поддержал в 1872 г. Ф. Кон, который отделил бактерии от простейших и отнес их к царству растений.

Второй период микробиологии – период ее подлинного рождения как самостоятельной биологической науки и стремительного развития – связан прежде всего с именами Л. Пастера, Р. Коха и их учеников.

В ходе изучения изомеров винной кислоты Л. Пастер впервые непосредственно столкнулся с деятельностью микроорганизмов. Добавляя плесневой грибок в оптически недействительную смесь двух изомеров винной кислоты, Л. Пастер обнаружил, что через некоторое время эта смесь начинает вращать плоскость поляризации влево вследствие разрушения правого изомера грибом. Это обстоятельство натолкнуло его на мысль о возможном участии микроорганизмов в процессах брожения

На основе работ Л. Пастера Дж. Листером были разработаны принципы антисептики, а затем Л. Пастер дополнил их принципами асептики, благодаря которым и стал возможен дальнейший прогресс в хирургии.

Исходя из своих исследований, Л. Пастер смог установить природу болезней вина и пива, показав, что они также являются результатом жизнедеятельности микроорганизмов.

Л. Пастер предложили метод предупреждения болезней вина и пива, названный впоследствии пастеризацией, а затем (после решения проблемы самозарождения) были разработаны методы стерилизации (автоклавирование), столь необходимые для обеспечения принципов асептики в медицине и развития консервной промышленности. Выяснение природы процессов брожения и гниения вновь поставило на повестку дня вопрос о возможности самозарождения жизни, теперь уже на уровне микроорганизмов.

Оппоненты Л. Пастера утверждали, что в субстратах, подвергающихся брожению или гниению, их возбудители самозарождаются. Безупречными экспериментами Л. Пас-

тер доказал, что микроорганизмы проникают из окружающей среды, а не самозараждаются.

Своими исследованиями Л. Пастер подготовил научную общественность к пониманию того непреложного положения, что главными виновниками заразных болезней человека и животных являются микроорганизмы.

В 1876 г. Роберт Кох оказал огромное влияние на становление и развитие медицинской микробиологии.

Он точными экспериментами доказал, что возбудителем сибирской язвы является микроорганизм *Bacillus anthracis*.

Р. Коху микробиология обязана, прежде всего, тем, что он усовершенствовал бактериологическую методику. Он предложил метод выделения чистых культур из изолированных колоний на плотных средах, способы окраски бактерий анилиновыми красителями и внес усовершенствования в технику микроскопирования – конденсор Аббе и иммерсионные объективы. Все это способствовало широкому распространению экспериментальных исследований микроорганизмов и разработке бактериологических методов диагностики инфекционных болезней. Кроме того, Р. Коху принадлежит огромная историческая заслуга в открытии возбудителей тяжелейших заболеваний человека – туберкулеза и холеры.

Благодаря Л. Пастеру и Р. Коху, возникла и начала быстро развиваться новая наука – микробиология. Такое название ей дал соратник Л. Пастера П. Дюкло, а Пастер назвал ее вначале «микробией».

Все невидимые простым глазом живые существа Ч. Седийо в 1878 г. предложил называть микробами. Открытия возбудителей заразных заболеваний после работ Пастера следовали буквально одно за другим.

Л. Пастер после обоснования микробной природы заразных болезней и открытия ряда их возбудителей поставил далее своей главной целью не поиски других патогенных бактерий, а разработку общего принципа борьбы с заразными болезнями. И эту задачу он также блестяще решил.

Пастер предположил, что ослабленные бактерии могут сыграть роль, подобную осповакцине Дженнера, которая надежно предохраняет от натуральной оспы.

Пастер разработал ослабленную противосибиреязвенную вакцину, против холеры кур, против бешенства.

Выдающийся русский ученый И. И. Мечников был не только одним из основоположников микробиологии, в том числе и отечественной, но по праву считается вместе с П. Эрлихом основоположником иммунологии.

Он открыл явление фагоцитоза и впервые в истории медицины показал, что целебные силы организма связаны с особой группой клеток, названных им фагоцитами.

П. Эрлих предложил гуморальную теорию иммунитета. Фактически были раскрыты многие механизмы иммунитета, которая способствовала зарождению новой науки – иммунология. Обе теории оказались правомочными – И.И. Мечникову и П. Эрлиху за исследования по иммунитету в 1908 г. была присуждена Нобелевская премия.

12 февраля 1892 г. на заседании Российской Академии наук Д.И. Ивановский сообщил о том, что возбудителем мозаичной болезни табака является фильтрующийся вирус. Эту дату можно считать днем рождения вирусологии, а Д.И. Ивановского – ее основоположником.

Следующим важным этапом в развитии микробиологии было открытие антибиотиков.

В 1929 г. А. Флеминг открыл пенициллин, и началась новая эра – эра антибиотикотерапии.

У многих бактерий, устойчивых к антибиотикам и иным химио-препаратам, существует два генома - хромосомный и плазмидный.

Новый этап развития микробиологии, иммунологии и вирусологии начался во второй половине XX века в связи с рождением молекулярной генетики и молекулярной биологии.

С.Н. Виноградский является основоположником почвенной микробиологии и одним из организаторов Русского микробиологического общества (1903 г.). С 1932 г. и до конца жизни он руководил агробиологическим отделом Пастеровского института в Париже.

П.Ф. Боровский (1863–1932) и Ф.А. Леш (1840–1903) – первооткрыватели патогенных простейших, лейшманий и дизентерийной амёбы.

И. Г. Савченко установил стрептококковую этиологию скарлатины, первым использовал антитоксическую сыворотку для ее лечения, предложил вакцину против нее, создал Казанскую школу микробиологов в России и вместе с И. И. Мечниковым изучал механизм фагоцитоза и проблемы специфической профилактики холеры.

Д. К. Заболотный (1866–1929) – крупнейший организатор борьбы с чумой, установил и доказал ее природную очаговость. Он создал первую самостоятельную кафедру бактериологии в Петербургском женском медицинском институте в 1898 г.

Большой вклад в развитие общей, технической и сельскохозяйственной микробиологии внесли академики В.Н. Шапошников (1884–1968), В. Л. Омелянский (1867–1928), С.П. Костычев (1877–1931), Е. И. Мишустин (1901–1983). З. В. Ермольева (1898–1979), А. А. Смородинцев (1901–1989), М.П. Чумаков (1909–1990), П.Н. Кашкин (1902–1991), Б.П. Первушин (1895–1961).

3. Систематика и номенклатура микроорганизмов

Систематика (таксономия) – наука, занимающаяся вопросами классификации, номенклатуры и идентификации микроорганизмов. Задачей является объединение микроорганизмов с общими свойствами в определенные группы (таксоны). Происхождение и эволюция микроорганизмов очень сложна.

Номенклатура – это свод правил присвоения названий таксонам и список этих названий.

Все живые существа клеточного строения в зависимости от взаимоотношения ядра и органелл с цитоплазмой, состава клеточной стенки и других признаков разделили на две группы: **прокариоты (Prokaryotae)** и **эукариоты (Eucaryotae)**.

Основной (низшей) таксономической единицей является **вид**. Виды объединяются в роды, роды – в семейства, семейства – в порядки, порядки – в классы, классы – в отделы, отделы – в царства.

Вид – это совокупность популяций, имеющих общее происхождение, генотип, морфологические, физиологические и другие признаки, способные в определенных условиях вызывать одинаковые процессы.

Культура – микроорганизмы, выделенные от животных, человека, растений или объектов внешней среды и выращенные на питательной среде.

Чистые культуры состоят из особей одного вида, смешанные – из особей разных видов.

Штамм – это культура одного и того же вида, выделенная из разных сред и отличающаяся незначительными изменениями свойств (чувствительность к антибиотикам, неодинаковая биохимическая активность, патогенность и т.д.). Например, кишечная палочка, выделенная от крупного рогатого скота и такая же палочка, выделенная от свиней, могут быть разными штаммами.

Клон – культура микроорганизмов, выделенная из одной клетки. Изолят – микроорганизмы, выделенные от животных, человека, растений или объектов внешней среды.

По международному кодексу номенклатуры бактерий (1980) вид может быть разделен на подвиды и варианты. В названиях микробов, различающихся по некоторым свойствам, вместо суффикса "тип" введен суффикс «вар», например, серотип называют серовар, фаготип – фаговар, биотип – биовар.

Лекция 2

Тема: Экология и физиология, генетика микроорганизмов. Возникновение инфекционной болезни, распространение возбудителя в организме и классификация инфекций

Вода – основная часть бактериальной клетки, составляет 75–85%, а сухое вещество 15–25%.

Часть воды находится в свободном состоянии, а часть – в связанном. Связанная вода является структурным растворителем, свободная вода служит растворителем для кристаллических веществ, источником водородных и гидроксильных ионов.

Основными химическими элементами являются: кислород, водород, углерод и азот.

Бактерии содержат: углерода до 50%, азота до 15%, кислорода до 20%, водорода до 8%. Дрожжи содержат: углерода 49%, азота 12%, кислорода 31%, водорода 6%. В микроскопических грибах: углерода 47%, азота 5%, кислорода 40%, водорода 6%.

Минеральные вещества составляют от 3 до 10% сухого вещества бактерий. Огромное значение имеет фосфор, он входит в состав нуклеиновых кислот, липидов, фосфолипидов. Сера содержится в аминокислотах (в цистине, цистеине). Магний необходим для ферментов. Железо необходимо для осуществления дыхания и энергетического обмена.

В микробах имеется кальций, натрий, кремний, хлор. Содержатся микроэлементы: молибден, кобальт, бор, марганец, цинк, медь, никель и др. Они стимулируют рост и размножение.

Химические элементы образуют в микробных клетках различные органические вещества: белки, углеводы, липиды, витамины.

Белки являются основным структурным материалом всех клеточных мембран, выполняют различные функции: каталитическую, двигательную, транспортную, защитную, гормональную, запасную и др. Белки составляют 50–80% сухого вещества микробов.

Нуклеиновые кислоты в микробных клетках существуют в виде РНК – рибонуклеиновой и ДНК – дезоксирибонуклеиновой кислот. РНК преимущественно содержится в цитоплазме бактерий (в рибосомах), ДНК находится в ядре. Они являются носителем наследственности.

Углеводы – составляют 12–18%, многоатомные спирты (сорбит, маннит, дульцит); полисахариды (гексозы, пентозы, гликоген, декстрин); моносахариды (глюкоза, глюкуроновая кислота). Углеводы выполняют энергетическую роль в бактериальной клетке.

Липиды и липоиды. Липиды – истинные жиры, липоиды – жироподобные вещества. У риккетсий, дрожжей, микобактерий, грибов липидов содержится до 40%. У других микробов – 3–7%. Бактериальные липиды состоят из свободных жирных кислот (26–28%), нейтральных жиров, восков, фосфолипидов. Фосфолипиды – сложные эфиры высших спиртов и кислот, содержащие азот и фосфор. Входят в состав токсической фракции ряда микробов. Липиды используются для синтеза белков, с ними связана кислотоустойчивость микобактерий. Влияют на проницаемость мембран.

Химический состав спирохет, актиномицетов, микоплазм, риккетсий, микроскопических грибов такой, как и у бактерий.

2. Ферменты микроорганизмов, их классификация и значение

Ферменты (от лат. fermentum – закваска), или энзимы – это белки, которые обладают каталитической активностью и характеризуются высокой специфичностью и эффективностью действия. Ферменты присутствуют во всех живых клетках (кроме плазмид и некоторых вирусов).

Ферменты представлены глобулярными белками, с молекулярной массой от 15 КД до несколько тысяч.

Простые белки: уреазы, пепсин, трипсин. Сложные: карбоксипептидаза, амилаза, рибонуклеаза. Питание и дыхание в микробной клетке происходит с участием ферментов.

Ферменты – биологические катализаторы метаболизма бактерий, они влияют на скорость химических реакций микробов, оставаясь при этом в свободном состоянии. Так, 1 часть химозина – сычужного фермента - может свернуть до 12 млн. частей молока; 1 г амилазы при определенных условиях может превратить в сахар 1 т крахмала.

Для ферментов характерны термоллабильность (разрушаются при температуре 90°C), высокая специфичность (фермент лактаза гидролизует лактозу, но не действует на родственные дисахариды – мальтозу, целлобиозу).

Различают экзо- и эндоферменты.

Экзоферменты не связаны со структурой протоплазмы, легко выделяются при жизни микробной клетки (гидролитические) ферменты, растворимы в питательной среде и проходят через бактериальные фильтры. Эти ферменты связаны с процессом питания, расщепляют белки, крахмал, клетчатку и др.

Эндоферменты прочно связаны с бактериальной клеткой и действуют только внутриклеточно, осуществляя дальнейшее разложение питательных веществ.

К эндоферментам относят дегидрогеназы, оксидазы. Оптимальная температура для действия ферментов 40-50°C, для некоторых 58-60°C, при температуре 100°C они разрушаются. Название фермента связано с веществом, на которое он действует, с изменением окончания на "аза" или с природой катализируемой им химической реакции.

На этом же основана и современная классификация, всего их более 2000 ферментов.

Классификация ферментов

Ферменты делят на шесть классов. У бактерий обнаружены все шесть классов ферментов:

1. Оксидоредуктазы – ферментируют окислительно-восстановительные реакции, переносят электроны с водорода на кислород. К ним относятся: дегидрогеназы, каталаза, цитохромы.

2. Трансферазы – ферменты, катализирующие перенос отдельных радикалов, частей молекул или целых атомных группировок от одних соединений к другим (ацетилтрансферазы переносят остатки уксусной кислоты (CH₃COOH), а также остатки молекул жирных кислот и др.). К ним относятся: фосфотрансфераза, аминотрансфераза, сульфотрансфераза, ацилтрансфераза.

3. Гидролазы – ферменты, катализирующие реакции расщепления и синтеза белков, жиров, углеводов, с участием воды. К ним относятся: протеолитические ферменты (или пептидгидролазы), действуют на белки или пептиды, гидролазы глюкозидов расщепляют углеводы и глюкозиды, (β-фруктофуранозидаза, L-глюкозидаза) и т.д.

4. Лиазы – отщепляют от субстрата группировки углеродной связи (C–C, C–O). К ним относятся: декарбоксилаза, альдолаза, лиаза или синтаза для обратимых процессов, дегидратаза, дезаминаза.

5. Изомеразы и мутазы – вызывают изомерные превращения молекул и обуславливают изменение места положения атомов в молекуле. К ним относятся: тризофосфатизомераза, глюкозофосфатизомераза и т.д. Они играют большую роль при метаболизме.

6. Лигаза (синтетаза) – участвуют в синтезе сложных веществ из простых с участием АТФ. К ним относятся: аминоксил-тРНК-синтетаза, глутаминсинтетаза, лигаза аминокислот, ацетил-соа-кокарбоксилаза

По классификации каждый фермент имеет шифр, включающий 4 цифры, из которых первая указывает на класс, вторая – на подкласс, третья – на подподкласс и четвертая – на порядковый номер фермента в данном подподклассе. Так шифр 3.5.1 5. принадлежит карбамидамидогидролазе (уреазе), относят к 3-му главному классу – гидролазам. Активность измеряют в международных единицах (МЕ). 1 МЕ соответствует количеству фермента, превращающему 1 мкм (микромоль) (мг/м, 10⁻⁶ м) субстрата в 1 мин. в стандартных условиях.

Ферменты используют в промышленном производстве для приготовления уксусной, молочной, щавелевой, лимонной кислот, молочных продуктов (сыр, ацидофилин, кумыс), в виноделии, пивоварении, силосовании.

По ферментативной специфичности отдельных бактерий в лабораторных условиях можно дифференцировать их виды, разновидности.

3. Питание и метаболизм, механизм поступления питательных веществ в микробную клетку

Метаболизм — основной обмен веществ, представляет совокупность химических превращений, происходящих в живом организме, состоящих из ассимиляционной (анаболизм) и диссимиляционной (катаболизм) фаз.

Анаболизм – движение вверх – ассимиляция, процесс синтеза организмом собственных органических соединений из питательных веществ, поступающих из окружающей среды. В результате эти вещества откладываются в виде запасов (конструктивный метаболизм).

Катаболизм – деструктивный метаболизм, совокупность химических реакций разложения соединений в организме, т. е. процесс диссимиляции (энергетический метаболизм).

Конструктивный (ассимиляционный) обмен веществ протекает с поглощением свободной энергии при расходовании небольшого объема питательных материалов.

Энергетический обмен — идет процесс выделения свободной энергии, на что расходуется огромная масса питательного субстрата. Метаболизм – metabolismus (превращение). По типу питания живые существа делятся на 2 группы: голозойные и голофитные.

Голозойный тип характерен для животных (от высших до простейших). Микробы относятся к голофитному типу питания. Они не имеют специальных органов для принятия пищи, питательные вещества у них проникают через всю поверхность.

Различают несколько механизмов питания.

Питательные вещества могут поступать из внешней среды в микробную клетку через клеточную стенку, капсулу, слизистые слои и цитоплазматическую мембрану. Через эти же структуры выделяются продукты обмена. В основе механизма такого питания лежит осмотическое явление, основанное на разнице концентрации питательных веществ в теле микроба и питательном растворе. Так происходит рост и размножение микробов.

Проникновение питательных веществ в клетку может происходить с помощью диффузии, которая протекает активно и пассивно.

При **пассивной** — питательные вещества проникают с током жидкости в клетку, если проникающее вещество способно растворяться в клеточной стенке бактериальной клетки.

При **активной диффузии** питательные вещества проникают в микробную клетку нерастворенными в клеточной стенке.

При стереохимическом переносе питательные вещества из внешней среды в клетку попадают с помощью переносчиков - комплексов **пермеаз**.

Разница в концентрации питательных веществ обеспечивает движение воды и растворённых в ней соединений, причем вода движется в сторону более высокой, а соли — в сторону менее высокой их концентрации.

Приток воды в микробную клетку вызывает набухание коллоидов цитоплазмы. В результате этого она тесно прижата к оболочке клетки, находится в состоянии напряжения, которое называется **тургором** бактериальной клетки.

Тургор определяет постоянство бактерий.

При помещении бактерий в раствор, содержащий 15-20 % хлорида натрия или сахара (гипертонический), наступает резкое обезвоживание бактериальной клетки и сморщивание — **плазмолиз**, при помещении бактерий в гипотонический раствор происходит набухание и разрыв – **плазмолиз**.

К плазмолизу устойчивы сенная бацилла, стафилококки, сарцины, легко подвергаются плазмолизу бактерии из группы пастерелл, эшерихий, сибирязвенная бацилла, холерный вибрион. Плазмолиз и плазмолизис ведут к гибели бактериальной клетки.

4. Дифференциация микробов по способу (типу) питания на аутотрофы и гетеротрофы

Различают углеродное и азотное питание микроорганизмов. По типу углеродного питания микробы делятся на аутотрофы и гетеротрофы.

Аутотрофы для своего питания не нуждаются в готовых органических веществах, а создают их из неорганических веществ, в частности, углерод воспринимают непосредственно из диоксида углерода, простые азотистые соединения (аммиак, соли азотистой кислоты) и воду - из окружающей среды.

Создание сложных органических веществ в клетках этих бактерий происходит путём хемо- или фотосинтеза.

К этой группе микробов принадлежат нитрифицирующие бактерии, железобактерии, серобактерии и др.

Патогенных для животных бактерий в этой группе нет.

Встречаются аутотрофы, обладающие способностью усваивать углерод из углекислого газа воздуха и из органических соединений. Такие микробы называются миксотрофы – смешанный тип питания.

Гетеротрофы для своего питания воспринимают углерод только из готовых органических веществ. Они нуждаются в различных азотистых соединениях (нитраты, аммиак), неорганических веществах, микроэлементах и витаминах.

Гетеротрофы делят на сапрофиты и паразиты.

Сапрофиты (метатрофы) используют мертвые органические субстраты, в основном это гнилостные микробы.

Паразиты (parasitos – нахлебник) — паратрофы – это болезнетворные микробы, обитающие в живых тканях человека, животных, растений (возбудители бруцеллеза, сибирской язвы, сальмонеллеза).

При изменении условий среды меняется обмен веществ, у микробов вырабатываются адаптивные ферменты и они приспосабливаются к другому типу питания.

С другой стороны, отдельные виды патогенных для животных микробов могут существовать во внешней среде как сапрофиты, а некоторые сапрофиты при определенных условиях вызывают заболевание животных.

В качестве источника углерода гетеротрофы используют углеводы, спирты, различные органические кислоты.

Полноценными источниками углерода для питания этих микробов являются (гексозы), многоатомные спирты (глицерин, маннит, сорбит), а также карбоновые кислоты (глюкуроновая) и оксикислоты (молочная, яблочная). Поэтому все эти источники углерода включают в состав искусственных питательных сред.

По способу усвоения азотистых веществ микробы делят на 4 группы:

1. Протеолитические, способные расщеплять нативные белки, пептиды и аминокислоты.
2. Дезаминирующие, способные разлагать только отдельные аминокислоты, но не белковые вещества.
3. Нитратно-нитритные, усваивающие окисленные формы азота.
4. Азотфиксирующие, обладающие свойством питаться атмосферным азотом.

В качестве источника азота и углерода в питательных средах для патогенных микробов применяют **пептон** – продукт ферментативного расщепления белков мяса.

При культивировании микробов необходимы сера, фосфор, калий, магний, железо. Микроэлементы: бор, цинк, марганец, кобальт встречаются в микробах в малых количествах и служат стимуляторами роста.

Для стимуляции микробов применяют витамины: биотин (вит. Н), витамины группы В: В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), В₃ (пантотеновая кислота), В₄ (холин), В₅ (никотинамид), В₆ (пиридоксин), витамин К. Потребность в витаминах колеблется в пределах 0,05 — 40 мкг/мл. Избыток витаминов задерживает рост микробов.

Микроорганизмы подразделяются от используемого источника роста. Так, организмы, способные использовать в качестве источника энергии для роста свет, называют фототрофными; получающие энергию в результате окислительно-восстановительных реакций называют – хемотрофные.

Организмы, использующие в качестве доноров водорода органические соединения, называют органотрофные, а способные использовать неорганические доноры электронов называют – литотрофные и т.д.

5. Сущность биологического окисления субстрата микробов

Окисление (греч. oxys – кислый) – совокупность разнообразных окислительно-восстановительных реакций, которые совершается в биологических объектах под влиянием ферментов.

Окисление биологического субстрата микроорганизмами достигается по типу **прямого и непрямого** окисления.

Прямое окисление осуществляется с помощью оксидаз путём непосредственного окисления вещества кислородом воздуха или же путём дегидрогенирования – отнятие от субстрата водорода (его электрона).

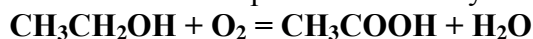
Прямое окисление регистрируется у сапрофитов.

Bact. metanicum, окисляя метан, получает энергию по следующей схеме:



У отдельных микробов, поглощающих кислород, реакции окисления не доходят до получения конечного продукта, т. е. до образования углекислоты.

Например, дыхание уксуснокислых бактерий, у которых конечным продуктом окисления этилового спирта является не углекислота, а уксусная кислота.



Непрямое окисление — путём дегидрогенирования сопровождается одновременным переносом двух электронов (H^+).

При ферментативном отщеплении водорода от субстрата при помощи **дегидрогеназ**, освобождаются два электрона (энергия) подобно образованию ацетальдегида из этилового спирта:



Дегидрогеназ у бактерий несколько, они называются по донору водорода (алкогольдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа), но большинство их переносит водород на один из двух коферментов — **никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺)** или **никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺)**.

Оба кофермента легко отделяются от одной дегидрогеназы и связываются с другой дегидрогеназой, переносят водород на другой акцептор. **НАД • Н (+Н⁺)** переносят водород преимущественно на предшественника брожения или в дыхательную цепь, **НАДФ • Н (+Н⁺)** участвует в основном в биосинтезе.

6. Дыхание микробов и классификация их по типу дыхания

Дыхание микробов – это биологический процесс, сопровождающийся окислением или восстановлением различных органических соединений с последующим выделением энергии в виде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) необходимо для микробов.

Процесс, в котором атомы или молекулы теряют электроны, называется **окислением**, а обратный процесс — присоединение электронов — **восстановлением**.

Схема: окисление 2-х валентного железа в полностью окисленное 3-х валентное железо и обратно:

Перенос электронов всегда сопровождается высвобождением энергии, которая сразу утилизируется клеткой с помощью аденозиндифосфата (АДФ) и аденозинтрифосфата (АТФ).

Классификация микробов по типу дыхания:

В 1861 г. Л. Пастер обнаружил, что отдельные микробы способны размножаться без доступа атмосферного кислорода – анаэробы. Микроорганизмы, использующие кислород из воздуха, получили название аэробов.

По типу дыхания микроорганизмы делят на 4 группы:

1. облигатные (безусловные) аэробы – растут при свободном доступе кислорода. Относят уксуснокислые бактерии, возбудители туберкулеза, сибирской язвы и др.

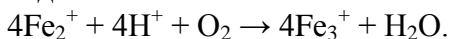
2. Микроаэрофильные бактерии развиваются при низкой (до 1 %) концентрации кислорода в окружающей среде. Относят актиномицеты, лептоспиры, бруцеллы и др.

3. Факультативные анаэробы развиваются как при доступе кислорода воздуха, так и в отсутствии его. Относятся энтеробактерии, возбудитель рожи свиней.

4. облигатные (безусловные) анаэробы развиваются при полном отсутствии кислорода в окружающей среде. Относятся масляно-кислые бактерии, возбудители столбняка, ботулизма, газовой гангрены, эмфизематозного карбункула, некробактериоза.

7. Аэробное, анаэробное дегидрогенирование, брожение

Аэробное дегидрогенирование происходит в присутствии кислорода. Так, у бациллы сибирской язвы акцептором водорода является кислород, в результате под действием ферментов образуется вода или перекись водорода. Для этого у бактерий (аэробных) имеется цитохромоксидаза, которая катализирует конечное связывание водорода с атмосферным кислородом вне клетки. Если она переносит две пары водородных ионов, образуется вода:



Если она связывает с кислородом воздуха только одну пару водородных ионов, в качестве конечного продукта образуется перекись водорода.

Поскольку перекись водорода токсична для бактерий, она разлагается сразу каталазой или пероксидазой. Облигатные анаэробы каталазу не содержат, поэтому кислород для них токсичен.

Анаэробное дегидрогенирование осуществляется в отсутствие молекулярного кислорода. Акцепторами водорода являются неорганические элементы (соли азотной, серной кислот, углекислоты), которые превращаются в восстановленные соединения (аммиак, метан, сероводород). Свойства анаэробов переносить электроны на нитраты, сульфаты, карбонаты обеспечивает полное окисление органического или неорганического вещества без использования кислорода и обуславливает получение большого количества энергии. При анаэробном дыхании выход энергии на 10% ниже, чем при аэробном.

Брожение – расщепление безазотистых органических соединений.

Спиртовое брожение – расщепление сахара на спирт и углекислоту происходит под действием дрожжевых клеток, которые выделяют фермент – зимазу. Спиртовое брожение нашло широко применение в пищевой промышленности. Вызывают дрожжи: пивные или хлебные (*Saccharomyces cerevisiae*), винные (*Saccharomyces ellipsoides*) и кефирные (*Torula kephini*).

Уксуснокислое брожение — процесс окисления спирта в уксусную кислоту. Под действием уксуснокислых бактерий скисают вино и пиво. Этиловый спирт превращается в уксусный альдегид, а затем в уксусную кислоту. Уксуснокислое брожение вызывают бактерии из рода *Acetobacter*.

Маслянокислое брожение — расщепление углеводов, жиров и белков на масляную кислоту, углекислоту и водород. Его вызывают анаэробные спорообразующие микробы из группы *Cl. butyricum*.

Молочнокислое брожение — процесс расщепления сахара на две частицы молочной кислоты. Вызывают микробы: *St. Lactis*, *B. Acidophilus*, *B. Vulgaricum*, *B. casei*. Их применяют при изготовлении молочнокислых продуктов (кефир, ацидофилин, кумыс), сливочного масла, сыра, кислого хлебного теста, квашеной капусты и огурцов, силоса. Известны микроорганизмы, вызывающие нетипичное молочнокислое брожение, в результате которого молочная кислота накапливается в небольших количествах, и образуются побочные продукты брожения (уксусная и пропионовая кислоты, этиловый спирт). Для профилактики и лечения болезней молодняка животных применяют препараты, содержащие бактерии, которые вызывают типичное молочнокислое брожение и являются антагонистами гнилостных бактерий. Известны такие препараты: лактобациллин, ацидофилин, ацидофильная бульонная культура (АБК) пропионовоацидофильная бульонная культура (ПАБК).

Брожение клетчатки — расщепление целлюлозы растений с освобождением углерода, осуществляемое аэробными и анаэробными бактериями, а также грибами.

Анаэробное брожение клетчатки, как установил В.Л.Омелянский, происходит под действием двух бактерий – целлюлозоразрушителей: *Cl. cellulosaе metanicus* и *Cl. cellulosaе hydrogenicus*. В зависимости от этих процессов, конечным продуктом распада бывает метан или водород. Аэробное брожение клетчатки вызывают три группы бактерий: *Cytophaga*, *Celebivrio*, *Cellfacicula*, открытые С.Н. Виноградским.

