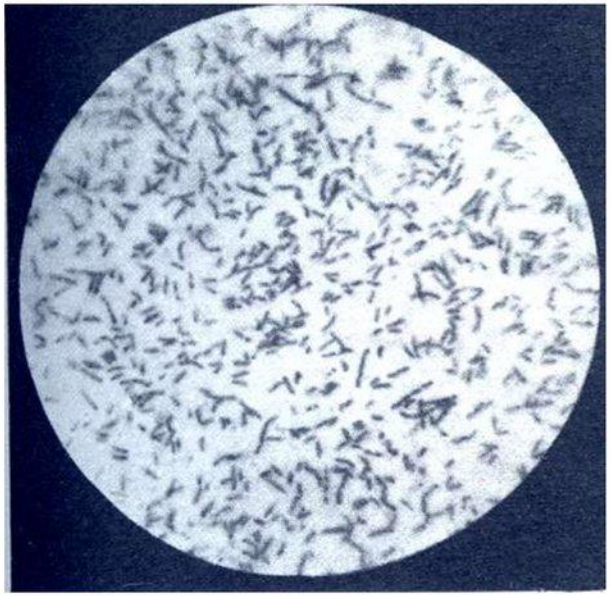
Ветеринарная микробиология и микология

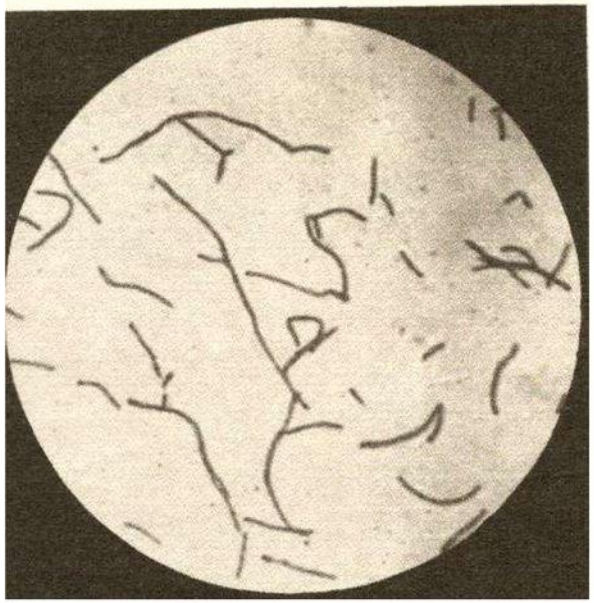
ЛПЗ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ РОЖИ СВИНЕЙ

Рожа -инфекционное заболевание, протекающее остро или хронически в виде энзоотических вспышек, с явлениями септицемии при острой форме и симптомами эндокардита, полиартрита и некроза кожи.



Клетки располагаются единично, группами, в виде коротких цепочек, под углом друг к другу (из S-формы колоний)



Атипичные формы бактерий (при хроническом течении) клетки нитевидной формы, размером 6 - 8 мкм (из R-формы колоний)

Возбудитель и его морфология:

Возбудитель рожи -**Erysipelothrix insidiosa (Erysipelothrix rhusiopathiae)** в мазках из патологического материала представляет собой тонкие, довольно стройные грамположительные палочки. Внутри палочек иногда заметна зернистость. Спор и капсул микробы не образуют. В мазках из патологического материала, особенно из разращений на клапанах сердца, можно видеть иногда длинные нити, состоящие из микробов.

При жизни больного животного мазки следует брать из скарифицированной кожи на месте красных пятен. Скарифицаровать нужно осторожно, не делая глубоких надрезов и избегая кровотечений, так как рожистые микробы находятся в пропитывающем кожу экссудате и в крови их мало. Трупный материал (мазки из паренхиматозных органов) также следует микроскопировать. Высушенные и фиксированные мазки окрашивают по Граму. Обнаружение в мазках тонких, стройных, окрашенных по Граму палочек в значительной мере подкрепляет диагноз.

Бактерии неподвижны, хорошо растут как в аэробных, так и в анаэробных условиях на МПБ и МПА. На МПБ наблюдается слабое помутнение, на МПА возбудитель растет в виде мелких росинчатых просвечивающихся колоний.

Бактерии неустойчивы к антибиотикам и дезинфектантам.

Эффективны 2-3% - ные растворы гидроокиси натрия, 20 %-ная взвесь свежегащеной извести, 2 %- ный раствор формальдегида.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИСТЕРИОЗА

Основной вид – *Listeria monocytogenes* – вызывает болезнь у животных многих видов и человека. Характеризуется септическими явлениями, поражением центральной нервной системы и генитального аппарата.

