МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Департамент ветеринарии

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ, ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ ПСЕВДОМОНОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Москва 2003

gost.e-ecolog.ru

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

"УТВЕРЖДАЮ"
Руководитель Департамента ветеринарии

В. М. Авилов
17 августа 1998 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ, ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ ПСЕВДОМОНОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Москва 2003

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПОДГОТОВИЛИ:

Сотрудники Краснодарского НИВИ (Терехов Б.И., Шипицын А.Г., Болоцкий И.А., Васильев А.К., Семенцов В.И., Пруцаков С.В., Васильев В.Ф., Богосьян А.А.), ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии (Шахов А.Г., Бригадиров Ю.Н.), ВГНКИ (Уласов В.И.), Воронежского ГАУ (Артемов Б.Т., Шаронин С.А.), МГАВМиБ (Воронин Е.С., Девришев Д.А.). Управления ветеринарии Краснодарского края (Скориков А.В.), Краснодарская краевая ветеринарная лаборатория (Ермакова Т.В.).

© Россельхозакадемия, 2003 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение 4
2. Этиология 5
3. Эпизоотология 8
4. Патогенез 11
5. Клинические признаки заболевания 15
6. Патологоанатомические изменения 19
7. Диагноз 20
8. Иммунитет 25
9. Профилактика 26
10. Специфическая профилактика 28
11. Лечение 29

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все чаще появляются сообщения о выделении бактерий рода Pseudomonas из различного патологического материала. Широко распространенные в природе, они нередко являются возбудителями болезней растений, животных, *птиц, а так же людей. Так, например, бактерии вида P.aeruginosa* вызывают пиодермию у овец, собак и кроликов; маститы, эндометриты, гибель эмбрионов, аборты у коров и свиноматок; септицемию у пушных зверей; их можно обнаружить в препуциальной полости и сперме у быков и хряков, в хронических случаях ими поражаются семенники и придаточные половые железы.

Высокая устойчивость бактерий к условиям внешней среды, антагонистическая активность, резистентность к ряду применяемых в настоящее время химиотерапевтических препаратов и антибиотиков, а так же нарушения зоогигиенических и ветеринарных правил способствуют широкому распространению псевдомонад и повышают их роль в возникновении различных патологических процессов у животных и птиц.

Сложность изучения синегнойной инфекции и актуальность этой проблемы обусловлены тем, что возбудитель - один из немногих видов бактерий патогенен не только для животных и человека, но для насекомых и растений.

О возрастающей роли синегнойной палочки в патологии человека и животных свидетельствуют многочисленные публикации отечественных и зарубежных исследователей, которые отмечают, что рациональная терапия болезней, вызываемых патогенными штаммами синегнойной палочки, представляет на современном этапе актуальную проблему.

В рекомендациях обобщены современные литературные сведения по этой проблеме и результаты многолетних исследований сотрудников Краснодарского НИВИ, ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии, Воронежского аграрного университета и других научных учреждений.

ЭТИОЛОГИЯ

Синегнойная палочка (Pseudomonas aeruginosa) была впервые выделена в чистой культуре C.Gessard в 1882 г. и названа B.pyocyanea (палочка синего гноя). В 1889 г. A.Charrin продемонстрировал патогенность микроорганизма не только для человека, но и животных.

P.aeruginosa по определителю бактерий Берджи (1997) относится к роду Pseudomonas, семейства Pseudomonadaceae .

Синегнойная бактерия - это прямая или слегка изогнутая палочка размером 0,5-1 х 1,5-3 мкм, хорошо окрашивается анилиновыми красками, грамотрицательна, аэроб. В мазке располагается одиночно, парами или короткими цепочками. Подвижна, имеет 1-3 полярных, биполярных или боковых жгутиков, но имеются и безжгутиковые формы. Установлено присутствие фибрилярных (пилевых) структур, спор не образует, обнаружены капсульные и бескапсульные варианты синегнойной палочки. Обладает способностью образовывать внеклеточную капсулоподобную слизь. Хорошо растет на простых и искусственных питательных средах. Дополнительных факторов роста не требует. Оптимальная температура роста 37^{0}С, однако может расти в диапазоне от 5-7 до 43^{0}С. Предпочитает нейтральную реакцию среды (pH 7,2-7,5), но может размножаться при pH 4,5 и 9,0. Рост на мясо-пептонном бульоне через 18-24 ч, характеризуется равномерным помутнением с образованием небольшого осадка и серовато-серебристой пленки.

На мясо-пептонном агаре, средах Эндо или Плоскирева можно различить 5 типов колоний:

- плоские неправильной формы;
- колонии, напоминающие колонии E.coli в S-форме;
- складчатые («цветок маргаритки»);
- слизистые;
- точечные, карликовые.

При культивировании на питательных средах P.aeruginosa выделяет ароматическое вещество триметиламин, запах которого напоминает цвет липы, жасмина, земляничного мыла или карамели. У беспигментных штаммов запах может иметь горьковато-прогорклый оттенок.

Пигментообразование - характерный признак синегнойной бактерии. Она выделяет ряд пигментов: сине-зеленый - пиоцианин, желто-зеленый - флюоресцин, красный - пиорубин, черный - меланин, но диагностическое значение имеет только пиоцианин, так как его образует исключительно синегнойная палочка. В некоторых случаях встречаются апигментные штаммы синегнойной палочки, доля которых может составлять 10-20%. Для выявления пиоцианина у штаммов псевдомонад их посев следует проводить на среды, содержащие 2-5% глицерина или маннита, ионы магния и калия и культивировать при температуре 30-37^{0}С. В жидких питательных

средах его идентифицируют, используя тест с хлороформом.

Отличительной особенностью синегнойной палочки является низкая требовательность к питательным веществам. Она может размножаться даже в дистиллированной воде, ассимилируя азот воздуха.

Синегнойная палочка обладает низкой сахаролитической активностью, но выраженными протеолитическими свойствами (табл.1), она пептонизирует лакмусовое молоко, разжижает желатину, свертывает сыворотку и яичный белок, восстанавливает нитраты в нитриты, гидролизирует казеин, обладает гемолитическими свойствами.

У многих штаммов P.aeruginosa при росте на плотных питательных средах наблюдается феномен радужного лизиса, который характерен только для данного микроорганизма. Феномен, как правило, в той или иной степени выражен у каждого отдельно взятого штамма и поэтому может служить для внутривидовой дифференциации.