Брожение клетчатки играет большую роль в пищеварении травоядных, т.к. бактерии, разлагая клетчатку, способствуют усвоению кормов. Если этот процесс нарушается, происходит накопление газов (метана и водорода) в рубце жвачных и возникает тимпания. Брожение применяют в различных отраслях народного хозяйства: в пищевой, целлюлозно-бумажной, химической промышленности, при обработке льна, кож. Брожение происходит при силосовании кормов в анаэробных условиях, для чего зеленую массу плотно утрамбовывают. В таких условиях обильно размножаются молочнокислые бактерии, а роста гнилостной микрофлоры не происходит. В доброкачественном силосе количество молочной кислоты достигает 1,5-2% к массе силоса, рН 4,0 - 4,2. Широко применяется дрожжевание кормов, в результате чего корма обогащаются витаминами и белками.

8. Рост, размножение и культивирование микроорганизмов

Рост — увеличение цитоплазматической массы отдельной клетки или группы бактерий в результате синтеза клеточного материала (белка, РНК, ДНК). Достигнув определенных размеров, клетка прекращает рост и начинает размножаться.

Размножение – увеличение количества микробных клеток в единице объема. Бактерии размножаются простым поперечным делением (вегетативное размножение), например, стафилококки — кисть винограда, стрептококки – цепочки, диплококки — соединение по парам, сарцины – тьюки, пакеты. Процесс деления состоит из ряда последовательных этапов. Вначале формируется в средней части клетки поперечная перегородка, состоящая из цитоплазматической мембраны, которая делит цитоплазму на две дочерние. Синтезируется клеточная стенка, образуя перегородку между двумя дочерними. Удваивается ДНК (ферментами ДНК-полимеразами) и образуется двуспиральная ДНК. Репликация ДНК и деление клеток происходит с определенной скоростью, которая зависит от многих факторов.

Типы деления клеток бактерий:

1. Клеточное деление опережает разделение, что приводит к образованию "многоклеточных" палочек и кокков.
2. Синхронное клеточное деление, при котором разделение и деление нуклеоида сопровождается образованием одноклеточных организмов.

3. Деление нуклеоида опережает клеточное деление, обуславливает образование многонуклеоидных бактерий

Разделение бактерий происходит 3 способами:

1. Разламывающее разделение, две клетки неоднократно разламываясь в месте сочленения, разрывают цитоплазматический мостик и отталкиваются друг от друга, образуются цепочки (сибиреязвенные бациллы).

2. Скользящее разделение, после деления, клетки обособляются и одна из них скользит по поверхности другой (формы эшерихий).

3. Секущее разделение - разделившиеся клетки свободным концом описывают дугу круга, центром которого является точка ее контакта с другой клеткой, образуя римскую пятерку (V).

Культивирование микроорганизмов

В микробиологической практике микроорганизмы выращивают на искусственных питательных средах. Питательные среды используют для постановки бактериологического диагноза при инфекционных болезнях; для санитарно-бактериологической оценки молока, воды, воздуха, кормов, при изготовлении вакцин, антибиотиков и других биологических препаратов. Микроорганизмы, выращенные на искусственных питательных средах, называют микробными, или бактериальными культурами, а получение их роста на питательных средах называют культивированием.

Питательные среды должны быть стерильными, прозрачными, влажными, содержать определенные питательные вещества (белки, углеводы, микроэлементы и др.), ростовые вещества, обладать определенной буферностью, иметь оптимальную реакцию среды (рН), окислительно-восстановительный потенциал. Микроорганизмы нуждаются в витаминах или ростовых веществах, которые играют роль катализаторов (ускорителей) биохимических процессов бактериальной клетки, а также являются структурными единицами при образовании некоторых ферментов. Для развития микробов необходимы витамины: биотин, тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота, холин, никотинамид, пиридоксин, гемин, витамин К и др.

Питательные среды различают по: консистенции – жидкие, полужидкие, плотные (твердые); **происхождению** – животного или растительного происхождения и синтетические питательные среды, приготовленные из химически чистых соединений;

По назначению: обычные, широко используемые для выращивания различных видов микроорганизмов; пригодны для культивирования многих видов патогенных и непатогенных микробов. К ним относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), мясопептонный желатин (МПЖ). Мясопептонный бульон получают после экстрагирования в течение 20-24 ч и проварки (1,5-2 ч) свежего нежирного говяжьего мяса.

Мясопептонный агар готовят из мясопептонного бульона путем добавления 1-2% агар-агара, который придет питательной среде после охлаждения консистенцию плотного студня.

Мясопептонный желатин готовят путем добавления 10-20% желатина к МПБ, расплавляют, фильтруют, стерилизуют и используют в работе.

Специальные – для выращивания отдельных видов, не растущих или плохо растущих на обычных средах; К ним относят кровяной агар, сывороточный агар и бульон, среду Китта-Тароцци (МППБ), среду Сабуро, среду Эдварда и др.

Дифференциально-диагностические – для определения родовых и видовых особенностей исследуемых бактериальных культур (сахаролитических, протеолитических, гемолитических и других свойств); позволяют различать микробы разных видов и родов по их культуральным и биохимическим свойствам. К ним относят МПЖ, среды Гисса, Эндо, кровяной агар, среда Плоскирева, агар Левина и др.

Селективные – для выделения микробов одного вида из исследуемого материала (например, из смеси бактерий разных видов);

Элективные среды (избирательные) – благоприятствуют размножению микробов определенных видов и подавляют рост других бактерий. К ним относят яичные среды Петраньяни, Гельберга для выращивания микобактерий туберкулеза, среды Дюба-Смита для выращивания возбудителя паратуберкулеза.

Среды накопительные (обогащения), в которых подавляется рост сопутствующих бактерий и беспрепятственно развивается, накапливается другой вид, содержащийся в небольшой концентрации.

Рост микроорганизмов в жидких питательных средах не характеризуется большим разнообразием. При исследовании невооруженным глазом отмечают характер и степень помутнения среды: равномерное (диффузное), интенсивное, умеренное, слабое и в виде опалесценции.

В жидкой среде рост может быть поверхностным в виде пленки на всей поверхности среды, подниматься на стенки пробирки или покрывать часть поверхности среды. Учитывают цвет, оттенок пленки (голубоватый, желтоватый, серый, белый), толщину (тонкая, толстая, нежная, грубая), характер поверхности пленки (складчатая, морщинистая, гладкая, сетчатая, пушистая), консистенцию (хрупкая, слизистая, сальная). Некоторые виды микробов при выращивании в жидкой среде образуют осадок, который может быть обильный и незначительный, плотный (компактный), рыхлый, зернистый, в виде комочков ваты, хлопьевидный, крошковидный.

По цвету – белый, желтоватый, матовый, зеленоватый, сероватый и др. При встряхивании осадок либо разбивается, создавая равномерное помутнение среды, либо образуются крупные или мелкие хлопья, глыбки и др.

Культуры некоторых видов микробов могут обладать не одним, а несколькими признаками проявления роста в жидкой среде (вызывать помутнение среды с образованием осадка, пристеночного кольца и др.).

Рост микробов в полужидкой среде (МППА), не обладающих подвижностью, происходит по уколу в виде беловатого стержня. Окружающая среда при этом остается прозрачной. Подвижные микробы вызывают помутнение полужидкого агара разной интенсивности, распространяющееся в виде «облачков».

На плотных питательных средах рост микробов проявляется образованием колоний – скоплений микробов, образующихся в результате размножения одной бактериальной клетки. Колонии характеризуются разнообразием, могут быть изолированными и слившимися. Изучение проводят невооруженным глазом и с помощью микроскопа (объектив 8) или лупы.

Предварительно отмечают **характер роста** – обильный, умеренный, скудный, затем однотипность или разнотипность форм колоний. Учитывают следующие признаки: **форма** – правильная (овальная, округлая), неправильная (звездчатая, корневидная, ветвистая); **размер** – крупные (диаметр свыше 4 мм), средние (диаметр 2-4 мм), мелкие (диаметр 1-2 мм) и мельчайшие – росинчатые (диаметр менее 1 мм); **край колонии** – гладкий (S-форма, английского слова smooth – гладкий), шероховатый (R-форма, от английского слова rough - шероховатый), могут быть переходные: O- и M-формы (промежуточные и слизистые); волнистый, бахромчатый, зубчатый, локонообразный, изрезанный край; **прозрачность и блеск** (просматривают в проходящем свете) – прозрачная, непрозрачная, мутная, **цвет** – серовато-белая, бесцветная, белая, кремовая, оранжевая, зеленая, золотистая, желтая, красная, синяя, черная и др. Цвет колоний культуры микробов зависит от цвета вырабатываемого ими пигмента.

Просматривают **профиль (рельеф)** колоний – выпуклый, плоский, конусовидный, кратерообразный, с валиком по окружности; **поверхность** – гладкая, бугристая, мучнистая, морщинистая, складчатая, бороздчатая; **консистенция** – плотная (легко снимется с агара), крошковатая, хрупкая, слизистая, тестообразная, маслянистая; **структура** – однородная, волокнистая, пленчатая, зернистая; **запах** – отсутствует, резкий, что напоминает.

На рост и размножение микробов оказывают большое влияние концентрация ионов водорода в среде (рН среды). В зависимости от отношения клеток к кислотности среды их подразделяют на нейтрофилы, кислотоустойчивые, щелочеустойчивые, ацидофилы и алкалофилы. Оптимальный рН для **нейтрофильных** микробов находится в пределах 7,0 (нейтральная зона), типичными представителями являются эшерихии, некоторые бациллы и стрептококки; для **кислотоустойчивых** – от 4 до 6, относятся уксуснокислые, молочнокислые и другие; для **щелочеустойчивых** – от 8 до 9, относятся многие энтеробактерии; для **ацидофилов** – ниже 4 и **алкалофилов** – выше 9, среди этих микробов патогенных для животных не обнаружено.

9. Фазы развития бактериальной популяции

1. Исходная (стационарная, латентная, или фаза покоя) представляет собой время от момента посева бактерий на питательную среду до начала их роста. В этой фазе число живых бактерий не увеличивается, может уменьшиться. Продолжительность исходной фазы 1-2 ч.

2. Фаза задержки размножения. В период этой фазы бактериальные клетки интенсивно растут, но слабо размножаются. Длительность этой фазы около 2 ч и зависит от ряда условий: возраста культуры (молодые культуры приспосабливаются быстрее, чем старые); биологических особенностей микробных клеток (для эшерихий и сальмонелл характерен короткий период приспособления, для микобактерий туберкулеза – длительный); полноценности питательной среды, температуры выращивания, концентрации углекислого газа, рН, степени аэрации среды и др.

3. Логарифмическая фаза (лог-фаза). В этой фазе скорость размножения клеток и увеличение бактериальной популяции максимальны, количество бактерий растёт в геометрической прогрессии. Это означает, что в конце первой генерации из одной клетки формируются две, в конце второй – обе бактерии, разделяясь, образуют четыре, из четырех формируются восемь и т.д. Длительность логарифмической фазы составляет 5-6 ч.

4. Фаза отрицательного ускорения. В этой фазе скорость размножения бактерий перестает быть максимальной, число делящихся особей уменьшается, а число погибших увеличивается. Длительность фазы около 2 ч. Одной из главных причин, является истощение питательной среды.

5. Стационарная фаза максимума. Число новых бактерий равно числу отмерших, то есть наступает равновесие между погибшими клетками и вновь образующимися. Продолжительность эта фаза 2 ч. В этой фазе сама биомасса микроорганизмов и продукты их биосинтеза обладают наибольшей биотехнологической ценностью.

6. Фаза ускорения гибели характеризуется прогрессирующим превосходством числа погибших клеток над количеством вновь нарождающихся. Длительность фазы около 3 ч.

7. Фаза логарифмической гибели. Отмирание клеток происходит с постоянной скоростью, длительность ее около 5 ч.

8. Фаза уменьшения скорости отмирания. Остающиеся в живых клетки переходят в состояние покоя.

Если бактериям создать условия непрерывного притока прогрессирующего увеличения массы свежей питательной среды и оттока продуктов выделения, то размножение будет возрастать логарифмически, а гибель – арифметически.

Баллонный способ культивирования заключается в том, что матровые и производственные культуры лептоспир каждого серологического варианта выращиваются в 16-литровых стеклянных баллонах с 10-12 литрами сывороточной или альбумино-сывороточной (производственной) средами при температуре 27-28°C в течение 5-7 суток. Контролем типичного роста лептоспир являются отобранные пробы их культур через 3-5-7 суток культивирования и просмотр их на наличие, накопление лептоспир и отсутствие контаминации культуры посторонней микрофлорой путем микроскопии препаратов «раздавленная капля» в темном поле микроскопа. Культура лептоспир считается удовлетвори-

тельной и может быть использован для приготовления вакцины при накоплении лептоспир не менее 70-80 экземпляров в поле зрения микроскопа при увеличении в 360 раз и полном отсутствии в ней посторонней микрофлоры.

Лекция 3 Тема: Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы, взаимоотношение в мире микробов. Антибиотики

1. Влияние физических факторов (температуры, влажности, лучистой энергии, электричества, ультразвука) на микроорганизмы. Подразделение микробов по отношению к температуре (мезофильные, термофильные, психрофильные)

а) Действие температуры

Микробы растут и развиваются в определённых температурных границах. Для каждого вида бактерий имеется оптимальная температура развития, и в зависимости от пределов температуры микробы разделены на 3 физиологических группы: **психрофильные** (греч. Psychros – холодный, philein – любить), **мезофильные** (mesos – средний) и **термофильные** (termos – тёплый).

Психрофильные (холодолюбивые) микроорганизмы (психрофилы) являются обитателями северных морей, почвы, сточных вод (светящиеся бактерий, некоторые железобактерии и др.). Границы психрофилов: минимум -6°C , оптимум $15-20^{\circ}\text{C}$, максимум $30-35^{\circ}\text{C}$.

Мезофильные бактерии – живущие при средних температурах (минимум 10°C , оптимум $30-37^{\circ}\text{C}$, максимум 45°C). Наиболее многочисленная группа микробов, включающая большинство сапрофитов, гнилостных бактерий и все патогенные микробы.

Термофильные (теплолюбивые) – развиваются при высоких температурах (минимум 35°C , оптимум $50-60^{\circ}\text{C}$, максимум $70-80^{\circ}\text{C}$). К ним принадлежат микробы, обитающие в теплых минеральных источниках почвы, воде, на растениях и в пищеварительном тракте животных. За счет термофилов, которые выделяют тепло (их называют термогенными микробами), происходит самонагревание сена, зерна, навоза.

Экстремально-термофильные бактерии способны существовать при $40-93^{\circ}\text{C}$ и выше, что связано с особым составом липидных компонентов клеточных мембран, высокой термостабильностью клеточных ультраструктур.

Температура по-разному влияет на микробы. При **низких температурах** микробная клетка переходит в состояние анабиоза, в котором она может существовать несколько месяцев.

Эшерихии жизнеспособны при -190°C до 4 мес., холерный вибрион при -45°C до 2 мес., возбудитель листериоза при -10°C – до 3 лет.

Низкие температуры приостанавливают гнилостные и бродильные процессы. Это позволяет сохранять продукты в ледниках, погребах и холодильниках. В биологической практике широко применяется длительное хранение культур микробов, иммуноглобулинов, антибиотиков, диагностикумов, новых вакцин в высушенном виде из замороженного состояния.

Высокая температура (особенно нагревание под давлением), губительно действуют на вегетативные клетки микробов.

При 60°C погибают через 30 мин, при 70°C – через 10-15 мин, при $80-100^{\circ}\text{C}$ – через 1 мин. В основе бактерицидного действия высоких температур лежит угнетение ферментов: каталазы, оксидазы, дегидраз, - денатурация (свертывание) белков, нарушение осмотического барьера.

б) Денатурация (обезвоживание) вегетативных форм бактериальных клеток вызывает их гибель. Некоторые микробы, в особенности морские и пресноводные, а также патогенные виды, быстро погибают при высыхании.

Споры, кокцидии, эритроспоры и хламидоспоры – это покоящиеся клетки, специально адаптированные к длительному пребыванию в сухом виде.

Споры бактерий более устойчивы к действию высокой температуры. В высушенном состоянии спора десятилетиями (возбудители сибирской язвы, столбняка) могут сохраняться.

Плохо переносят высушивание пастереллы, возбудитель сапа, лептоспиры, возбудитель туберкулеза в высохшей мокроте не теряет жизнеспособности до 10 мес. Высушивание сопровождается обезвоживанием цитоплазмы и денатурацией белков бактерий.

В природе микроорганизмы часто оказываются в условиях недостаточной влажности – в сухой почве, на высушенных растениях, а в зимний период микробные клетки теряют часть воды в результате замораживания.

Высушивание используют для консервирования кормов (сена, соломы), овощей, фруктов, лекарственных трав.

в) Влияние гидростатического давления. Гидростатическое давление, как фактор окружающей среды влияет на жизнедеятельность микробов. Бактерии устойчивые к высокому давлению называют барофильными (от греч. Baros – тяжесть). Они существуют при давлении в $1 \cdot 10^5$ Па, споры бацилл сохраняются при давлении в $2 \cdot 10^6$ Па.

Повышенное давление (10^3 - 10^6 Па) в сочетании с высокой температурой (120°C) используется в автоклавах для обеззараживания (стерилизации) материалов, содержащих возбудителей инфекционных болезней.

Большое влияние на рост микробов оказывает **осмотическое давление**. Внутри бактерий осмотическое давление соответствует давлению 10-20%-ного раствора сахарозы. Если микробы поместить в среду с высоким осмотическим давлением, то наступит **плазмолиз** (потеря воды и гибель клетки), а если будут находиться в среде с низким осмотическим давлением, вода будет поступать внутрь клетки, клеточная система может лопнуть. Это явление называется **плазмолизом**. Явление плазмолиза и плазмолиза используют в промышленности и в быту для консервирования продуктов (огурцы, помидоры, капуста и т.д.). Осмотическое давление у Грам (+) бактерий достигает $3 \cdot 10^6$ Па, у Грам (-) $4 \cdot 10^5$ – $8 \cdot 10^5$ Па

Микробы, активно размножающиеся при высоком осмотическом давлении – **осмофильные** или **галофильные** (любящие соль), их ферменты активны только при повышенном содержании хлорида натрия.

Некоторые галофилы размножаются при высокой (20-30%-ной) концентрации хлорида натрия (роды Halobacterium, Micrococcus, Sarcina) например, в солончаковой почве, рассолах для соления рыбы, мяса.

г) Действие различных видов излучения

Различные виды излучений бактерицидно действуют на микробы. Степень действия зависит от вида лучевой энергии, ее дозы и длительности.

Действие видимого света. Видимый свет (длина волны 300-1000 нм) угнетает жизнедеятельность микроорганизмов, но слабее, чем прямые солнечные лучи. Поэтому культивирование микробов на искусственных питательных средах проводят в темноте, термостатах, где поддерживается оптимальная для размножения микробов температура 37 - 38°C .

Видимый свет положительно влияет только на пигментообразующие бактерии (они используют световую энергию для осуществления фотосинтеза, при этом активно образуют пигмент – микробная культура окрашивается в красный, зеленый и т.д. цвета).

Если микробы окрасить метиленовой синью, эозином и др., то не образующие пигменты микроорганизмы можно сделать чувствительными к искусственному свету, бактерицидный эффект усиливается. Это явление называют фотосенсибилизация, а действие фотодинамическим.

Прямой солнечный свет в короткие сроки убивает все микроорганизмы, кроме пурпурных и зеленых серобактерий.

Микробы – сапрофиты более устойчивы к воздействию света, чем патогенные, потому что они чаще подвергаются действию прямых солнечных лучей и являются более

адаптированными. Так, под действием прямых лучей культуры пастерелл гибнет через 7-12 мин., а возбудители туберкулеза – через 45-50 мин.

Действие ультрафиолетовых лучей (УФЛ)

УФЛ с длиной волны от 400-300 нм – химически активны, от 330 до 295 нм – биологически активны, от 295 до 200 нм – бактерицидно активны.

Механизм действия УФЛ заключается в том, что в цепях ДНК между остатками тимина образуются ковалентные связи к частичному или полному подавлению репликации ДНК, а также повреждению рибонуклеиновых кислот (особенно РНК). Облучение микробов УФЛ с длиной волны 320-400 нм приводит к фотореактивации (восстановление жизнеспособности).

УФЛ широко применяются для санации воздуха в животноводческих помещениях, в лабораториях, при производстве биопрепаратов. Для дезинфекции воздуха применяют лампы низкого давления типа БУВ-15, БУВ- 30, БУВ-30П, БУВ-60П, ДБ-60.

На основе УФЛ и инфракрасных ламп для дезинфекции животноводческих помещений выпускают ИКУФ – 1.

д) Ионизирующая радиация

Рентгеновские лучи – электромагнитное излучение с длиной волны 0,006 – 10 нм. Гамма лучи (γ) - коротковолновые рентгеновские лучи, бета – частицы (β), или лантоидные лучи, альфа - частицы (α), или высокоскоростные ядра гелия и нейтроны оказывают слабое инактивирующее действие на микробы.

Бактерицидность сильно действующих γ - лучей слабее, чем УФЛ и гибель наступает при облучении ими высоких дозах от 44000 до 280000 рентген. На расстоянии 3-5 см. от источника облучения приводит к гибели микробов через 5-6 часов, на расстоянии 10 см. – через 48 ч.

Механизм действия рентгеновских лучей – поражение ядерных структур (нуклеиновых кислот цитоплазмы). Поражается генетический аппарат микробной клетки, что приводит к летальному исходу или возникают мутации. Ионизирующую радиацию применяют для уничтожения микробов, на инструментах, перевязочном материале, биопрепаратах – холодная стерилизация.

Лучи лазера – используют в основном для уничтожения пигментообразующих бактерий (синегнойная палочка и др.). Под влиянием этих лучей все биологические объекты погибают, т.к. при энергии излучения в 1 Дж и размере светового пучка 1,5 мм в точке фокуса излучения на глубине 100 мкм создаётся температура 600 С. Бактерии погибают при режиме длины волны 694,3 нм, энергия 200 Дж и длительность облучения 1.10 – 3 сек.

е) Влияние электричества

Электричество малой и высокой частоты убивает микробы. Особенно сильное действие оказывает на них токи ультравысокой частоты. Они приводят колебание молекул всех элементов клетки, поэтому происходит быстрое и равномерное нагревание всей ее массы и повышения температуры независимо от окружающей среды.

Установлено, что длительное воздействие токов высокой частоты приводит к электрофорезу некоторых компонентов среды. Образующиеся при этом соединения инактивирующе действуют на микробную клетку.

ж) Влияние ультразвука

Ультразвук - волны с частотой около 20000 Гц/с, используется для стерилизации пищевых продуктов, дезинфекции предметов.

Механизм бактерицидного действия заключается в том, что в цитоплазме бактерий, находящихся в жидкой среде (вода, молоко), образуется кавитационная полость, которая заполняется парами жидкости, в пузырьке возникает давление в 1.10⁶ Па, что приводит к дезинтеграции цитоплазматических структур и клетка погибает.

з) Аэризация используется для оздоровления цехов предприятий, жилых помещений, а также в медицинской и ветеринарной практике. Аэроионы, несут (+) или (-) за-

ряд, возникают в результате искусственной или естественной ионизации воздуха. Наибольшее влияние на бактерии оказывают отрицательно заряженные ионы, они действуют в средних концентрациях ($5 \cdot 10^4$ в 1 см^3 воздуха). Аэроионы (+) задерживают рост бактерий лишь в больших концентрациях.

2. Действие химических факторов

Химиотаксис - своеобразная ответная реакция бактериальной клетки на проникающее в неё вещество. Различают положительный и отрицательный химиотаксис.

Положительный химиотаксис: если в каплю воды, содержащую подвижные бактерии опустить один конец капилляра, наполненного раствором пептона, то через несколько секунд у отверстия капилляра скопится большое количество бактерий.

Отрицательный – когда бактерии уходят от диффундирующего в воде вещества. Положительный химиотаксис вызывает в малых концентрациях (0,007-0,0018%) пептон, минеральные соли (фосфорнокислые).

Отрицательный – оказывают кислоты, щелочи и спирты.

Химические вещества могут тормозить или полностью подавлять рост бактерий, но после удаления его рост возобновляется – бактериостатическое действие, т.е. задержка роста микробов, а не их гибель.

При бактериологическом действии химический агент вызывает гибель клеток, это очень важно учитывать при использовании химического вещества для дезинфекции.

По характеру действия бактерицидные химические вещества делят на поверхностно-активные, красители, фенолы и их производные, соли тяжелых металлов, окислители и группу формальдегида.

Поверхностно-активные вещества изменяют энергетическое состояние. Бактерии клетки теряют отрицательный и приобретают положительный заряд, это обуславливает нарушение нормальной функции цитоплазматической мембраны. К ним относят мыло, жирные кислоты, моющие средства, детергенты. Эти средства повреждают клеточную стенку, но не проникают в клетку.

Красители обладают свойствами задерживать рост бактерий. К ним относят бриллиантовый зеленый (бриллиантерюн), риванол, трипафлавин, акрифлавин, фуксин, метионин, обладающие сродством к нуклеиновым кислотам, нарушающие процессы клеточного деления.

Фенол, крезол и их производные повреждают клеточную стенку и белки клетки.

Соли тяжелых металлов (серебро, медь, цинк) обладают олигодинамическим действием с бактерицидной способностью.

Окислители действуют на сульфгидридные группы активных белков. К ним относятся: хлор, поражающие дегидразы, гидролазы, амилазы, протеазы бактерий, хлорная известь, хлорамин, употребляемые в целях дезинфекции. Йод в виде йодного раствора не только окисляет белки цитоплазмы бактерии, но и вызывает их денатурацию. Окисляющим свойством обладают перманганат калия, перекись водорода и др.

Спирты в 70%-ной концентрации обладают бактерицидной активностью в отношении белков микробов в клетке. Этиловый, пропиловый, бутиловый, амиловый и т.д.

Кислоты и основания. Бактерицидное их действие связано с изменением рН питательной среды.

Кислоты в концентрированных растворах коагулируют белки микробной клетки, изменяют концентрацию Н-ионов в растворах и их окисляющие действия. На практике применяют для уничтожения микробов на объектах окружающей среды (карболовая, серная, соляная, уксусная), для создания определенной зоны рН в микробиологических целях (НСI) и т.д.

Бактерицидность **щелочей** зависит от диссоциации и концентрации гидроксильной ОН-ионов, часто в ветеринарной практике применяют NaOH и KOH, гашеную известь, натрия карбонат, натрия гидрокарбонат (сода). Гибель вегетативных форм микробов на-

ступает под влиянием 2-3%-ного и спор бацилл – 4-5%-ного растворов. Щелочи гидролизуют коллоидные системы, в результате происходит гибель микробной клетки.

Формальдегид применяют в виде 40%-ного раствора (формалин). Действие его заключается в том, что формальдегид присоединяется к аминогруппам белков и вызывает их денатурацию. Широко используют для дезинфекции и химической стерилизации.

3. Метод лиофилизации микробов и его практическое значение

Лиофилизация (греч. Lyo – растворять + phileo – любить), лиофильная сушка, сублимационное высушивание - метод высушивания биологических объектов (микроорганизмов) из замороженного состояния (минус 70°C) под высоким вакуумом.

Широко применяют для длительного сохранения вакцинных и диагностических препаратов, сывороток, глобулинов, бактериофагов, различных штаммов микроорганизмов.

При лиофилизации свободная вода и вода, непрочно связанная с гидрофильными веществами клеток, подвергается замораживанию и затем происходит сублимация льда, т.е. переход его из твёрдого состояния в парообразное, минуя жидкую фазу. После этого остаётся сухая пористая масса, которая при добавлении к ней воды легко суспендируется. Повторное замораживание и оттаивание вредно действует на микроорганизмы и может быть одной из причин гибели бактерии при лиофилизации.

4. Понятие о стерилизации, дезинфекции, асептике, антисептике, пастеризации

Стерилизация (sterilisatio, лат. Sterilis - свободный от бактерий, бесплодный) – обеспложивание, уничтожение различных микроорганизмов и их вегетативных и спорных форм в разных объектах путём воздействия физических и химических факторов.

Существуют различные способы стерилизации при помощи высокой температуры: прокалывание на огне, кипячение, стерилизация сухим паром под давлением в автоклавах, тиндализация (метод дробной стерилизации, заключающийся в повторном в течение 2-7 дней воздействии на стерилизуемые объекты высокой температурой 56-75°C по 30-60 мин.)

Пастеризация – метод, предложенный Пастером для сохранения питательной ценности молока, вина, различных консервов, которые нагревают до 65-95°C в течение нескольких минут с быстрым охлаждением до 10°C. При этом погибают только вегетативные формы бактерий. Её используют для обеззараживания молока и других пищевых продуктов.

Дезинфекция - комплекс мероприятий, направленных на обеззараживание, уничтожение возбудителей инфекционных болезней во внешней среде путем применения физических, химических средств.

Дезинфекция состоит из двух этапов:

1 этап – механическая очистка, дезинфекция дератизация;

2 этап – собственно дезинфекция.