Морфология. *L. monocytogenes* – полиморфная палочка с закругленными концами, длиной 0,5-3 мкм и шириной 0,3-0,5 мкм; подвижная, грамположительная. В мазках палочки располагаются одиночно или под углом в виде римской цифры V. Спор и капсул не образуют.

Культивирование. *Листерии* – факультативные аэробы. Оптимум температурного роста на питательных средах с pH 7,2-7,4 составляет 36-38 ^{0}С, однако они могут расти при температуре от 4 до 45 ^{0}С. На МПА образуют мелкие, круглые, выпуклые, прозрачные колонии диаметром от 0,2-0,4 до 2 мм. В МПБ вызывают помутнение среды с образованием слизистого осадка. *Листерии* хорошо растут на печеночных средах с добавлением 1 % глюкозы и 2-3 % глицерина. В качестве элективных сред используют МПБ с 0,05 % теллурита калия или 0,01-0,02 % теллурита калия в водном растворе глицерина и растворе флоримицина или полимиксина. На кровяном агаре вокруг колоний образуется зона гемолиза.

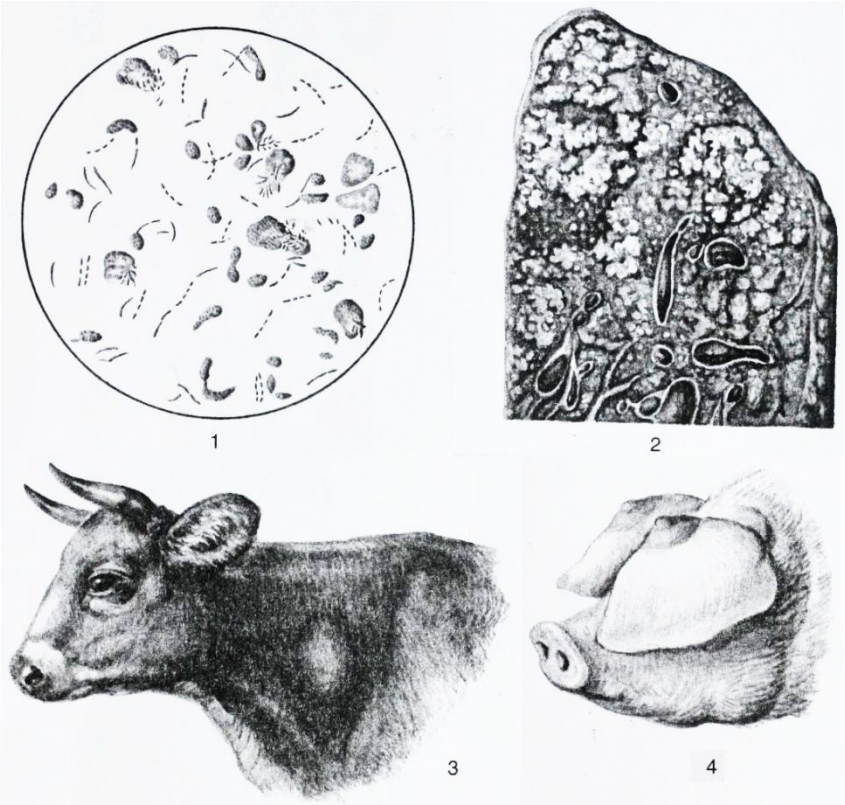
Устойчивость. *Листерии* устойчивы во внешней среде. В почвах они сохраняют жизнеспособность от 6 до 11 месяцев и размножаются в почвенных экстрактах; в воде – в течение года и более, в навозе – до 7 месяцев, в силосе – более года, в мясе – до года. В бульонных культурах *листерии* погибают при 100 ^{0}С через 10-15 минут, при 55 ^{0}С – через 1 ч; 2,5 % раствор формальдегида обезвреживает их через 20 минут, 2,5 % раствор гидроксид натрия, раствор хлорной извести с содержанием 2 % активного хлора – через 20 минут.