Синегнойная палочка весьма устойчива во внешней среде, особенно влажной (воде, моче, кале), и может месяцами сохраняться вне организма, однако через 2-3 недели патогенность ее снижается. Жизнеспособна бактерия и в растворе такого антисептика как фурацилин, поэтому свеже приготовленный раствор нитрофурана можно хранить только одни сутки. В подсыхающем патологическом материале она выживает в течение нескольких недель. Высушивание убивает ее за 2-3 дня, замораживание и оттаивание через 7-10 суток, палочка сохраняет свою жизнеспособность в замороженной сперме (-196°С) год и более.

Бактерия нестойка к обычным дезосредствам 0,25%-ному формалину, 0,5%-ному фенолу и едкому натру, 1-2%-ным растворам креолина и лизола. Выраженным дезинфицирующим действием в отношении возбудителя псевдмоноза обладают хлорсодержащие препараты (0,25%-ный р-р ДП-2 и 1%-ный р-р хлорамина, при экспозиции 5 минут) и 0,25% р-р метацида (погисепта). Кипячение убивает ее в течение 1-3 мин.

Синегнойная палочка имеет сложную антигенную структуру, состоящую из нескольких компонентов. Основными являются: устойчивое к формалину, термолабильное вещество, напоминающее жгутиковый Н-антиген, и вещество, аналогичное О-антигену кишечных бактерий, устойчивое к спирту и высокой температуре

О-антиген представляет собой сложный макромолекулярный комплекс липополисахарида (ЛПС) с белками и липидами клеточной стенки. ЛПС является структурным компонентом О-соматического антигена и обусловливает его О-групповую специфичность. В настоящее время структура О-специфических полисахаридных цепей практически всех известных типов ЛПС уже изучена.

Кроме Н-антигенов у штаммов синегнойной палочки идентифицировано два типа пилей: полярные и неполярные, с последними связывают передачу плазмидной лекарственной резистентности.

Таблица 1

Дифференциально-диагностические признаки некоторых бактерий рода Pseudomonas

Признак	P.aerugi-*nosa*	P. fluore-*scens*	P. cepacia	P. putida	P. stut-zeri	P.maltophylia	P.dimi-nuta	P.mallei	P.pseu-*domallei*	P.alcali-*genes*
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Пиоцианин	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Флюоресцеин	+	+	-	±	+	+	-	-	-	-
Оксидаза (индофе-нолоксидаза)	+	+	+	+	+	-	+	+	±	+
Разжижение желатины	+	+	±	-	-	+	+	-	+	±
Гемолиз	+	±	-	-	-	-	-	-	±	-
Рост										
при 5°С	-	+	-	±	±	-	-	-	-	-
при 42°С	+	-	±	-	-	+	-	-	+	+
на ацетамидном агаре	+	-	+	-	-	-	-	-	+	±
Образование кислоты из										
глюкозы	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
лактозы	-	-	+	-	-	-	-	±	+	-
маннита	±	+	+	±	+	-	-	+	+	-
мальтозы	-	±	±	±	+	-	±	+	±	±
галактозы	±	+	+	+	+	-	-	+	+	-
фруктозы	±	+	±	+	+	+	-	+	+	-
Восстановление нитратов до нитритов	+	-	±	-	±	±	-	±	±	±
Восстановление нитратов до азота	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Аргининдегидролаза	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
Лизиндекарбоксилаза	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-

Типирование бактерий осуществляют, используя О- и Н-сыворотки, пиоцины, бактериофаги. Общепризнанным является серологическое типирование по термостабильному соматическому О-антигену. В 1976 году Международной ассоциацией микробиологических обществ был предложен набор стандартных антигенных штаммов. Основу набора составляют 12 штаммов английской коллекции Хабса и 4 дополнительных штамма Миккельсона. В нашей стране серотипирование культур синегнойной палочки рекомендуется проводить методом агглютинации на стекле с использованием набора, состоящего из поливалентных сывороток к 15-групповым О-антигенам или моновалентными сыворотками к 23 факторам О-антигена. В настоящее время серотипирование осуществляется по 20 0-антигенам. Серотипирование позволяет выявлять преобладание тех или иных вариантов синегнойной палочки, сопоставлять идентичность штаммов выделенных от больных животных и из объектов внешней среды или предполагаемых источников их содержания (сперма, корма и др.).

Методы пиоцинотипированиия основываются на следующих положениях:

- пиоцины различных штаммов синегнойной палочки по-разному действуют на индикаторные штаммы;
- *штамм-продуцент пиоционина резистентен к образуемому им пиоцианину;*
- различные штаммы синегнойной палочки обладают разной чувствительностью к набору индикаторных пиоцинов.

Для пиоцинотипирования чаще всего используются метод «перекре-щивающихся полос» и бульонный метод, когда используются индикаторные штаммы синегнойной палочки.

Метод фаготипирования основан на различной чувствительности культур синегнойной палочки к набору типовых бактериофагов коллекции Zindberg. Набор включает 19 фагов. Считается, что фаготипирование является достаточно информативным методом при изучении синегнойной инфекции, однако если фаготипирование применяется как единственный метод тестирования, то результаты следует воспринимать с большой осторожностью.

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

В последние годы появляется все больше сообщений, свидетельствующих о постоянно возрастающей патогенности синегнойной палочки и делаются выводы о том, что этот микроб следует считать патогеном с высокой приспособляемостью к окружающей среде. Синегнойная палочка вызывает заболевания с различными клиническими признаками у людей, сельскохозяйственных и домашних животных, пчел, шелкопрядов, морских моллюсков, рыбы, а также овощных растений.

В Краснодарском крае P.aeuginosa чаще других микроорганизмов выделяется из внутренних органов абортированных плодов, павших телят и поросят, спермы хряков- и быков-производителей, влагалищных выделений маток, куриных эмбрионов, различных видов кормов и объектов окружающей среды.

Наиболее подвержены заболеванию молодые животные, у которых снижена естественная резистентность организма.

Псевдомонозом, чаще всего, поражаются поросята в подсосный период и, реже, после отъема, телята - в первые две недели жизни. Появлению и распространению болезни способствуют нарушения ветеринарно-санитарных правил содержания животных и птицы, высокая их концентрация, повышенная влажность помещений, несоблюдение профилактических перерывов при эксплуатации животноводческих помещений, нерациональное использование антибиотиков и химиопрепаратов.

Нередко синегнойная палочка выделяется в ассоциации с энтеробактериями – кишечной палочкой, протеем, сальмонеллой и др., что затрудняет диагностику заболевания и проведение лечебно-оздоровительных мер.

Серотиповой профиль синегнойной палочки выделенной от больных и павших животных в различных хозяйствах Краснодарского края представлен основными типами: у телят 02, 06, 07, 08, 09, 010 и 011; у поросят – 02, 03, 05, 06 и 08. Штаммы P.aeruginosa, выделяемые от взрослого поголовья, чаще относили к 02, 06, 08, 011. Среди изолятов, выделенных от птицы, большинство представлены серотипами 02, 05 и 08, а пушных зверей – 05, 06, 08.