Тщательная механическая очистка, уничтожение насекомых и грызунов обеспечивает удаление до 30% патогенных микроорганизмов. Собственно дезинфекция позволяет обеспечивать полное удаление патогенных микробов, если проводится в помещении в отсутствие животных. Для её проведения можно использовать физический, химический, физико-химический или биохимический факторы, которые убивают патогенные микробы.

Обычными средствами дезинфекции для орошения и аэрозольного применения служат горячие растворы кальцинированной соды (5%), свежегашеная известь (20%), едкий натрий (2%), каустическая сода (3%), формальдегид (1%), креолин (3%). Их можно использовать только в отсутствие животных.

Теотропин – азотсодержащее соединение. Стабилен при хранении, при температуре 18-25°C он стабилен в течение 10 лет. Это порошок желтого цвета со слабым специфическим запахом или без запаха. Хорошо растворим в воде. Он обладает антикоррозийным свойством. При применении не выделяет агрессивных газов, не портит и не обесцвечивает окрашенные поверхности, не повреждает лаки и полимерные материалы.

В 5%-ой концентрации не токсичен для млекопитающих и птиц, не раздражает кожные покровы и слизистые оболочки. В низких концентрациях теотропин инактивирует практически все вирусы и бактерии животных. Разрушает РНК и ДНК.

Растворы в 0,1-0,3 % при температуре 10-20°C инактивируют микробы за 3-24 часа, в 0,5-1,0% - за 0,25-3 часа, 2,5% - за сутки инактивирует споры сибирской язвы. Теотропин эффективно действует на микоплазмы, риккетсии, хламидии, и простейшие.

Асептика (aseptica греч. а- отрицание, sepsis – гниение) – система мероприятий направленных на обеспечение работы в стерильных условиях, предупреждающих внедрение патогенных микроорганизмов в раны и полости исследуемого организма.

Антисептика – antiseptica – совокупность методов и приемов борьбы с патогенными микроорганизмами, внедрившимися в раны, ткани и полости организма. Проводят с помощью химических средств (растворы хлора, йода, перекиси водорода, азотнокислого серебра и др.).

5. Взаимоотношения в мире микробов (симбиоз, мутуализм, комменсализм, антагонизм, паразитизм)

Эволюционно сложившиеся формы взаимоотношений микроорганизмов с организмом животного довольно разнообразны.

Симбиоз (греч. Symbiosis – сожительство) – длительное или постоянное сожительство различных видов организмов при условии взаимной пользы для каждого из них.

Так, молочнокислые бактерии желудочно-кишечного тракта образуют молочную кислоту, которая сдерживает развитие гнилостной микрофлоры.

Симбиоз характеризуется различными типами биологических взаимоотношений по отношению к клеткам своего хозяина: мутуализм, комменсализм, паразитизм, антагонизм.

Мутуализм (mutualismus от лат. mutuus – обоюдный, взаимный + ismus – болезнетворное состояние, болезнь) – форма симбиоза, при которой взаимные друг с другом организмы извлекают из своего сожительства взаимные выгоды.

Некоторые виды бактерий из группы кишечной микрофлоры находятся в симбиозе с организмом животных, где они обитают. Эти микробы – мутуалисты питаются пищей, поступающей в кишечник, а продуцируемые ими витамины (В2, В3, В5, В7, В9, В10, К2) используются животными для биокаталитических реакций.

Пример мутуализма – сожительство растений с клубеньковыми бактериями, которые питаются веществами из соков растения (бобовых: горох, вика), а растения в свою очередь используют азотистые соединения, синтезированные клубеньковыми бактериями, которые являются фиксаторами азота.

Комменсализм (commensalism, лат. commensalis – комменсалист) – форма сожительства разных видов при которой один организм (комменсалист) постоянно или временно живет за счет другого, не причиняя ему вреда.

Микробы – комменсалы (стафилококки, стрептококки) населяют в качестве нормальной микрофлоры кожные покровы и слизистые оболочки животных. Но при снижении резистентности хозяина могут проявить патогенность, вызвать тяжелые заболевания.

Паразитизм – parasitismus (гр. Parasitos – нахлебник) – общее антагонистическое сожительство двух различных организмов, при котором один организм (паразит) живет за счет другого (хозяина) и причиняет ему вред, выражающийся в функциональных и морфологических нарушениях. Такие микробы называются патогенными (болезнетворными). В число известных болезнетворных микробов-паразитов входят бактерии, вирусы, грибы, риккетсии, микоплазмы, хламидии. В последние годы стали известны прионы – возбудители некоторых медленных инфекций животных и людей представляющие собой безнуклеиновые структуры, состоящие из низкомолекулярного белка.

Все микробы – паразиты происходят от свободно живущих сапрофитов, которые используют для питания мертвые органические субстраты. В процессе эволюции часть сапрофитов утратили способность к размножению во внешней среде и приспособились к

паразитированию в организме животных (человека), ставшем естественной средой обитания.

В результате среди микробов-возбудителей болезней животных в настоящее время преобладают облигатные паразиты, полностью утратившие способность к сапрофитическому образу жизни. Вирусы, патогенные простейшие, риккетсии, микоплазмы и хламидии приспособились к внутриклеточному паразитизму.

Антагонизм – (antagonismus, греч. Antagonisma – борьба, спор) – противоположное действие, взаимное противодействие органов, лекарственных средств, микробов.

Антагонизм микробов – сложные взаимоотношения микроорганизмов в природе, когда при современном развитии популяции бактерий одного вида угнетают развившиеся популяции других или того же самого видов, а иногда полностью их уничтожают. Антагонизм микробов широко используется в ветеринарии для профилактики и лечения различных болезней, главным образом желудочно-кишечного тракта. Пример: многие штаммы кишечной палочки способны подавлять развитие и уничтожать стрептококков, стафилококков, палочек сибирской язвы, сальмонелл, возбудителей злокачественного отека, туберкулеза.

6. Понятие о единице и спектре действия антибиотиков

Антибиотики – (греч. anti – против, bios – жизнь) специфические вещества жизнедеятельности разных микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, плесневых грибов) растений или животных тканей, или получаемые синтетическим путем, угнетающие рост и размножение многих микробов и губительно действующие на единичные из них.

По происхождению антибиотики делят на 5 групп:

1. Антибиотики, образуемые грибами и лишайниками. Грибы и актиномицеты являются наиболее активными продуцентами антибиотиков. Так, *Penicillium notatum* (А. Флеминг, 1929) и *Penicillium crustosum* (З.В. Ермольева, 1942) выделяют антибиотическое вещество – пенициллин.

Asinomycetes steptomycim – стрептомицин, *St. aureofaciens* – биомицин (хлортетрациклин), *Streptomycetes rimosus* – окситетрациклин (террамицин), *St. poursei* – нистатин, *Cephalosporium acremonium* – цефагиллин, *Trichothecium roseum* – трихоцетин.

Лишайники продуцируют усниновую кислоту, обладающую сильными антибиотическими свойствами. К этой кислоте чувствительны дифтерийные палочки. Самое широкое применение в практике нашли антибиотики, образуемые актиномицетами.

Streptomycetes greuseus – стрептомицин, *Str. fradiae* – неомицин, *Str. Canamyceticus* – канамицин, *Aucromonospora purpurea* – генитамицин,

Str. erythreus – эритромицин, *Str. fradiae* – тилозин.

2. **Антибиотики, выделяемые из бактерий.** Группа этих антибиотиков очень небольшая. Продуценты – разнообразные бактерии, сапрофиты, обитающие в почве и обладающие выраженной биохимической активностью. Относятся грамицидин, колицин, ниоцеонин, субтилин, полимиксин и др. Большинство этих антибиотиков токсично при парентеральном введении, поэтому применяются местно.

3. Антибиотики животного происхождения

Вещества, выделяемые животными тканями, способны избирательно поражать отдельные виды микробов. Относятся эритрин, выделяемый из эритроцитов различных животных, экмолин, получаемый из ткани рыб, лизоцим – полисахарид, получаемый из яичного белка. Клетками некоторых тканей продуцируется интерферон, угнетает жизнедеятельность многих возбудителей.

4. Антибиотики растительного происхождения

Фитонциды – ядовитые вещества, выделяемые растениями (лук, чеснок, хрен, горчица, алоэ, крапива, можжевельник, почки березы, листья черемухи и т.д.). Это летучие вещества, обладающими антибактериальными свойствами в отношении многих микробов: сарцины, стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, протей и др.

5. Антибиотики, синтезированные химическим путём – фторхинолы 7000 более 30 уже выпускаются. Эти антибиотики – полностью синтетические вещества, которые по структуре не имеют природных аналогов, не дают токсических препаратов, проникают через все физиологические барьеры.

Единицы измерения противомикробной активности антибиотиков

Противомикробная активность измеряется тем наименьшим количеством препарата, которое оказывает антимикробное действие и выражается в единицах действия (ЕД / мл / лит). Настоящее время единицы действия антибиотиков выражают в микрограммах сухого вещества. Так, за единицу пенициллина применяют 0,6 мкг чистой кристаллической содой, за единицу стрептомицина – 1 мкг чистого сухого препарата и т.д.

Методы определения антибиотиков основаны на подавление роста и активности микроба (золотистого стафилококка №209 для пенициллина, *Bac. Subtilis*, *E coli* для стрептомицина) на чашках с плотными питательными средами (метод дисков), либо не жидких питательных средах (метод серийных разведений).

Характерными свойствами антибиотиков является избирательность их действия на микробную клетку. Каждый антибиотик обладает определенным антимикробным спектром действия: антибиотики, действующие на немногие виды микробов (пенициллин, грамицидин), и антибиотики, имеющие широкий спектр антимикробного действия (левомицетин, тетрациклин и др.).

7. Механизм действия антибиотиков на микробную клетку

По механизму действия на микробы антибиотики делятся на бактерицидные, убивающие бактерии (пенициллин, стрептомицин, грамицидин) и бактериостатическое, задерживающие рост микробов (все прочие антибиотики).

По механизму действия на микробы их делят на группы:

Антибиотики, ингибирующие синтез бактериальной стенки (пенициллины, цефалоспорины, бацитрацин, ванкомицин).

Антибиотики, нарушающие функционирование цитоплазматической мембраны (полипептиды, полиены, грамицидин).

Антибиотики, разрушающие рибосомальные субчастицы, сдерживающие синтез белка (тетрациклины, хлормицетины, аминогликозиды и др.).

Антибиотики, избирательно подавляющие синтез нуклеиновых кислот:

а) ингибиторы синтеза РНК (актиномицин, канамицин, неомицин и др.); б) ингибиторы синтеза ДНК (саркомицин и др.).

Антибиотики-ингибиторы дыхания – антимиоцин, антимицин А1, А2, А3, А4, А35, ауровертин, кордицилин, псикрфуранин, туберцидин, хадацидин.

Антибиотики-ингибиторы окислительного фосфорилирования: ауровертин, аскозин, нигерицин, алигомицины, натулин, пиоцианин, рутамицин, флавензомицин, ускиновая кислота.

Новый антибактериальный препарат – Абактан – действующим веществом является пefлoксацин мезилат дигидрат – антибиотик фторхинолонового ряда.

Механизм действия обусловлен входящим в его состав пefлoксацином – фторхинолоновый антибиотик нового поколения. Этот антибиотик ингибирует ДНК-гиразу, влияет на РНК бактерий синтез бактериальных белков, на стабильность мембран и другие жизненные процессы бактериальных клеток.

Многоударный механизм антибактериального действия фторхинолонов обуславливает широту спектра чувствительных к ним бактерий и невозможность формирования у них резистентности.

При парентеральном и пероральном применении всасывается на 90% и имеет длительный период полувыведения без организма (11 часов).

Понятие о единице и спектре действия антибиотиков

Антибиотики – (греч. anti – против, bios – жизнь) специфические вещества жизнедеятельности разных микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, плесневых грибов) рас-

тений или животных тканей, или получаемые синтетическим путем, угнетающие рост и размножение многих микробов и губительно действующие на единичные из них.

По происхождению антибиотики делят на 5 групп:

1. Антибиотики, образуемые грибами и лишайниками. Грибы и актиномицеты являются наиболее активными продуцентами антибиотиков. Так, *Penicillium notatum* (А. Флеминг, 1929) и *Penicillium crustosum* (З.В. Ермольева, 1942) выделяют антибиотическое вещество – пенициллин.

Asinomycetes steptomycim – стрептомицин, *St. aureofaciens* – биомицин (хлортетрациклин), *Streptomyces rimosus* – окситетрациклин (террамицин), *St. noursei* – нистатин, *Cephalosporium acremonium* – цефагиллин, *Trichothecium roseum* – трихоцетин.

Лишайники продуцируют усниновую кислоту, обладающую сильными антибиотическими свойствами. К этой кислоте чувствительны дифтерийные палочки.

Самое широкое применение в практике нашли антибиотики, образуемые актиномицетами. *Streptomyces griseus* – стрептомицин, *Str. fradiae* – неомицин, *Str. Canamyceticus* – канамицин, *Aucromonospora purpurea* – гентамицин, *Str. erythreus* – эритромицин, *Str. fradiae* – тилозин.

2. Антибиотики, выделяемые из бактерий. Группа этих антибиотиков очень небольшая. **Продуценты** – разнообразные бактерии, сапрофиты, обитающие в почве и обладающие выраженной биохимической активностью. Относятся грамицидин, колицин, ниоцеонин, субтилиин, полимиксин и др. Большинство этих антибиотиков токсично при парентеральном введении, поэтому применяются местно.

3. Антибиотики животного происхождения

Вещества, выделяемые животными тканями, способны избирательно поражать отдельные виды микробов. Относятся эритрин, выделяемый из эритроцитов различных животных, экмолин, получаемый из ткани рыб, лизоцим – полисахарид, получаемый из яичного белка. Клетками некоторых тканей продуцируется интерферон, угнетает жизнедеятельность многих возбудителей.

4. Антибиотики растительного происхождения

Фитонциды – ядовитые вещества, выделяемые растениями (лук, чеснок, хрен, горчица, алоэ, крапива, можжевельник, почки березы, листья черемухи и т.д.). Это летучие вещества, обладающими антибактериальными свойствами в отношении многих микробов: сарцины, стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, протей и др.

5. Антибиотики, синтезированные химическим путём – фторхинолы 7000 более 30 уже выпускаются. Эти антибиотики – полностью синтетические вещества, которые по структуре не имеют природных аналогов, не дают токсических препаратов, проникают через все физиологические барьеры.

Единицы измерения противомикробной активности антибиотиков

Противомикробная активность измеряется тем наименьшим количеством препарата, которое оказывает антимикробное действие и выражается в единицах действия (ЕД / мл / лит). Настоящее время единицы действия антибиотиков выражают в микрограммах сухого вещества. Так, за единицу пенициллина применяют 0,6 мкг чистой кристаллической содой, за единицу стрептомицина – 1 мкг чистого сухого препарата и т.д.

Методы определения антибиотиков основаны на подавление роста и активности микроба (золотистого стафилококка №209 для пенициллина, *Bac. Subtilis*, *E coli* для стрептомицина) на чашках с плотными питательными средами (метод дисков), либо не жидких питательных средах (метод серийных разведений).

Характерными свойствами антибиотиков является избирательность их действия на микробную клетку. Каждый антибиотик обладает определенным антимикробным спектром действия: антибиотики, действующие на немногие виды микробов (пенициллин, грамицидин), и антибиотики, имеющие широкий спектр антимикробного действия (левомицетин, тетрациклин и др.).

Механизм действия антибиотиков на микробную клетку

По механизму действия на микробы антибиотики делятся на бактерицидные, убивающие бактерии (пенициллин, стрептомицин, грамицидин) и бактериостатическое, задерживающие рост микробов (все прочие антибиотики).

По механизму действия на микробы их делят на группы:

Антибиотики, ингибирующие синтез бактериальной стенки (пенициллины, цефалоспорины, бацитрацин, ванкомицин).

Антибиотики, нарушающие функционирование цитоплазматической мембраны (полипептиды, полиены, грамицидин).

Антибиотики, разрушающие рибосомальные субчастицы, сдерживающие синтез белка (тетрациклины, хлормицетины, аминогликозиды и др.).

Антибиотики, избирательно подавляющие синтез нуклеиновых кислот: а) ингибиторы синтеза РНК (актиномицин, канамицин, неомицин и др.); б) ингибиторы синтеза ДНК (саркомицин и др.).

Антибиотики-ингибиторы дыхания – антимицин, антимицин А1, А2, А3, А4, А35, ауровертин, кордицилин, психрофуранин, туберцидин, хадацидин.

Антибиотики-ингибиторы окислительного фосфорилирования: ауровертин, аскозин, нигерицин, алигомицины, натулин, пиоцианин, рутамицин, флавензомицин, усниновая кислота.

Новый антибактериальный препарат – Абактан – действующим веществом является пefлоксацин мезилат дигидрат – антибиотик фторхинолонового ряда. Механизм действия обусловлен входящим в его состав пefлоксацином – фторхинолоновый антибиотик нового поколения. Этот антибиотик ингибирует ДНК-гиразу, влияет на РНК бактерий синтез бактериальных белков, на стабильность мембран и другие жизненные процессы бактериальных клеток. Многоударный механизм антибактериального действия фторхинолонов обуславливает широту спектра чувствительных к ним бактерий и невозможность формирования у них резистентности. При парентеральном и пероральном применении всасывается на 90% и имеет длительный период полувыведения без организма (11 часов). **Абактан** применяют для лечения и профилактики колибактериозов, сальмонеллёзов, пастереллезов, гемофилезов, стрептококковых, стафилококковых, диплококковых инфекций, микоплазмозов, листериозов и других бактериальных инфекций. Вводят препарат в/м, п/к, в/в и перорально в суточной дозе 5 мг/кг массы тела (для птиц в дозе 10 мг/кг массы). Большинство антибиотиков не убивает патогенных микробов в организме животных, а лишь приостанавливает их развитие и нарушает их жизнедеятельность. Освобождается организм от микробов с помощью защитных сил организма. Антибиотики надо применять грамотно, зная их свойства, и лучше комплексно с другими химическими веществами. Иначе они могут вызвать различные побочные и другие осложнения: аллергические реакции, токсическое действие на нервную систему, кровь, печень и др. Длительное применение их, может неблагоприятно воздействовать на полезную микрофлору кишечного тракта, активизируя её антагонистов (стафилококков, протей, синегнойной палочки, дрожжевых грибов типа *Candida*). Неправильное и неоправданное применение антибиотиков может привести к возникновению антибиотико-устойчивых штаммов патогенных микробов (дисбактериоз).

Лекция 4 Тема: Патогенность, вирулентность микроорганизмов, характерные особенности инфекционной болезни, классификация инфекций.

1. Понятие о патогенности и вирулентности

Патогенность – способность микробов паразитировать в организме животного и вызывать инфекционный процесс.

По этому признаку все существующие микроорганизмы подразделяют на **патогенные, условно-патогенные и сапрофиты.**

Все возбудители инфекционных болезней являются **патогенными**, но не все из них способны вызывать инфекционную болезнь, для этого микроб должен обладать вирулентностью. Никто не сомневается в патогенности сибиреязвенной бациллы, между тем, среди культур этого микроба встречаются **авирулентные штаммы**, не способные вызывать заболевания у овец, кроликов.

Поэтому патогенность зависит от **вирулентности**.

Вирулентность – это степень патогенности конкретного микроорганизма.

Её можно измерить. За единицу измерения вирулентности условно приняты **летальная и инфицирующая дозы**.

Минимальная смертельная доза DLM (Dosis letalis minima) – это наименьшее количество живых микробов или их токсинов, вызывающее за определенный срок гибель большинства взятых в опыт животных определенного вида.

Но поскольку индивидуальная чувствительность животных к патогенному микробу (токсину) различна, то была введена **безусловно смертельная доза DCL (Dosis certa letalis)**, вызывающая гибель 100% зараженных животных.

Наиболее точной является **средняя летальная доза – LD₅₀**, т.е. наименьшая доза микробов (токсинов), убивающая половину 50% животных в опыте.

Для установления летальной дозы принимают во внимание способ введения возбудителей, массу и возраст подопытных животных и т.д., например: белые мыши 16-18 г, морские свинки 350-400 г, кролики 2 кг.

Таким же образом определяют **инфицирующую дозу (ID)**, т.е. количество микробов или токсинов, которые вызывают соответствующую инфекционную болезнь.

Вирулентность зависит от ряда биологических, физических и химических факторов, воздействующих на микробы. Вирулентность можно повысить или понизить искусственными приемами. Длительное выращивание культур вне организма, на обычных питательных средах, при максимальной температуре, добавление антисептических веществ (щелочь, сулема и т.д.) ослабляют вирулентность. Таким путем Ценковский получил 1 и 2 вакцины против сибирской язвы. Пассирование возбудителей инфекционной болезни через определенный вид животного от зараженного к здоровому. Так возбудитель рожи свиней, пассируя через организм кролика, ослабляет вирулентность для свиней, но усиливает ее для кроликов.

Вирулентность микроорганизмов связана с **токсигенностью** и **инвазивностью**. **Токсигенность** – способность микроба образовывать токсины, которые вредно действуют на макроорганизм, путем изменения его метаболических функций. **Инвазивность** (лат. *invasio* – нападение) – способность микроба преодолевать защитные барьеры организма, проникать в органы, ткани и полости, размножаться в них и подавлять защитные силы макроорганизма. **Инвазивные свойства** патогенных бактерий обеспечиваются за счет микробных ферментов (гиалуронидаза), капсул и других химических компонентов микробов.

2. Основные факторы патогенности

По функциональному значению их разделяют на 4 группы:

1. Микробные ферменты, способствующие проникновению и распространению возбудителя в макроорганизме (гиалуронидаза, фибринолизин, нейраминидаза, ДНК-аза, коллагеназа, коагулаза).

2. Поверхностные структуры бактерий, способствующие закреплению их в макроорганизме (ворсинки, жгутики, пили, рибитотейхоевые или липотейхоевые кислоты, липопотеиды и липополисахариды).

3. Поверхностные структуры бактерий, обладающие антифагоцитарным действием (А-протеин, М-протеин, Vi-антиген, капсула и др.).

4. Факторы патогенности с токсической функцией (эндотоксины, экзотоксины, гемолизины, лейкоцидин, нейротоксины, энтеротоксины).

Первые 3 группы факторов обуславливают **инвазионность**, последний – **токсичность** патогенных микробов

Таким образом, факторы вирулентности приводят основные функции организма к дисфункции, в силу чего последний погибает. Однако не каждый вирулентный штамм патогенных микроорганизмов обладает всей суммой указанных факторов вирулентности; одного – двух из них бывает достаточно, чтобы ослабить реактивность животного и вызвать его гибель.

3. Определение понятий «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь»

Инфекция (лат. infectio – заражение) – это явление, специфической сущностью которого является внедрение и размножение инфекционного агента в макроорганизме с последующим развитием различных форм их взаимодействия – от носительства возбудителя до выраженного проявления болезни.

Инфекционный процесс – комплекс реакций, возникающих в макроорганизме при инфекции, и направленных на обеспечение гомеостаза и равновесия с окружающей средой

Инфекционный процесс включает внедрение, размножение и распространение патогенного микроба в организме с одной стороны, и реакцию организма на это действие с другой стороны.

Реакции макроорганизма на выражаются в **биохимических, морфологических, функциональных и иммунологических изменениях**, направленных на сохранение постоянства внутренней среды организма.

Наиболее яркой формой проявления инфекции, инфекционного процесса является **инфекционная болезнь**, которая обусловлена патологическими процессами, вызванными действием возбудителя и характеризуется отдельной клинической картиной.

4. Характерные особенности инфекционной болезни

Инфекционная болезнь имеет ряд особенностей, отличающих ее от болезней неинфекционного характера.

Особенности:

I. Инфекционная болезнь вызывается определенным **специфическим возбудителем**.

II. Заболевший организм сам становится источником возбудителя инфекции, который выделяется из больного организма и заражает здоровых животных, т.е. инфекционной болезни присущи **заразность, микробоносительство, вирусоносительство**.

III. В больном организме происходят процессы образования специфических антител. В результате этого организм после выздоровления становится в большинстве случаев **иммунным**, т.е. невосприимчивым к повторному заражению тем же возбудителем.

Инфекционный процесс характеризуется циклическим развитием и включает следующие периоды: 1. Инкубационный. 2. Продромальный.

3. Клинический (разгар болезни). 4. Выздоровление (реконвалесценция).

Инкубационный период – определенный промежуток времени от момента проникновения возбудителя, до появления первых клинических признаков болезни. При разных инфекционных болезнях он неодинаков: от нескольких дней, месяцев до нескольких лет.

Продромальный период (период предвестников болезни) – характеризуется первыми симптомами: повышением температуры тела, слабостью, угнетением, потерей аппетита.

Продолжительность этого периода – от нескольких часов до 4 суток.

Период развития основных клинических признаков (период разгара болезни) – проявляются основные характерные для данной инфекционной болезни признаки (при

ящуре – афты, при бешенстве – параличи, при ботулизме – расслабление мышц), угнетение, высокая температура, нарушение дыхания, пищеварения и др.

Поверхностные поражения слизистой оболочки языка у КРС не ящурного происхождения. Период болезни животного сменяется **периодом выздоровления (реконвалесценции)** – постепенно восстанавливаются физиологические функции организма.

Клиническое выздоровление при многих инфекционных болезнях не совпадает по времени с освобождением организма от возбудителя.

После переболевания инфекционным заболеванием, в одних случаях в результате образования иммунитета организм полностью освобождается от возбудителя, в ряде случаев после выздоровления возбудитель длительное время сохраняется в организме животных. Такое состояние называется **микробо- или вирусоносительством** (сальмонеллез, пастереллез и др.).

Такие животные представляют опасность, как источник возбудителя инфекции.

Формы и динамика проявления инфекционных болезней

Течение инфекционной болезни может быть **молниеносным, острым, подострым, хроническим, abortивным**, а форма клинического проявления – **типичной и атипичной**.

Формы проявления болезни характеризуют по признаку преимущественной локализации патологического процесса (кишечная, легочная и кожная формы сибирской язвы).

Для **острого течения болезни**, обычно продолжающегося от одного до нескольких дней, характерно бурное проявление типичных клинических признаков. Так могут протекать сибирская язва, ящур, ЭМКАР, бешенство.

Возможно **сверхострое (молниеносное) течение**, при котором животное погибает через несколько часов, вследствие быстро развивающегося сепсиса или токсинемии (сибирская язва, инфекционная энтеротоксемия и бродзот овец). Типичные клинические признаки в таких случаях не успевают развиться.

При **подостром**, более продолжительном течении, клинические признаки болезни тоже типичны, но выражены слабее.

Однако патологоанатомические изменения характерны. При вспышках рожи или классической чумы свиней, например, отмечают как острое, так подострое течение болезни, что объясняется различиями в резистентности животных и вирулентности возбудителя.

При **хроническом** течении болезнь может затянуться на месяцы, и даже годы. Клинические признаки слабо выражены, а иногда вообще отсутствуют (при инфекционной анемии лошадей, туберкулезе, бруцеллезе, сапе), что затрудняет диагностику болезни. Не исключаются переходы одного типа болезни в другой. Если комплекс клинических признаков характерен для данной инфекционной болезни, то форму ее проявления характеризуют как **типичную**.

Нередки отклонения от типичной картины вследствие легкого переболевания (ангинозная форма сибирской язвы у свиней). Такие формы проявления болезни считают **атипичными**. Это затрудняет диагностику. Если инфекционный процесс быстро заканчивается выздоровлением животного, то течение болезни называют **доброкачественным**. При сниженной резистентности животного, болезнь может принять **злокачественное течение**, характеризующееся высокой летальностью. Такую тяжелую, осложненную форму проявления болезни также следует считать **атипичной**. Если типичное развитие болезни внезапно приостанавливается (обрывается) и наступает выздоровление, течение болезни называют **abortивным**. Abortивно протекающая болезнь кратковременная, проявляется в легкой форме при отсутствии некоторых, нередко основных клинических признаков. Причиной такого течения считают высокую резистентность животного. Если после перенесенной инфекционной болезни и освобождения организма животного от ее возбудителя происходит повторное заражение тем же самым видом (серотипом) патогенного микроба, возникает **реинфекция**. Основное условие ее развития – сохранение восприимчивости к

данному возбудителю (отсутствие или недостаточная прочность иммунитета). Возможна и **суперинфекция** – в результате повторного заражения, наступившего на фоне уже развившейся инфекции, вызванной тем же видом возбудителя. Возврат инфекционной болезни, повторное появление ее симптомов после клинического выздоровления называют **рецидивом**. Он возникает как эндогенная реинфекция при снижении резистентности животного и активизации сохранившегося в организме возбудителя перенесенной болезни. Рецидивы свойственны болезням, при которых формируется недостаточно прочный иммунитет. Инфекционный процесс очень часто протекает **бессимптомно, скрыто, латентно**. Своеобразной формой скрытой инфекции следует считать иммунизирующую **субинфекцию** – это явление, когда патогенные микробы, неоднократно проникающие в организм животного в малых дозах, вызывает иммунобиологические реакции, выработку специфических антител, но сами при этом погибают. Соответственно животное становится источником возбудителя инфекции, патоморфологических изменений не выявляют, функциональных расстройств не обнаруживают. Такое состояние могут вызвать возбудители эмфизематозного карбункула, лептоспироза и др. инфекционных болезней.

