

РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПОВЕРХНОСТИ КОЖИ КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ РЕПТИЛИЙ, НАХОДЯЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ

В статье представлены результаты лабораторных исследований по микробиологическому мониторингу поверхностных покровов (кожи) рептилий. Описаны морфологические, культуральные и биохимические свойства выделенных микроорганизмов, а также приведены сведения по определению факторов патогенности и чувствительности бактерий к антибиотикам.

Ключевые слова: рептилии, неволя, кожа, микробиология, бактерионосительство.

A.V. Martyshin, N.M. Kovalchuk

THE RESULTS OF SKIN SURFACE MICROBIOLOGICAL MONITORING OF THE HEALTHY REPTILES WHO LIVE IN CAPTIVITY

The laboratory test results on the reptile surface integument (skin) microbiological monitoring are given in the article. Morphological, cultural and biochemical properties of the isolated microorganisms are described, and information on determination of the pathogenicity factors and bacteria sensitivity to antibiotics are given.

Key words: reptiles, captivity, skin, microbiology, bacteria carrying.

В современных условиях содержания рептилий в неволе неправильный уход за ними приводит к снижению естественной резистентности их организма, что является одной из причин их заболеваемости или бактерионосительства. В ряде случаев именно обычная микрофлора приобретает большое значение в возникновении или развитии болезни. Иногда обычная микрофлора становится источником тех патогенных или условно-патогенных заразных агентов, которые обуславливают эндогенное инфицирование, проявление вторичных инфекций. Однако существуют ситуации, когда многие бактериальные и грибковые агенты вызывают заболевания даже в оптимальных условиях содержания животных [3, 8, 10–12].

Сложившиеся в процессе эволюции микробные биоценозы в разных системах организма животных поддерживают их нормальные физиологические функции и играют определенную роль в иммунитете. Изменения в микробных биоценозах во многих случаях приводят к возникновению патологических процессов в соответствующих органах.

При рассмотрении способов борьбы со многими инфекционными болезнями бактериальной и вирусной этиологии чаще сосредотачивают основное внимание на патогенных микроорганизмах – возбудителях этих заболеваний, реже обращают внимание на сопутствующую микрофлору тела животных [4].

Вопросы здорового бактерионосительства до настоящего времени очень плохо освещены в специальной научной литературе, это касается как сельскохозяйственных, домашних, так и экзотических животных, в том числе рептилий. В современных условиях мегаполисов бактерионосительство у животных, как форма проявления инфекции, недостаточно изучено с позиций потенциальной опасности этого достаточно распространенного явления, как для людей, так и для других животных.

Согласно последним исследованиям установлено, что кожа рептилий чаще всего может быть загрязнена стафилококками, стрептококками, микрококкам, а также палочковидными микроорганизмами, при этом чаще всего встречаются:

- грамположительные: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Micrococcus luteus*, *Коринеморфные бактерии*, *Corinebacterium tuberculostearicum*;
- грамотрицательные бактерии: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus spp.*, *Escherichia coli* [2].

Степень патогенности и вирулентности этих микроорганизмов на организм, как самих рептилий, так и теплокровных животных и человека, требует уточнения. По той причине животные, которые продаются в зоомагазинах, не подвергаются ветеринарному клиническому и лабораторному исследованию на предмет, как планового обследования, так и скрытого бактерионосительства. В связи с этим, риск инфицирования будущих владельцев такой «экзотики» от своих питомцев может быть потенциально очень высок. В первую группу риска входят дети, имеющие слабый иммунитет и большой по времени контакт с животным. По статистике, которую приводит Elliot Jacobson в своей книге «Infectious diseases and pathology of reptiles», с 1970

по 1971 год в США было зарегистрировано 280000 случаев заражения сальмонеллами у людей, причиной которых являлся контакт людей с черепаками, содержащимися в домашних коллекциях [9].

Целью нашей работы явилось проведение микробиологического мониторинга кожных покровов рептилий, содержащихся в неволе, в частности, в помещении лаборатории кафедры паразитологии и эпизоотологии КрасГАУ и в домашних коллекциях жителей города Красноярска.

Задачами исследования являлось:

1. Проведение бактериологического исследования поверхности кожи клинически здоровых рептилий, находящихся в условиях неволи.

2. Изучение морфологических, культуральных, биохимических и биологических свойств микроорганизмов, контаминирующих организм пресмыкающихся, а также проведение идентификации выделенных микроорганизмов.

3. Определение антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов.