Лабораторная диагностика. Диагноз ставят на основании выделения культуры листерии из патологического материала. Для исследования в лабораторию направляют трупы мелких животных или голову (головной мозг), паренхиматозные органы, абортированный плод и его оболочку. Для прижизненной диагностики направляют кровь или сыворотку крови с целью серологического исследования, а также истечения из половых органов абортировавших самок, молоко из пораженных долей вымени.
Вначале проводят микроскопическое исследование тонких мазков-отпечатков из патологического материала, которые окрашивают по Граму, а также с использованием флюоресцирующих антител.
Из органов и головного мозга делают обильные посевы на питательные среды, а также на кровяной агар и селективные среды. Рекомендуется часть материала сохранять в холодильнике в течение 30 суток для проведения повторных исследований при отрицательном результате первичного посева.
Посевы инкубируют в термостате при 37 ^{0}С, ежедневно просматривая в первые 3-4 суток; при отсутствии роста наблюдение продолжают до 2 недель.
Выделенные культуры исследуют на подвижность, изучают их ферментативные свойства на средах Гисса, ставят пробу на каталазу. Проводят дифференциацию от возбудителя рожи свиней, делая высев на среду с метилротом или нейтральротом в смеси с метиленовым синим, листерии обесцвечивают среды, возбудитель рожи свиней – нет.

Специфические свойства листерии проверяют также с помощью конъюнктивальной пробы на морских свинках или внутрикожной пробы на морских свинках или кроликах. *Конъюнктивальная проба*. На конъюнктиву глаза морской свинки наносят 2 капли испытуемой бульонной культуры с последующим легким массажем век ватным тампоном. На 2-4 сутки вирулентные листерии вызывают гнойный кератоконъюнктивит. При внутрикожной пробе через 48 ч развивается воспаление с последующим некрозом участка кожи и образованием струпа.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Туберкулез (Tuberculosis) — инфекционная, хронически протекающая болезнь всех видов животных и человека, характеризующаяся образованием в различных органах специфических узелков, подвергающихся казеозному некрозу и обызвествлению.



Возбудитель болезни - Mycobacterium tuberculosis, палочка, часто согнутая под углом, иногда представляется в виде зернышек, расположенных по одной линии. Микроб — строгий аэроб, не подвижен, спор не образует, кислотоупорен, а также спирто- и антиморфиноустойчив. Кислотоупорность туберкулезной палочки используется для дифференциации ее от других некислотоупорных бактерий. Туберкулезная палочка содержит жировоск и поэтому плохо воспринимает краски, но, будучи окрашенной при нагревании карболфуксином, лучше удерживает эту краску, чем другие микроорганизмы. При обработке мазков слабым раствором серной кислоты туберкулезные бактерии не обесцвечиваются (они окрашиваются фуксином в красный цвет), а другие микробы обесцвечиваются (метод Циль –Нильсена). В мазках располагаются одиночно или группами. Известны три типа туберкулезной палочки: человеческий (humanus), бычий (bovines), птичий (avium), которые являются разновидностями одного вида.

При определенных условиях они иногда могут изменяться, превращаясь в другие типы. Чаще всего наблюдается переход бычьего типа в человеческий. В 1937 г. Уэльс выделил у полевой мыши особый тип бактерий, названный Оксфордским штаммом. Данный штамм близок к бычьему типу. Другие ученые считают его четвертым типом туберкулезной палочки — мышиным.

Основным различием у типов является неодинаковая вирулентность их для отдельных видов животных и человека.

Mycobacterium tuberculosis (человеческий вид) вызывает заболевание туберкулезом у человека. К данному виду микобактерий восприимчивы также свиньи, кошки, собаки, рогатый скот, пушные звери, а птицы (за исключением попугаев) не восприимчивы.

Micobacterium bovis (бычий вид) вызывает заболевание туберкулезом у всех видов сельскохозяйственных, диких животных, в том числе пушных зверей, а также человека. Птицы к данному виду микобактерий не восприимчивы.

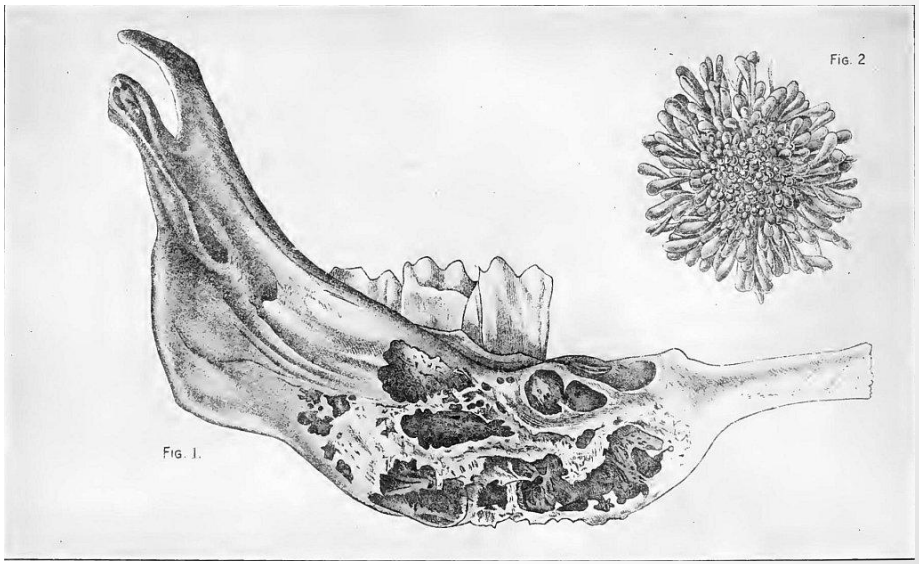
Mycobacterium avium (птичий вид) вызывает заболевание туберкулезом домашних и диких птиц, к данному виду микобактерий восприимчивы свиньи; животные других видов и человек заражаются редко.