5. Условия и механизм возникновения и течения инфекции

Для возникновения инфекционной болезни необходимы условия:

1 - микроб должен быть **достаточно вирулентным**;

2 - необходимо внедрение **определенного количества возбудителя**;

3 - микробы должны проникнуть в организм через благоприятные для них **ворота инфекции** и достигнуть восприимчивых тканей;

4 - организм хозяина **должен быть восприимчив** к данному возбудителю болезни;

5 - **необходимы определенные условия среды**, при которых происходит взаимодействие между микробом и организмом.

6. Ворота инфекции и механизм передачи

Место проникновения патогенных микробов в организм называется входными **воротами инфекции**. Ими могут быть кожа, конъюнктивы, слизистые оболочки пищеварительного тракта, дыхательных путей, мочеполового аппарата, а для плода в эмбриональный период – плацента. Многие микроорганизмы могут проявить патогенное действие лишь при проникновении через строго определенные ворота инфекции. Возбудитель столбняка становится опасным только при проникновении в раны (опасны особенно глубокие раны). Многие другие микробы приспособились к разным путям внедрения. Возбудитель сибирской язвы может вызвать болезнь при проникновении через пищеварительный тракт, органы дыхания, поврежденную кожу. С учетом механизма передачи возбудителя инфекции условно разделяют на: **кишечные** (колибактериоз, сальмонеллез), **респираторные** (туберкулез, оспа), **кровяные** (Ку-лихорадка, туляремия), **инфекции кожных покровов и слизистых оболочек** (столбняк, ящур).

Условность такой классификации объясняется способностью некоторых возбудителей проникать в организм животного разными путями.

Возбудители кишечных инфекций передаются алиментарным путем (корма, вода, предметы ухода). Инфекции дыхательных путей распространяются воздушно-капельным путем. Для кровяных инфекций характерен трансмиссивный путь передачи через кровососущих насекомых (вши, блохи, комары, клещи и др.)

Возбудители инфекций кожных покровов и слизистых оболочек передаются через предметы обихода, прямым контактом.

7. Распространение патогенных микробов в организме животных и пути выделения

Из ворот инфекции возбудитель может проникнуть в **лимфатические сосуды**, попадая затем с током лимфы в различные органы и ткани (**лимфогенный путь**). Воспалительные изменения находят в лимфатических сосудах и лимфоузлах. **Гематогенный** (по кровяному руслу) путь распространения микроорганизмов через кровь. Некоторые микробы распространяются по нервной ткани (**нейронный путь**), например вирус бешенства.

Нередко микробы, проникшие в организм, в начале размножаются только в месте внедрения, вызывая развитие местного воспалительного очага (первичный эффект) как первоначального этапа инфекционного процесса. Так может быть при сибирской язве, туляремии, сапе, стафилококковых и стрептококковых инфекциях

Если воспалительные и дегенеративные изменения развиваются на ограниченном участке в месте локализации возбудителя, инфекцию называют **местной, очаговой, локальной**. Например, локальные инфекции – микозы, папилломатоз кроликов и КРС, трансмиссивный гастроэнтерит свиней. При задержке микробов в лимфоузлах, контролирующей определенную область, инфекцию определяют как **региональную**.

В случае прорыва основных защитных барьеров и беспрепятственного распространения микроорганизмов в организме с лимфой или кровью говорят о **генерализованной** инфекции. Генерализация ведет к развитию бактериемии, септикопиемии, образованию вторичных очагов поражения.

8. Понятие о «бактериемии», «септицемии», «пиемии», «септикопиемии», «токсемии»

Бактериемия - микробы находятся в крови и не размножаются в ней, а разносятся кровью из первичного очага инфекции в другие чувствительные ткани и органы. Соответственно, проникновение вируса в кровь и распространение с кровью – **вирусемия**; при риккетсиозах говорят о **риккетсемии**. **Сепсис** – микробы размножаются в крови, проникают во все органы и ткани, вызывают образование вторичных очагов поражения. Может быть при сибирской язве, пастереллезе, роже свиней. Это происходит в результате снижения бактериостатических свойств крови. **Септицемия** – возбудитель находится и размножается только в кровеносной и лимфатической системах. При роже свиней, колибактериозе, сибирской язве и др. **Пиемия** – возбудитель, распространяясь из первичного очага поражения лимфогенно и гематогенно, может вызвать образование вторичных гнойных очагов (метастазов) в различных органах. При стрепто- и стафилококкозах, метастатическом мыте у лошадей. **Септикопиемия** – смешанная форма сепсиса, периодическое поступление в кровь микробов из первичного септического очага и преобразование вторичных абсцессов (очагов гнойного воспаления). **Токсемия** – наличие токсинов в крови. Состояние, при котором возбудители болезни размножаются только в месте внедрения, а патогенное действие оказывают их циркулирующие в крови экзотоксины. Это типичные токсикоинфекции: столбняк, ботулизм, инфекционная энтеротоксемия и браздот овец.

9. Значение состояния организма животных и факторов внешней среды

Ранее при изучении инфекционных болезней животных организм рассматривали как пассивную арену деятельности патогенного возбудителя, который вызывает инфекцию при любых условиях. Состояние макроорганизма и влияние факторов окружающей среды во внимание не принимали.

Работы Л. Пастера и И.И. Мечникова убедительно показали, что инфекционный процесс зависит не только от вирулентности и дозы возбудителя, но и от состояния защитных сил макроорганизма, которое определяется следующими факторами: реактивностью (способностью проявлять защитно-приспособительные функции), конституцией и кондицией животных, состоянием центральной нервной системы (ЦНС) и др.

Голодание – один из факторов, снижающих устойчивость организма против заражения. Систематическое недоедание ведет к появлению массовых заболеваний среди людей и животных. Отсутствие в кормах витаминов, солей фосфора и кальция делает организм животных, даже при обильном кормлении, восприимчивым к заражению туберкулезом и бруцеллезом.

Водный режим : недостаточное потребление животными воды снижает сопротивляемость их организма против инфекционных болезней.

Так путем искусственного голодания удалось ослабить организм собак и заразить их возбудителем сибирской язвы, тогда как в обычных условиях они малочувствительны к возбудителю этой инфекции.

Температура: очень высокая или низкая температура может снизить устойчивость организма против инфекции. При переохлаждении, особенно у молодняка, проявляются простудные заболевания (пневмонии, вирусные болезни). У животных, вакцинированных при высоких температурах, напряженность иммунитета снижается.

Утомление животных, вызванное чрезмерной эксплуатацией, снижает их устойчивость против инфекции. Известно, что скрытая инфекция обострялась после усиленной эксплуатации животных. Это характерно для сапа, инфекционной анемии лошадей, пастереллеза.

Нарушение зооигиенических правил - высокая влажность, отсутствие вентиляции, недостаточное количество света и т.п. ведут к снижению общей сопротивляемости организма животных. На резистентность организма влияют возраст и порода животных. Телята до 3 мес. почти никогда не болеют бруцеллезом, поросята до 2-3 мес. реже болеют рожей свиней. И наоборот, есть болезни присущие только молодняку, например, колибактериозом болеет только молодняк в первые дни после рождения. Эмфизематозный карбункул поражает крупный рогатый скот в возрасте от 3 мес. до 4 лет.

10. Классификация инфекций

Инфекция алиментарная – инфекция, обусловленная передачей возбудителя болезни через рот. Корма и вода, загрязненные выделениями больных животных, навоз, а так же корма, заготовленных при нарушении технологии их производства могут содержать возбудителей инфекционных болезней.

Инфекция аэрогенная – характеризующаяся передачей возбудителя через воздух.

Инфекция ингаляционная – заражение происходит при вдыхании возбудителя.

Инфекция капельная, воздушно-капельная – заражение при попадании возбудителя болезни в виде мельчайших капелек слизи в дыхательные пути животного. Капельки слизи выделяются в воздух больными животными при кашле, чихании.

Инфекция криптогенная – инфекция при которой не установлен путь проникновения возбудителя болезни в организм.

Инфекция смешанная - возникающая в результате внедрения в организм патогенных микробов двух или нескольких видов (одновременное течение бруцеллеза и туберкулеза; туберкулеза и паратуберкулеза; листериоза и злокачественной катаральной горячки КРС; инфекционной анемии и пироплазмоза лошадей; пастереллеза и аденовирусной инфекции КРС).

Инфекция медленная – персистентная инфекция с длительным латентным периодом, предшествующим медленно прогрессирующему заболеванию; приводит обычно к смертельному исходу.

Инфекция спонтанная – возникающая в естественных условиях самопроизвольно, при реализации механизма передачи, свойственного данному патогенному микроорганизму.

Инфекция трансмиссивная – возникающая при передаче возбудителя кровососущими членистоногими и другими живыми переносчиками.

Инфекция экзогенная – вызванная патогенными микробами, поступившими в организм из окружающей среды.

Инфекция эндогенная – развивающаяся при снижении резистентности животного вследствие активизации микробов, обитающих в организме.

Лекция 5 Тема: Ветеринарная биотехнология

Биотехнология (от греч. *bios* — жизнь, *tecn* — искусство, *logos* — наука) — это область знаний, которая на основе изучения биологических процессов, протекающих в живых организмах и системах, использует эти процессы, а также сами биообъекты (главным образом бактерии, вирусы, грибы, растительные и животные клетки) для получения в

промышленных условиях необходимых ценных для человека продуктов или создания процессов и материалов, ранее не встречавшихся в природе.

Биотехнология — это наиболее быстро развивающаяся наука, которая на ближайшие десятилетия будет определять уровень научно-технического прогресса всего человечества. Связано это с тем, что она решает такие важные проблемы, как: создание принципиально новых эффективных и экономичных технологий получения необходимых в жизни человека веществ и материалов, в том числе медикаментозных средств; создание новых сложных материалов; осуществление процессов, ранее неизвестных в природе; поиски оригинальных путей решения экологической безопасности на планете и новых источников энергии; повышение продуктивности сельскохозяйственных растений и животных и т.д.

В соответствии с этими задачами биотехнология как единая область знания подразделяется на медицинскую, сельскохозяйственную, промышленную и экологическую.

Медицинская биотехнология решает следующие задачи:

а) создание профилактических, диагностических и лечебных препаратов на основе современных экономичных и эффективных технологий с использованием биообъектов (микробные, растительные и животные клетки, органы животных, растения) и продуктов их жизнедеятельности (первичные и вторичные метаболиты). Это прежде всего создание и производство антибиотиков, вакцин, витаминов, гормонов, иммуномодуляторов, антигенов, антител, нуклеиновых кислот, диагностических систем, иммунокомпетентных клеток, препаратов крови и др.;

б) разработка и использование в практике новых приборов, аппаратуры, а также материалов, восполняющих дефекты в работе отдельных органов и тканей человека. В качестве примера можно привести создание искусственной кожи из культуры клеток эпидермиса для восполнения дефектов при ожогах; создание искусственной почки, сердца и других органов; восстановление работы иммунной системы с помощью пересадки иммунокомпетентных клеток и т.д.;

в) разработка на основе знаний о геноме человека проблем генодиагностики, генотерапии и генопрофилактики наследственных и других заболеваний путем пересадки генов;

г) создание принципиально новых методов для проведения лабораторных и клинических анализов с помощью биосенсоров. Принцип работы биосенсоров сводится к регистрации точными и чувствительными приборами (детекторами) физических, химических и биологических эффектов взаимодействия биореагентов (например, ферментов, антител, антигенов) с клетками или молекулами-мишенями, т.е. с определяемым детектируемым веществом. Например, взаимодействие антигенов со специфическими антителами может сопровождаться экзотермической реакцией, которая улавливается точными приборами, и по силе этой реакции можно судить о количественных характеристиках ее компонентов.

Сельскохозяйственная биотехнология наряду с разработкой и производством диагностических, профилактических и лечебных ветеринарных препаратов интенсивно занимается проблемами повышения урожайности, продуктивности животноводства путем выведения с помощью генной инженерии новых сортов растений и пород животных (трансгенные животные).

Экологическая биотехнология разрабатывает биологические системы деградации и обезвреживания вредных химических веществ, загрязняющих почву, водоемы, атмосферу. Например, уже получены штаммы микроорганизмов, утилизирующих нефть и нефтепродукты на водных поверхностях, фенол — в сточных водах и т. д.

Учитывая важность биотехнологии на современном этапе существования человечества, в ее развитие вкладываются огромные средства. Более половины этих средств идет на развитие медицинской биотехнологии, так как она решает основные проблемы жизнеобеспечения человека.

Развитие биотехнологии. Биотехнология возникла давно. Уже до нашей эры человек научился выпекать хлеб, получать молочнокислые продукты, вино, пиво с помощью

биотехнологических процессов брожения, ферментации. Естественно, что эта деятельность человека носила сугубо эмпирический характер.

Только в XIX в. великий французский ученый Л. Пастер открыл микробную (ферментативную) природу брожения. С этого времени биотехнология стала на научный путь развития, а Л. Пастера можно считать основоположником биотехнологии. Иногда период, связанный с открытием Л.Пастера, называют этиологическим [Блинов Н.П., 1989]. Дальнейший прогресс биотехнологии связан с достижениями микробиологии, химии, генетики, молекулярной биологии, иммунологии, химической технологии.

Большую роль в развитии биотехнологии сыграла техническая микробиология. Разработка промышленных способов культивирования микробов позволила получать разнообразные медицинские препараты, пищевые продукты (сахар, сиропы, дрожжи), многие химические вещества (спирт, уксусная кислота, ацетон и др.). Одним из важных этапов развития биотехнологии явились использование культур животных и растительных клеток, разработка способов их промышленного культивирования. Наконец, венцом современной биотехнологии стала генетическая и белковая инженерия, которые позволили получать разнообразные биологически активные вещества, используя рекомбинантные штаммы бактерий и вирусов, а также синтез их в бесклеточной системе.

Объекты и процессы в биотехнологии. Основными технологическими принципами, используемыми в биотехнологии, являются: а) брожение (ферментация); б) биоконверсия (превращение одного вещества в другое); в) культивирование бактерий, вирусов, растительных и животных клеток; г) генетическая инженерия. Объектами биотехнологии служат, как уже указывалось, бактерии, вирусы, животные и растительные клетки, органы и ткани животных и человека, растения и другие биообъекты.

Простейшим способом получения биотехнологической продукции является использование животных и их органов и тканей. Например, иммунные сывороточные препараты получают из крови иммунизированных животных (лошадей, кроликов); гормон инсулин — из поджелудочных желез крупного рогатого скота и свиней. Гормон роста получают из гипофиза умерших людей; для получения препаратов крови используют донорскую, плацентарную и абортивную кровь.

Для получения многих лекарственных средств (сердечных, мочегонных, противовоспалительных и т.д.) используют растения.

Любая животная, растительная и микробная клетка является своего рода биофабрикой, синтезирующей огромное число макромолекул, химических соединений, служит своеобразным хранилищем веществ, обладающих биологической активностью и представляющих ценность как продукты для использования в медицине, ветеринарии, пищевой промышленности и других сферах народного хозяйства. Например, микробная клетка синтезирует и содержит более 2500 белков, ферментов, олиго- и полисахаридов, липиды, витамины и другие вещества.

Преимущество получения этих веществ из микробной клетки по сравнению, например, с химическим синтезом или другими технологиями очевидно, так как: а) микробные клетки можно выращивать в больших объемах в короткие сроки на недефицитных питательных средах и по сравнительно простой технологии; б) большинство химически сложных веществ, получаемых из микробов, пока недоступны для синтеза другими способами; в) для микробиологической промышленности не требуется сложной аппаратуры и в ней в основном применима аппаратура, используемая в химической промышленности.

В биотехнологии нашли применение десятки видов бактерий, дрожжей, вирусов. Обычно используются виды микробов, обладающие высокой синтетической способностью, интенсивным ростом и накоплением целевого продукта, а также безопасностью и безвредностью при массовом культивировании в производственных условиях. Чаще всего в производственных условиях применяют актиномицеты и грибы для получения антибиотиков; дрожжи — в хлебопечении, виноделии, пивоварении, для получения кормового белка, питательных сред; бациллы — для получения ферментов; клостридии — для сбра-

живания Сахаров в ацетон, этанол, бутанол; псевдомонады — для получения витамина В, молочнокислые бактерии — в пищевой промышленности и т.д.

Кроме того, многие микроорганизмы (бактерии, дрожжи, вирусы) используются в качестве реципиентов генов целевых продуктов для получения рекомбинантных штаммов — продуцентов биотехнологической продукции (гормонов, интерферонов, иммуномодуляторов, вакцин и др.).

Производственная схема получения биотехнологической продукции состоит из следующих основных этапов; 1) культивирование микробов;

2) выделение, концентрирование и очистка целевого продукта (микробной массы, ферментов, антибиотиков, интерферонов, гормонов и др.);

3) приготовление, стандартизация и контроль готового целевого продукта (препарата).

Микробов культивируют на жидких, реже на плотных сбалансированных питательных средах в аппаратах (ферментерах) различной емкости (от 2 л до 400 м³) при оптимальном температурном режиме и физико-химических условиях (масс обменные характеристики), поддерживаемых автоматически. В качестве питательных сред используют дешевое, доступное, недефицитное сырье, например, рыбокостную муку, отходы сахарного производства (меласса), дрожжевой экстракт, в некоторых случаях гидролизаты казеина и другого белкового сырья.

Время выращивания большинства бактерий при определенных условиях составляет 1—3 сут. Из 1 т культуры за это время получается примерно 50 кг биомассы. Для повышения выхода продукции используют высокопродуктивные промышленные штаммы микробов. Из культуральной жидкости выделяют и концентрируют биомассу бактерии с помощью различных методов (сепарирование, центрифугирование, седиментация, выпаривание, ультрафильтрация, хроматография). Дальнейшей обработке подвергают или биомассу, или освобожденный от биомассы фильтрат культуральной жидкости, содержащий целевой продукт. Очистку и концентрирование целевого продукта (антибиотика, антигена, фермента и др.) осуществляют одним из известных физико-химических методов: изоэлектрическое и кислотное осаждение, осаждение кислотами, спиртами, высаливание, хроматография и др. Затем очищенному и концентрированному продукту или культуре бактерий (например, при изготовлении живых и убитых вакцин) придают конечную форму в виде жидкого, сухого, таблетированного препарата, который стандартизуют и контролируют по активности, физико-химическим и медико-биологическим параметрам.

По изложенной выше схеме получают биотехнологическую продукцию и при культивировании животных и растительных клеток. Растительные клетки используют для получения фармацевтических веществ (женьшень, мочегонные, сердечно-сосудистые и другие препараты), а животные клетки — для выращивания вирусов с целью получения вакцин, антигенов, гормонов, эндогенных иммуномодуляторов и других биологически активных веществ. Однако культивирование животных и растительных клеток значительно сложнее и дороже, чем культивирование бактерий, так как выращивание этих клеток в отличие от бактерий требует сложных по составу питательных сред, специальной аппаратуры и условий культивирования. Поэтому в биотехнологии интенсивно разрабатываются и уже используются рекомбинантные штаммы бактерий, способные синтезировать продукт растительной и животной природы.

Генетическая инженерия в биотехнологии

Генетическую инженерию относят к новейшей биотехнологии. Генетическая инженерия сводится по существу к процессу получения рекомбинантных ДНК, содержащих, помимо присущего «хозяйской» ДНК набора природных генов, «чужой» ген или гены, взятые из другой ДНК. Метод получения рекомбинантных ДНК состоит из нескольких этапов: а) выделение ДНК из клеток организма; б) получение гибридных (рекомбинантных) молекул ДНК путем встройки в исходную ДНК «чужого» гена, выделенного из другой ДНК или полученного химическим синтезом; в) введение рекомбинантной ДНК

в живую клетку (бактерий, дрожжей, растительных или животных клеток, клеток человека); г) создание условий для проявления (экспрессии) генов рекомбинантной ДНК в живой клетке и секреции нового продуцента, кодируемого «чужим» геном.

При культивировании рекомбинантного штамма в процессе роста и размножения этот штамм синтезирует не свойственный ему продукт, кодируемый встроенным чужеродным геном (например, инсулин, интерферон).

На этом принципе в настоящее время получены сотни рекомбинантных штаммов бактерий, дрожжей, вирусов, способных продуцировать разнообразные биологически активные вещества: антигены, антитела, ферменты, гормоны, иммуномодуляторы и др. Технология получения биологически активных веществ, основанная на применении рекомбинантных штаммов по существу не отличается от типовой биотехнологической схемы. Она сводится к культивированию рекомбинантного штамма, выделению синтезируемого штаммом целевого продукта, его очистке и концентрированию и созданию конечной формы препарата.

В настоящее время уже разработаны сотни медицинских препаратов, полученных на основе генетической инженерии. Многие из них внедрены в практику и применяются в медицине. Это гормоны (инсулин и гормон роста человека), антикоагулянты и тромболитики (тканевой активатор плазминогена, факторы VIII и IX), вакцины («дрожжевая» вакцина против гепатита В), иммуномодуляторы (интерфероны интерлейкины 1, 2 и др., фактор некроза опухолей, пептиды тимуса, миелопептиды), ферменты (уреаза), ангиогенин, диагностические препараты (на ВИЧ-инфекцию, на вирусные гепатиты и др.), моноклональные антитела, колониестимулирующие факторы (макрофагальный, гранулоцитарный и др.), а также многие биологически активные пептиды.

Применение генетической инженерии в биотехнологии оправдано в тех случаях, когда: а) нужное вещество невозможно получить никаким другим способом; б) если технология эффективнее и экономичнее традиционной или в) если она более безопасна для человека и окружающей среды. Например, антигены для создания вакцин против некультивируемых микроорганизмов (плазмодий малярии, возбудитель сифилиса) можно получить только генно-инженерным способом. Генно-инженерный интерферон превосходит по активности интерферон, полученный из лейкоцитов крови, и значительно дешевле последнего. Приготовление препаратов из антигенов возбудителей особо опасных инфекций (чума, холера) можно заменить биосинтезом их рекомбинантными штаммами непатогенных бактерий.

Метод генетической инженерии находит все большее применение в биологии и медицине, за ним большое будущее. Этот метод позволит получать новые эффективные лекарственные препараты, принципиально новые поливалентные живые (векторные) вакцины, регуляторные белки, осуществить генодиагностику и генотерапию. Например, уже ведутся разработки векторных поливалентных вакцин на основе рекомбинантных штаммов получен ряд эндогенных иммуномодуляторов (интерлейкины, интерферон), поведенческих пептидов (пептиды сна, страха и т.д.). Большое будущее генетической инженерии открывает расшифровка генома человека, которая позволит решить проблему генотерапии, генопрофилактики и генодиагностики инфекционных и неинфекционных болезней.

К настоящему времени программа «Геном человека» интенсивно разрабатывается в ряде стран, прежде всего в США, Японии, России. Из примерно 100 000 генов, содержащихся в хромосомах человека, уже расшифровано около 5000 генов, и на основе этого уже имеются данные об успешной генотерапии некоторых болезней.

Лекция 6 Тема: Возбудители энтеробактериальных инфекций животных

Возбудитель эшерихиоза

Эшерихиоз (колибактериоз) – Colibacteriosis - острая инфекционная болезнь молодняка сельскохозяйственных животных (в т.ч. птиц) и пушных зверей, вызываемая кишечной палочкой патогенных серологических вариантов и проявляющаяся, главным образом, диареей.

Возбудитель колибактериоза – Escherichia coli выделил в 1885 г. Эшерих из фекалий больного ребёнка. По классификации Берджи (1994) относится к 5 группе факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки, подгруппа I, семейство Enterobacteriaceae, род Escherichia. Данные микробы широко распространены в природе.

Среди них регистрируются патогенные, условно-патогенные и сапрофиты.

Патогенные виды вызывают различные инфекционные заболевания: брюшной тиф, пищевые токсикоинфекции, дизентерию и колибактериозы.

Непатогенные виды являются постоянными обитателями кишечника человека и разных видов животных, птиц, рыб. **Сапрофиты** не причиняют вреда животным.

Восприимчивы к возбудителю телята в первые 3–7 суток после рождения; поросята – до 7–8 суток; ягнята – с первых суток до 5–6 мес. возраста, реже – в более старшем возрасте; щенки пушных зверей – в первые 10 суток, молодняк птиц – в первые 3 месяца, куры в начале яйцекладки.

Взрослые животные колибактериозом не болеют, но являются бактерионосителями. Эшерихии могут вызвать эндометрит и маститы у коров.

Инкубационный период длится от нескольких часов до нескольких суток.

Наиболее частый путь заражения — алиментарный, реже аэрогенный; возможно внутриутробное заражение.

Морфология. E. coli - полиморфные палочки с закруглёнными концами длиной 1–3 и шириной 0,3–0,6 мкм. расположены одиночно, реже попарно. По Граму красятся отрицательно, спор не образуют, отдельные серовары (O8, O9, O101) образуют капсулы, подвижные (перетрихи), но регистрируются и неподвижные.

Культивирование. E.coli аэроб или факультативный анаэроб, растёт при температуре 37–38°C, pH среды - 7,0–7,4.

Хорошо растёт на обычных питательных средах (МПА, МПБ, среда Эндо и Левина). **На МПА** через 24 ч видны сочные, круглые с ровными краями и гладкой поверхностью (S-форма) серо-белого цвета колонии. **В МПБ** – интенсивное помутнение среды и появление небольшого осадка, легко разбивающегося при встряхивании. **На среде Эндо** E.Coli образует два типа колоний: тёмно-вишнёвого цвета с малиновым блеском и малиново-красные колонии с розовым ободком диаметром 2–3 мм. **На среде Левина** колонии тёмно-фиолетовые или чёрные.

При подозрении на отечную болезнь поросят дополнительно делают высев на **кровавой МПА**, поскольку штаммы, вызывающие данную патологию, обычно синтезируют бета-гемолизин.

Антигенная структура у E. coli сложная. Содержит 3 вида антигенов: O-соматический - 164 вариантов, K-поверхностный (оболочечный) – 90 вариантов, H-жгутиковый – 55 вариантов.

O-антиген – термостабильный, расположен в клеточной стенке, состоит из липидополисахарида-протеинового комплекса, выдерживает нагревание до 100°C в течение 2,5 ч. Белковый компонент его обуславливает иммунные свойства, липоидный – токсичность (эндотоксин), полисахаридный – серологическую специфичность.

K-антиген – полисахарид состоит из группы поверхностных антигенов трёх видов: L, В и А. L-, В- и А-антигены термолабильные. L-антиген инактивируется при температу-

ре 60°C в течение 1 часа, В-антиген – при 100°C в течение 1 часа. Культуры **E. coli**, содержащие L –антиген, более токсичны для мышей, обладают некротизирующими свойствами, часто вызывают лизис эритроцитов (гемолиз). Колонии таких культур непрозрачны.

A-антиген – имеется у слизистых капсулообразующих штаммов, разрушается при 120°C в течение 2,5 часов. Культуры с таким антигеном непрозрачные, слизистые, устойчивы к фагоцитозу и бактериолизу.

H-антиген (жгутиковый) термолабильный, белковой природы, обнаружен у подвижных штаммов эшерихий, имеется несколько десятков разновидностей.

Сочетание O-, K и H-антигенов характеризует серологический вариант (серовар) бактерий.

Эшерихии (колибактерии) имеют поверхностные ворсинки – пили.

За счет ворсинок пили происходит адгезия (прикрепление) к другим клеткам в тонком отделе кишечника. Антигенное строение эшерихий выражают формулой, например: O55:K59:H10. Цифры обозначают порядковый номер антигена в диагностической антигенной схеме Кауфмана.

Основой антигенно-диагностической схемы эшерихий является разделение их по O-антигену. Для ветеринарных целей выпускают агглютинирующие O-колизыворотки для определения серогрупповой принадлежности.

Биохимические свойства. E.coli продуцирует многообразные ферменты разлагающие углеводы с образованием кислоты и газа: арабинозу, ксилозу, галактозу, левулезу, лактозу (существенное отличие от др. родов), мальтозу, маннит, рамнозу; не постоянно сахарозу и дульцит (чаще сахарозу, чем дульцит), рафинозу, салицин, глицерин, свертывает молоко, не изменяет адонит и инозит, образует индол; не образует сероводород, желатин не разжижает, на жидкой синтетической среде Козера и плотной среде Симмонса с индикатором бромтимолблау не растёт, т.к. не усваивает цитратно-аммонийные соли сред, даёт положительную реакцию с метиловым красным (ярко-розового цвета), отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра (среда становится жёлтого цвета); мочевины не расщепляет.

Устойчивость. Эшерихии устойчивы к воздействию факторов внешней среды. В почве сохраняются до 11 мес., в навозе - до 11мес., в воде - до 300 дней.

К воздействию высокой температуры не устойчивы: при 60°C погибают в течение 15 мин., при 100°C – моментально.

Чувствительны к 2% раствору активного хлора, 2,5% раствору формальдегида, 2% раствору гидроокиси натрия, 2% раствору однохлористого йода.

Эшерихии чувствительны к действию антибиотиков: неомицину, полимиксину, бруламицину, гентамицину, ампициллину, хлорамфениколу, тетрациклином, нитрофурановым и сульфаниламидным препаратам.

Менее чувствительны к стрептомицину; к пенициллину не чувствительны или слабо чувствительны (продуцируют внутриклеточную пенициллиназу).

