

Исследование микробного фона слизистых оболочек глаз молодняка КРС

В.А. Ермолаев, д.в.н., профессор, **А.В. Сапожников**, к.в.н., **А.В. Загумёнов**, аспирант; **А.Д. Шишова**, соискатель; **Г.А. Юдич**, соискатель, ФБГОУ ВО Ульяновский ГАУ

Исследование слизистых оболочек животных, особенно молодняка, имеет большое клиническое значение при оценке их общего состояния. Организм животных постоянно контактирует с окружающей средой и, следовательно, сталкивается с огромным количеством бактерий, способных вызвать различные инфекционные заболевания. В нормальном состоянии слизистая оболочка глаза КРС имеет бледно-розовый оттенок. Веки и конъюнктив поддерживают персистенцию популяции микроорганизмов, не вызывающих болезнь. При изменении качественного и количественного состава микрофлоры возникает воспаление слизистой оболочки глаза или конъюнктивит. Глаза у коров являются наиболее чувствительными. При снижении резистентности организма у молодняка быстро развиваются заболевания глаз [1–3]. При отсутствии лечения животное быстро теряет зрение, что в свою очередь напрямую сказывается на его жизнедеятельности. Заболевания глаз у КРС могут стать причинами снижения продуктивности, иммунитета и заражения другими инфекционными заболеваниями, которые могут довольно быстро распространиться на большую часть поголовья и принести хозяйству убытки [4–5].

Целью исследования стало определение микробного фона слизистых оболочек глаз молодняка КРС и дальнейшее изучение антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов.

Материал и методы исследования. Исследование проводили на базе ООО «Мегаферма «Октябрьский» Ульяновской области. Материал, полученный в ходе осмотра животных, изучали на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновского ГАУ с 10 сентября по 5 октября 2018 г. Объектами исследования стали слизистые оболочки глаз молодняка 36 КРС. Для проведения исследования в лабораторных условиях нами было использовано оборудование: термостат ТС-80М-2, автоклав ГК-100-3, шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80п УХЛ 42, холодильник бытовой, дистиллятор, микроскоп «Биомед-6» с видеофотонасадкой, набор для окраски по Грамму, электронные весы. В ходе исследования нами были использованы специальные питательные среды: ГРМ-агар, ГРМ-бульон, агар Эндо-ГРМ, агар Клигlera-ГРМ, среда Симмонса, мясопептонный солевой агар 7-процентный, среды Гисса-ГРМ с лактозой, глюкозой, маннитом, мальтозой, сахарозой, дульцитом, сорбитом, ксилозой, арабинозой, рамнозой. Для определения

антибиотикочувствительности были использованы диски с антибиотиками – ципрофлоксацином, ампициллином, гентамицином, тетрациклином, левомицетином, эритромицином. Для проведения боксовых работ использовали комплект посуды, включающий колбы мерные, пипетки, чашки Петри, цилиндры мерные, флаконы различного объема, пробирки, стекла покровные, стекла предметные, шпатели и др.

Результаты исследования. Для исследования микробного фона слизистых оболочек глаз КРС были взяты смывы у 36 животных. Стерильными ватными палочками производили забор материала и затем опускали палочки обратно в пробирку с физиологическим раствором (рис. 1).



Рис. 1 – Смывы со слизистых оболочек глаз КРС, физиологический раствор, время транспортировки 4 час.

Полученный материал высевали на дифференциально-диагностическую среду ЭНДО, предназначенную для выделения и дифференциации бактерий семейства Enterobacteriaceae и солевой мясопептонный агар (содержание соли 7%), предназначенный для выделения бактерий рода Staphylococcus (определённых видов микроорганизмов и подавления роста сопутствующих) [6, 7]. Далее 1 мл материала высевали на вышеуказанные питательные среды специального назначения и стерильным шпателем распределяли по поверхности агара. После подсыхания засеянные чашки помещали в термостат при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ на 24 час.

По истечении указанного времени на чашках наблюдали обильный рост колоний (табл. 1). Одиночные колонии отбирали для окраски мазков по Граму и их дальнейшего микроскопирования.

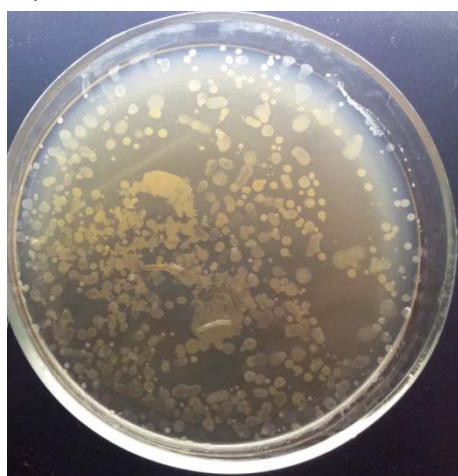
1. Рост культур в пробах с описанием колоний



– мелкие жёлтые глянцевые колонии с ровными краями, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.



– большая глянцевая, выпуклая колония бежево цвета, края ровные, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.



– ярко-жёлтые матовые колонии с углублённым центром, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.