Особого внимания заслуживает вопрос об источнике и путях передачи возбудителя. Основным местом экологического обитания синегнойной палочки является желудочно-кишечный тракт человека и животных, откуда с фекалиями микроб попадает в почву, воду, корма, различные объекты внешней среды. Однако бактерия может и не встречаться в кишечнике, так как в норме ингибируется антагонистами (молочнокислой микрофлорой, энтерококком, непатогенной кишечной палочкой). Усиленное размножение микроорганизма происходит при изменении химического состава кишечного содержимого, а именно: дача некачественного корма, пероральное применение антимикробных средств, отравление различными веществами. Таким образом, появление в кишечнике синегнойной бактерии может свидетельствовать о наличии микроэкологических нарушений гомеостаза.

Основным источником возбудителя являются больные животные и птица, которые с калом, мочой, мокротой из легких, пухом и волосом выделяют возбудителя во внешнюю среду. Особая роль, как источника возбудителя принадлежит контаминированной этим микроорганизмом сперме быков- и хряков-производителей, яйцу птицы, предназначенному у инкубации. Очень часто факторами передачи возбудителя для пушных зверей является обсемененное синегнойной палочкой мясо, мясо-костная и рыбная

мука, куколки тутового шелкопряда, а у птицы - комбикорм. Не исключается возможность рассеивания во внешнюю среду возбудителя инфекции мышами и крысами, которые восприимчивы к этому заболеванию. Резервуаром синегнойной инфекции могут быть также лекарственные растворы, моющие антисептические растворы, кремы для рук и доения, инструментарий (хирургический, гинекологический).

Стационарное неблагополучие хозяйств тесно связано со скрытым носительством (выделением) псевдомонад и неблагоприятными для животных условиями содержания. Накоплению возбудителя во внешней среде способствует высокая концентрация белковых веществ, влажность, загрязненность навозом ферм, отсутствие или некачественная дезинфекция.

Возникновению псевдомоноза способствует черезмерное и бесконтрольное использование антибиотиков при лечении. Антибиотики подавляют конкурентоспособность микроорганизмов, и синегноная палочка, как малочувствительная к большинству антибактериальных препаратов, начинает быстро размножаться, вызывая в организме различные патологические процессы.

Пути передачи инфекции зависят от ряда факторов, включая степень патогенности самого возбудителя, его способность размножаться в окружающей среде и эффективности профилактических мероприятий.

Основные пути заражения - алиментарный и воздушно-капельный. Доказана также способность синегнойной палочки преодолевать плацентарный барьер, предварительно она вызывает воспаление плаценты, а затем происходит инфицирование плода. У животных с гемоэндотелиальным типом плаценты (свинья, обезьяна, собака, крольчиха, морская свинка) проницаемость барьера выше, чем у животных с десмохориальным типом (корова, овца, коза). При внутриутробном заражении новорожденные животные часто погибают в первые часы жизни.

В неблагополучных по псевдомонозу хозяйствах возможно перекрестное заражение молодняка различных видов животных.

Заражение свиноматок и коров происходит через инфицированную сперму или инструментарий при искусственном осеменении, а быков и хряков - при отборе спермы.

Немаловажная роль в распространении заболевания принадлежит обслуживающему персоналу: через руки, спецодежду, предметы ухода (ведра, скребки, щетки, метла и т.д.) возбудитель от больных животных или носителей передается здоровым.

Основным звеном в эпизоотической цепи псевдомоноза в птицеводстве является инкубаторий, при не соблюдении последовательности в технологии инкубации и основных ветеринарио-санитарных правил. Установлена прямая связь заражения птиц с поеданием корма, котаминированного возбудителем.

Обладая значительной подвижностью и ферментативными свойствами,

синегнойная палочка может за 18 ч проникать через скорлупу в желток яиц и вызывать гибель эмбрионов на любой стадии инкубации.

Псевдомоноз в хозяйствах чаще проявляется в виде знзоотических вспышек, заболеваемость при этом составляет 45-50% и более от числа находящихся в одном помещении, летальность может достигать 70%.

У норок болезнь проявляется в виде осенней энзоотии и протекает в сверхострой и острой формах. Песцы чаще болеют в апреле-июне, у лисиц закономерности в заболеваемости нет. В первую очередь погибают хорошо упитанные норки, особенно молодые самцы. В очаге инфекции заболеваемость норок колеблется в пределах 20-60% и сопровождается 100%-ной летальностью.

На фермах крупного рогатого скота, свиней и птицы пик заболеваемости в зимне-весенний. Это прежде всего обусловлено снижением сопротивляемости макроорганизма и благоприятными внешними условиями для возбудителя (повышенная влажность, умеренная температура, низкая солнечная инсоляция).

Среди быков и хряков-производителей на племстанциях и племпредприятиях, количество псевдомононосителнй может достигать круглый год 16-40% и выше.

ПАТОГЕНЕЗ

Механизм развития синегнойной инфекции сложный и до конца еще не расшифрован.

У выделенных из клинического материала штаммов возбудителя обнаружили наличие большого количества внеклеточных ферментов и токсических субстанций, многие из которых при определенных условиях связанных нарушением защитных сил организма хозяина, могут детерминировать их патогенность. Многофакторная природа патогенности P.aeruginosa обеспечивает этим бактериям неуязвимость практически от действия любых защитных систем макроорганизма как естественных (тканевые барьеры, гуморальный и клеточный иммунитет), так и исскуственных (иммунопрепараты, детоксицирующие и антибактериальные средства, дезинфектанты).

Одними из визуально ощущаемых и фиксируемых факторов патогенности являются пигменты (пиовердин, пиоцианин, пиорубин, меланин) и экстрацеллюлярная слизь. Роль пигментов синегнойной палочки заключается не только в подавлении роста сопутствующей микрофлоры и обеспечении ее преимущества в микробной ассоциации, но и в неблагоприятном воздействии на макроорганизм. В частности пиоцианин угнетает пролиферацию лимфоцитов, нарушает функцию эпителия трахеи. У пиоцианина и пиовердина обнаружены сидероформные свойства, они участвуют в извлечении из тканей и органов макроорганизма ионов железа. Меланино-

вый пигмент повышает устойчивость P.aeruginosa к УФ-лучам и повышенной концентрации кислорода.