В природе (в торфе и почве) существуют условно-патогенные атипичные и сапрофитные микобактерии которые по своим морфологическим и культуральным свойствам близки к микобактериям птичьего типа. Животные инфицированные подобными микобактериями, могут реагировать на туберкулин для млекопитающих, которым пользуются ветврачи при проведении плановых противоэпизоотических мероприятий, что вызывает определенные трудности при проведении аллергической диагностики туберкулеза.

Туберкулезная палочка благодаря содержанию жировосковых элементов весьма устойчива во внешней среде и к воздействию обеззараживающих веществ. В высушенных на воздухе кусочках пораженных легких микробы остаются вирулентными 200 дней, а в почве и навозе сохраняют жизнеспособность до 4 лет, а птичий и до 10лет. Солнечный свет обеззараживает бактерий в мокроте только через 72 часа. В продуктах полученных от больных животных, возбудитель туберкулеза сохраняется : в молоке до 19 суток, в масле до 300 суток, в сыре 145- 200 суток, в замороженном мясе до 1 года, в соленом мясе 60 суток. В трупах крупного рогатого скота и птиц микобактерии сохраняются от 3 до 12 месяцев. Тепло действует на туберкулезные бактерии губительно. Нагревание молока до 55° убивает их через 4 часа, до 85°- через 30минут, при кипячении молока микобактерии погибают — через 3-5 минут. Химические вещества оказывают губительное действие на бактерии через сравнительно длительные промежутки времени: 5%-ный раствор карболовой кислоты - через 24 часа, 5%-ный раствор формалина - через 12 часов, раствор содержащий 5% активного хлора - через 3 часа. Лучшими дезинфицирующими средствами являются 3%-ный щелочной раствор формальдегида (экспозиция 1 час), взвесь хлорной извести, содержащая 5% активного хлора., 10%-ный раствор однохлористого йода, 20%-ная взвесь свежегашеной извести, 5%-ный раствор гипохлорида кальция, 1%-ный раствор глутарового альдегида и другие препараты.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ АКТИНОМИКОЗА

Актиномикоз (Actinomycosis bovum) – хроническое инфекционное заболевание животных и человека, вызываемое лучистым грибком и характеризующаяся образованием гранулематозных очагов в различных органах и тканях и формированием абсцессов и свищей. При отсутствии лечения и пониженной резистентности организма возможно развитие генерализованной формы актиномикоза с поражением почек, печени, легких, мозга и т.д.