Материалы и методы. Настоящая работа выполнена на базе кафедры эпизоотологии и паразитологии Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГОУ ВПО КрасГАУ в 2011 году. Работа проводилась в соответствии с планом научно-исследовательской работы и является частью комплексных исследований по эпизоотологическому мониторингу животных по заразным болезням животных в условиях Красноярского края.

Объектом исследований служили рептилии, находящиеся в условиях неволи на кафедре эпизоотологии и паразитологии КрасГАУ, а также в частных коллекциях жителей г. Красноярска:

1. Отряд Чешуйчатые (*Squamata*), подотряд Ящерицы (*Lacertilia*).

• Семейство вараны (*Varanidae*), род Варанус (*Varanus*), Капский варан (*Varanus exanthematicus*).

• Семейство Настоящие ящерицы (*lacertidae*), Подсемейство (*Lacertinae*), род Лесные ящерицы (*Zootoca*), вид Живородящая ящерица (*Zootoca vivipara*).

2. Отряд Черепахи (*Testudines*), подотряд Скрытошейные черепахи (*Cryptodira*).

• Семейство сухопутные черепахи (*Testudinidae*), род среднеазиатские черепахи (*Agriemys*), вид среднеазиатская черепаха (*Agriemys horsfieldii*).

• Семейство Американские пресноводные черепахи (*Emydidae*), род *Trachemys*, вид Красноухая черепаха (*Trachemys scripta*).

Предметом для бактериологического метода исследования служили образцы смывов, взятые с кожи рептилий. Исследованию были подвергнуты животные в следующем количестве: красноухая черепаха – 2 головы, варан капский – 1 голова, среднеазиатская черепаха – 8 голов, живородящая ящерица – 1 голова. Средний возраст рептилий 5 лет.

Смывы брались специальным стерильным тупфером с транспортной средой Amies. Бактериологические исследования проводили общепринятыми методами с использованием коммерческих дифференциально-диагностических сред и тест-систем [1].

Идентификацию выделенных культур осуществляли при помощи микроскопических методов исследования и биохимического тестирования бактерий, а также с использованием официальных бактериологических определителей [7]. Выделенные культуры были изучены на чувствительность к антибиотикам разных фармакологических групп. Работа проводилась в соответствии с методикой [5] и практикой определения антибиотикочувствительности микроорганизмов, разработанной компанией HIMEDIA [6].

Результаты исследования. В процессе бактериологического исследования были выделены разнообразные микробные культуры, которые отличались по культуральным, биохимическим свойствам, а также по биологической активности. Так, культуральные свойства микроорганизмов оценивали по стандартным критериям, характерным для различных видов микроорганизмов, выросших на обычных, специальных и дифференциально-диагностических питательных средах согласно определителю Д. Берджи.

Культуры, выросшие на мясопептонном бульоне (МПБ), оценивались по интенсивности помутнения бульона, характеру поверхностной пленки, наличию осадка и пристеночного кольца. Особенности роста на мясопептонном агаре (МПА) оценивались по характерным свойствам колоний: размеру колонии, форме, цвету, характеру поверхности, рельефу и консистенции колонии. В результате было исследовано в общей сложности 12 проб. Учитывая характер роста, морфологические особенности и тинкториальные свойства, была проведена первичная дифференциация бактерий. Видовой состав микроорганизмов, выделенных с кожи пресмыкающихся животных, представлен в таблице 1.

Видовой состав микрофлоры поверхности кожи пресмыкающихся

Материалы проб	Количество проб	Выделено культур	В том числе											
			<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Streptococcus pyogenes</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Proteus vulgaris</i>	
			Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Поверхность кожи	12	30	4	13	10	33	4	13	7	23	2	7	3	11

Изучались биохимические свойства выделенных микроорганизмов. Проведя анализ культуральных признаков, а также биохимических свойств, были определены основные виды бактерий с помощью определителя Берджи (табл. 2).

Таблица 2

Биохимические свойства выделенных микроорганизмов

Вид	Ферментизация				Утилизация цитрата	Образование индола	Гидролиз мочевины	Образование H ₂ S	РМК	ФП	ФА	NO ₃
	глюкт.	лакт.	маннит	сахара								
<i>Escherichia Coli</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-								
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+		-		+				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	-	+	+		-		+				
<i>Streptococcus piogenes</i>		+	-							-		

По результатам исследования установлено, что выделенные микробные культуры с поверхности кожи идентифицированы следующим образом: *Staphylococcus aureus* (13%), *Staphylococcus epidermidis* (33%), *Streptococcus piogenes* (13%), *Escherichia coli* встречается в 23% случаев, *Pseudomonas aeruginosa* (7%) *Proteus* в 11% (см. табл. 1).