Они быстро приобретают устойчивость к антибиотикам, поэтому их надо менять после определения чувствительности.

Патогенность. У *E. coli* патогенность выражена слабее, чем у родов *Salmonella* и *Proteus*.

Патогенность *E. coli* зависит от вирулентности штамма, дозы вводимых бактерий, массы и возраста животного, метода заражения, индивидуальной иммунологической реактивности, а также от условий кормления и содержания.

Эшерихии продуцируют два типа токсинов: экзотоксин – **термолабильный** (ТЛ) и эндотоксин - **термостабильный** (ТС).

ТС-токсин - низкомолекулярный, не обладает антигенными свойствами.

ТЛ-токсин – вещество белковой природы, иммуногенен, разрушается при 56°C за 30 мин, обладает нейротропным и некротизирующим свойствами. Некоторые штаммы

эшерихий образуют оба токсина одновременно или какой-нибудь один. Отдельные серовары продуцируют гемолизины, которые лизируют эритроциты крови.

Многие патогенные и отдельные непатогенные штаммы эшерихий образуют **колицины** – белковые вещества, подавляющие рост и развитие родственных бактерий. Колицины термостабильны.

Известно более 25 различных колицинов, их обозначают заглавными буквами латинского алфавита – А, В, С и т.д.

Колициногенность у патогенных эшерихий способствует их распространению в кишечнике и считается одним из факторов патогенности. Выявлены основные сероварианты эшерихий, патогенные для животных и человека.

У телят выделяют серогруппы: O8, O9, O15, O20, O26, O35, O78, O86, O101, O115, O117, O119, O141, реже O2, O33, O41, O55, O103, O127 и O137;

у поросят – O6, O26, O33, O101, O136, O139, O141, O142, O149, O152, O157;

у ягнят – O4, O8, O9, O15, O28, O35, O41 O78, O101, O137;

у птиц – O1, O2, O8, O15, O18, O26, O55, O78, O11, O113, O128, O141;

у человека – O26, O111, O157 (энтерогеморрагический).

Патогенез. Энтеротоксемическая (регистрируется чаще) и септицемическая формы. Энтеротоксемическая форма вызывается энтеротоксигенными штаммами эшерихий, которые прикрепляются к поверхности тонкого кишечника и часто в сычуге, размножаются и продуцируют экзоэнтеротоксины, в результате отмирания которых высвобождаются эндотоксины, вызывающие местный воспалительный процесс (диареи). Кроме того, эндотоксины проникают в лимфатическую систему, что приводит к развитию тяжелой токсемии и гибели животного.

Септицемическую форму колибактериоза вызывают штаммы эшерихий не обладающие адгезивными антигенами. Вирулентность зависит от наличия у них капсульных антигенов, которые обеспечивают проникновение данных бактерий в брыжеечные лимфатические узлы, затем в общий лимфоток, что сопровождается энтеритом и сепсисом.

Септицемическая форма характеризуется сверхострым и острым течением с высокой летальностью, возбудитель с кровью распространяется в различные органы.

Патологоанатомические изменения. Наблюдается истощение, анемия слизистых оболочек, в желудке – свернувшееся молоко, в тонких кишках – жидкие массы, повсеместно кровоизлияния, желчный пузырь наполнен темно-зеленой желчью.

Лабораторная диагностика. Для прижизненной бактериологической диагностики в лабораторию направляют фекалии (не менее от 5 животных с одной фермы), не подвергавшихся лечению антибактериальными препаратами.

При посмертной бактериологической диагностики в лабораторию направляют свежий труп, также голову (головной мозг), трубчатую кость, селезёнку, долю печени с желчным пузырём, брыжеечные лимфатические узлы, пораженный отрезок тонкого отдела кишечника.

Для диагностики колибактериоза птиц кроме свежих трупов направляют 5–6 больных голов птиц.

В лаборатории в первый день проводят посевы патологического материала в МПБ, на МПА, на чашки Петри со средой Эндо или Левина, затем готовят мазки, окрашивают их, микроскопируют.

На 2 день просматривают выросшую культуру, делают посев в МПБ и через 4 ч инкубирования в термостате проводят посев на среды с углеводами и на МПА для приготовления антигена и проводят заражение белых мышей (цыпляют).

На 3-й день готовят мазки и исследуют их под микроскопом, учитывают ферментативные свойства. После этого заражают белых мышей (цыпляют), готовят антиген и ставят реакцию для определения серогрупповой принадлежности.

На 4-й день учитывают результаты биопробы и РА. Затем определяют чувствительность полученных культур к антибиотикам.

На 6–7 день проводят окончательный учёт полученных результатов биопробы, изучения ферментативных свойств культур.

Затем оформляют экспертизу. Культура эшерихий считается патогенной при гибели одной или более мышек в течение 2-х сут. после заражения или при гибели в первые 4 дня после заражения одного или более цыплёнка. Патогенные культуры серологической типизации не подвергают.

Бактериологический диагноз на колибактериоз у млекопитающих считается установленным при выделении культур эшерихий из селезёнки, костного мозга или головного без определения их патогенности и серологической принадлежности; при выделении не менее чем из двух органов животного культур эшерихий, патогенных для белых мышей или принадлежащих к О-серогруппе, признанным патогенным для животных.

У птиц диагноз считается установленным при выделении патогенных для цыплят эшерихий из костного мозга, крови или печени.

Заболевание дифференцируют от сальмонеллёза, токсической диспепсии, вирусного энтерита.

Иммунитет и средства специфической профилактики

У новорождённых животных естественная защита развита слабо и не может обеспечить иммунологическую защиту от патогенных эшерихий.

В неблагополучных хозяйствах по колибактериозу для создания колострального иммунитета у новорожденных, вакцинируют стельных матерей (коров, свиноматок, овец).

Для этого за 1–2 мес. до отёла, опороса, окота вводят гидроокисалюминиевую формолтиомерсальную поливалентную вакцину согласно наставлению.

Для телят применяют колипротектант ВИЭВ (взвесь убитой нагреванием культуры эшерихий одной серогруппы, отмытой от токсинов и консервированной формалином). Его вводят перорально в дозе 10–15 мл за 30 мин. до выпойки молозива и затем по 10 мл 5 раз с молозивом в течение 2 дней.

Для создания колострального иммунитета у пушных зверей их вакцинируют поливалентной вакциной против сальмонеллёза и колибактериоза.

У птиц для создания трансвариального иммунитета, родительское стадо вакцинируют аэрозольной инактивированной вакциной против колибактериоза за 7–10 дней до взятия от кур яиц на инкубацию. Полученный таким образом, пассивный иммунитет сохраняется до 20 дн. Затем цыплят и взрослых кур вакцинируют аэрозольно или перорально (с водой) по наставлению.

Для специфической профилактики и терапии колибактериоза используют поливалентную иммунную сыворотку согласно наставления.

С профилактической целью применяют бактериофаг против паратифа и колибактериоза с водой по схеме в течение нескольких дней. Для лечения используют антибиотики с учетом установленной чувствительности к ним эшерихий.

Санитарная оценка продуктов убоя животных

При наличии патологоанатомических изменений и выделении **E.coli** из мышечной ткани туш убойных животных, лимфатических узлов или внутренних органов они подлежат технической утилизации. При отсутствии патологоанатомических изменений туши обеззараживают проваркой или направляют на переработку на мясные хлеба или консервы. Готовые пищевые продукты, в которых обнаружены E. coli уничтожают.

Лекция 6. Тема: Возбудители сальмонеллеза

Сальмонеллёз (Salmonellosis) - инфекционная болезнь с.-х. животных и птиц, характеризующаяся у молодняка при остром течении лихорадкой, септицемией, токсикозом и диареей, при подостром и хроническом – пневмонией и артритами; у взрослых самок – абортами; у человека протекает в виде токсикоинфекций.

В 1885 г. американские ветврачи Сальмон и Смит выделили из органов свиней павших от чумы микроб, который назвали

Bact. suipestifer.

Учёный Гертнер в 1888 г. при выяснении причины отравлений людей обнаружил такой же микроб в говяжьем мясе и селезёнке умершего человека. Он назвал его **Salmonella enterica**.

В 1890 г. Лёффлер выделил от павших мышей бактерию и назвал её в честь учёного Сальмона.

Известно более 2500 серовариантов сальмонелл, которые по классификации Берджи отнесены в группу 5- факультативно анаэробные грамотрицательные палочки, подгруппа I, семейство Enterobacteriaceae, род Salmonella.

Возбудители: у телят *Salmonella dublin*, реже – *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, у поросят – *S. choleraesuis*, *S. typhisuis*, реже - *S. typhimurium S. dublin*, у лошадей – *S. abortusequi*, реже – *S. typhimurium*, у кур *S. gallinarum-pullorum*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. anatum*; у индеек - *S. gallinarum-pullorum*, реже – *S. enteritidis*; у уток - *S. typhimurium*, реже – *S. enteritidis*. у пушных зверей – *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*

Восприимчивы: телята в возрасте от 10 суток до 2 мес.; жеребята в первые 8-10 дн. реже до 3 мес.; ягнята чаще в первые сутки жизни и недели, реже 2-3-х мес. возраста; поросята с первых суток до 4 мес. возраста; молодняк пушных зверей – 1-2 мес., цыплята – до 20 дн. возраста.

Источник инфекции - больные животные и бактерионосители.

Пути передачи - алиментарный; через предметы ухода; реже аэрогенный; возможно - внутриутробный, у птиц – трансвариальный.

Пути выделения возбудителя: у взрослых животных – с молоком и фекалиями, абортрованными плодами, околоплодными плодами и истечениями из родовых путей; у молодняка – с фекалиями, мочой, носовым истечением, слюной.

Морфологические и биологические свойства. Сальмонеллы – мелкие палочки с закруглёнными концами от 2 до 4 мкм длиной и 0,2–0,6 мкм шириной, в мазках расположены одиночно, беспорядочно, подвижны, (исключение *S. gallinarum-pullorum* - неподвижны), спор и капсул не образуют, по Граму окрашиваются **отрицательно**.

Культивирование Сальмонеллы аэробы и факультативные анаэробы, хорошо растут при температуре 37°C, pH 7,2–7,6, на МПА, в МПБ, средах Эндо, Левина, Плоскирева, на висмут-сульфитном агаре.

На МПА – небольшие колонии диаметром 1–4 мм, круглые, с ровными краями, серо-белого цвета с голубоватым оттенком. В МПБ – равномерное помутнение среды. На среде Эндо и Плоскирева колонии прозрачные бесцветные. На среде Левина – прозрачные с голубоватым оттенком. На висмут-сульфитном агаре – черные с металлическим блеском, за исключением *S. choleraesuis*, *S. abortusovis*, *S. gallinarum-pullorum* – образуют нежно-зеленые колонии.

Биохимические свойства. Сальмонеллы не ферментируют сахарозу, лактозу, адонит, не расщепляют салицин и мочевины, не гидролизуют желатин, не образуют индол.

Образуют сероводород, реакция с метиловым красным положительная. Глюкозу ферментируют все типы сальмонелл с образованием газа. Такие штаммы сальмонелл как *S. typhimurium*, *S. typhisuis*, *S. abortusequi*, *S. dublin*, *S. anatum*, *S. gallinarum* – разлагают глюкозу без образования газа. Многие штаммы сальмонелл ферментируют маннит. Биохимическая активность у сальмонелл разных сероваров может изменяться.

Антигенная структура у сальмонелл представлена О-антигеном (соматический), Н-антигеном (жгутиковым).

О-антиген – расположен на поверхности микробной клетки, термостабильный, содержит фосфолипидно-полисахаридный комплекс, не разрушается при кипячении в течение 2-х часов.

H-антигены обладают специфическими свойствами, характерными для определенного вида и типа (антигены первой фазы) и неспецифическими (антигены второй фазы). Если сальмонеллы содержат оба жгутиковых антигена, их называют двухфазными, если один - однофазными.

На основании общности соматических антигенов сальмонеллы объединены в серологические группы, которые обозначены прописными буквами латинского алфавита: А, В, С, Д и др.

13 основных серологических групп и 1 дополнительная.

Каждая группа объединяет определенное количество сероваров, расположенных в алфавитном порядке, по обозначению первой фазы их H-антигена.

Первая фаза обозначается строчными буквами латинского алфавита (a, b, c, d, e, и т.д.), вторая фаза - арабскими цифрами или латинскими буквами (1, 2, 5, 6; e, d и т.д.).

Для определения серовара сальмонелл биофабрики выпускают поливалентные О-сыворотки, О-моносыворотки, монорецепторные Н-сыворотки. Эти сыворотки используют в реакции агглютинации на стекле.

Устойчивость сальмонелл различна к воздействию факторов внешней среды, при температуре 60°C погибают в течение 1 часа, при 100°C – моментально.

В почве и других объектах внешней среды сохраняются до 120 дн., в трупах - до 100 дн., в открытых водоёмах и питьевой воде – до 120 дн., в замороженном мясе – до 13 мес., в колбасных изделиях – до 130 дн., в яйцах – до 13 мес., в яичном порошке – до 9 мес., на замороженных овощах и фруктах – до 2,5 мес. Обычное соление и копчение в домашних условиях не убивает сальмонелл. Прямые солнечные лучи убивают через 5–10 ч.

Дезинфицирующие средства: 2% раствор фенола, 2% раствор гидроксида натрия, 2% раствор активного хлора, 2% раствор формальдегида убивают в течение 15–20 мин.

Сальмонеллы чувствительны к антибиотикам: гентамицину, бруламицину, неомицину, тетрациклам, левомицетину, стрептомицину, нитрофурановым и сульфамидным препаратам.

Патогенность сальмонелл зависит от двух токсинов: экзотоксина и эндотоксина. Основным компонентом эндотоксина-полисахарида, который определяет токсичность, что приводит к воспалению кишечника, вызывает кормовое отравление у свиней и плотоядных.

Патогенез. Сальмонеллы вначале размножаются в тонком кишечнике, проникают через ворсинки кишечника в лимфатическую систему, кровь и попадают в паренхиматозные органы, где накапливаются бактерии, при их распаде высвобождаются токсины, вызывает воспалительные, дистрофические и некробиотические изменения в тканях и органах.

У животных сальмонеллёзы проявляются в виде первичных и вторичных сальмонеллёзов и бактерионосительства.

Первичные – вызываются определёнными серовариантами сальмонелл. **Вторичные** - наслаиваются на основную болезнь и вызывают осложнения (при классической чуме свиней).

Патологоанатомические изменения. При **остром течении** – изменения в органах брюшной полости; увеличение селезенки (особенно у щенков пушных зверей); слизистая оболочка желудка набухшая, гиперемизованная с кровоизлияниями, катаральный энтерит. У **поросят**: слизистая оболочка толстых кишок покрыта фиброзными пленками, кровоизлияния в эпикарде и плевре.

При **подостром** и **хроническом течении** труп истощен; у **щенков пушных зверей** – желтушность конъюнктивы, подкожной клетчатки, скелетных мышц; у **поросят** – синюшность кожи, ушей и живота, артриты, изменения в толстых кишках, дистрофические изменения в печени; у **телят** – некротические очаги в печени; у **всех животных** – изменения в легких.

Катаральное воспаление прямой кишки теленка при сальмонеллезе (паратиф)

Лабораторная диагностика. При жизни диагноз ставят по результатам исследования крови в первые 4 дня болезни, а также бактериологическое исследование истечений из родовых путей, носовой слизи и фекалий. Сыворотку крови от больных исследуют на специфические антитела.

В лабораториях используется схема Кауфмана-Уайта, основанная на анализе О- и Н-антигенов с помощью выпускаемых сывороток.

Посмертно в лабораторию направляют желчный пузырь, печень, мезентеральные лимфатические узлы, кровь из сердца, пораженные легкие, трубчатую кость, от абортированных животных – плод. От мелких животных направляют свежий труп.

Патологический материал исследуют по схеме: проводят посев на **МПА, в МПБ и дифференциальную среду Эндо, Плоскирева.**

Сыворотку крови исследуют в **РА с сальмонеллёзным антигеном** для определения уровня специфических антител.

Выращенные на средах культуры **идентифицируют по культуральным, морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам** согласно инструкции.

При необходимости проводят **биопробу на белых мышах**, их заражают внутрибрюшинно.

Для экспресс-диагностики применяют **метод флюоресцирующих антител.** Готовят **мазки-отпечатки** из органов, фиксируют химическим методом, окрашивают **сальмонеллёзными флюоресцирующими сыворотками**, затем мазки просматривают под люминесцентным микроскопом. Проводят фаготипирование сальмонелл с помощью поливалентных и типовых сальмонеллёзных фагов.

На пластинки агара в чашках Петри засевают суточную культуру сальмонелл, затем наносят фаг (несколько капель), чтобы образовалась "канавка" на пластинке агара. Через 24 часа инкубации в термостате просматривают, на месте нанесения фага - рост сальмонелл не отсутствует т.е. стерильная зона.

Сальмонеллез необходимо дифференцировать от колибактериоза, бруцеллеза, пастереллеза, анаэробных заболеваний, классической чумы свиней, чумы плотоядных, энзоотической бронхопневмонии, дизентерии, токсической диспепсии.

Иммунитет и биопрепараты

После переболевания у телят формируется напряжённый и длительный иммунитет.

В неблагополучных по сальмонеллёзу хозяйствах вакцинируют стельных коров концентрированной формолквасцовой вакциной двукратно с 8-дн. интервалом за 30–45 дней до отёла. У новорожденных телят образуется колостральный иммунитет.

Затем телят вакцинируют формолквасцовой вакциной в возрасте 17–20 дней. Если не проводили вакцинацию стельных коров, то телят вакцинируют с 8–10-дн возраста, двукратно с интервалом в 7 дней.

Микробиологические показатели мяса и мясопродуктов; птица, яйца и продуктах их переработки:

количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в 1 г продукта не должно превышать 1×10^3 КОЕ;

бактерий группы кишечных палочек (БГКП) в 0,1 г продукта не было обнаружено; патогенных, в том числе сальмонеллы в 25 г продукта **не допускается.**

Возбудитель протейной инфекции

1. История открытия протей, роль в патологии животных

В 1885 г. Г. Хаузер впервые выделил бактерии рода **Proteus - протей**, входящие в семейство Enterobacteriaceae. Регистрируется два вида: **P. vulgaris, P. mirabilis.** Протеи широко распространены в природе, их выделяют из почвы, сточных вод, навоза, обитают в организме животных и человека. Их относят к условно-патогенным. Протеи могут вызывать пищевые и кормовые отравления (токсикоинфекции), а также нагноение ран, энтериты, перитониты, сепсис.

2. Морфологические и биологические свойства

Морфология. Протеи – мелкие полиморфные палочки от 1 до 3 мкм. длиной, 0,4–0,6 мкм. шириной, подвижные, регистрируются также неподвижные О-формы лишенные жгутиков. Протеи грамотрицательные, капсул и спор не образуют.

Культивирование. Протеи факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, хорошо растут на простых питательных средах при температуре 20–38°C, рН 7,2-7,4.

На МПА – Н-форма (жгутиковая) сплошной рост без образования отдельных колоний (феномен роения), запах специфический гнилостный.

В МПБ – Н-форма (жгутиковая) помутнение бульона, с густым белым осадком на дне, наличие нежной пленки на поверхности среды.

При посеве в конденсационную воду скошенного агара – рост по всей поверхности среды.

О-форма (лишенная жгутиков) растет на определенных питательных средах, содержащих желчные кислоты (среда Плоскирева) – прозрачные, нежные, блестящие колонии с характерным запахом, слегка щелочащие среду, которая окрашивается вокруг них в желтоватый цвет. С возрастом колонии мутнеют, их центр принимает бурую окраску. О-формы протей мало отличаются от сальмонелл, что затрудняет их идентификацию.

Биохимические свойства. Ферментируют мальтозу, ксилозу, салицин, глюкозу. Не ферментируют лактозу и маннит. Разжижают желатин, гидролизуют мочевины.

Антигенная структура. Протеи содержат О- и Н-антигены. – О- антигенов 150 видов, Н-антигенов около 80 видов.

Устойчивость. Культура при 60°C погибает через 40 мин., при кипячении - моментально. При низких температурах сохраняется длительно в объектах внешней среды. Дезинфицирующие растворы хлорной извести, формалина, фенола, гидроокиси натрия - быстро убивают протей. Устойчивы ко многим антибиотикам. Чувствительны к гентамицину, бруламицину, левомицетину, тетрациклинам, и нитрофурановым препаратам.

Патогенность связана с выделением нейротоксина, уреазы, антикоагулазы и 3,5-нуклеопептидазы и с образованием эндотоксина. Протеи проявляют патогенные свойства при снижении естественной резистентности, особенно у молодняка с.-х. животных. Постоянно выделяются в смеси с патогенными эшерихиями при колибактериозе.

Лабораторная диагностика. Проводят исследования фекалий, рвотных масс, содержимого кишечника, после гибели исследуют паренхиматозные органы. Делают посев на МПА, в МПБ, на среде Плоскирева. Выделенную культуру типизируют с О- и Н-сыворотками и определяют серовар. Ставят биопробы на белых мышах, кроликах, они гибнут при введении больших доз культуры.

Лекция 5 Тема: Возбудители зооантропонозов: сибирской язвы, туберкулеза, бруцеллеза, рожи, листериоза, лептоспироза

ВОЗБУДИТЕЛЬ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Сибирская язва (Anthrax) - особо опасное инфекционное зооантропонозное заболевание, характеризующееся интоксикацией, развитием серозно-геморрагического воспаления кожи, лимфатических узлов, внутренних органов и протекающее в виде кожной (с образованием различной величины карбункулов) или септической формы.

Впервые о болезни, похожей на сибирскую язву, сообщалось еще до нашей эры. Позже подобное заболевание описывалось в древнеарабских рукописях, отмечали его в своих трудах Гиппократ, Галей, Цельсий.

Эпизоотии и эпидемии сибирской язвы наблюдались в Европейских странах в 826, 992, 1682 гг. и позже. О сибирской язве в России упоминают летописи за 978, 1158 и 1284 гг. Частые вспышки сибирской язвы наблюдались в XIV, XVIII вв. Многократно появлялась она и в XIX веке в киргизских степях, вызывая гибель десятков тысяч лошадей и дру-

гих видов животных. Большие опустошения причиняла болезнь в Сибири и в европейской части России.

Русское название болезни дал С.С. Андриевский в связи с крупной эпидемией на Урале в конце XVIII века. В 1788 г при самозаражении доказал идентичность сибирской язвы человека и животных, окончательно подтвердил ее нозологическую самостоятельность.

Возбудитель был неоднократно описан разными учеными (А. Поллендер, в 1849г; К. Давэн, в 1850 г; Ф.А. Брауэлл, в 1854 г).

Этиологическая роль была окончательно установлена Р. Кохом в 1876 г; Л. Пастером в 1881 г; Л.С. Ценковским в 1883 г.

Возбудитель – *Bacillus anthracis* относится к семейству **Bacillaceae**, роду **Bacillus**. Это крупная палочка размерами 1–1,5x5,0–10,0 мкм, неподвижная, грамположительная, образует споры во внешней среде, капсулы в организме. Микроб выявляется в 3-х формах: в виде вегетативных клеток различной величины (капсульных и бескапсульных); в виде спор, заключенных в хорошо выраженный экзоспориум; в виде изолированных спор. В окрашенных препаратах из крови и тканей больных или погибших от сибирской язвы животных бактерии **располагаются одиночно, попарно** и в виде коротких цепочек (**3–4 клетки**); **концы палочек**, обращённых друг к другу, прямые, резко обрубленные, а свободные – **слегка закруглённые**. Могут встречаться цепочки имеющие форму бамбуковой трости, это у штаммов образовавших капсулу. В мазках приготовленных из культур, выращенных на плотных и жидких питательных средах, палочки располагаются длинными цепочками. По Граму окрашивается **положительно**, но в молодых и старых культурах регистрируются и грамотрицательные клетки. В организме и на искусственных питательных средах с содержанием большого количества нативного белка и двуокси углерода **образует выраженную капсулу**. Сибиреязвенная бацилла в неблагоприятных условиях формирует **эндоспоры**, чаще располагаются центрально, реже субтерминально. Споры овальные, иногда округлые, сильно преломляющие свет. Размер зрелых спор 1,2–1,5 мкм в длину и 0,8–1,0 мкм в поперечнике, незрелые споры (проспоры) несколько меньше.

При температуре ниже 12°C и выше 42°C, а также в живом организме или невскрытом трупe, в крови и сыворотке животных **споры не образуются**.

Культивирование. Сибиреязвенный микроб по способу дыхания относят к аэробам или факультативным анаэробам. Он хорошо растёт при повышенной аэрации, в том числе и в атмосфере кислорода, и в анаэробных условиях. Также хорошо растёт на МПА, в МПБ, МПЖ, картофеле, молоке при температуре 35–37°C на МПА, в МПБ – при температуре 32–33°C, pH 7,2–7,6.

На МПА в аэробных условиях первые признаки роста можно обнаружить через 3 ч с момента посева, спустя 17–24 ч вырастают **серовато-белые тонкозернистые колонии с серебристым оттенком** похожие на снежинки, диаметр колоний не превышает 3–5 мм. **От краёв колоний** отходят завитки, косички, которые состоят из параллельно лежащих длинных нитей, по форме напоминают мифическую голову Медузы Горгоны или гриву льва.

Колонии имеют шероховатый рельеф и характерны для типичных вирулентных штаммов и обозначаются как **R-форма**.

На сывороточном агаре и свёрнутой лошадиной сыворотке в присутствии 10–50% углекислоты видны гладкие полупрозрачные колонии (**S-форма**), а также слизистые (**мукоидные**), тянущиеся за петлёй колонии (**M-форма**), состоящие из капсульных палочек. Бескапсульные варианты образуют шероховатые **R-формы** колоний.

В МПБ сибиреязвенный микроб (R-форма) через 16–24 ч на дне пробирки образует рыхлый белый осадок, надосадочная жидкость прозрачная, при встряхивании бульон не мутнеет, осадок разбивается на мелкие хлопья. Ряд штаммов растет в виде нежных отдельных хлопьев, взвешенных в столбике бульона, который через 48 ч. оседают на дно.

Некоторые штаммы на 3–4 сутки дают рыхлое пристеночное кольцо по мениску бульона, пленка на поверхности среды никогда не образуется.

В сыворотке крови и в жидких сывороточных средах (среда ГКИ) растет интенсивно с образованием обильного хлопьевидного осадка, капсульные варианты синтезируют мощные капсулы.

В столбике желатина при посеве уколом на 2–5 сутки появляется желтовато-белый стержень, от которого под прямым углом радиально отходят нежные боковые отростки, напоминающие по форме ёлочку, перевернутую верхушкой вниз. Постепенно **верхний слой** желатина начинает **разжижаться**, принимая сначала **форму воронки**, затем **мешочка**.

В молоке размножается быстро, вырабатывает кислоту и через 2–4 дня свёртывает его с последующей пептонизацией сгустка.

На среде из картофеля образует обильный сухой, серо-белый налёт, иногда приобретает кремовый оттенок.

Агаровые и бульонные культуры некоторых штаммов интенсивно окрашиваются в коричневый цвет вследствие окисления тирозина.

Биохимические свойства. У сибиреязвенного микроба выявлены ферменты: липаза, диастаза, протеаза, желатиназа, дегидраза, цитохромоксидаза, пероксидаза, каталаза и др.

Ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, медленно сахарозу, трегалозу, фруктозу и декстрин. На средах с глицерином и салицином возможно слабое кислотообразование.

Не сбраживает арабинозу, рамнозу, галактозу, маннозу, раффинозу, инулин, маннит, дульцит, сорбит, инозит. Синтезирует лецитиназу, медленно коагулирует растворы желтка куриного яйца. Редуцирует метиленовый синий и не активно восстанавливает нитраты в нитриты. Вырабатывает желатиназу, протеазу, быстро гидролизует желатин и свёрнутую сыворотку. Утилизирует цитраты, образует ацетилметилкарбинол и вследствие этого дает положительную реакцию Фогес-Проскауэра.

Токсинообразование. Сибиреязвенный микроб образует сложный экзотоксин. Он состоит из 3-х компонентов: эдематогенный (EF) фактор; протективный антиген (РА); летальный фактор (LF) или соответственно I, II, III.

Все они синтезируют капсульные и бескапсульные варианты микроба.

Эдематогенный фактор (I)-вызывает местную воспалительную реакцию – отёк и разрушение тканей. В химическом отношении – липопротеин.

Протективный антиген (II) – носитель защитных свойств, обладает выраженным иммуногенным действием. В чистом виде нетоксичен.

Летальный фактор (III) – сам не токсичен, но в смеси со вторым фактором (РА) вызывает гибель крыс, белых мышей и морских свинок. Протективный антиген и летальный фактор гетерогенные в молекулярном отношении белки. Все три компонента токсина составляют синергическую смесь, оказывающую одновременно эдематогенное и летальное действие, каждый из них обладает выраженной антигенной функцией и серологически активен. Инвазивные свойства обусловлены капсульным d-глутаминовым полипептидом и экзоферментами.

Антигенная структура. В состав антигенов бациллы антракса входят: неиммуногенный

С-соматический антиген – полисахаридный комплекс и **Р-капсульный антиген**–глутаминполипептид.