– большие матовые тёмно-бежевые колонии с неровными краями, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.



– большие матовые тёмно-бежевые колонии с неровными краями, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.



– мелкие белые глянцевые колонии, 7-процентный солевой мясопептонный агар, $37\pm 1^\circ\text{C}$; 18–24 час.

Для изучения морфологии выделенных микроорганизмов были отобраны одиночные, изолированные колонии, сделаны мазки и окрашены по Граму. Данный метод позволяет разделить все микроорганизмы на две группы: грамположительные (гр+) и грамотрицательные (гр–). Всего было отобрано 18 различных колоний. В процессе микроскопирования окрашенных мазков нами

были обнаружены кокковые и палочковидные формы микроорганизмов (рис. 2–5).

Клетки были различной формы и размера: мелкие одиночные кокки; парные кокки (диплококки); кокки, составляющие цепочку (стрептококки); кокки в виде грозди винограда (стафилококки); хаотично расположенные палочковидные клетки различной длины – короткие и толстые, длинные и тонкие.

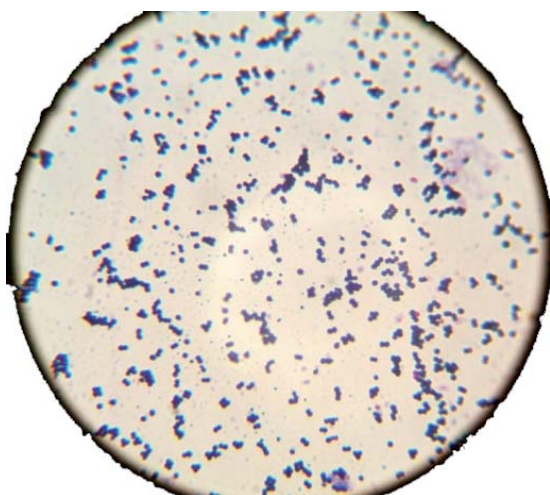


Рис. 2 – Микроскопическая картина бактериальных клеток культуры № 15; микроскоп «Биомед-6», увеличение 1000 крат

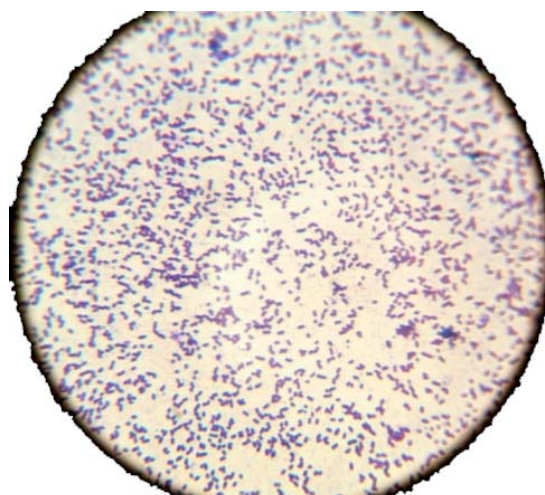


Рис. 4 – Микроскопическая картина бактериальных клеток культуры № 12; микроскоп «Биомед-6», увеличение 1000 крат

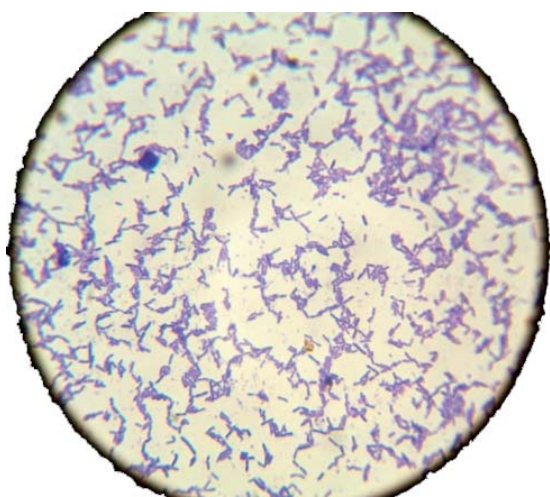


Рис. 3 – Микроскопическая картина бактериальных клеток культуры № 9; микроскоп «Биомед-6», увеличение 1000 крат

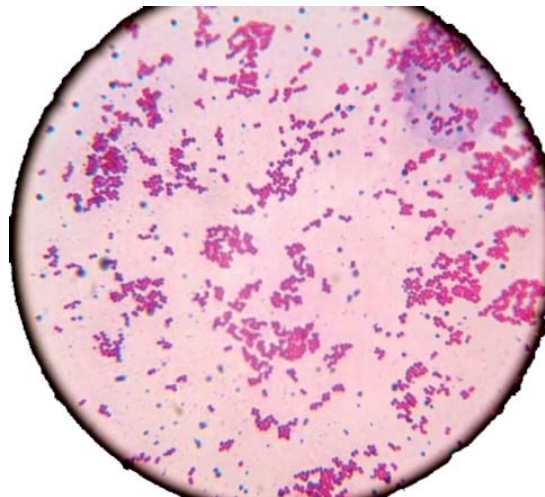


Рис. 5 – Микроскопическая картина бактериальных клеток культуры № 3; микроскоп «Биомед-6», увеличение 1000 крат

Установив, что клетки в мазках выглядят однообразно, вторую половину отобранных колоний засеяли в мясопептонный бульон и культивировали в течение 24 часов при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в условиях термостата. Через указанное время делали мазки с суточных культур и окрашивали их по Граму для подтверждения чистоты выделенных культур [5–7].