Экстрацеллюлярная слизь является функциональным аналогом капсулы. Слизь придает характерную вязкость бульонным культурам и колониям мукоидных штаммов. Существует определенная связь между тяжестью течения инфекции и выделением мукоидных штаммов бактерий. Как правило, штаммы, активно выделяющие слизь, являются более вирулентными, так как она подобно капсуле других бактерий обладает антифагоцитарными свойствами. Кроме антифагоцитарной и токсической функций, внеклеточная слизь синегнойной палочки обладает способностью подавлять активность комплемента, участвует в процессах адгезии. Слизь синегнойной палочки играет активную роль в развитии диспепсических процессов у животных, в основе которых лежат усиление перистальтики кишечника, нарушение его всасывающей функции, развитие порозности сосудов с последующим выпотом крови в просвет кишечника. Выделенная и обработанная этанолом слизь обладает антигенной активностью, она способствует выработке иммунитета у лабораторных животных, наличие которого подтверждается как при заражении их гомологичным, так и гетерологичным серотипом возбудителя.

Наибольшее значение в патогенезе заболевания принадлежит экзотоксину А. Токсичность его для лабораторных животных превосходит таковую всех остальных выделенных компонентов синегнойной палочки. При местном введении очищенного экзотоксина А у белых мышей возникает характерная реакция - безэритемный отек, некротизирующийся в течение 2-3 дней, а при внутрибрюшном его введении (0,1 мкг) они погибают через 40-50 мин после инъекции. Под действием экзотоксина снижается активность фагоцитов, Т-лимфоцитов, бактерицидная активность сыворотки крови, падает количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина периферической крови, повышается проницаемость сосудистых стенок. Это происходит вследствие нарушений в системе нейрогуморальной регуляции, формирующейся в динамике развития токсического процесса, и непосредственного действия токсина на отдельные звенья иммуногенеза. Действие экзотоксина приводит к нарушению клеточных мембран и поражению гепатоцитов, нарушется метаболизм тканей, происходит развитие гипоксии с последующей активацией процесса аэробного гликолиза в тканях печени и скелетной мускулатуры.

Существенную патогенетическую роль в развитии инфекции играет эндотоксин синегнойной палочки. По своей структуре это липополисахаридно-белковый комплекс (ЛПС). Его летальные дозы для лабораторных животных находятся в пределах 0,01-0,1 мг/кг массы тела. Наибольшую токсичность связывают с липидной частью этого комплекса, при инактивировании которой резко снижаются летальные, но сохраняются антигенные свойства эндотоксина.

Эндотоксин легко проникает в кровь и разносится по всему организму, нарушая постоянство внутренней среды организма и оказывая возбуждающее действие на интерорецепторы. Повышение возбудимости парасимпатического отдела вегетативной системы вызывает сокращение гладкой мускулатуры. Со стороны желудочно-кишечного тракта это приводит к развитию рвоты и поноса, а сокращение гладкой мускулатуры бронхов обуславливает инспираторную одышку и эмфизему легких. Действуя на *центральную нервную систему, эндотоксин синегнойной палочки вызывает* развитие параличей, судорог, парезов. Повреждение клеток организма является следствием влияния эндотоксина на обмен веществ возбудимых тканей. Он подавляет активность некоторых тканевых окислительных ферментов и тем самым блокирует цикл Кребса, являющейся основным источником образования макроэнергетических соединений. Эндотоксин также нарушает механизмы свертываемости крови, понижает кровяное давление, повреждает клетки ретикулоэндотелиальной системы, способствуя тем самым значительному снижению напряженности естественного иммунитета.

К детерминантам патогенности относятся факторы, способствующие адгезии, инвазии, цитотоксичности. Адгезия P.aeruginosa к клеткам эпителия обеспечивается ворсинками. Все штаммы синегнойной палочки обладают адгезивной активностью, однако величина адгезии неодинакова. Наибольшая адгезия к клеткам макроорганизма нами установлена у серотипов 02, 07, 06 и 010.

Существенную роль в патогенезе заболевания играют ферменты протеаза и эластаза, которые подобно холерогену вызывают накопление жидкости в изолированном сегменте кишечника кролика. Кроме этого, протеаза может гидролизовать многие тканевые белки, а эластаза - расщеплять иммуноглобулин G.

Лейкоцидин нарушает сердечную деятельность и проницаемость капилляров, понижает кровяное давление, вызывает лизис лейкоцитов.

Гемолизин растворяет липидный комплекс оболочки эритроцитов и вызывает некроз клеток печени.

Лецитиназа разрушает лецитин клеток и их мембран.

Для синегнойной палочки характерно разнообразие весьма тонких механизмов регуляции экспрессии факторов патогенности, активность которых направлена на быструю адаптацию микроорганизма к постоянно меняющимся условиям обитания. При пребывании бактерий во внешней среде факторы патогенности не синтезируются в полной мере, при попадании же во внутреннюю среду организма животных и человека начинается их интенсивный синтез, что способствует развитию инфекционного процесса. Сигналами для микроорганизма о попадании его во внутреннюю среду могут быть изменения температуры, pH среды, контакт с мембраной эукариотических клеток, распознавание которых осуществляют специфические рецепторы, локализованные в клеточной стенке бактерий.

Развитие синегнойной инфекции и различных осложнений обусловлено способностью P.aeruginosa подавлять механизмы естественной резистентности макроорганизма. Эффекты, обусловливаемые факторами патогенности синегнойной палочки, представлены в таблице 2.

Влияние факторов патогенности P.aeruginosa на иммунитет животных

ФАКТОР ПАТОГЕННОСТИ	ДЕЙСТВИЕ НА ИММУНИТЕТ
Поверхностные компоненты клеток (полисахарид слизи, мукоидный полисахарид)	Токсичность для нейтрофилов, эндотоксиноподобные свойства, антифагоцитарный эффект, подавление местного легочного иммунитета.
О-антиген (ЛПС) и липид А	Возможный антифагоцитарный эффект, свойства эндотоксина.
Внеклеточные продукты (протеазы, экзотоксин А)	Подавление комплементзависимых механизмов защиты, токсичность для макрофагов.

Антибиотикорезистентность

Одной из основных особенностей синегнойной палочки является ее полирезистентность к значительному ряду антибиотиков и химиопрепаратов, которая играет важную роль в развитии инфекции. Штаммы синегнойной палочки, выделенные от животных, резистентны к антибиотикам пенициллинового ряда, цефалоспоринам I и II поколения, доксициклину, макролидам (эритромицину, тилану), левомицетину, нитрофуранам, и сульфаниламидам. В 18,9% случаев они оказались чувствительными к диоксидину, 59,4% - неомицину и тетрациклину, 78,4% - стрептомицину, апрамицину и нитроксалину и в 100% к цефотаксиму, гентамицину, норфлоксацину, пефлоксацину, энрофлоксацину.