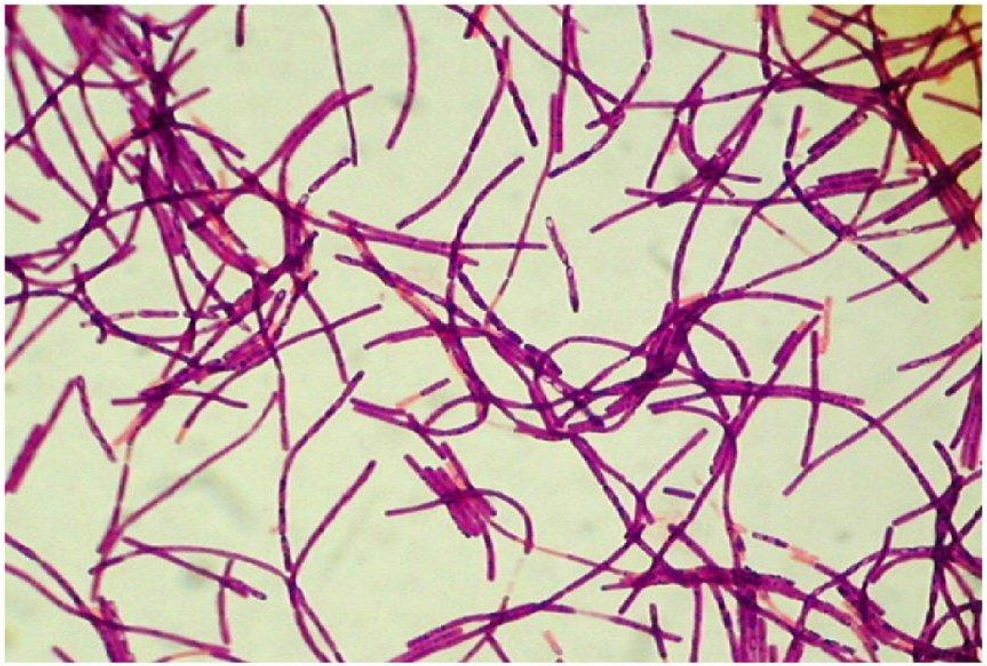
Основным возбудителем актиномикоза является лучистый грибок Actinomyces bovis. В отдельных случаях выделяют и другие виды актиномицетов. В гранулематозных тканях и экссудатах Actinomyces bovis обнаруживается в виде мелких серых зерен, называемых друзами, размеры которых, в зависимости возраста колоний, варьирует от 20 до 320 мкм; средний размер друз 60 — 80 мкм. Друзы имеют серый или желтоватый цвет. В мазках и средах из поражений A.bovis имеет вид плотных масс, состоящих из скоплений спутанных и ветвящихся волокон или мицеальных грамположительных нитей, колбовидно утолщенных на периферии. Друзы при актиномикозных поражениях наблюдаются не всегда. При исследовании гноя из не вскрывшихся актиномиком выделяют также пиогенную бактериальную флору (протей, стафило- и стрептококки, сенную палочку). Многие исследователи относят актиномикоз к полимикробным заболеваниям, которые вызываются ассоциацией грибов – актиномицетов с пиогенной микрофлорой. A.bovis хорошо растет на мясных средах с добавлением 1% сыворотки крови и на агаре Сабуро при 37°С в аэробных и анаэробных условиях. Оптимальная pH среды 7,3 -7,6. Актиномицеты во внешней среде сохраняют жизнеспособность 1-2 года, устойчивы к высушиванию и низким температурам. Нагревание до 75°С убивают актиномицеты в течение 5 минут, 3%-ный раствор формалина – через 5-7 минут.

Лабораторная диагностика состоит из микроскопии патологического материала (гноя, гранулематозной ткани). Выделение A.Bovis в гное, гранулематозной ткани является решающим в диагностике актиномикоза. Иногда проводят гистологическое исследование. Для микроскопического исследования из патологического материала берут подозрительные комочки, промывают их физиологическим раствором или водой, помещают в 10%-ный раствор щелочи, переносят на предметное стекло в каплю 50%-ного водного раствора глицерина, покрывают покровным стеклом и исследуют. Выделение чистых культур A.bovis весьма затруднительно. Из –за отсутствия строгой специфичности серологические и аллергические методы исследования не нашли должного применения в ветеринарной практике.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Антракс ***(лат. наименование - Anthrax)*** или сибирская язва, остро-контагиозное, инфекционное заболевание протекающее с явлениями септицемии и проявляющееся карбункулами различной величины. Восприимчивы все виды животных и человек (антропозооноз). Регистрируется во всех странах мира.