Для дальнейшего типирования нами были отобраны шесть культур, имеющих аналогичные морфологические и тинкториальные свойства. Далее были изучены биохимические свойства выделенных микроорганизмов. Результаты биохимических свойств представлены в таблице 2.

Обобщив полученные результаты, мы отнесли изучаемые культуры к родам:

2. Биохимические свойства изучаемых культур

Тест	Культура, №					
	1	2	3	4	5	6
Ксилоза	+	-	-	-	-	+
Сахароза	+	+	+	+	+	+
Маннит	+	+	+	+	+	+
Лактоза	+	+	+	+	+	+
Мальтоза	+	+	+	+	+	+
Дульцит	+	-	-	+	-	-
Арабиноза	+	-	+	+	+	+
Сорбит	+	+	+	+	+	±
Глюкоза	+	+	+	+	+	+
Рамноза	+	+	+	+	+	+
Образование индола	-	-	-	-	-	-
Использование цитрата	+	-	-	-	-	+
Подвижность	+	-	-	-	-	+
Образование H_2S	-	+	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+	+	+
Оксида	+	-	+	+	+	-

культура № 1 – род *Serratia*, мелкие грамтрицательные палочки;

культура № 2 – род *Staphylococcus*, грамположительные сферические клетки, располагаются одиночно или небольшими кучками в виде отдельных скоплений неправильной формы, напоминающих гроздь винограда;

культура № 3 – род *Moraxella*, грамтрицательные кокки, расположенные попарно;

культура № 4 – род *Micrococcus*, мелкие грамположительные кокки;

культура № 5 – род *Klebsiella*, грамтрицательные прямые палочки с закруглёнными концами, располагающиеся попарно или одиночно;

культура № 6 – род *Enterobacter*, грамтрицательные палочкообразные бактерии.

В ходе исследовательской работы была изучена антибиотикочувствительность выделенных микроорганизмов. Результаты представлены в таблице 3.

По таблице видно, что культуры рода *Serratia*, *Klebsiella* резистентны к эритромицину. Род *Klebsiella* не чувствителен к ампициллину и тетрациклину. Род *Staphylococcus* чувствителен к гентамицину, тетрациклину, левомецитину, эритромицину и высокочувствителен к ампициллину. К антибиотику тетрациклину чувствительны роды *Moraxella*, *Micrococcus*, *Enterobacter*. Высокочувствительной оказалась культура рода *Micrococcus* к ципрофлоксацину, гентамицину, левомецитину, эритромицину. Культура рода *Klebsiella* была резистентна к ампициллину, тетрациклину, эритромицину [7, 8].

Литература

- Сунагатуллин Ф.А. Шарафутдинов Д.А. Распространение и этиология конъюнктивно-кератита крупного рогатого скота в ОАО «Заволжье» Кайбицкого района РТ // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2013. Т. 213. С. 273–276.

3. Результаты антибиотикочувствительности выделенных культур

Антибиотик	Культура рода					
	<i>Serratia</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>
Ципрофлоксацин	26***	21**	25***	29***	21**	17**
Ампициллин	14*	34***	22**	12*	-	28***
Гентамицин	16**	17**	23**	26***	12*	18**
Тетрациклин	12*	19**	20**	21**	-	18**
Левомецитин	23**	15**	12*	26***	9*	21**
Эритромицин	-	18**	18**	25***	-	20**

Примечания:

«-» культура резистентна к данному антибиотику;

* культура слабо чувствительна к антибиотику;

** культура чувствительна к антибиотику;

***культура высокочувствительна к антибиотику

- Арзумян Е.А. Животноводство. М.: ВО, Агропромиздат, 2017. 205 с.
- Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А.С. Быкова, А.А. Воробьева, В.В. Зверева. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 272 с.
- Бородин А.Н. Ветеринарная микробиология и микология: учебник. СПб.: Лань, 2014. 624 с.
- Василенко Е.Г. Профилактика болезней глаз у животных / Е.Г. Василенко, В.А. Черванев, П.А. Тарасенко [и др.]. Брянск.: Издательство Брянской ГСХА, 2010. 48 с.
- Антал А., Благо Р., Булла Я. Выращивание молодняка крупного рогатого скота. М.: Агропромиздат, 2016. 185 с.
- Борзова Л.Д. Ветеринарная микробиология и иммунология. Практикум: учебное пособие / Л.Д. Борзова, Н.Ю. Черникова, В.В. Якушев [и др.]. СПб.: Лань П, 2016. 368 с.
- Валеева А.Н. Оперативные методы лечения болезней глаз у животных: методич. пособ. для аспирантов и студентов ветеринарных вузов и практикующих врачей. Казань, 2016. 87 с.