На уровень природной устойчивости синегнойной палочки к пенициллинам и цефалоспоринам оказывает влияние способность к синтезу пенициллиназ и бета-лактамаз. Синтез ферментов, инактивирующих антибиотики, у P.aeruginosa детерминируются плазмидами, которые начинают вырабатываться сразу после контакта с препаратами.

Липофильные и амфифильные антибиотики (триметоприм, хинолоны, тетрациклины, хлорамфенинол) способны проникать через внешнюю мембрану псевдомонад, минуя пориновые каналы. Липофильные антибиотики достаточно хорошо проникают и через цитоплазматическую мембрану

в цитоплазму, где локализуются мишени их действия. Однако фактором, ограничивающим уровень их природной активности, является наличие у синегнойной палочки механизма активного выведения липофильных антибиотиков и их инактивирования.

Устойчивые штаммы синегнойной палочки значительно легче, чем чувствительные культуры, прилипают к эпителиальным клеткам слизистых оболочек пищеварительного, дыхательного и мочеполового тракта. Некоторые плазмиды, детерминирующие устойчивость P.aeruginosa к лекарственным препаратам, имеют широкий круг хозяев, включая представителей родов Escherichia, Enterobacter, Proteus, Salmonella и др. Эти обстоятельства представляют опасность не только в развитии колонизации синегнойной палочкой слизистых человека и животных, но и в возникновении в их организме полирезистентных бактериальных ассоциаций.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Развитие симптомов заболевания связано в первую очередь с ферментами патогенности и токсинами синегнойной палочки, а также «воротами» инфекции, действием на те или иные органы животных, а также их физиологическим состоянием организма. Наиболее тяжело болеют животные с пониженной естественной резистентностью, пассажируясь через ослабленный организм, синегнойная палочка повышает свою вирулентность, после чего она способна поражать значительное поголовье. Как правило у взрослых животных заболевание проявляется нарушением воспроизводительной функции и протекает чаще подостро и хронически. У молодняка псевдомоноз протекает остро, с поражением желудочно-кишечного и респираторного тракта, иногда с поражением головного мозга. При внутриутробном заражении течение болезни характеризуется септическими явлениями со значительным отходом молодняка в первые дни жизни.

Инкубационный период псевдомонозной инфекции при сверхостром течении от 2 до 20 ч, редко более суток. В большинстве случаев псевдомоноз протекает остро, иногда подостро или хронически, и тогда инкубационный период длится от 2 до 14 суток, осложняя основное заболевание - гастрит, энтерит, бронхопневмонию, колибактериоз и т.д.

У телят заболевание протекает остро, в продромальный период отмечается эфемерная субфибрильная лихорадка. Температура тела редко поднимается выше 40°С на ранней стадии развития болезни и в дальнейшем находится в пределах 38-39°С. После первой или второй выпойки молозива у телят развивается понос. В случае внутриутробного заражения или заражения во время родов у новорожденного теленка уже через 3,5 ч после рождения появляются симптомы заболевания: сухое носовое зеркальце, отсутствие аппетита, вялость в движениях.

С развитием болезни отмечается самопроизвольная дефекация, кал жид-

кий, водянистый, серо-желтого или желто-зеленого цвета с примесью крови и слизи. Ввиду быстрой потери жидкости у теленка происходит обезвоживание организма с последующим развитием необратимых изменений во внутренних органах. В этот период у животных отмечается слабое, поверхностное дыхание, температура тела находится на низшей физиологической границе, а иногда и ниже, пульс очень слабый. Телята погибают в коматозном состоянии. При поражении головного мозга заболевание сопровождается появлением симптомов, характеризующих поражение центральной нервной системы судорог, параличей, парезов, повышенной возбудимостью.

Продолжительность болезни 3-4 дня. Нередко инфекционный процесс приобретает хроническое течение, при котором больные телята длительное время выделяют возбудителя в окружающую среду. При дальнейшем выращивании телят в неблагоприятных условиях синегнойная палочка может быть одним из этиологических факторов развития бронхопневмонии. В этом случае заболевание протекает более тяжело, т.к. помимо синдрома сердечно-сосудистой недостаточности и гипоксии, наслаивается бактериальный токсикоз.

У коров заболевание проявляется в виде острых и хронических эндометритов, низкой оплодотворяемостью, абортами, рождением мертвого или нежизнеспособного приплода, маститом.

У быков-производителей чаще всего распространено длительное носительство возбудителя, приводящее к развитию хронических воспалительных процессов в органах моче-полового аппарата и органов воспроизводства (семенниках и простате). У самцов, пораженных синегнойной палочкой, резко снижается качество спермы, при этом одним из распространенных видов аномалий является самоагглютинация спермиев и наличие их патологических форм.

Псевдомоноз свиней можно охарактеризовать как остро протекающую инфекционную болезнь в основном молодняка. Болеют поросята в любом возрасте, но чаще в подсосный период.

Клинические проявления заболевания поросят зависят в первую очередь от «входных ворот» инфекции. Протекать болезнь может сверхостро, остро, подостро и хронически. Если поросята инфицированы еще в утробе матери или сразу после рождения, то как правило заболевание имеет подострое течение. В этих случаях животные рождаются слабыми, гипотрофными, со слабым сосательным рефлексом. Обычно им доставались мало молочные доли вымени (соски). Не получая молока они быстро отстают в росте, щетина приобретает серый, тусклый цвет. У поросят развивается понос серо-зеленого цвета неприятного запаха, иногда с кровью. Иногда проявляются нервные признаки: дрожь, плавательные движения конечностей. Температура тела в норме или на 0,5°С выше нормы. Заболевание длится 2-3 дня и заканчивается гибелью с признаками интоксикации. Спустя 3-4

недели заболевание начинается на подсосных поросятах 10-15 дневного возраста. Они заражаются от свиноматок – носителей P. aeruginosa, или от больных поросят раннего возраста или через инфицированные помещения, станки, предметы ухода, кормушки, спецодежду обслуживающего персонала. В данном случае энзоотическая вспышка протекает остро. Температура тела повышалась до 41°С, снижает или полностью отсутствует аппетит, развивается конъюнктивит, ринит и профузный понос иногда с примесями крови и слизи. У некоторых поросят наблюдаются нервные явления. Они падают и совершают конечностями плавательные движения, отмечаются судороги, они ударяются головой о стенки станков, перегородки, полы, нанося ссадины и кровоподтеки, выявляемые при вскрытии. Продолжительность болезни 2-5 дней.