Возбудитель сибирской язвы



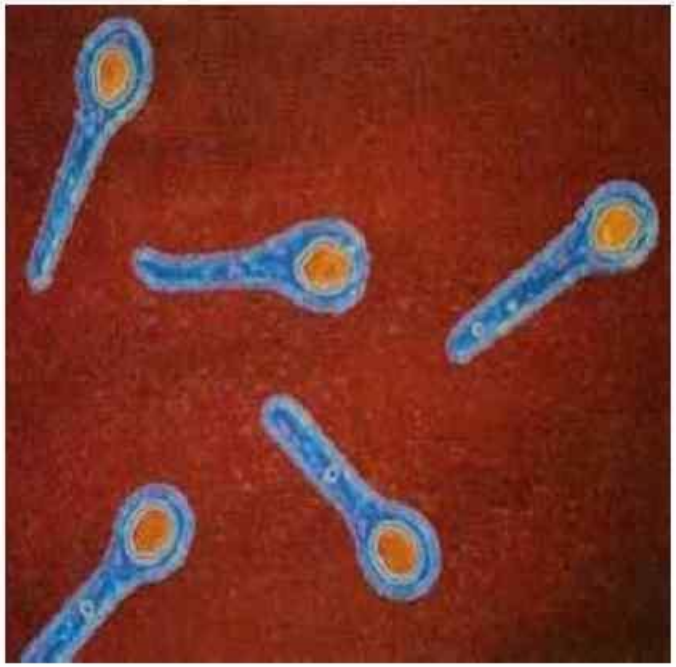
Возбудителем сибирской язвы является неподвижная, грамположительная, аэробная, спорообразующая палочка Baccillus anthracis. Длинна возбудителя 5-8 мкм, толщина 1-1,5 мкм. В мазках из патологического материала бациллы располагаются одиночно или попарно, выделенные из чистой культуры — цепочкой. Наружные концы обрублены, внутренние закруглены.
Возбудитель имеет капсулу, которая чётко просматривается в свежем материале, далее она распадается и при микроскопии видны только следы.
Попадая во внешнюю среду, под действием кислорода, происходит спороорбразование. Спора десятилетиями может находиться вне организма животного и при этом сохранять свою патогенность.
Микроорганизм хорошо растёт на обычных питательных средах. На МПА образовывает бело-серые, плоские, шероховатые колонии с неровными краями. На МПБ на дне пробирки напоминает кусочек ваты (рыхлый, туче-образный осадок). При посеве в косяк агаризированной среды рост напоминает ёлочку с вершиной внизу. На МПА с пенициллином, образовывает цепочку из шаров (жемчужное ожерелье).
При саморазложении трупа бациллы лизируются в течение 7-10 дней. Кипячение убивает моментально, прямой солнечный свет — в течение нескольких часов. Заморозка мяса при -15 ^{o}C консервирует возбудителя до 15 дней, при -10 ^{o}C до 24. Сухой жар при 140 ^{o}C убивает через 2,5-3 часа, автоклавирование при 2-х атм. через 10 мин, кипячение в растворе едкого натра через 20-30 минут.

При подозрении на сибирскую язву вскрывать трупы запрещено. Если вскрытие начато, то оно приостанавливается при первых же подозрениях. Для исследований отбирают ухо с той стороны, на котором лежит труп, и отправляют в лабораторию.
Если труп в стадии разложения, для диагностики отбирают кусочки кожи.
Обязательным для лабораторной диагностики является: микроскопия мазков-отпечатков, постановка реакции преципитации, посев на питательные среды, биопроба на лабораторных животных.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ СТОЛБНЯКА

Столбняк ***(Tetanus)*** — остро протекающее заболевание инфекционной природы, характеризующееся патологической рефлекторной возбудимостью и сокращением мускулатуры, причиной которых является действие токсина тетаноспазмина. Восприимчивы к заболеванию все дикие и домашние животные, а также человек. Из птиц зарегистрированы спорадические случаи индеек и гусей, куры более устойчивы. Болезнь регистрируется во всём мире, наиболее часто в тропических странах.

- Возбудитель Столбняка Бактерия *Clostridium tetani*



Возбудитель болезни тонкая палочка Clostridium tetani. Грамположительный, строгий анаэроб, подвижный. Размеры варьируют в пределах 0,4-0,9 х 3-12 мкм. Спорообразующий. Дифференциальная среда Китта-Тароцци позволяет возбудителю накапливать значительное количество токсина, образовывать муть и издавать запах свойственный жжённому рогу. С добавлением в питательную среду мяса, возбудитель окрашивает его в розовый цвет и размягчает. Желатин разлагает медленно. При микроскопии мазка из культуры, которая выглядит на агаризированной среде как беловато-серая плёнка, микроорганизм похож на тонкие нити. В агарном косяке палочка производит рост в виде ёлки.

Споровая форма возбудителя имеет высокую жизнеспособность. В почве, засохших фекальных массах, на всех предметах защищённых от прямых солнечных лучей, сохраняется более 11 лет. Возбудитель чрезвычайно устойчив к средствам дезинфекции. Раствор соляной кислоты 0,5% убивает споры в течение 30 минут, раствор карболовой кислоты 5% — через 15 минут, 3% формалину для полного обеззараживания необходимо воздействовать 24 часа.

Возбудитель выделяет пять видов токсина, из которых самый опасный тетаноспазмин, который и обуславливает клиническое проявление и гибель животного. Токсин, выделяемый микроорганизмом инактивируется при нагревании выше 70 °С, а также 3% раствором формалина.