Соматический антиген не создает иммунитета, не определяет агрессивных функций микроба, обнаруживают у **вирулентных** и у **авирулентных штаммов**. С-антиген тесно связан с телом бактериальной клетки.

R-антиген является группоспецифическим, он дает перекрестные серологические реакции с полипептидом **B. subtilis**, **B. cereus** и **B. megaterium** – спорообразующие сапрофиты.

Устойчивость. В нескрытом трупе вегетативная форма микроба под действием протеолитических ферментов разрушается в течение 2–3 сут., в зарытых трупах сохраняется до 4 дней, через 7 суток завершается лизис бактерий даже в костном мозге. **В желудочном соке** при температуре 38°C гибнет через 30 мин, **в замороженном мясе** при минус 15°C выживает до 15 дней, **в засоленном мясе** – до 1,5 мес.

Споры сохраняют жизнеспособность **в навозной жиже** в течение нескольких месяцев. В ампулах с **бульонными культурами** сохраняется до 63 лет, **в почве** – более 80 лет. К воздействию **химических веществ** вегетативные формы микроба малоустойчивы. Спирт, эфир, 2% формалин, 5% фенол, 5–10% хлорамин, свежий 5% раствор хлорной извести, перекись водорода разрушают их в течение 5 мин.

Споровые формы погибают значительно позже: этиловый спирт 25% убивает споры в течение 50 дней, 5% фенол, 5–10% растворы хлорамина – через несколько часов и даже суток; 1% раствор формалина – через 2 ч. 2% раствор формалина – через 10–15 мин.; 3% перекись водорода через 1 ч., 4% марганцовокислый калий – через 15 мин.; 10% раствор гидроокиси натрия – через 2 ч. Важное значение имеет температура дезраствора и концентрация спор. **Вегетативные формы** микроба при 50–55°C гибнут в течение 1 ч., при 60°C – через 15 мин., при 75°C – через 1 мин, при кипячении – мгновенно.

При минус 10 сохраняются 24 дня, при минус 24°C – 12 дн.

Даже при температуре жидкого азота (минус 196°C) не гибнут в течение 24 ч. **Прямые солнечные лучи** обезвреживают через несколько часов. На споры высушивание не оказывают, губительно действуют: **сухой жар** при температуре 120–140°C убивает споры через 2–3 ч., при 150°C – через 1 ч., **текущий пар** при 100°C – через 12–15 мин, **автоклавирование** при 110°C – за 5–10 мин., **кипячение** – через 1 ч. **Возбудитель сибирской язвы проявляет высокую чувствительность к литическому действию лизоцима.**

Возбудитель сибирской язвы чувствителен к стрептомицину, пенициллину, хлортетрациклину, левомицетину, эритромицину.

Патогенность. Наиболее **восприимчивы** крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, олени, верблюды, буйволы, менее восприимчивы свиньи, нутрии. **Маловосприимчивы** – собаки, кошки и дикие плотоядные и птицы. Зарегистрирована болезнь среди грызунов.

Источником возбудителя являются больные животные. Выделяют возбудителя с калом, мочой, слюной.

Факторами передачи являются объекты внешней среды, обсемененные бактериями.

Инкубационный период длится от 1 до 3 суток.

Заражение животных происходит чаще алиментарно, через поврежденную слизистую оболочку пищеварительного тракта, микроб проникает в лимфатическую систему и кровь, разносится по всему организму. **Размножаясь в организме**, возбудитель синтезирует **капсульный полипептид** и выделяет **экзотоксин**, который разрушает фагоциты, поражает центральную нервную систему, вызывает отек и другие поражения.

Существуют две основные формы заболевания:
септическая и карбункулезная

По локализации патологических изменений выделяют – кожную, кишечную, легочную и тонзиллярную (ангинозную) формы.

Молниеносное течение – у овец и крупного рогатого скота, повышается температура, болезнь длится от нескольких минут до нескольких часов.

Острое течение – у крупного рогатого скота и лошадей, температура повышается до 42°C, наблюдается синюшность слизистых оболочек, угнетение, отказ от корма, тим-

пания, у лошадей – колики, у беременных животных – аборт. Животные погибают на 2–3 день болезни.

Подострое течение длится от 6 до 8 суток.

Хроническое течение – истощение, инфильтраты под нижней челюстью, поражение подчелюстных и заглоточных лимфоузлов. Продолжительность болезни 2–3 месяца.

Абортивное течение – проявляется незначительным подъемом температуры тела, угнетением, потерей аппетита, уменьшением секреции молока, истощением животного. Продолжительность болезни до 2-х недель. Больные животные как правило выздоравливают.

Карбункулезная форма – может быть первичной (место внедрения возбудителя), или карбункулы образуются как вторичные признаки при остром или подостром течении. Могут проявляться в различных частях тела животного, но чаще в области головы, груди, плеч и живота. Температура тела повышается незначительно.

Кишечная форма – проявляется расстройством функции органов пищеварения, повышением температуры.

Легочная форма – прогрессирующая геморрагическая пневмония, острый отек легких.

Ангинозная форма – преобладает у свиней, температура тела может не повышаться.

Патологические изменения. При **септической форме** труп вздут, окоченение отсутствует или слабо выражено, из естественных отверстий – кровянистые истечения, на коже – припухлости, кровь темная, не свернувшаяся (лаковая). **Лимфатические узлы и селезенка** увеличены, кровоизлияния в легких, эндокарде. Все паренхиматозные органы полнокровны. У **свиней** – студенисто-геморрагические инфильтраты в области гортани, трахеи, на языке, поражение миндалин и регионарных лимфатических узлов. У **нутрий** при септической форме патологоанатомические изменений те же. При **атипичной форме** – патологоанатомические изменения не характерны – тушки плохо обескровлены, в лимфатических узлах инфильтраты и кровоизлияния.

Диагностика и дифференциальная диагностика. Если во время вскрытия или убоя возникает подозрение на сибирскую язву, то вскрытие прекращают и отправляют в ветеринарную бактериологическую лабораторию уха, со стороны, на которой лежало животное, перевязывая двойной лигатурой, место разреза прижигают; также направляют селезенку и мазки крови, все герметично упаковывают.

Патологический материал в лабораторию направляют свежим. Также исследуют пробы почвы, фуража, воды, шерсти и кожевенно-мехового сырья.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, посев на питательные среды, выделение и изучение свойств чистой культуры, биопроба на животных, при необходимости ставят реакцию преципитации, иммуноферментный анализ, РНГА.

Бактериоскопия. Из патологического материала готовят мазки, окрашивают по Граму, капсулы - по Михину, Ольту и др.

Важным является обнаружение по морфологии капсульных палочек. Посев на питательные среды в МПБ и на МПА рН 7,2–7,6, инкубируют при 37°C в течение 18–24 ч., при отсутствии роста ещё держат в термостате двое суток. Затем просматривают культуры, готовят мазки из культур, если патологический материал от сибирязвенного животного, обнаруживают **бескапсульные палочки и споры**.

Биопробу ставят на белых мышах, морских свинках, кроликах.

Белых мышей заражают подкожно в области спины по 0,1–0,2 мл, морских свинок и кроликов – подкожно в область живота по 0,5–1,0 мл.

Мыши гибнут через 1–3 сут., морские свинки и кролики – 2–4 сут.

Павших животных вскрывают, делают мазки из крови сердца, селезенки, печени.

Проводят идентификацию бациллы антракса от сапрофитов: **B. cereus**, **B. megaterium**, **B. mucoides**, **B. subtilis**, так как сапрофиты по морфологии и культуральным

свойствам сходны с бациллой антракса. Идентификацию также проводят по патогенности, капсулообразованию, тест "жемчужного ожерелья" и иммуноферментный анализ. При серологическом исследовании применяют реакцию преципитации по Асколи, РДП.

Сибирскую язву дифференцируют от пироплазмоза, эмкара у крупного рогатого скота; у свиней - от рожи и чумы.

Иммунитет и биопрепараты. В результате естественного заражения и переболевания сибирской язвой у животных формируется длительный и стойкий иммунитет. Гинсбург Н.Н. в 1940 г путём селекции вирулентного штамма получил вакцинный бескапсульный штамм "СТИ-1",

С 1942 г. стали использовать вакцину из штамма "СТИ". С 1985 г. применяется вакцина из штамма "55-ВНИИВВиМ", выпускается в жидком и лиофилизированном виде из бескапсульного авирулентного штамма, в споровой форме. Вакцина из штамма "СТИ" снята с производства и не выпускается. Вакцину из штамма "55" вводят животным согласно наставления по её применению. Иммунитет наступает через 7-10 дней и сохраняется не менее 1,5 лет. Для лечения и пассивной профилактики применяют **антибиотики** (стрептомицин, пенициллин, хлортетрациклин, левомицетин, эритромицин), **гиперимунную противосибирезвенную сыворотку и специфический гаммаглобулин**. Пассивный иммунитет наступает через несколько часов и сохраняется до 14 дней.

Возбудитель бруцеллеза

Бруцеллез (Brucellosis) - зоонозное инфекционно-аллергическое заболевание животных и человека, склонное к хроническому течению характеризующееся длительной лихорадкой, поражением опорно-двигательной, сердечно-сосудистой, нервной, мочеполовой и др. систем организма, проявляющееся у самок в основном абортами, задержанием последа, а у самцов – орхитами и эпидидимитами.

Бруцеллез распространен во многих странах мира, но наиболее широко – в Африке, Центральной и Южной Америке, некоторых странах Азии и Европы. Симптомы бруцеллеза были известны еще Гиппократу. Начало изучения бруцеллезной инфекции у человека положил Дж. Марстон в 1859 г., наблюдавший её на острове Мальта, получившая название «мальтийская лихорадка». **Впервые бруцеллы обнаружил в 1886 г. Д. Брюс**, микроскопируя мазки из селезёнки солдата, умершего от мальтийской лихорадки, а в 1887 г. он выделил чистую культуру и дал ему название **Micrococcus melitensis**. В 1897 г. А. Райт и Д. Семпл установили, что сыворотка больных «мальтийской лихорадкой» людей дает реакцию агглютинации с **Micrococcus melitensis**, данная реакция получила название реакция Райта, которая имеет большое значение в серодиагностике бруцеллеза.

Датские исследователи Б. Банг и Б.Стриболд в том же году из околоплодной жидкости коровы выделили второй вид - **Bacterium abortus bovis**. Дж.Траум в 1914 г. от абортировавшей свиньи выделил третий вид **Bacterium abortus suis**. В 1920 г. **Майер и Фезье** объединили эти три микроба в одну группу и назвали бруцеллами в честь открывшего их **Брюса**.

Возбудитель бруцеллеза включает 6 видов:

Brucella abortus bovis - вызывает бруцеллез у крупного рогатого скота;

Br. melitensis – овец и коз; **Br. abortus suis** – свиней; **Br. neotomae** – лесных (кустарниковых) крыс; **Br. ovis** вызывает инфекционный эпидидимит у баранов и аборт у овец; **Br. canis** – у собак.

Морфологические и биологические свойства. Бруцеллы всех видов – мелкие кокковидные (0,5–0,7 мкм) или палочки (0,6–1,5 мкм), неподвижные, спор и капсул не образуют. Мукоидные и гладкие варианты синтезируют нежную капсулу. Бруцеллы грамотрицательные, в препаратах располагаются одиночно, парами и небольшими группами. При электронной микроскопии, кроме монодиплобактериальных форм, наблюдаются короткие стрептобактерии. Бруцеллы размножаются перешнуровыванием, почкованием и

дроблением с образованием измельченных клеток – почек и фильтрующихся форм, лежащих за пределами разрешающей силы светового микроскопа.

Культивирование. Бруцеллы могут расти на обычных питательных средах при температуре 36–38°C и рН 6,8–7,2. Для их культивирования используют специальные среды: МПА и МПБ, печёночно-глюкозно-глицериновый бульон и агар (ПГГБ, ПГГА) с содержанием 1% глюкозы и 2–3% глицерина; картофельный агар; Эритрит-агар содержит вещество эритрит стимулирующее рост бруцелл; сывороточно-декстрозный агар кроме обычной питательной основы содержит 10% сыворотки крови и 1% декстрозы. **Бруцеллы** - строгие аэробы или микроаэрофилы, в анаэробных условиях не растут. Особенностью **Br. abortus** и **Br. ovis** является потребность их в повышенном содержании 10–15% двуокиси углерода в атмосфере роста. Из первичного материала растут очень медленно, в среднем до 30 дней. Рост бруцелл чаще появляется на 7-10 сутки, иногда позже. Рост лабораторных культур происходит до 40 часов.

Вирулентные штаммы (S-форма) на поверхности агара образуют мелкие до 3 мм в диаметре, круглые, выпуклые, с гладкой поверхностью и ровными краями, прозрачные с голубоватым оттенком колонии;

В бульоне наблюдается равномерное помутнение и образование голубоватого пристеночного кольца, в дальнейшем формируется небольшой осадок.

Авирулентные варианты (R-форма) на агаре образуют шероховатые колонии, в бульоне – неравномерное помутнение с просветлением и крошковатым осадком. На агаре с кровью бруцеллы гемолиза не дают, пигмент не синтезируют.

Биохимические свойства. Сахаролитическая активность у бруцелл выражена слабо. Они утилизируют углеводы, но не образуют кислоты и газ.

Нитраты редуцируют в нитриты, молоко не свёртывают, желатин не разжижают. Некоторые виды гидролизуют аминокислоты с образованием аммиака. **Br. abortus bovis** и **Br. abortus suis** при росте выделяют сероводород; **Br. melitensis**, образует его в незначительном количестве на средах с серосодержащими аминокислотами (цистин, цистеин, тиогликолевая кислота). Редуцируют каталазу, пероксидазу, липазу и фосфатазу. Некоторые штаммы бруцелл ферментируют декстрозу, галактозу, ксилозу, левулезу и сбраживают рабинозу.

Антигенная структура. Бруцеллы в S-форме трёх основных видов обладают двумя соматическими антигенами (термостабильный): М (*melitensis*) и А (*abortus*). М-антигена у **Br. melitensis** в 20 раз больше, чем у других видов, отношение антигенов А и М у **Br. abortus** составляет 20:1.

Br. suis содержит больше М-антигена, чем **Br. abortus**. Эти антигены представлены сложным глюцидо-полипептидным комплексом, они активно **индуцируют синтез антител**, которые выявляются в реакциях преципитации, агглютинации и РСК. Обнаружен поверхностный

L-антиген (термолабильный), сходный Vi-антигеном сальмонелл. По антигенным и биохимическим свойствам подразделяют: **Br. abortus** – на 9 биоваров; **Br. melitensis** – на 3 биоваров; **Br. suis** – на 5 биоваров.

Устойчивость. Бруцеллы малоустойчивы к действию различных физических и химических факторов. Лиофильно высушенные культуры сохраняются годами.

Прямые солнечные лучи убивают их за 3 – 4 ч. В воде бруцеллы выживают до 3 мес., в навозе при медленном высушивании – до 120 дней, в поверхностном слое почвы – 40 дн., на глубине 5–8 см. – до 2 мес., в почве зимой – до 5 мес., в моче коров – до 4 дн., в высушенных плодных оболочках – до 120 дн., в молоке сохраняются до 273 дн., в кислом молоке – до 30 дн., в масле – до 142 дн., в сырах до 1 года., в брынзе (5–11% р-р поваренной соли) – до 72 дн., в замороженном мясе – свыше 320 дн., в засолённых шкурах – 2 мес., в шерсти – до 4 мес.

При температуре 70°C бруцеллы погибают через 30 мин., при температуре 80–85°C – через 5 мин., при температуре 100°C – мгновенно.

Пастеризация молока при температуре 85–90°C вызывает гибель бруцелл через 20 сек.

Для дезинфекции используют растворы: 2% фенол, 1% креолин, 0,5% лизол, 1–2% формалин, 0,01% хлорамин, 1% соляную кислоту, 9% гидроокись натрия, 1% хлорную известь, убивают бруцелл в течение нескольких минут.

Патогенность. Патогенное действие бруцелл связано с образованием эндотоксинов и способностью подавлять фагоцитоз, предотвращать окислительный взрыв. Они также синтезируют гиалуронидазу, каталазу, уреазу. Существенно важным является то, что бруцеллы обладают сильнейшим аллергенным свойством, которое во многом определяет патогенез и клинику бруцеллеза.

Из всех видов бруцелл для человека наиболее патогенен вид **Br. melitensis**. К бруцеллёзу **восприимчивы** самые разные теплокровные животные, в т.ч. дикие и сельскохозяйственные животные.

Из лабораторных животных к бруцеллёзу чувствительны белые мыши и морские свинки. **Особенно восприимчивы** овцы, козы, крупный рогатый скот, свиньи, верблюды, северные олени.

Молодые животные более устойчивы к бруцеллёзу; с наступлением половой зрелости животные становятся более чувствительными к заражению.

Бруцеллы высокоинвазивны, в организм животного попадают через слизистые оболочки и кожу, слизистые пищеварительного тракта с кормом, водой, а также аэрогенно. **Источником возбудителя** являются больные животные и микробоносители, которые выделяют бруцелл при аборте и родах с плодом, последом и плодовыми водами, а после аборта – с истечениями из родовых путей, с мочой, молоком. Массовое распространение заболевания наблюдается в стойловый период.

Факторами передачи могут быть инфицированные продукты: сырье животного происхождения (молоко, обрат, сыворотка, мясо), вода, корма, почва и предметы ухода. Возможна миграция вида *Br. melitensis* от мелкого рогатого скота на другие виды животных, а также *Br. abortus* - на верблюдов, лошадей и собак.

Инкубационный период длится от 2–4 недель.

Патогенез. Бруцеллы попадая в организм, распространяются по лимфатическим путям и задерживаются в региональных лимфатических узлах, где размножаются, проникают затем в кровь и попадают в паренхиматозные органы. Бруцеллы – внутриклеточные паразиты, живут и размножаются в клетках лимфоидно-макрофагальной системы. В местах их размножения образуются специфические гранулы. При гибели бруцелл происходит освобождение **эндотоксина**, который обуславливает соответствующую симптоматику острого и хронического бруцеллёза.

Плодные оболочки многих животных содержат **эритол** – фактор роста для бруцелл, что объясняет высокую восприимчивость к инфекции беременных животных. L-формы длительное время персистируют в организме и выделяются при хроническом бруцеллёзе.

Патологоанатомические изменения. При бруцеллезе у абортированного плода наблюдают септическую картину. Сычуг содержит мутную жидкость, в котором при бактериологическом исследовании обнаруживают возбудителя болезни. Послед воспален, местами некротизирован. При осмотре убитых с диагностической целью больных животных в печени выявляют мелкие беловатые узелки, увеличение селезенки при выраженной гиперплазии фолликулов, а также лимфатических узлов, иногда отмечают интерстициальное воспаление почек, вымени, легких, абсцессы на печени; у самцов – на тестикулах и предстательной железе. У свиней на слизистой матки находят желтовато-гнойные или казеозные узелки величиной с просыное зерно.

Диагностика и дифференциальная диагностика. В лабораторию направляют абортированный плод целиком или его части (желудок с содержимым, печень, селезенка), околоплодная жидкость, плодные оболочки, молоко, содержимое гиром, бурс, абсцессов;

от убитых с диагностической целью животных – паренхиматозные и половые органы, вымя, лимфатические узлы (главным образом, надвыменные и тазовой полости), костный мозг. **Исследования включают:** микроскопию мазков, выделение и идентификацию возбудителя, аллергические методы, биологические исследования (при необходимости), постановку *РА, РСК, РДСК, РДП и РИД*, применяют также *РБП* (роз-бенгал проба) и кольцевую реакцию (КР) с молоком коров.

Бактериоскопия. Мазки окрашивают по Граму и Козловскому. По Граму – отрицательно, по Козловскому - в красный цвет.

Бактериологические исследования. Посевы из патологического материала проводят на ПГГБ, ПГГА, ППБ, МППГГА, картофельный агар. Для подавления роста посторонней микрофлоры добавляют генцианвиолет (1:200000), малохитовую зелень (1:500000) или кристаллвиолет (1:100000).

Культуры бактерий, обладающие типичными морфологическими, тинкториальными и культуральными свойствами, дающие положительную реакцию в РА с позитивной сывороткой, относят к бруцеллам. Бруцеллы дифференцируют по способности роста в отсутствие повышенной концентрации двуокись углерода, выделению сероводород, чувствительности к бактериофагу, бактериостатическому действию анилиновых красителей и агглютинации моноспецифическими сыворотками.

Биопробу ставят на морских свинках (не менее двух), сыворотка которых в разведении 1:5 отрицательно реагирует в РА с бруцеллёзным антигеном. На 15, 25 и 40-й день после заражения берут кровь и сыворотку исследуют в пробирочной РА в титрах 1:10 до 1:80. Результат считается положительным, если сыворотка реагирует в титре 1:10 и выше. Для выделения культуры морских свинок убивают и делают посевы из лимфатических узлов, селезёнки, печени и костного мозга.

Серологические методы. Применяют РА в пробирках, РСК, РДСК, пластинчатую РА с роз-бенгал антигеном (РБП) и кольцевую реакцию с молоком (КР). РА ставят в объеме 1 мл. с единым бруцеллёзным антигеном для РА, РСК, РДСК. Сыворотки крови овец, коз, буйволов, оленей, собак исследуют в разведениях 1:25, 1:50, 1:100, 1:200; крупного рогатого скота, лошадей и верблюдов – 1:50, 1:100, 1:200, 1:400. РА считается положительной при наличии агглютинации с сыворотками крови крупного рогатого скота, лошадей, начиная с разведения 1:100, (100 МЕ); овец, коз, буйволов, оленей, собак – 1:50 (50 МЕ) с оценкой не менее чем на 2 плюса.

Сомнительный результат считается при наличии агглютинации только в разведении 1:50 (50 МЕ) с сыворотками крови крупного рогатого скота, лошадей и верблюдов и 1:25 (25 МЕ) – с сыворотками овец, коз, оленей, собак с оценкой не менее чем на 2 плюса.

РСК – специфический и высокочувствительный метод диагностики бруцеллёза животных. Комплементсвязывающие антитела появляются позже, чем агглютинины. Эта реакция позволяет выявить большее количество больных животных.

РДСК – более чувствительный тест, чем РСК. РСК и РДСК считают положительными при задержке гемолиза на 2–4 плюса в одном или двух разведениях (1:5) и полном гемолизе эритроцитов в контрольной пробирке (без антигена).

Сомнительной - при задержке гемолиза с оценкой в один плюс.

Роз-бенгаловую пробу (РБП) используют для исследования **сыворотки крови** крупного рогатого скота, овец, коз, лошадей, свиней, буйволов, верблюдов, оленей.

Реакцию ставят при 18–30°C с **бруцеллёзным антигеном**, окрашенным бенгальским розовым, на пластинках с лунками.

При положительной реакции в течение 4 мин. появляются мелкие или крупные хлопья агглютината розового цвета.

Кольцевая реакция проводится с цельным свежим **молоком** коров и **антигеном** – взвесью убитых бруцелл, окрашенных в синий цвет гематоксилином. При наличии в молоке специфических антител происходит агрегация антигена, образовавшийся комплекс

адсорбируется сливками молока и поднимается с ними вверх, образуя четкое **окрашенное кольцо**.

Результаты учитывают в крестах:

+++ чётко выраженное синее кольцо в слое сливок, остальная часть молока белая - положительная реакция;

++ достаточно выраженное синее кольцо сливок, столбик молока синевато окрашена, это положительная реакция.

+ слабо выраженное синее кольцо в слое сливок, весь столбик молока синий – сомнительная реакция.

- отсутствие синего кольца, слой сливок слегка желтоватый или белый, столбик молока имеет равномерное окрашивание в синий цвет, это отрицательная реакция.

Для выявления бруцелл в патологическом материале и объектах внешней среды применяют прямой метод иммунофлюоресценции (РИФ), непрямой метод выявляет антитела в сыворотке крови больных и переболевших.

Аллергический метод используют для диагностики бруцеллёза овец, коз, свиней бруцеллизат ВИЭМ, изготовленный из неагглютиногенного и авирулентного штамма **Br. abortus bovis**.

Животным вводят внутрикожно с наружной стороны ушной раковины. У больных животных на месте введения аллергена развивается воспалительная реакция (аллергическая проба положительная).

При постановке диагноза необходимо исключить абортс различной этиологии – трихомонозный, кампилобактериозный, паратифозный, лептоспирозный.

На основании выделения возбудителя из плодов и обнаружения специфических антител у больных животных уточняется вид возбудителя.

Иммунитет и средства профилактики

При бруцеллёзе иммунитет формируется медленно и напряжённость его относительная.

Различают две фазы иммунитета: 1-я - инфекционный (нестерильный) и 2-я – постинфекционный (стерильный) иммунитет.

Иммунитет при бруцеллёзе клеточный и обеспечивается Т-системой лимфоцитов. Иммунитет переходит в постинфекционный постепенно и сопровождается освобождением организма от возбудителя, в результате чего может наступить выздоровление.

Для специфической профилактики бруцеллёза предложены живые и убитые вакцины: живая из штамма 19 **Br. abortus**, который выделен в 1923 г. Буком. Вакцина профилактует абортс и распространение бруцеллёза в стаде.

Применяют сухую живую вакцину из слабовирулентного штамма 82 **Br. abortus bovis** против бруцеллёза крупного рогатого скота и сухую живую вакцину из штамма **Рев-1** бруцелл вида **Br. melitensis** против бруцеллёза мелкого рогатого скота.

Лечение при бруцеллезе не проводят. Больных животные подвергают убою.

ПАТОГЕННЫЕ ЛЕПТОСПИРЫ И СПИРОХЕТЫ

Возбудители лептоспироза, кампилобактериоза и дизентерии свиней

Дизентерия свиней (*Dysentaria suum*) - острая инфекционная контагиозная болезнь, характеризующаяся дифтеритически-геморрагическим и некротическим колитом, проявляющаяся кроваво-слизистой диареей и истощением свиней. Болезнь впервые описана **К.П. Дойлем (1918)** и **Уайтингом (1921)** в США. В 1948–1957 гг. болезнь была зарегистрирована почти во всех европейских странах. В России дизентерия описана в 1937–1939 гг. М.И. Белавцевым, П.Н. Андреевым, Г.Ф. Погоняйловым, С.И. Щенниковым, П.С. Ивановой. Впервые возбудителя **Treponema hyodysenteriae** описал D. Harris (1972), которую выделил от больных животных.

Наблюдается болезнь преимущественно в хозяйствах, не соблюдающих зоотехнические и ветеринарные требования.

Возбудитель дизентерии свиней – спирохета **Treponema hyodysenteriae**, сем. **Spirochaetaceae**, род **Treponema**, представляет собой Г–, анаэробную спирохету. Является постоянным обитателем желудочно-кишечного тракта здоровых поросят, проявляя свою патогенность на фоне резкого понижения резистентности организма.

При микроскопировании препарата "раздавленная капля" в тёмном поле микроскопа видны подвижные нити с ровными, правильно расположенными завитками и острыми концами. Перемещаются поступательно-вращательно, змеевидно. Различают три формы трепонем свиней: **крупные** – длиной до 20 мкм с 8–12 завитками, **средние** – 8–12 мкм с 6–8 завитками, **малые** – до 8 мкм с 3–4 завитками.

Восприимчивы: молодняк до 1–6 месячного возраста, болеют и взрослые свиньи.

Инкубационный период длится от 2 суток до 4 недель.

Источником инфекции являются больные, реконвалесценты, которые длительное время остаются трепонемоносителями.

Заражение происходит алиментарным путем (через инфицированный корм, воду, подстилку, предметы ухода).

Культивирование. Культивируют на специальных средах при температуре 36–38°C, рН 7,0–7,2. Используют триптический соевый бульон с 10% сыворотки крови плода коровы и с пектиномицином (400 мг/л), где вырастают через 48–96 часов плоские просвечивающиеся колонии от 0,5 до 3 мкм с зоной бета-гемолиза. Соевый агар с 5% крови крупного рогатого скота. Трипсин-агар с 5% цитратной крови крупного рогатого скота.

В МПБ с кусочками печени коровы, 50% асцитической жидкости и 1:5000 аскорбиновой кислоты. Засеянные среды инкубируют в анаэробных условиях в течение 4–8 суток. В чашке Петри с трипсин-агаром и 5% крови на поверхности вырастают мелкие прозрачные колонии или нежная пленка со следами эрозии, вокруг которых образуется зона гемолиза шириной 3–4 мм. Некоторые мутанты дают крупные колонии с наличием зоны гемолиза. В препаратах при микроскопии выявляются трепонемы.

Устойчивость. При 18°C возбудитель сохраняется несколько недель, в замороженном материале до 60 дней. Для дезинфекции применяют 4%-ный 70°C раствор гидроокиси натрия, 2%-ный раствор формальдегида.

Биохимические свойства. Патогенные штаммы гидролизуют эскулин, не ферментируют фруктозу, утилизируют пируват, при сбраживании глюкозы образуют водород, углекислоту, ацетат, бутират; нитрат не восстанавливают в нитриты. Растут на средах, содержащих 6,5% хлорида натрия, не растут на средах с 1% глицина.