Энзоотии псевдомоноза у поросят после отъема регистрируются реже, чем у подсосных. Эти энзоотии протекают также остро и подостро и причины их возникновения уже другие, чем у поросят подсосного периода. Причиной вспышки заболевания может быть мясокостная мука, которая дается в качестве белково-минеральной подкормки. Заболевание в этом случае начинается с лучших поросят, которые большей поедают обсемененной мясокостной муки и протекает остро. Первые 3 дня выделяются единичные больные, а потом по несколько десятков поросят. Лечение антибиотиками мало эффективно и через 2-3 дня поросята погибают. У поросят температура тела поднимается до 40,8-41,2°С, снижается аппетит (до полного отказа от корма), появляется жажда, шаткая походка. У некоторых животных понос со сгустками крови и слизью.

У отдельных поросят развиваются клонические судороги. Если болезнь затягивается, то поросята худеют, слабеют, отстают в росте. Признаки поражения желудочно-кишечного тракта как бы ослабевают, а появляются признаки поражения дыхательных путей (легких). Развивается кашель, одышка.

<u>У свиноматок</u> псевдомоноз сопровождается абортами, мертворождениями и синдромом мастит-, метрит-, агалактия (ММА) и, как правило, с массовыми осложнениями. При бактериологических исследованиях маточных выделений, часто выделяется целый букет микроорганизмов: P.aeruginosa, E. Coli, P.vilgaris, P.mirabieis, Streptococcus sp. И грибы (Aspergilis, Candida и др.).

Абортами проявляются за 15-20 дней до ожидаемых опоросов и мертворождениями, рождением слабого приплода. Иногда абортированные плоды бывали разложившиеся, иногда целыми с кровоизлияниями в почках, на сердце, гидроперикардиды, с перерожденной печенью. Родившиеся поросята до 45-65% бывают слабыми, гипотрофными, у них после приема молозива отмечается диарея, обезвоживание и быстрая гибель. У свиноматок после опороса отмечается повышение температуры тела на 0,5-0,8°С и обильные слизисто-гнойные истечения из родоповых путей, маститы и

прекращение лактации на 20-25 день.

Слизисто-гнойные выделения у свиноматок через 5-7 дней прекращаются они приходят вовремя в охоту их осеменяют, выделения опять возобновляются и плодотворно оплодотворяются только 60-68%.

Хряки-производители инфицированные P.aeruginosa клинические признаки заболевания проявляют редко. У некоторых отмечается снижение половой активности, они не охотио идут на чучело и объем эйякулята, иногда бывает меньше, чем обычно. Только у отдельных регистрируется трудно излечимые баланопоститы, изъязвление слизистой препуциальной полости и при садке на чучело отмечаются кровянистые пенистые истечения из препуция. Качество спермы снижается по загрязнениости и активности. Носительство определяется бактериологическими исследоваииями спермы, смывов из препуциальной полости.

У овец псевдомоноз протекает в виде септицемии. Первоиачально заболевают ослабленные животные, а затем по мере увеличения восприимчивых животных болезнь приобретает массовый характер. У больных овец отмечается постоянная лихорадка, потеря аппетита, увеличение частоты пульса и дыхания выделения из носовой полости. Нередко развиваются дерматиты и местами нарушается шерстный покров в области головы, живота и задних конечностей.

У пушных зверей синегнойная инфекция протекает остро и сверхостро. Клинические признаки проявляются незадолго до смерти. У норок болезнь проявляется плохим аппетитом, малой подвижностью, кровянистыми выделениями из ротовой и носовой полостей, пневмонией. Животных часто поднимают голову, стараясь облегчить дыхание, но вследствие нарастающего отека легких погибают. Иногда норки погибают без видимых признаков болезни.

Псевдомоноз у самок песцов проявляется массовыми абортами во второй половине беременности. После этого большинство погибает от развития сепсиса. У оставшихся в живых, из влагалища выделяется гнойная, густая жидкость, содержащая синегнойную палочку. У щенков болезнь проявляется сепсисом или поносом с наличием в каловых массах пузырьков газа. У некоторых животных, вследствие расхождения костей черепа выражена большеголовость, при этом пальпацией отчетливо ощущается флюктуация содержимого черепной коробки. У самцов заболевание проявляется гнойными воспалениями препуция и орхитами.

У птицы синегнойная палочка способна вызывать местные дифтероидные процессы в ротовой полости и гортани, подобные дифтериту кур. У цыплят заболевание чаще всего протекает остро, по типу токсикоинфекции, и характеризуется общим угнетением, поносом, слизистым истечением из клюва, периодическим вздутием зоба. Больные цыплята малоподвижны, нахохлившиеся, аппетит отсутствует, фекалии разжижены, пенистые, темно-зеленого цвета с примесью белых масс, периодически наблюдаются

судороги. Гибель наступает на 3-4-й день с момента появления клинических признаков. Широко распространено псевдомононосительство среди взрослой птицы и переболевших цыплят.

ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

На первый план выступают токсические и деструктивные явления, сопровождающиеся тяжелыми расстройствами кровообращения с выраженными воспалительно-пролиферативными изменениями во внутренних органах

При вскрытии павших телят в первую очередь обращает на себя внимание аигидремия, стаз крови в сосудах кишечника и брыжейки, катарально-геморрагическое воспаление слизистой тонкого отдела, иногда на ней встречаются точечные кровоизлияния и эрозии. Печень дряблая, бурого цвета, с участками просветления, что свидетельствует о наличии дистрофических изменений. На эндокарде, под капсулой почек и селезенки точечные и пятнистые кровоизлияния.

При паталогоанатомическом обследовании трупов поросят, павших при подостром течении болезни отмечается в первую очередь явления токсикоза: значительные поражения печени и почек. Печень немного увеличена. Дряблая, у части глинистого цвета, под пальцами разрушается. Желчный пузырь иногда переполнен желчью. Вокруг портальной вены кровоизлияния. Если заболевание осложняется токсинами грибов, то желчный пузырь переполнен вязкой желчью с диффундированием ее в окружающие ткани.

Почки немкого увеличены, размягчены, с кровоизлияниями по поверхности и в корковом слое. Граница коркового и мозгового слоев сглажена, лоханка увеличена, иногда в лоханке сгустки гноя (пиелонефрит). Слизистая мочевого пузыря иногда с кровоизлияниями.

Слизистая желудка бывает отечна, иногда складчата и местами изъязвлена. Катарально-гемморагическое воспаление с кровоизлияниями. Слизистая тонкого и толстого отделов катарально воспалена, в толстом отделе местами кровоизлияния с выпотом крови в просвет кишки.

Сердце дряблое, гидроперикардит, часто на миокарде кровоизлияния.

Лимфоузлы увеличены. Сочные с кровоизлияниями. Оболочки головного мозга отечны, сосуды инъецированы. Сверхострое и острое течение протекает реже и подобных паталогоанатомических изменений не устанавливали. Отмечали общий септический процесс с кровоизлияниями во внутренних органах и иногда в подкожную клетчатку.