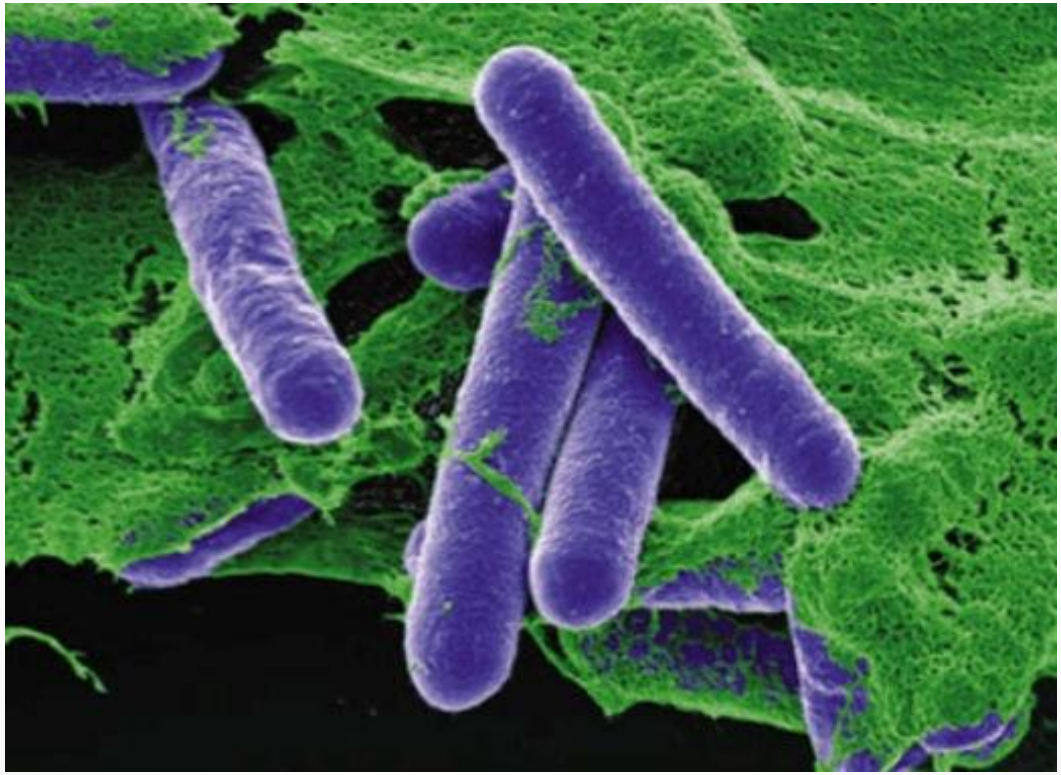
Тетаноспазмин, проникая в спинной мозг, способствует повышению нервной возбудимости и вызывает тетаническое сокращение мускулатуры.

Для диагностики в лабораторию направляется кусочки тканей и секрет раневой поверхности. Для патологоанатомической диагностики кусочки печени, селезёнку, секрет раневой поверхности. Посев материла проводят на среду Китта-Тароцци.

При дифференциации следует исключить бешенство (отсутствие тризмы, агрессивность, паралич нижней челюсти), ревматизм (болезненность мышц, рефлекторная возбудимость в пределах нормы), отравления стрихнином (особенно у собак при поедании кормовых приманок от грызунов).

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОТУЛИЗМА

Ботулизм ***(botulismus)*** — остропротекающая кормовая токсикоинфекция, характеризующаяся патологическими изменениями в работе центральной нервной системы, парезами, параличами скелетной мускулатуры и нарушениями функционирования желудочно-кишечного тракта животного.
Наиболее восприимчивы к нейротоксину лошади, крупный и мелкий рогатый скот, птица, норки. Относительную устойчивость проявляют собаки, дикие животные, серые крысы.



Возбудитель — Clostridium botulinum — крупная (1,4х3,4 — 8,5 мкм) палочка, образующая споры. В молодых культурах — грамположительная, в старых — грамотрицательная. Подвижная, капсулы не имеет, концы закруглены, строгий анаэроб. Микроорганизм во внешней среде проявляет слабую устойчивость. Образование спор, обладающих повышенной стойкостью к физическим и химическим факторам, делает этого возбудителя особо опасным. Температура минус 190 °С консервирует клостридию. Кипячение обезвреживает только в течение нескольких часов. Раствор формалина убивает через сутки. Споры некоторых штаммов выдерживают обеззараживание автоклавированием на протяжении 10 минут и при температуре в 120 °С.
Возбудителя ботулизма делят по наличию О-соматического и Н-антигенов на шесть типов. Для лошади наиболее опасен тип В, для КРС — D и С, птицы, мелкого рогатого скота и норок — тип С, для человека А, В, Е.
Возбудитель ботулизма, в анаэробных условиях, при температуре 25-38 °С, вырабатывает токсин — наиболее опасное вещество из всех отравляющих веществ биологической природы и наиболее сложный из всех белков, с самой высокой молекулярной массой. Кислотность среды не влияет на его образование. Токсин не разрушается ферментами животного организма, выдерживает нагревание до 100 °С в течение 10 минут, на него почти не действует солнечный свет и высушивание. В пищевых консервах сохраняет свои свойства в течение 8 месяцев. Накопление токсина проходит как в мясных, так и растительных кормах, при этом распределение его гнездовое.