Для изучения биологической активности, кишечной и синегнойной палочки, протей, выделенных в процессе бактериологического исследования, и подтверждения его результатов была проведена биопроба на белых мышях массой 15–20 г путем их инфицирования кратными дозами по стандарту мутности 18-часовой бульонной культурой в дозе 1 мл³ внутривенно. Каждой культурой было заражено 3 мыши. В общей сложности было заражено 36 мышей. На второй день был отмечен падеж 6 мышей, зараженных синегнойной палочкой (100%). На четвертый день 3 культуры (42%) кишечной палочки проявили патогенность – пало 9 зараженных мышей. На 6-й день пало еще 2 мыши, зараженные 4-й культурой кишечной палочки (14%). На 10-й день была отмечена гибель одной мыши, зараженной культурой *Proteus vulgaris*. Гибель больше двух белых мышей

свидетельствовала о патогенности культур: 4 культуры *Escherichia coli* и 2 культуры *Pseudomonas aeruginosa* являются патогенными штаммами. Патогенность *Proteus vulgaris* не подтвердилась.

В отношении стафилококковых культур были проведены тесты на плазмокоагулирующую и гемолитическую активность. В результате две культуры *Staphylococcus aureus* (50%) и четыре *Staphylococcus epidermidis* (40%) обладали плазмокоагулирующей активностью, образовывали сгусток при смешивании с 0,5 мл плазмы крови кролика и вызывали β-гемолиз на 5% мясопептонном кровяном агаре, при исследовании на гемолитическую активность. В отношении культур стрептококка был проведен тест на фибринолизин. Для этого культуру микроорганизма высевали на агар с 12% цитрированной плазмы. Посевы инкубировали при температуре 37°C 24 ч. По истечении суток при осмотре только лишь в одной чашке (25%) была отмечена зона просветления вокруг колонии микроорганизма, что подтверждало действие фермента фибринолизина.

Учитывая потенциальную опасность выделенных бактерий для организма рептилий, а также для теплокровных животных, было принято решение о проведении исследования по изучению их чувствительности к антибиотикам. Результаты антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты исследования на антибиотикочувствительность.

Препарат	Количество проб		
	устойчивых	малочувствительных	чувствительных
Цефазолин	4	0	8
Ципрофлоксацин	0	0	12
Гентамицин	0	0	12
Амоксициллин	4	3	5
Сумамед	8	0	4

По результатам анализа было установлено, что наиболее активным препаратом, к которому оказалось чувствительным наибольшее количество бактерий, оказался антибиотик ципрофлоксацин (ДЗЗР>21 мм в 100 %) и гентамицин (ДЗЗР>15 мм в 100%). Картина эффективности остальных препаратов выглядит следующим образом: цефазолин (ДЗЗР>18 мм в 67%), амоксициллин (ДЗЗР>20 мм в 41%). Эффективность сумамеда оказалась наиболее низкой (ДЗЗР>18 мм в 33%).

Выводы

1. При отсутствии клинических симптомов у рептилий обнаружение синегнойной палочки и золотистого стафилококка свидетельствует о здоровом бактерионосительстве – одной из форм инфекционного процесса, при которой наступает равновесие между микро- и макроорганизмом.

2. Среди потенциально опасных микроорганизмов, контаминирующих поверхность кожи рептилий, наиболее часто выделяются следующие виды бактерий: *Staphylococcus epidermidis* (33%), *Staphylococcus aureus* (13%), *Streptococcus pyogenes* (13%), *Escherichia coli* (23%), *Pseudomonas aeruginosa* (7%), *Proteus* (11%).

3. Высокий процент патогенных культур *Staphylococcus aureus* (50%), *Staphylococcus epidermidis* (40%), *Streptococcus pyogenes* (25%), доказанный путем проведения тестов, и *Pseudomonas aeruginosa* (100%), *Escherichia coli* (56%), выявленный методом биологической пробы на лабораторных животных, свидетельствует о том, что теплокровные животные могут быть чувствительны к инфицированию.

4. Наиболее эффективными препаратами выбора для лечения у рептилий заболеваний кожи являются гентамицин (группа аминогликозидов) и ципрофлоксацин (группа фторхинолонов). Наименее эффективным препаратом выбора является сумамед (макролиды).