Если течение болезни осложнялось сальмонеллеом, отечной болезнью и другими заболеваниями, то картина патвскрытия бывает мало характерна для какой-то одной инфекции.

У коров и свиноматок основные изменения обнаруживаются в матке и яичниках: серозно-катаральные, гнойно-некротические эндометриты и ги-

плазия и кистоз яичников. Нередко поражены яйцеводы, которые находятся в стадии воспалительной инфильтрации, а на слизистой оболочке отмечено образование полипообразных выступов.

У быков и хряков-производителей хроническое воспаление препуция, уретры, семенников и их придатков. Нередко в семенниках и мочеполовом канале обнаруживается разрастание фибринозной ткани и обширные кровоизлияния.

У норок патологоанатомические изменения регистрируются преимущественно в легких. Они отечны, темно-вишневого цвета, уплотнены и при опускании в воду кусочки легких тонут. В трахее и бронхах кровянистая пенистая масса. Селезенка увелнчена, вишневого цвета. Печень дряблая, сухая, с признаками жировой дистрофии.

У абортировавших самок песца обнаруживают фибринозную инфильтрацию и некроз слизистой оболочки матки. В полости матки густая гноевидная жидкость. У павшнх щенков песца осиовные изменения находятся в кишечнике, который гиперемирован, местами на слизистой отчетливо просматриваются точечные кровоизлияния. При увеличении объема черепной коробки, в желудочках головного мозга обнаруживается скопление большого количества желтой, гноевидной, густой консистенции жидкости.

При вскрытии павшей птицы находят выраженное кровенаполнение внутренних органов, особенно печени, которая увеличена в размерах, дряблой консистенции, темно-красного цвета. Селезенка увеличена, пульпа рыхлая. Почки гиперемированы, отмечается значительное увеличение паренхимы. Сосуды брыжейки инъецированы, брюшина зеленоватого цвета, в кишечнике - признаки катарального воспаления.

Патологоанатомическая картина при псевдомонозе сходна с изменениями при других бактериальных инфекциях (колибактериозе, сальмонеллезе, стрептококковой инфекции), в ассоциации с которыми он может вызывать патологический процесс. Поэтому для окончательного решения вопроса об этиологии болезни в хозяйстве, необходимо проведение лабораторного исследования патологического материала, с определением патогенности выделенного возбудителя и его чувствительности к антибактериальным препаратам.

ДИАГНОЗ

С учетом разнообразия клинического проявления и патологоанатомнческих изменений при синегнойной инфекции решающее значение при постановке днагноза отводится бактериологическим исследованиям, в ходе которых не только выделяют P.aeruginosa, но и выясняют ее этиологическую роль.

При взятии патологического материала для выделения культуры синегнойной палочки соблюдают те же правила, что и при лабораторной диаг-

ностике других бактериальных инфекций:

- материал берут от животных не подвергавшихся лечению с использованием антибактериальных средств;

- для исследования используют свежие (в первые 6 часов после гибели) трупы, отдельные органы, ткани, выделения и др. от павших, вынужденно убитых или больных животных с учетом наибольшей концентрации возбудителя в патологическом материале. Исключают: колибактериоз, пастерелез, сальмонеллез, стрептококкоз.

Этапы идентификации и типирования культур синегнойной палочки

I этап. Определение рода - Pseudomonas:

1) рост на среде с N-цетилпиридинием хлоридом;
2) образование цитохромоксидазы;
3) образование аргининдегидролазы;
4) окисление глюкозы в аэробных и анаэробных условиях.

Среда с N-цетилпиридинием хлоридом (ЦПХ):

Пептон ферментативный	- 20,0 г
Калий сернокислый	- 7,0 г
Маргий хлористый	- 15,0 г
Магний сернокислый	- 15,0 г
ЦПХ	- 2,0 г
Агар-агар	- 10,0 г
Вода дистиллированная	- 1000 мл

Растворить агар-агар в теплой воде, затем добавить остальные ингридиенты, довести до кипения довести pH до 6,8-7,0, профильтровать, и кипятить 2-3 мин., разлить в чашки.

Цитохромоксидазный тест: характерным для псевдомонад является наличие у них цитохромоксидазной активности. Готовят смесь, состоящую из 3 частей 1% водного раствора тетраметилпарафенилендиамина дигидрохлорида или диметилпарафенилендиамина гидрохлорида и 2 частей 1% спиртового раствора а-нафтола. Приготовленную смесь наносят каплями на выросшие в чашках колонии. При положительной реакции они в течение 20-30 сек становятся темно-синими.

Окисление глюкозы: для определения способности культур синегнойной палочки к окислительному усвоению глюкозы (окисление без ферментации) последние засевают в две пробирки с 4 мл среды Хью-Лейвсона, в одну из которых предварительно наслаивают 0,5 мл стерильного вазелинового масла. Инкубируют пробирки в течение 24-48 часов при 37°С. При положительной реакции в первые сутки изменяется цвет индикатора. Штаммы синегнойной палочки в аэробных условиях образуют кислоту без газа, а в

анаэробных условиях ферментация отсутствует.

Среда Хью-Лейвсона: пептон - 2 г, натрий хлористый - 5 г, калий фосфорнокислый двухзамещенный - 0,3 г, агар-агар - 3 г, вода дистиллированная - 1000 мл, 0,2% водного раствора бромтимоловый голубой - 15 мл. Стерилизуют 20 мин при 115°С, добавляют стерильный раствор глюкозы или другой углевод до 1% концентрации. Все ингредиенты смешивают, разливают по 10 мл в пробирки диаметром не более 10 мм.

Тест для определения аргининдегидролазы: полоски бумаги (ватман 3 М) размером 5,0х0,5 см пропитывают 0,03 М раствором аргинина и просушивают. Раствор аминокислоты готовят по прописи: аргинин солянокислый 63 мг + 10 мл 0,0125 М фосфатного буфера рН 5,0. Фосфатный буфер готовят следующим образом: 1,19 г $NaHPO_4$ + 100 мл дистиллированной воды (I); 0,9 г KH_2PO_4 + 100 мл дистиллированной воды (II); 2 мл (I) + 18 мл (II) - раствор (III); 10 мл (III) + 40 мл дистиллированной воды - фосфатный 0,0125 М раствор, рН 5,0.

Суспензию агаровой 18-24 часовой культуры в изотоническом растворе хлорида натрия в объеме 0,2 мл наливают в пробирку Флоринского, в нее помещают бумажную полоску, пропитанную аргинином, и инкубируют при 37°С 2 ч, после чего на полоску наносят 1-2 капли 0,04% спиртового раствора индикатора бромкрезолового красного. В случае ферментации аминокислоты окраска полоски становится фиолетовой, а при ее отсутствии - желтой.