При подозрении в лабораторию отправляются средние пробы кормов, содержимое желудка, кровь больного животного.
Токсигенные штаммы C.botulinum выделяют высеванием культуральных жидкостей на твёрдые питательные среды. Далее проводятся исследования морфологических признаков характерных для культуры ботулизма.
Для подтверждения диагноза ставится биопроба на белых мышах путём внутрибрюшинного введения исходной жидкости.
При диагностике исключают инфекционный энцефаломиелит, бешенство, у птиц и свиней отравление поваренной солью. У птиц отрицают болезнь Марека, Ньюкасловскую болезнь, у КРС сибирскую язву, болезнь Ауески.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА

Впервые его обнаружил Фезер в 1865 г. в подкожной клетчатке погибшей коровы. Поражаются преимущественно молодые животные. Описаны редкие случаи заболевания буйволов, овец и коз.
Эмфизематозный карбункул – острая неконтагиозная инфекционная болезнь, характеризующаяся развитием крепитирующих отеков в массивных группах мышц, с последующим их некрозом, хромотой и быстрой гибелью животных. Распространен повсеместно во всех странах с развитым скотоводством.

Возбудитель ЭМКАР. Возбудитель эмкара Clostridium chauvoei представляет собой прямые или слегка изогнутые, с закругленными концами палочки, располагающиеся одиночно, парами, реже короткими цепочками; в молодых культурах грамположительные. Клетки отличаются полиморфизмом, особенно в животных тканях. Хорошо растут на анаэробных питательных средах. Старые культуры имеют запах прогорклого масла. Известно несколько токсичных компонентов возбудителя: альфа, бета- и дельта-токсины.

Споры возбудителя эмкара очень устойчивы: несколько лет сохраняют жизнеспособность в почве, в гниющих мышцах, навозе — до 6 мес, на дне водоемов — свыше 10 лет, в солонине — более 2 лет, в высушенном состоянии споры теряют жизнеспособность при нагревании до 100...105°С за 2... 12 мин, прямые солнечные лучи убивают их за 24 ч. При соответствующих условиях в почве возбудитель может вегетировать и размножаться.

Наиболее эффективными дезинфектантами являются 3...4%-ный раствор формальдегида, 10%-ный раствор гидроксида натрия, Virkon S (1:100).

Патологическим материалом для лабораторного диагноза служат кусочки пораженных мышц, отечный экссудат, кровь, взятые тотчас после гибели животного. Необходимо помнить: что запрещено вскрытие трупов животных, погибших от эмфизематозного карбункула. Кусочки мышц отбирают без полного вскрытия трупа, если же труп случайно вскрыт, берут кусочки паренхиматозных органов.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, посевы на питательные среды в анаэробных и аэробных условиях и заражение лабораторных животных.

Микроскопия имеет ориентировочное значение. Мазки окрашивают по Граму и Муромцеву. Чистую культуру С. *chauvoei* удается выделить, если посевы делают сразу же после гибели животного. Но, как правило, материал бывает сильно загрязнен посторонней микрофлорой, поэтому применяют ряд методов подавления сопутствующей микрофлоры. Материал можно высушить в термостате, при этом вегетативные клетки гибнут, а споры сохраняют жизнеспособность. Рекомендуют также проводить посев в жидкую элективную среду с добавлением фенола, кристаллвиолета или азида натрия, которые ингибируют постороннюю микрофлору. Иногда материал прогревают при 80 ^{0}С в течение 15 минут. Исследуемый материал засевают пастеровской пипеткой в среду Китта-Тароцци, в МПБ, на МПА и глюкозо-кровяной агар в чашках. Посевы инкубируют в анаэробных условиях при 37 ^{0}С в течение 24-48 ч. Со среды Китта-Тароцци для выделения чистой культуры делают дробный посев на чашки с глюкозо-кровяным агаром. Наличие характерных колоний на агаре и типичных по морфологии палочек в препаратах из колоний дают основание для постановки предварительного диагноза.