Патогенез. Попадая в организм свиней алиментарным путем, **serpulina hyodysenteriae** достигает толстого кишечника, где фиксируется на слизистой оболочке. Размножение микробов идет одновременно с их разрушением и освобождением токсических продуктов, под действием которых происходят морфологические и физиологические нарушения функции кишечника, что приводит к развитию дисбактериоза и геморрагическому гастроэнтериту. Тяжесть течения зависит от степени поражения толстого отдела кишечника и количества токсических продуктов обмена веществ, которые с кровью попадают в паренхиматозные органы и вызывают в них дистрофические изменения и функциональные расстройства.

Переход в *хроническую* форму в основном связан с дистрофическими процессами, сенсibilизацией организма и нарушениями обменных процессов, истощением животного, частыми обострениями процесса и выделением возбудителя болезни. Выздоровление обуславливается нормализацией микрофлоры кишечника, постепенным заживлением язв, прекращением интоксикации организма и восстановлением его иммунореактивности.

Клинические признаки наблюдается диарея со слизью и примесью крови в фекалиях. У одних животных диарея проявляется с первого дня болезни и с каждым днем усиливается, доходя до непроизвольной дефекации; у других развивается медленно, при пониженном аппетите и незначительном угнетении. Последовательность развития признаков во время дизентерии сильно варьирует, что позволяет выделять *сверхострое* течение, ги-

бель животных наступает через 10-12 ч, а также *острое, подострое* и *хроническое* течение.

Патологоанатомические изменения. При вскрытии основные патологические изменения обнаруживают в толстом отделе кишечника, слизистая оболочка ободочной и слепой кишок отечна, темно-красного цвета, покрыта слизисто-фибринозным экссудатом, собрана в поперечные складки; при более длительном течении болезни – геморрагически воспалена, некротизирована, покрыта дифтеритическими, творожистыми наложениями, под которыми обнаруживают кровоточащие язвы. Слизистая оболочка дна желудка отечна, темно-красного цвета, иногда с очагами некроза.

Диагностика и дифференциальная диагностика. Материалом для прижизненной диагностики служат фекалии, для посмертной – слизистая оболочка большой ободочной кишки павших или вынужденно убитых животных.

Лабораторные исследования базируются на микроскопическом обнаружении возбудителя при исследовании патологического материала в «темном поле» микроскопа методом фазового контраста или в проходящем свете. Окраску препаратов проводят по Граму, по Романовскому-Гимзе, фуксином.

Биопроба. Патологический материал вводят кроликам внутривентриально в дозе 5–7 мл. Через 7–10 дней берут от них пунктат и микроскопируют. При обнаружении трепонем, кроликов убивают и проводят микроскопирование патологического материала и выделение культуры.

Дизентерию свиней следует отличать **от чумы, сальмонеллеза, вирусного трансмиссивного гастроэнтерита, колибактериоза.**

Иммунитет непродолжительный и слабой напряженности. Вакцины не разработаны. С лечебной и профилактической целью применяют осарсол, нифулин, тилан, фармазин, трихопол, антибиотики, сульфаниламидные препараты. Главное внимание в профилактике дизентерии свиней отводят охране благополучных хозяйств от заноса возбудителя болезни извне и обеспечению животных нормальными условиями содержания и кормления.

Регламентированные инструкцией жесткие профилактические мероприятия при комплектовании хозяйств и ввозе новых партий свиней, изоляция стад и плановая санация животных и окружающей среды экономически оправданы, снижают риск ввоза микробоносителей в стадо и позволяют уберечь благополучные хозяйства от острой вспышки дизентерии.

Лептоспироз (Leptospirosis) - инфекционная, природно-очаговая, нетрансмиссивная болезнь многих видов животных, в том числе птиц, проявляющаяся кратковременной лихорадкой, гемоглобинурией, желтушным окрашиванием и некрозами слизистых оболочек и кожи, атонией желудочно-кишечного тракта, абортами, маститами, рождением нежизнеспособного потомства, снижением продуктивности животных или протекающая бессимптомно.

Лептоспирозом болеет и человек. Впервые болезнь описали в Германии А. Well (1886), а в России Н.П. Васильев (1888). В 1914 г японские исследователи R. Inada и Y. Ido открыли возбудителя иктерогеморрагической лихорадки. В 1918 г. Н. Nogushi предложил название **Leptospira**, в 1973 г. возбудитель лептоспироза получил название **Leptospira interrogans**.

Лептоспироз регистрируется во многих государствах Европы, в Америке, Азии, Африке и Австралии. В России болезнь наблюдается почти повсеместно, но чаще в южных зонах. Удельный вес лептоспироза по отношению ко всем инфекциям невелик.

По классификации Берджи лептоспиры относятся **в группу I** (спирохеты), **III род Leptospira** (Leptos – тонкий, spira - виток, спираль), который включает два вида: патогенный – **Leptospira interrogans** и сапрофит – **L. biflexa**. Патогенный вид лептоспир включает **183 серовара**, которые по составу **антигенов** объединены в **25 серологических групп**.

Морфология. Лептоспиры – спиралевидные бактерии диаметром 0,1–0,25 мкм и длиной 7–15 мкм (30 мкм и более), образующие около 20 мелких первичных завитков и 1–2 – вторичных, придающих клетке форму букв С, S, X.

Осевая нить состоит из двух фибрилл, которые имеют вид тонких, серебристых нитей с утолщёнными и загнутыми в виде крючков концами.

Лептоспиры очень подвижны. Тип движения – вращательно-поступательный, спор не образует, **грамотрицательные**, по Романовскому-Гимзе – в розовый цвет.

Восприимчивы: свиньи, крупный рогатый скот, наиболее чувствителен молодняк, лисицы, песцы; **менее восприимчивы** лошади, козы, овцы, буйволы, верблюды, человек.

Источником возбудителя являются больные и лептоспираносители, которые выделяют возбудителя с мочой в течение 2–24 месяцев.

В природных очагах основные носители: серые и водяные полёвки, серые крысы, домовые мыши, землеройки.

Инкубационный период длится 4–14 суток.

Фактором передачи является инфицированная вода.

Пути передачи – алиментарно с водой, кормом, через подстилку.

Культивирование. Лептоспиры растут в аэробных условиях при температуре 28–30°C на специальных средах с содержанием 5–10% сыворотки крови кролика или овцы, при pH 7,2–7,6.

Специальные среды: Уленгута, Терских, Ферворта-Вольфа, Любашенко. Размножение лептоспир начинается через 7–20 дней, иногда через 3–5 дней и редко – 1–2 мес. и более после высева.

На плотных средах (Кокса, ВГНКИ) образуют мелкие колонии в виде матовых, прозрачных или полупрозрачных гомогенных дисков.

Биохимические свойства изучены недостаточно, обнаружены: каталаза, оксидаза, липаза. **Токсинообразование.** Лептоспиры обладают эндотоксином, фибринолизином, плазмокоагулазой, которые выделяются в результате лизиса лептоспир. Экзотоксины они не синтезируют.

Антигенная структура. Лептоспиры обладают общим белковым соматическим антигеном, определяющим их видовую специфичность. Поверхностные антигены служат оценкой групповой и серовариантной дифференциации.

Устойчивость. В воде открытых водоёмов патогенные лептоспиры сохраняются до 20 дней. В почве перенасыщенной водой выживают до 193 дней, в свежем молоке – от 8 до 24 ч., в почках убойных животных при температуре 0–4°C – до 12 дней, в замороженном мясе погибают через 10 дней, в засоленном мясе крупного рогатого скота (4,8% соли) погибают через 10 дней, в гипертоническом растворе (2,8%) через 15 мин. При кипячении погибают моментально, при температуре 56–58°C – в течение 30 мин., быстро гибнут при высушивании и под воздействием прямого солнечного света. Растворы 0,05% соляной кислоты, 0,5% гидроокись натрия убивают через 10 мин.; 0,5% фенола, сулема 1:10000 и 0,25% формалин – в течение 5 мин.

Патогенность. Экспериментально заражаются золотистые хомяки, крольчата, суслики, молодые морские свинки для вирулентных штаммов возбудителя.

Патогенез. Возбудитель проникает через повреждённую кожу и слизистые оболочки, преодолевая защитные барьеры, проникает в кровь и через 12 часов после заражения обнаруживается в печени, в почках, сердце, лёгких. К этому времени образуются антитела, которые разрушают лептоспиры и происходит их элиминация из крови и паренхиматозных органов. Лизис лептоспир сопровождается накоплением токсических веществ, под их действием развивается гематурия и желтуха, происходят кровоизлияния, поражается нервная система. Токсикоз приводит к гибели животного.

Диагностика и дифференциальная диагностика. Материалом для прижизненной диагностики служат кровь и ликвор (на 3–5-ый день болезни). Мочу для посева берут в поздней стадии болезни. Для посмертной диагностики патологический материал берут не

позже 2 часов после гибели животного – трупы мелких животных, от крупных – сердце, паренхиматозные органы, почку, транссудат из грудной и брюшной полостей, перикардальную жидкость, мочевой пузырь, желудок. Проводят бактериологическую диагностику, микроскопию, исследование сыворотки крови в реакциях микроагглютинации (РМА) и лизиса с эталонными штаммами лептоспир, макроагглютинации (РА). Сначала проводят микроскопию мочи, цитратной крови, тканевой суспензии (корковый слой почки, печень, у плода - из всех органов).

Микроскопию проводят в "раздавленной капле" с конденсором "тёмного поля". Типичные лептоспиры активно подвижны, имеют форму прямой или S-образной с загнутыми в виде крючков концами серебристо-белой нити. Лептоспир можно обнаружить в срезах из органов после обработки серебром по методу Левадити.

Выделение культур. Делают посевы в пробирки со специальной питательной средой, инкубируют при температуре 28–30°C в течение 3-х месяцев.

Лептоспиры начинают размножаться через 5–20 дней, наличие роста определяют микроскопией "тёмного поля" и "раздавленная капля", которые готовят через 3, 5, 7, 10 дн., а затем каждые 5 дн. Если обнаружили размножение лептоспир делают пересев в 3-5 пробирок со свежей питательной средой. При длительном хранении культуру лептоспир пересевают через каждые 10-15 дней.

Биопроба. Заражают золотистых хомячков 20–30 – дневного возраста и крольчат – сосунов в возрасте 10–20 дней, молодых морских свинок – 3–5 недельном возрасте. На каждую пробу берут по два животных: на 4–5 день убивают первого, на 14–16 день второго, если оно само не погибло. Из сердца, печени, почек убитых или павших животных проводят посевы на питательные среды. Сыворотку крови убитого животного через 14–16 дней исследуют в реакции микроагглютинации (РМА) и РА. Пробы крови для исследования берут на 5–7 день болезни и повторно исследуют через 7–10 дней. Специфические антитела против лептоспироза у выздоровевших животных в крови могут сохраняться до двух лет и более.

В РМА сыворотку крови исследуют с 13 серогруппами. Положительная РМА в разведении 1:10 и выше указывает на наличие лептоспир в исследуемом материале.

РМА ставят в лунках агглютинационных пластинок. В качестве антигенов используют живые культуры лептоспир различных серогрупп в возрасте 5–15 дней с плотностью 60-80 клеток в поле зрения микроскопа без признаков агглютинации и лизиса.

Сыворотку исследуют с антигенами каждой серогруппы предварительно разведенными стерильным физическим раствором 1:50, 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:8000, 1:16000 и 1:32000.

В лунки вносят по 0,1 мл. разведённой сыворотки и 0,1 мл. антигена.

Контролем служит антиген с физическим раствором по 0,1 мл., затем инкубируют при температуре 30°C в течение 2 ч, учитывают в препаратах "раздавленная капля" в микроскопе с конденсором "тёмного поля".

Реакцию оценивают в крестах:

++++ – 100% агглютинация проявляется в склеивании лептоспир и образовании "паучков", состоящих из 3–5 и нескольких десятков бактерий; +++ – 75% агглютинация лептоспир; ++ – 50% агглютинация лептоспир; + – 25% агглютинация лептоспир; – – агглютинация отсутствует

Положительной считают реакцию не менее чем два креста до 50–100% ее титра при отсутствии агглютинации в контроле.

РА ставят на стеклянной пластине, для чего наносят каплю разведённой 1:100 исследуемой сыворотки и добавляют равное количество антигена. Для постановки РА выпускают антигены 6-ти серогрупп (смесь концентрированных лептоспир в питательной среде). При наличии в сыворотке специфических антител наступает реакция агглютинации.

Положительной считают реакцию в два креста и выше, сомнительной – в один крест. У крупного рогатого скота необходимо исключить пироплазмидоз, злокачественную катаральную горячку, бруцеллез и кампилобактериоз; у свиней – бруцеллез, сальмонеллез; у лошадей – инфекционную анемию.

Иммунитет, средства профилактики и лечения. После переболевания у животных **формируется в начале нестерильный, а затем (по окончании срока лептоспироносительства) стерильный** напряженный, длительный иммунитет, высокой специфичности. Больных и подозрительных по заболеванию животных изолируют и лечат, клинически здоровых – вакцинируют. Больным животным вводят гипериммунную сыворотку, используют стрептомицин. Его вводят через каждые 12 ч. в течение 4–5 дней, в дозе 10–12 тыс. Ед/кг. Дитетрациклин применяют свиньям (по 30 тыс. Ед/кг) 2–3 раза с интервалом 2–3 суток.

При вакцинации стельных коров за 1,5–4 мес., овец и свиноматок за 1,5–2 мес. до родов колостральный иммунитет продолжается у телят после рождения до 2,5 мес., у ягнят и поросят – до 1,5 мес.

Для активной иммунизации применяют депонированную поливалентную вакцину ВГНКИ против лептоспироза животных.

Вакцину выпускают в двух вариантах:

1 – из штамма лептоспир серогрупп Pomona, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Canikola;

2 – из серогрупп Pomona, Tarassovi, Grippotyphosa и четыре серовара группы Hebdomadis. Иммунитет после прививки наступает через 14–20 дней и продолжается у молодняка до 6 мес., у взрослых животных до года.

Для пассивной иммунизации и лечения больных животных используют сыворотку против лептоспироза с.-х. животных, которую получают из крови волов-продуцентов, гипериммунизированных культурами лептоспир. Иммунитет у привитых животных сывороткой сохраняется 10–15 дней.

ПАТОГЕННЫЕ КАМПИЛОБАКТЕРИИ

Кампилобактериоз (вibriоз) – Campylobacteriosis

Острое инфекционное зоонозное заболевание крупного рогатого скота и овец, характеризующееся синдромом общей интоксикации, поражением генитальных органов, проявляющееся абортами, задержанием последа, вагинитами, метритами, а также временным бесплодием и частыми перегулами.

Впервые возбудители кампилобактериоза овец (1909) и крупного рогатого скота (1913) обнаружили Д. Мак-Федиен и С. Штокман (Англия) в матке, плодных оболочках и тканях абортированных плодов.

В 1919 г. Смит и Тейлор (США) описали морфологические свойства возбудителя и назвали его *Vibrio fetus*.

Согласно современной систематике и номенклатуре бактерий, возбудителя болезни входят в **II группу спириллы (аэробы, микроаэрофильные подвижные извитые, изогнутые грамотрицательные бактерии)**, относят к семейству **Spirillaceae**, роду *Campylobacter*. В связи с этим научно-обоснованным новым наименованием данной болезни вместо «вibriоза» является «кампилобактериоз». Кампилобактериоз распространен почти во всех странах мира. В России эту болезнь у крупного рогатого скота установил В.А. Якимов (1926). Первые данные по кампилобактериозу овец в России опубликованы в 1929 г., свиней – в 1960г., кур – в 1963г., коз – 1972 г.

Возбудитель – *Campylobacter fetus* полиморфные, тонкие, изогнутые палочки в виде запятой, летящей чайки, буквы V или S, спирали или штопора с одним или несколькими завитками, длиной 3–7 мкм и толщиной 0,2–0,5 мкм. Подвижны, имеют один поляр-

ный жгутик. Движение винтообразное. Капсул и спор не образует. **Грамотрицательные**, окрашиваются карболовым фуксином Циля (1:5) в красный цвет.

Культивирование. *Campylobacter fetus* относят к микроаэрофилам, культуру выращивают в присутствии 10% двуокси углерода, и температуре 37-38°C, pH 7,0–7,2 на мясо-печёночном пептонном агаре (МППА). Культивируют на агаре Мартена, средах Китта-Тароцци без масла и сафранино-железо-новобиоциновой (СЖН). **На ПЖА через 2–7 суток** появляется рост в пробирке около самой поверхности среды в виде серовато-белого диска толщиной от 1 до 4 мм; на плотной среде начиная с 3-4 дня образуют мелкие бесцветные, позже серо-голубоватые колонии или сплошной налет. На кровяном бульоне после адаптации к среде растёт в виде легкого облачка.

Биохимические свойства. *Campylobacter fetus* не ферментируют углеводы и мочевину, дезаминируют глутаминовую и аспарагиновую кислоты, индол не выделяют, образуют сероводород. Желатин не разжижают, молоко не свёртывают, не вызывают гемолиза на средах с кровью. Продуцируют каталазу, редуцирует нитраты, не растёт в МПБ с 3,5% хлоридом натрия.

Антигенная структура. В антигенном отношении кампилобактеры неоднородны, их дифференцируют в РА и непрямой гемагглютинации. Среди штаммов выделенных от овец различают 4 серологических типа отличающиеся по антигенным свойствам; а бычьи штаммы относят к 5 типу.

Устойчивость. Весьма не устойчивый микроб. В сене, подстилке, навозе, воде, почве кампилобактеры при температуре 18–27°C выживают до 20 дней, при 6°C – до 1 месяца. В заражённых тканях матки и плода при температуре 20°C сохраняются 5–8 мес. Высушивание убивает через 3 часа, при температуре 55°C гибнут за 10 минут.

Патогенность. Восприимчивы к возбудителю крупный рогатый скот, овцы (взрослые животные), нутрии. Могут болеть свиньи, собаки, куры. Болеет и человек. **Инкубационный период** длится от 3 суток до нескольких недель.

Источником возбудителя инфекции являются больные животные.

Пути передачи возбудителя инфекции чаще половой, при искусственном осеменении, через объекты внешней среды, алиментарный.

Патогенез. У быков возбудитель кампилобактериоза локализуется в слизистой оболочке препуциальной полости и уретры, семенниках, их придатках, длительное время сохраняется и выделяется со спермой.

Попав во влагалище коровы, кампилобактеры размножаются и проникают в матку, вызывая воспалительные процессы (вагинит, эндометрит). У небеременных животных вибрионы быстро размножаются во влагалище коровы или телки, возбудитель попадая на эпителий влагалища (инкубационный период 7 дней), вызывает его резкое раздражение, с обильным выделением слизи – слизистую дистрофию (слизь необходима для жизнедеятельности и питания вибриона) и проникает в матку. Из-за скопления слизи спермий не может проникнуть в матку, кроме того, токсины (продукты жизнедеятельности микроба) содержащиеся в слизи, также губительны для сперматозоидов. У беременных животных возбудитель бурно размножается в плодных оболочках вызывая фибринозно-гнойное воспаление, питание плода прекращается и происходит аборт на более поздних стадиях развития эмбриона. У овец уже через 3 дня после алиментарного заражения, вибрионы обнаруживаются в крови. Затем они локализуются в матке и вызывают воспалительно-некротические процессы, ведущие к аборту. Характерно, что чувствительны к заражению только овцы во второй половине суягности.

Диагностика и дифференциальная диагностика. В лабораторию направляют: от коров, нетелей, овцематок – абортированный плод, плаценту, слизь из шейки матки; от быков-производителей – препуциальную слизь, сперму и секрет придаточных половых желез; от животных, убитых с диагностической целью – влагалище, матку, лимфатические узлы тазовой полости. Лабораторные исследования включают микроскопию, выделение культуры, идентификацию выделенных культур, серологические исследования, биопробу.

Серологические исследования включают постановку РА с вагинальной слизью, а у овец РА с сывороткой крови. Также РСК (РДСК) и метод флюоресцирующих антител.

У крупного рогатого скота необходимо исключить бруцеллёз и трихомоноз, у овец – паратиф и энзотический хламидиозный аборт.

Иммунитет и средства специфической профилактики. Переболевшие кампилобактериозом животные приобретают иммунитет, повторно не болеют. В сыворотке крови выявляют специфические антитела.

Для активной профилактики применяют эмульсинвакцину инактивированную против кампилобактериоза овец. Иммунитет формируется через 10–15 дней после вакцинации, продолжительность иммунитета до 1 года. Выпускают кампилобактериозные агглютинирующие сыворотки для диагностики, а также кампилобактериозный антиген. Для лечения применяют антибиотики. Лечение заключается в назначении дезинтоксикационной и симптоматической терапии.

Проводят дезинфекцию, 2% раствором едкого натрия или 10-12% взвесью свежегашеной извести, контаминированную подстилку уничтожают. Коров и телок осеменяют только искусственно, ограничения снимают если в течение 6 мес. не было выделения больных животных. При вспышке у овец, абортировавших животных изолируют, а остальных переводят на другой участок пастбища. Инфицированные выпасы используют по истечении 2-х месяцев. Отару признают благополучной при отсутствии в течение 2-х лет абортов вызванных camp. fetus.

ВОЗБУДИТЕЛИ РОЖИ СВИНЕЙ И ЛИСТЕРИОЗА

Рожа свиней (*Erysipelas suum*) - инфекционная болезнь, поражающая свиней преимущественно в возрасте от 3 до 12 месяцев, протекающая остро, с явлениями септицемии и хронически – с симптомами эндокардита, серофибринозного полиартрита или некрозов кожи. Болеет и человек.

Возбудителя рожи впервые открыли Пастер и Тьюе (1882).

Возбудитель – *Erysipelothrix insidiosa* (rhusiopathiae) относится к роду ***Erysipelothrix***. **Факультативный анаэроб**, Грам положительная палочка, спор и капсул не образует, неподвижная, в мазках – в виде тонких нитей, размером 0,2–0,3 x 0,8–2,5 мкм. В старых бульонных культурах представляет собой удлинённые и нитевидные палочковидные формы.

Культивирование. Бактерия растёт в аэробных и анаэробных условиях, лучше в атмосфере с пониженным давлением кислорода и содержащей 5–10% двуокиси углерода (микроаэрофил). Культивируется на МПА, МПЖ, в МПБ, бульоне Хоттингера, элективной среде Сент-Иваньи (агаровая среда с 0,1% кристалвиолета и 1% азида натрия). Хорошо растёт при 36–37°C, pH 7,2–7,6.

На **МПА** – растёт в виде мелких росинчатых просвечивающихся колоний (**S-форма**), трудно различимых невооружённым глазом. Бактерии в S-форме выделяются при септицемии. При хроническом течении болезни образуются колонии **R-формы** – крупные, с неровной волокнистой поверхностью и отходящими от края корнеобразными отростками.

В **МПБ** растёт в виде слабого помутнения среды без образования пристеночного кольца и плёнки, при встряхивании пробирки видны муаровые волны. Через 48–72 ч среда просветляется, на дне пробирки формируется незначительный осадок, при встряхивании поднимается в виде облачка.

В столбике желатина при посеве уколом через 6–10 дней появляются от сероватобелого стержня горизонтальные нежные отростки, желатин не разжижается.

Биохимические свойства. Возбудитель рожи свиней выделяет сероводород, не образует индол и каталазу; большинство штаммов ферментируют с образованием кислоты

без выделения газа лактозу, глюкозу, галактозу, левулёзу, в слабой степени – ксилозу, редко арабинозу, мальтозу и рамнозу, не ферментируют сахарозу, маннит и салицин.

Антигенная структура. Бактерии рожи свиней содержат два антигена: термолабильный групповой и термостабильный видовой. Имеет серовары А и В отличаются своими гаптенами. Общим видовым является антиген N.

Штаммы серовара В имеют гемагглютинирующий и растворимый иммуногенный антиген, поэтому они пригодны для активной иммунизации. От больных свиней, а также здоровых бактерионосителей выделяются преимущественно штаммы серовара А (до 95%), реже серовар В и очень редко N.

Устойчивость. Возбудитель обладает высокой устойчивостью во внешней среде, в трупах животных может сохраняться и размножаться в течение **4-х мес.** **В почвах богатых органическими веществами,** возбудитель сохраняется **до 7-9 мес.**, в навозной жиже – до **290 дн.**, в водопроводной воде до 108 дн., в речной воде при 4°C – **до 86 дн.**, в моче свиней до 203 дн., в фекалиях до 78 дн. **В соленой свинине** возбудитель рожи свиней выживает до 6 мес., в копчёных продуктах до 3 мес. Жарение и тушение не стерилизуют мясо от этой бактерии. **Прямые солнечные лучи** убивают её в течение 10–12 дн., высушивание при рассеянном свете – через 4 нед., нагревание при 50°C через 15 мин., при 70°C – через 5 мин.

Дезинфицирующие средства: 2–3% растворы гидроокиси натрия, 2% раствор хлорной извести, 2% формальдегида, 3% раствор пероксида водорода быстро убивают возбудителя.

Патогенность. В естественных условиях восприимчивы свиньи, особенно в возрасте от 3 мес. до 1 года. Спорадически регистрируется у лошадей, крупного рогатого скота, овец, оленей, собак, уток, гусей, кур, индеек, голубей и др. птиц. **Микроб был выделен** у дельфинов, тюленей, грызунов, насекомоядных, речных и морских рыб, белок, пятнистых оленей, иксодовых клещей. Бактерии рожи патогенны и для человека. Как сапрофиты бактерии рожи свиней выявляются на поверхности кожи, в кишечнике и мышцах некоторых видов морских и пресноводных рыб. Из **лабораторных животных** восприимчивы белые мыши, голуби, они гибнут через 2–5 дн. после заражения. Менее чувствительны кролики, которые после внутривенного заражения гибнут на 3–6 день.

Патогенез. Заражение происходит чаще алиментарно. **Факторы передачи** – обезвреженные продукты убоя больных животных, вода, корма, предметы ухода. **Инкубационный период** длится 2–8 суток, реже до 14 дн., крайне редко более продолжительно. Заражение свиней и других животных происходит при проникновении возбудителя алиментарно, через повреждённую кожу или при укусах кровососущих насекомых. Попавшие бактерии в организм оседают в миндалинах и солитарных фолликулах кишечника, где размножаются, выделяют токсические вещества. При неблагоприятном течении болезни возбудитель разносится лимфогенным и гематогенным путями, развивается сепсис, накапливаются токсические продукты бактерий, происходят дистрофические и некробиотические изменения в паренхиматозных органах, подавляется фагоцитоз, наступают тяжёлые функциональные расстройства сердечно-сосудистой системы и гибель животных.

При подостром и хроническом течениях болезни происходит локализация возбудителя и обезвреживание его токсических продуктов, активизируется синтез специфических иммуноглобулинов и фагоцитоз, наблюдаются аллергические реакции, которые проявляются кожной экзантемой, эндокардитом и серозно-фибринозными артритами. Возбудитель рожи может длительное время персистировать в организме животных.

Патологоанатомические изменения. Изменения, характерные для сепсиса, застойных явлений, увеличение лимфатических узлов, полиартрита, бородавчатого эндокардита.

Диагностика и дифференциальная диагностика. В лабораторию направляют труп животного целиком или паренхиматозные органы, трубчатую кость; при подозрении

на хроническое течение – сердце. В лаборатории проводят микроскопию, бактериологическое и серологическое исследования *РА*, метод флюоресцирующих антител.

Микроскопия. Делают мазки-отпечатки из органов и окрашивают по Граму. В мазках обнаруживают грамположительные палочки, расположенные одиночно, попарно или скоплениями, при хроническом течении – длинные переплетающиеся нити.

Посев на питательные среды делают из крови сердца, поражённых клапанов, почки, селезёнки, печени, костного мозга в МПБ или бульон Хоттингера и на МПА. Посевы инкубируют при температуре 36–37°C в течение 18–24 ч., при отсутствии роста выдерживают ещё сутки. Полученную выращенную культуру идентифицируют по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам, а также в реакции агглютинации с позитивной (положительной) специфической сывороткой. Подвижность определяют высевом в полужидкий агар, биохимическую активность – на средах Гисса с глюкозой, лактозой, сахарозой и маннитом, определяют образование сероводорода и каталазы.

РА ставят с гипериммунной лечебной сывороткой на предметном стекле. Наносят каплю сыворотки в разведении 1:50, затем бактериальной петлёй суточную агаровую культуру тщательно растирают. В положительном случае агглютинация наступает быстро, агглютинат имеет вид плотных мелких комочков.

Положительная культура рож свиней – не обладает подвижностью, выделяет сероводород, не образует каталазу, разлагает глюкозу, лактозу (без газа), не ферментирует сахарозу и маннит, даёт положительную *РА*. В патологическом материале бактерии рож обнаруживают **методом флюоресцирующих антител**.

Биопроба. Заражают 10% суспензией из органов или бульонной культурой белых мышей или голубей, подкожно по 0,1–0,2 мл, голубей внутримышечно. Животные погибают через 2–4 суток после заражения. Из органов павших мышей и голубей делают посев в МПБ и на МПА для выделения чистой культуры возбудителя.

Рожу следует отличить от чумы свиней и пастереллеза. При чуме поражается толстый отдел кишечника, а при роже – тонкий отдел. При чуме лимфоузлы имеют мраморный рисунок. При пастереллезе характерные изменения в легких.