Литература

1. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим исследованиям. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
2. Васильев Д. Б. Ветеринарная герпетология: ящерицы. – М.: Проект-Ф, 2005. – С. 77–81.
3. Васильев Д.Б. Черепахи. Болезни и лечение. – М.: ООО «Аквариум-Принт», 2005. – С. 248–249
4. Интизаров М.М. Микрофлора тела животного: учеб.-метод. пособие / Моск. вет. акад. им. К.И. Скрябина. – М., 1991. – 16 с.

5. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: метод. указания / МУК 4.2.1890-04: утв. главным государственным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко 04.03.2004. введ в действие с 04.03.2004. URL: <http://bestpravo.ru/fed2004/data06/tex20939.htm>.
6. Практика определения антибиотикочувствительности микроорганизмов // himedialabs.ru: сайт компании ХайМедиа Лабароторис ЛТД. URL: <http://www.himedialabs.ru/literat/>.
7. Хоулт Д. Определитель бактерий Берджи. – Т. 1, 2. – Мир, 1997. – 900 с.
8. Яровке Д. Рептилии и лечение. – М.: Аквариум-Принт, 2005. – С. 128, 219, 293.
9. Elliot J. Infectious diseases and pathology of reptiles. – London: CRG, 2008. – С. 464.
10. Highfield A. Practical Encyclopedia of Keeping and Breeding Tortoises and Freshwater Turtles. – London: Carapace Press, 1996.
11. Jackson M., Fulton M. A turtle colony epizootic apparently of microbial origin // J. Wildlife Dis. – 1970. – V.6. – P. 466–468.
12. Keymer I. Diseases of chelonians: Necroscopy survey of tortoise // Vet. Rec. – 1978. – V. 103. – №25. – P. 548–552.



УДК 619:611.41/42:636.3

В.Ю. Чумаков, П.П. Шалаумов, А.В. Захаров

МИОЦИТЫ СТЕНКИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ СЕРДЦА И ОРГАНОВ ГОЛОВНОЙ КИШКИ КРОЛИКА

В статье рассматривается морфологическая характеристика стенки лимфангионов внеорганного и внутриорганного лимфатического русла сердца и головной кишки кролика.

Ключевые слова: кролик, миоциты, лимфатические сосуды, сердце, головная кишка.

V.Yu. Chumakov, P.P. Shalaumov, A.V. Zakharov

MYOCYTES OF THE HEART LYMPHATIC VESSEL WALL AND HEADGUT ORGANS OF RABBIT

Morphological characteristics of the lymphangion wall of the intraorganic and extraorganic heart lymphatic bed and headgut of a rabbit are considered in the article.

Key words: rabbit, myocytes, lymphatic vessels, heart, headgut.

Лимфатическая система, несмотря на всю ее важность для организма человека и животных, до сих пор продолжает оставаться одной из самых малоизученных систем [1–12].

Кролики очень часто используются в различных лабораторных исследованиях и экспериментах [2]. Реактивность организма этого вида животных на различные раздражители обусловлена в первую очередь деятельностью лимфатической системы. Однако в доступной нам литературе не обнаружено достаточных данных по морфологии лимфатического русла кроликов, в частности, сведений о структуре стенки лимфатических сосудов сердца и органов головной кишки этого животного. В связи с этим целью нашего исследования являлось восполнение существующих пробелов в данной сфере знаний. Наибольший интерес для понимания закономерностей лимфодинамики представляет детальное изучение структурно-функциональной единицы лимфатического сосуда – лимфангиона [5].

Цели исследования. Особенности моторики лимфангиона обусловлены количеством и ориентацией в его стенке гладкомышечных клеток. В связи с этим целью нашего исследования стало изучение количества, расположения и ультраструктурных параметров миоцитов стенки лимфатических сосудов сердца и органов головной кишки кролика.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили сердце и органы головной кишки кроликов (глотка и язык). Всего исследовано 48 кроликов пород серый великан и калифорнийский различных возрастных периодов, не имеющих видимых патологических изменений в области вышеуказанных органов. При исследованиях использовались: внутритканевая инъекция лимфатического русла цветными массами; препарирование; изготовление окрашенных тотальных препаратов из лимфатических сосудов; изготовление гистологических срезов; морфометрия, световая и электронная микроскопия.

Результаты исследования. На основании изучения распределения гладкомышечных клеток стенки лимфангиона на срезах и особенно на тотальных препаратах сосудов мы обнаружили, что миоциты имеются