Иммунитет и биопрепараты. Переболевшие свиньи приобретают стойкий и длительный иммунитет. После вакцинации активный иммунитет продолжается до 6 мес., пассивный до 2 недель. Впервые профилактические прививки применил Л.Пастер (1883) против рож аттенуированными культурами. В России впервые живые вакцины против рож свиней получили П.И.Боровский (1897) и Д.Ф. Конев (1904).

В нашей стране **применяют концентрированную гидроокисьалюминиевую формолвакцину против рож свиней и вакцину против рож свиней из штамма ВР-2.**

Для пассивной профилактики и лечения больных животных используют **гипериммунную сыворотку**. Для терапии применяют антибиотики: пенициллин, стрептомицин, эритромицин, окситетрациклин, нитрофурановые препараты. Пенициллин вводят в дозе 2–3 тыс. ЕД/кг с интервалом в 6–8 ч. Наиболее лучшие результаты получены при совместном введении сыворотки с антибиотиками.

Клинически здоровых животных пассивно иммунизируют противорожистой сывороткой, а через 10–12 дн. вакцинируют.

Вакцинацию можно проводить и без предшествующей пассивной иммунизации, но в этом случае необходимо в течение 7–10 дней наблюдать за привитым поголовьем, чтобы своевременно выявить больных свиней, привитых в инкубационном периоде. На неблагополучные хозяйства или отдельные фермы накладывают карантин, который снимают через 14 дней после последнего случая выздоровления или падежа больного животного и проведения заключительной очистки и дезинфекции помещений, предметов ухода и т. п.

14 дней после последнего случая выздоровления или падежа больного животного и проведения заключительной очистки и дезинфекции помещений, предметов ухода и т. п.

Вынужденный убой больных свиней необходимо проводить в специально отведенном месте. Мясо от убитых животных допускается в пищу только после проварки. После каждого случая заболевания рожей помещения, где находились больные свиньи, подлежат тщательной очистке и дезинфекции.

ЛИСТЕРИОЗ (LISTERIOSIS) - острая инфекционная болезнь млекопитающих и птиц, характеризующаяся поражением центральной нервной системы, абортами и маститами, септическими явлениями или протекающая в форме бессимптомного носительства. Болеет и человек.

Возбудителя листериоза впервые выделил в 1911 г. шведский учёный Халферс от больных кроликов и назвал его *Bacterium hepatis*.

В 1927 г. Пири выделил возбудителя от диких грызунов в Африке; в 1929 А.Нифельд – от человека с ангиной, сопровождающийся высоким моноцитозом. В 1940 г. возбудитель был переименован в

Listeria monocytogenes в честь английского хирурга Д. Листера.

По современной классификации листерии внесены в группу 19 (неспорообразующие грамположительные палочки правильной формы), род *Listeria*, в котором насчитывается **8 видов: *L. monocytogenes*,**

***L. Ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. murrayi*, *L. denitrificans*.**

Основной вид – *Listeria monocytogenes*, патогенный для животных и человека. ***L. Ivanovii*** выделяется от здоровых животных и людей, патогенен для суягных овец, чувствительны белые мыши.

Морфология. *L. monocytogenes* – полиморфная палочка с закруглёнными концами, 0,5–2 мкм длины, 0,3–0,5 мкм ширины, подвижная, грамположительная, факультативно-аэробная. В мазках палочки располагаются одиночно, в виде римской цифры V или по несколько параллельно. Спор и капсул не образуют.

Культивирование. Листерии – факультативные аэробы, но растут и в анаэробных условиях. Оптимум температурного роста на питательных средах 36–38°C с pH 7,2–7,4, однако они могут расти и при температуре от 4° до 45°C. На МПА (2-3 день) растут мелкие, прозрачные росинчатые округлые колонии, становящиеся в последствии мутными, с голубоватым оттенком.

В МПБ вызывают помутнение среды с образованием слизистого осадка, поднимающегося при встряхивании в виде косички.

На печёночных средах (с добавлением 1% глюкозы и 2–3% глицерина) вырастают слизистые колонии.

В качестве **элективных сред** используют МПБ с 0,05% теллурита калия или 0,01–0,02% теллурита калия в водном растворе глицерина и растворе флоримецина или полимиксина.

На кровяном агаре вокруг колоний образуется узкая зона гемолиза.

Биохимические свойства. Листерии **ферментируют** с образованием кислоты без газа глюкозу, декстрозу, рамнозу и салицин (ферментация салицина - важный момент в дифференциации листерии и рожистой палочки, которая не сбраживает салицин), трегалозу, левулёзу; замедленно - сахарозу, крахмал, глицерин, декстрин; некоторые культуры разлагают лактозу и мальтозу. **Не ферментируют** рафинозу, дульцит, инулин и сорбит; **не образуют** индол, сероводород и аммиак, не свертывают молоко; **не разжижают** желатин, **не восстанавливают** нитраты в нитриты, **дают положительную** пробу на каталазу. **Выделяют** бета-гемолизин. **Разлагают** перекись водорода с выделением пузырьков кислорода. **Редуцирует** метиленовую синь.

Антигенная структура. Листерии имеют 2 антигена: соматический и жгутиковый. По 14 соматическим и 5 жгутиковым антигенам листерии подразделяют на 16 основных серотипов. Наиболее часто выделяют штаммы первого серотипа.

Устойчивость. Листерии довольно устойчивы во внешней среде.

В почвах они сохраняются от 6 до 11 мес., в почвенных экстрактах размножаются. **В воде** сохраняют жизнеспособность в течение года и более, в навозе – до 7 месяцев, в силосе – более года, в мясе - до года. **В бульонных культурах** листерии погибают при температуре 100°C через 10–15 мин., при 70°C – через 30 мин.; при 55°C – через 1 час; 2–5% раствор формальдегида обезвреживает их через 20 мин., 2–5% раствор гидроксида натрия, раствор хлорной извести с содержанием 2% активного хлора – через 20 мин.

Патогенность. Восприимчивы к возбудителю крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, кролики, куры, утки; наиболее чувствительны: молодняк и беременные животные. Листерии патогенны также для грызунов. **Источником возбудителя** являются больные и переболевшие животные; основной резервуар в природе – грызуны. **Пути передачи:** чаще алиментарный – с водой и кормом.

Инкубационный период длится 7–30 суток.

Патогенез. В зависимости от места внедрения возбудителя он размножается и распространяется по организму различными путями: гематогенным, лимфогенным и нейrogenным. Различают септическую и нервную формы болезни. **При септической форме**, которую чаще наблюдают у молодняка, листерии заселяют все органы и ткани организма, вызывая дегенеративные изменения. **Нервная форма** проявляется менингоэнцефалитом, при этом листерии обнаруживаются только в головном и спинном мозге. **У беременных животных листерии** вызывают гибель плодов и аборт. **Патогенное действие** листерий обуславливается за счёт выделения **эндотоксинов**.

Диагностика и дифференциальная диагностика. В лабораторию направляют трупы мелких животных или голову (головной мозг), печень, селезенку, лимфатические узлы, абортированный плод и его оболочки. Проводят микроскопические, бактериологические исследования, метод флюоресцирующих антител, серологические исследования (РА, РСК, РНГА), ставят биологическую пробу. Вначале проводят микроскопию мазков-отпечатков из патологического материала и окрашивают по Граму, а также методами флюоресцирующих антител. Проводят посевы из органов и головного мозга на питательные среды, а также на кровяном агаре и селективных средах. Рекомендуется часть материала сохранять в холодильнике в течение 30 дней для проведения повторных исследований при отрицательном результате первичного посева. Посевы инкубируют в термостате при 37°C с ежедневным просмотром в первые 3–4 дня. Если роста нет, то наблюдают в течение 2-х недель. Выделенные культуры исследуют на подвижность, изучают ферментативные свойства на средах Гисса, ставят пробу на каталазу и дифференцируют от возбудителя рожи свиней (делают высев на среду с метилротом или нетральротом в смеси с метиленовой синью). Листерии обесцвечивают среды, возбудитель рожи свиней не обесцвечивает.

Ставят капельную РА на стекле с поливалентной листериозной агглютинирующей сывороткой. Затем с помощью типовых (серогрупповых) сывороток определяют серотип (серогруппу) выделенной культуры.

Специфические свойства листерий проверяют также конъюнктивальной пробой на морских свинках или внутрикожной пробой на морских свинках или кроликах.

Конъюнктивальная проба. На конъюнктиву глаза морской свинки наносят две капли испытуемой бульонной культуры с последующим лёгким массажем век ватным тампоном. На 2-4 день вирулентные листерии вызывают гнойный кератоконъюнктивит. При внутрикожной пробе через 48 ч возникает воспаление с последующим некрозом и образованием струпа.

Для типирования культур используют также листериозные бактериофаги, включающие два монофага L2A и L4A.

Серологическая диагностика. Сыворотку животных используют в РА и РСК. Для РА применяют 2 антигена (первой и второй серогруппы), представляющие собой взвесь листерий, инактивированных кипячением. **РА** признаётся положительной с оценкой не

менее, чем 2 креста в разведениях сыворотки 1:200 для овец, коз и свиней, 1:400 для лошадей и КРС, 1:50 для кроликов. **РСК** исследуют сыворотки крови в разведении 1:10 с использованием листериозного антигена.

Биологическая проба. Используют белых мышей и кроликов. Заражают внутрибрюшинно или внутривенно в дозе 0,3–0,5 мл суточной культуры. При постановке диагноза необходимо дифференцировать листериоз от **рожи свиней, бешенства, болезни Ауески, злокачественной катаральной горячки, бруцеллеза, кампилобактериоза, трихомоноза, ценуроза (овец), кормовых отравлений.**

Иммунитет и средства специфической профилактики. Переболевшие животные приобретают относительный иммунитет. Для профилактики болезни применяют **сухую живую вакцину из аттенуированного штамма АУФ листерий первого серотипа.** После однократного её введения у КРС, свиней и овец создаётся иммунитет продолжительностью до одного года, у кроликов и норок – до 6 мес.

Выпускают диагностические **агглютинирующие сыворотки, Листериозные флуоресцирующие сыворотки.** Листерии чувствительны к антибиотикам тетрациклинового ряда (окситетрациклин, хлортетрациклин) и ампициллину.

Лечение. Больных животных с признаками поражения центральной нервной системы направляют на убой. Остальных больных и подозрительных по заболеванию изолируют и лечат внутримышечным введением окситетрациклина, тетрациклина по 25–30 мг/кг массы животного 2–3 раза в сутки и других антибиотиков до снижения температуры тела. Эффективным является пероральное применение биомицина в дозе 25 мг, тетраамицилин – 30 мг/кг массы животного 2–3 раза в сутки до понижения температуры тела. После снижения температуры тела до физиологической нормы рекомендуется применение пролонгированных препаратов — рифампицина и ампициллина (10 тыс. ед./кг 2 раза в сутки), неомицина (по 10–15 тыс. ед./кг 2 раза в сутки). Выбор антибиотиков определяют по антибиотикограмме. Применяют также сердечные, вяжущие, назначают диету.

ПАТОГЕННЫЕ МИКОБАКТЕРИИ (возбудители туберкулёза и паратуберкулёза)

Паратуберкулёз (паратуберкулёзный энтерит, болезнь Йоне) – Paratuberculosis - хронически протекающая болезнь жвачных животных, характеризующаяся прогрессирующим истощением, периодической диареей, специфическим продуктивным энтеритом.

Энтерит у коров, сходный с паратуберкулёзом, описано Кертрайтом и Уайт Черчем в 1825 г., Фарроу – в 1831 г., Генсенем и Гамильтоном – в 1881 г. В 1895 г. Х. Йоне Г. Фротинг доказали, что заболевание вызывается кислотоустойчивой бактерией. Банг (1906) экспериментально воспроизвел заболевание у телят. В России И.И. Гордзялковский (1911) описал паратуберкулёзный энтерит у импортированных из Европы коров шортгорнской породы. Подробное изучение этого заболевания у крупного рогатого скота в России провёл П.П. Вишневский (1932).

У овец паратуберкулез изучали П.П. Вишневский и П.Г. Прохоров (1937). В 1949 г. К. А. Дорофеев и Л. А. Калачев изучали болезнь **у овец.** У верблюдов – М.Ф. Цыганков и Н.Т. Киселева (1950), В.Д. Штапко (1957).

У буйволов – Т. Мамедов, С. Мехтиев, А. Ахмедов.

Заболевание регистрируется в отдельных хозяйствах стран Западной Европы (Франция, Нидерланды), в США, Индии, России, Болгарии и в государствах Африки.

Возбудитель болезни **Mycobacterium paratuberculosis** (*M. johnei*) – относится к 21 группе (включает единственный род **Mycobacterium**, сем. **Mycobacteriaceae объединяющий патогенные и условно- патогенные виды**) - это аэробная, тонкая, короткая, полиморфная, кислотостойкая палочка длиной 0,5–1,5 мкм, шириной 0,2–0,5 мкм, неподвижная, спор и капсул не образует, Г+, хорошо окрашивается по Цилю-Нильсену.

Культивирование. Возбудитель растёт на специальных **жидких средах**: Данкина, Вишневского, Дорсета, Бокэ, Генлея при температуре 38°C, рост появляется через 6 недель, образуется нежная беловато-сероватая пленка, которая через 3-4 месяца культивирования утолщается и опускается на дно. На плотных средах: яичные среды (Петраньяни, Гельберта, Левенштейна); агаризированная среда (Сотона), в начале вырастают изолированные серовато-желто-белые маленькие колонии, в дальнейшем приобретающие вид сопочков. С течением времени появляется складчатое наложение.

Антигенная структура до конца не выяснена, имеется антигенное родство с *M. avium*.

Устойчивость. Возбудитель паратуберкулеза довольно устойчив к воздействию физико-химических и биологических факторов.

В почве и навозе сохраняется до 10-12 мес., в кормах и воде до 8-10 мес., в моче – 7 дней. Солнечный свет убивает через 10 мес. В молоке при нагревании 63°C убивает за 30 мин., при 65°C – через 25 мин., при 85°C – за 1-5 мин.

Для дезинфекции применяют 10% и 20% растворы хлорной извести, 5% раствор формалина, лизола, феносмолина.

Патогенность. Восприимчивы к возбудителю крупный рогатый скот, овцы, козы, верблюды, северные олени и другие домашние, и дикие животные. Лошади, мулы, свиньи не болеют паратуберкулёзом. Чувствительны лабораторные животные кролики, хомяки, мыши. Инкубационный период длится от 1 месяца до 6 лет и более. Основным источником возбудителя – клинически и латентно больные животные. Факторы передачи возбудителя болезни – контаминированные им вода, предметы ухода. Путь заражения – алиментарный.

Патогенез. После алиментарного заражения паратуберкулезные микобактерии проникают через поврежденный эпителий в строму ворсинок стенки тощей кишки и фагоцитируются ретикулярными клетками. В связи с наличием микробной клетки и в ее оболочке стеариновых кислот и других воскоподобных веществ микобактерии при фагоцитозе не перевариваются, происходит их внутриклеточное размножение. В результате чего пораженные макрофаги объединяются в клеточные скопления и приобретают вид эпителиоидных клеток. Внутриклеточное размножение микробов разрушает клетки ткани, а освободившиеся микробы вновь фагоцитируются.

Возникают крупные скопления микробов и пораженных макрофагов, вызывая атрофию клеток ворсинок кишечной стенки и брыжеечных лимфатических узлов и характерное пролиферативное воспаление. Это приводит к нарушению ферментативной, секреторной и всасывающей функции кишечника, а также минерального и водно-солевого обмена, в результате чего происходит интоксикация и истощение организма. У молодняка может возникать бактериемия.

Патологоанатомические изменения. Характерные поражения обнаруживают в тощей и подвздошной кишках – на отдельных их участках видны утолщения слизистой оболочки в 4–10 раз, плотные продольные и поперечные складки бледного цвета, напоминающие извилины головного мозга, точечные и полосчатые кровоизлияния. Серозная оболочка и брыжейка отечны, субсерозные лимфатические сосуды утолщены, имеют вид толстых извивающихся тяжей. Мезентеральные лимфатические узлы увеличены, размягчены, иногда с серовато-белыми саркомоподобными очажками. У овец и коз утолщение и складчатость слизистой оболочки кишечника выражены слабее, а в увеличенных лимфатических узлах и слизистой кишечника иногда встречаются обезызвествленные и инкапсулированные очажки некроза. Часто наблюдают асцит.

В латентной стадии болезни изменения обнаруживают только в брыжеечных лимфатических узлах.

Диагностика и дифференциальная диагностика. В лабораторию: при жизни животного направляют фекалии с комочками слизи и примесью крови, соскобы со слизистой оболочки прямой кишки, посмертно или при убое – пораженные участки кишечника, отрезок подвздошной кишки, перевязанный с двух сторон, мезентеральные лимфатические

узлы. Проводят гистологические, бактериологические исследования, ставят аллергическую пробу, серологические исследования. Фекалии размазывают тонким слоем на предметном стекле, фиксируют и окрашивают по Циль-Нильсону. Для дифференциации культур высевают материал после обработки 5% раствором серной кислоты, на элективные и обычные питательные среды. Атипичная культура вырастает быстро на 3–10 сут., типичные культуры паратуберкулёза растут долго. Серодиагностика. При заболевании и переболевании животных можно выявлять в сыворотке антитела в РСК.

Аллергическая диагностика. Животные больные паратуберкулёзом реагируют на альттуберкулин для птиц в 80% и на паратуберкулин (Ионин) в 94% случаев. Крупный рогатый скот исследуют двойной внутрикожной аллергической пробой. Учёт после 1-го введения через 48 ч, измеряя величину кожной складки кутиметром. Положительной реакцией считается появление на месте введения туберкулина разлитого отека без строгой конфигурации и границ, размерами от 35x45 до 100 x 120 мм и больше. При сомнительной реакции отек слабо выражен, утолщение кожной складки составляет от 5 до 7 мм сверх нормы.

Неспецифические ограниченные безболезненные утолщения участка кожи за типичные аллергические реакции не признают. Реакцию, появившуюся ранее 48 часов после инъекции туберкулина, не учитывают.

Животным, давшим сомнительную и отрицательную реакции и не реагирующим, альттуберкулин вводят повторно. Реакцию учитывают через 24 часа. У овец применяют стандартный очищенный (ППД) туберкулин для птиц. Учитывают реакцию через 48 ч. При паратуберкулезе следует исключить туберкулез, алиментарные энтериты, глистные инвазии, эймериоз, отравление молибденом и недостаточность меди. Туберкулез исключается аллергическим исследованием; глистные инвазии и эймериоз – копрологическим исследованием. Алиментарные энтериты носят массовый характер, их диагностируют по результатам анализа крови.

Иммунитет и средства профилактики. Иммунитет при паратуберкулёзе изучен недостаточно, вакцины и специфические средства лечения не разработаны. Лучшим средством для борьбы остаётся убой клинически больных, с последующим выполнением ветеринарных и санитарных мероприятий, направленных на обезвреживание объектов, содержащих возбудителя паратуберкулёза.

Туберкулёз (Tuberculosis) - хронически протекающая инфекционная болезнь млекопитающих и птиц, характеризующаяся образованием в органах и тканях специфических гранулём – туберкулов, подвергающихся казеозному некрозу и обызвествлению. Болеет и человек.

Возбудитель: *Mycobacterium tuberculosis* был открыт Робертом Кохом в 1882 г. Возбудитель туберкулеза относится к 21 группе (включает единственный род *Mycobacterium*, сем. *Mycobacteriaceae* объединяющий патогенные и условно- патогенные виды) у человека – *M. tuberculosis*; крупного рогатого скота – *M. bovis*; мышей-полевок – *M. murium*; птиц – *M. avium*; хладнокровных – *M. paratuberculosis*.

Возбудитель туберкулеза принадлежит к группе кислото-, спирто- и щелочеустойчивых бактерий. Имеют вид тонких, прямых, чаще слегка изогнутых палочек с закругленными концами, длиной от 1,5 до 5 мкм., шириной от 0,2 до 0,5 мкм. Г+ палочки, располагающиеся одиночно или группами, строгий аэроб, неподвижны, спор и капсул не образует.

Культивирование. Микобактерии размножаются при выращивании в строго аэробных условиях на питательных средах, которые делят на простые или глицеринсодержащие, и элективные – белковые и безбелковые (синтетические). Микобактерии туберкулеза обладают глицеринофильностью. Для размножения микобактерий необходимы Р, К, Mg и S. Стимулируют рост препараты железа. Источниками азота являются белки питательной среды, аминокислоты, соли аммония. Микобактерии растут при pH 6,8-7,4 и

температуре 37–38°C (человеческий вид), 38–39°C (бычий), 39–41°C (птичий). Рост на жидких питательных средах с глицерином (МПГБ) проявляется через 10–30 дней и более в виде пленки.

Из элективных белковых питательных сред используют Петраньяни, Гельберга, Левенштейна-Иенсена. Из элективных синтетических (безбелковых) используют среды Сотона, Моделя и др. Возбудители туберкулёза на жидких питательных средах имеют как поверхностный, так и донный рост это проявляется наличием плёнки, рыхлой, матовой, крошкообразной, или сплошной морщинистой, блестящей плёнки. *M. bovis* – образует петлистую пленку с бородавчатыми выростами; *M. avium* – на 7-10 день образует тонкую, нежную, беловатую, а к 21 дню мощную морщинистую пленку. На плотных средах растут в виде колоний, которые могут быть **гладкими (S-форма) или шероховатыми (R-форма)**, крупными или мелкими, блестящими или матовыми, в виде морщинистого налёта белого цвета или с желтоватым оттенком.

Биохимические свойства. Микобактерии туберкулёза содержат ферменты: эстераза и липаза – расщепляют жиры, уреазы – мочевины, перигалоза – углеводы, каталаза – перекись водорода, дегидраза – органические кислоты и аминокислоты, протеаза – белки. Они ферментируют алкоголь, глицерин, многочисленные углеводы, лецитин, фосфатиды. Молодые культуры обладают сильно выраженными редуцирующими свойствами, в частности способны восстанавливать теллурит.

Токсинообразование. Микобактерии содержат **эндотоксины** – туберкулины (Р. Кох 1890 г.), которые проявляют токсические действия только в больном организме. Вирулентные микобактерии содержат полисахаридные компоненты, корд-фактор, обуславливающий вирулентность, склеивание микобактерий и рост их в виде жгутиков и косичек. Корд-фактор разрушает митохондрии клеток заражённого макроорганизма, нарушает функцию дыхания и фосфорилирования.

Антигенная структура. Микобактерии содержат полисахаридно-белково-липоидный комплекс, названный полным антигеном. При парентеральном введении у животных наблюдают образование антител, которые выявляются с помощью серологических тестов РА, РП, РСК и др. Среди атипичных микобактерий различают общие и групповые антигены. Для их идентификации используют серологический тест (РДП).

Устойчивость. Микобактерии обладают значительной устойчивостью к химическим и физическим факторам. В высушенной мокроте, кусочках поражённой ткани, пыли устойчивы от 2 до 7 месяцев и более, при гниении патологического материала – 76–167 дней, в свежем молоке сохраняется в течение 9-10 суток. Микобактерии сохраняют жизнеспособность **в навозе** в течение 7 месяцев, **в фекалиях** – 1 год, **в воде** – 5 месяцев, **в масле** – 45 дней, **в сыре** – 45–100 дней, **в мясе** сохраняются неделями. Холод не оказывает влияние на жизнеспособность микобактерий. Нагревание до 70°C убивает за 5–10 минут, при 100°C – моментально. **в прокисшем молоке** гибнут под воздействием молочной кислоты. Для дезинфекции применяют 15% раствор смеси из равных частей серной карболовой кислоты и 16% раствора гидроокиси натрия при экспозиции 4 ч., 3% щелочной раствор формальдегида при 3-х кратном нанесении с экспозицией не менее 3 ч, 3–5% раствор хлорамина Б, 1% раствор глутарового альдегида, 5% раствор фенола.

Патогенность. Восприимчивы к возбудителю все виды животных и человек. Из лабораторных животных чувствительны кролики, морские свинки. **Инкубационный период** длится от 2–6 недель до появления аллергических реакций. **Источником возбудителя** являются больные животные и бактерионосители. **Факторами передачи** являются воздух, корма, вода, подстилка и другие предметы, инфицированные выделениями больных. **Пути передачи** могут быть аэрогенный, (через поврежденную слизистую ротовой полости), реже через соски вымени и влагалище.

Патогенез. Возбудитель туберкулёза попав в организм аэрогенным, алиментарным и другими путями, проникает в межклеточные щели слизистой оболочки, затем с током лимфы или кровью разносится по всему организму. В дальнейшем в местах жизнедея-

тельности возбудителя формируется защитный очаг – туберкул. Основу туберкулёза составляют фагоциты. Туберкул вначале имеет сероватый цвет и округлую форму, величиной от булавочной головки до чечевичного зерна. Затем узелок окружается соединительнотканной капсулой. Ткань внутри инкапсулированного узелка из-за отсутствия притока питательных веществ и под воздействием токсинов возбудителя отмирает и превращается в сухую крошковатую массу, напоминает творог (казеоз).

Диагностика и дифференциальная диагностика. Патологический материал направляют как при **жизни животного** (истечения из носа, бронхиальную слизь, молоко, особенно при увеличении надвыменных лимфатических узлов, фекалии, мочу), так и **посмертно** (пораженные части органов и лимфатические узлы бронхиальные, заглоточные, средостенные, предлопаточные, надвыменные). Труп птицы (или тушку) направляют целиком – исследуют пораженные органы: печень, селезенку, легкие, яичники. Для дифференциальной диагностики проводят следующие методы: микроскопический, культуральный, цитохимический, биохимический, серологический, аллергический (туберкулинизация) и биологический.

Биопроба. Этим определяют патогенность культуры для морских свинок, кроликов, птиц. Для дифференциации выделенных культур берут двух кроликов (1,5-2 кг.) и в краевую вену уха вводят суспензию культуры микобактерий: первому вводят 0,1, второму - 0,01 мг. бактериальной массы.

Возбудитель бычьего типа в течение 3 месяцев вызывает генерализованные поражения, при заражении человеческим видом - нетипичные туберкулёзные очажки регрессивного характера. Возбудитель птичьего туберкулёза вызывает у кроликов септическую форму болезни с летальным исходом в течение 2–3 недель. Параллельно заражают двух морских свинок такими же дозами культур, это позволяет отличить микобактерии птичьего вида к которым они не чувствительны. Человеческий и бычий вид у морских свинок вызывает прогрессивные туберкулёзные изменения. У кур заражённых птичьим видом вызывают туберкулёзные поражения селезёнки, печени и кишечника. Куры к человеческому и бычьему виду менее чувствительны.

Биохимический метод. Основан на том, что в процессе метаболизма микобактерий разных видов проявляют различную ферментативную активность. Наиболее часто применяют реакцию восстановления нитратов, амилазную пробу, каталазную и арилсульфатазную активность, рост на среде с салицилатом натрия, дегидратация (разрушение) салицилата натрия.

Серодиагностика. Применяют РСК с антигенами УНИИЭВ (Ю.Я. Кассич), СибНИВИ (Э.Д. Лакман), РПГА, реакцию кольцепреципитации, реакцию диффузной преципитации в геле (РПГ). Эти реакции используют на ранних этапах диагностики, для определения антигенного родства.

Аллергическая диагностика. Проводится туберкулином, изготовленным из штампа бычьего вида. В ветеринарной практике применяют сухой очищенный туберкулин для млекопитающих, вводят внутрикожно в дозе 10000 туберкулиновых единиц. Сухой очищенный туберкулин (ППД) для птиц готовят по той же технологии, что и для млекопитающих. ППД применяют для диагностики у птиц и свиней. Учёт реакции через 72 часа по измерению толщины кожной складки с учётом образовавшейся припухлости на месте введения туберкулина. Положительная реакция в виде отёка, размер 35 x 45 мм и более, без строго очерченных границ. Курам вводят внутрикожно в одну бородку, вторая служит контролем. Реакцию учитывают через 30-36 часов. Положительная реакция проявляется в виде опухания бородки, она утолщена, тестообразна, горячая, отвисает к низу. Применяют глазную, подкожную, внутривенную пробы. Крупный рогатый скот может быть инфицирован возбудителем человеческого, птичьего видов, паратуберкулёзными или атипичными микобактериями. Такие животные положительно реагируют на туберкулин млекопитающих, но не являются туберкулёзными. Такие реакции называют неспецифическими и разделяют на парааллергические и псевдоаллергические.

Дифференцируют туберкулез у крупного рогатого скота от контагиозной плевропневмонии, пастереллеза, паратуберкулеза, актиномикоза, диктиокаулеза, эхинококкоза. **у свиней** – от лимфаденита, вызываемые атипичными микобактериями, метастронгилеоза, **у птиц** – лейкоза.

Иммунитет и средства специфической профилактики. Иммунитет не стерильный, работает до тех пор пока в организме находятся живые бактерии туберкулёза. Лечение не проводится, больных и положительно реагирующих животных направляют на убой. Вакцину против туберкулеза предложили в 1924 г. французские ученые Кальметт и Герен, которая получила название BCG (*Bacterium Calmett-Guerin*) по-русски БЦЖ, для иммунизации людей и животных (КРС). В нашей стране противотуберкулезные прививки у человека являются важнейшим мероприятием. В ветеринарной практике вакцина БЦЖ не нашла применения.