II этап. Определение вида – P.aeruginosa:

1) образование пигмента пиоцианина;
2) рост при 42°С и отсутствие роста при 5°С;
3) гидролиз ацетамида;
4) восстановление нитратов в нитриты;
5) гидролиз желатины

Среда с ацетамидом:

Натрий хлористый	- 5,0 г
Магний сернокислый	- 0,2 г
Аммоний фосфорнокислый однозамещенный	- 1,0 г
Калий фосфорнокислый двузамещенный	- 1,0 г
Ацетамид	- 20,0 г
Агар-агар	- 15,0 г
Вода дистиллированная	- 1000 мл

стерилизовать в автоклаве при 120°С в течение 20 мин рН 6,7.

Среда Кинг А (для выявления образования пиоцианина):

Пептон	- 20,0 г

Калий сернокислый	- 10,0 г
Магний хлористый	- 1,4 г
Глицерин	- 10,0 г
Агар-агар	- 20,0 г
Вода дистиллированная	- 1000 мл

Среда Кинг Б (для выявления образования флуоресцина)

Пептон	- 20,0 г
Глицерин	- 10,0 г
Калий фосфорнокислый двузамещенный	- 1,5 г
Магний сернокислый	- 1,5 г
Агар-агар	- 20,0 г
Вода дистиллированная	- 1000 мл

Определение пиоцианина: в пробирку с бульонной культурой, при появлении зеленого окрашивания, добавляют 3-4 капли хлороформа и доводят pH среды до 7,8-8,0, затем ее сильно встряхивают. Синее окрашивание капелек хлороформа свидетельствует о наличии пиоцианина, и свидетельствующего о присутствии в среде наличия Psendomonas aeruginosa.

Разжижение желатина: желатин является растворимым белком, поэтому бактерии, обладающие ферментом желатиназой, разжижают его гидролизом. Подвергаясь ферментативному воздействию, желатин теряет свои желирующие свойства, оставаясь жидким и при низкой температуре (меньше 25^{0}С). Для учета результата засеянные пробирки с желатином охлаждают в вертикальном положении. Состав среды:

бульон Хоттингера стерильный	- 1000 мл
желатин пищевой высшего сорта	- 100 г

Желатиназную активность можно определять и по росту на желатиновом агаре. После 72 ч инкубации при 37^{0}С поверхность агара с бактериальным ростом орошают 5-10 мл 1%-ного раствора ртутно-хлористой кислоты. При положительной реакции вокруг колоний появляются светлые зоны.

Идентификацию P.aeruginosa по биохимической активности можно также проводить с помощью Nefermtest фирмы «Лахема».

III этап. Типирование штаммов и определение вирулентных свойств

Типирование выделенных культур синегнойной палочки осуществляют тремя методами: серологическим, с помощью пиоцианина и фага. Наибольшее распространение получило серологическое типирование методом агглютинации на стекле, с использованием набора сывороток из 20 О-серотипов.

Типирование применяется для выявления наличия или отсутствия штам

мов синегнойной палочки, определения преобладающих специфических серотипов; обнаружения идентичности штаммов, выделенных от больных животных и из окружающей среды; выявления доминирования штаммов специфических серотипов в определенный промежуток времени.

Для определения вирулентных свойств синегнойной палочки используют взвесь на физиологическом растворе суточных агаровых культур, с концентрацией 1 млрд м.к. в 1 мл, которую внутрибрюшинно вводят белым мышам в объеме 0,5, белым крысам - 2 мл и кроликам - 5 мл.

IV этап. Определение антибиотикограммы

Для определения чувствительности возбудителя к антибиотикам в большинстве случаев используют метод диффузии в агар (метод дисков или лунок). Для этого применяют агар АГВ, в качестве инокулята – 15-18 мл бульонную культуру стандартизированную по оптическому стандарту ? 5, 10-кратно разведенную изотоническим раствором хлорида натрия. Инокулят в количестве 1,5-2 мл наносят на подсушенный агар (толщина слоя 4 мм), удаляют его избыток, подсушивают в течение 30-40 мин и раскладывают диски (6-7) или в подготовленные лунки (d=6 мм) закапывают растворы препаратов в объеме 0,02 мл, содержащих эквивалентные дискам количества антибиотиков. Результаты оценивают по таблице, в которой приведены пограничные значения диаметров зон задержки роста (табл.3).

Таблица 3
Интерпритация значений диаметров зон задержки роста
при определении чувствительности синегнойной палочки к антибиотикам

Антибактериальный препарат	Содержание препарата в диске (лун-ке), мкг, ЕД	Диаметр зон (мм) для культур		
		устойчивых	промежуточных	чувствительных
Бензилпенициллин	10	≤ 10	11-16	≥ 17
Ампициллин	10	≤ 9	10-13	≥ 14
Карбенициллин	100	≤ 11	12-14	≥ 15
Азлоциллин	75	≤ 13	14-16	≥ 16
Цефазолин	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефаклор	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефалексин	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефалотин	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефуроксим	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефокситин	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Цефотаксим	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Пиперациллин	100	≤ 17	-	≥ 18

Антибактериальный препарат	Содержание препарата в диске (лун-ке), мкг, ЕД	Диаметр зон (мм) для культур		
		устойчивых	промежуточных	чувствительных
Оксициллин	10	≤ 15	16-19	≥ 20
Линкомицин	15	≤ 19	20-23	≥ 24
Левомицетин	30	≤ 15	16-18	≥ 19
Олеандомицин	15	≤ 12	13-17	≥ 18
Эритромицин	15	≤ 17	18-21	≥ 22
Тетрациклин	30	≤ 16	17-21	≥ 22
Доксициклин	10	≤ 15	16-19	≥ 20
Рифампицин	5	≤ 12	13-15	≥ 16
Полимиксин М	300	≤ 11	12-14	≥ 15
Стрептомицин	30	≤ 16	17-19	≥ 20
Канамицин	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Неомицин	30	≤ 12	13-16	≥ 17
Гентамицин	10	≤ 15	-	≥ 16
Тобрамицин	10	≤ 14	-	≥ 15
Сизомицин	10	≤ 15	-	≥ 16
Амикацин	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Апрамицин	10	≤ 15	-	≥ 16
Ципрофлоксацин	5	≤ 15	16-20	≥ 21
Офлоксацин	5	≤ 12	13-16	≥ 17
Пефлоксацин	5	≤ 12	13-16	≥ 17
Энрофлоксацин	5	≤ 15	16-19	≥ 20
Норфлоксацин	5	≤ 12	13-15	≥ 16
Нитроксолин	30	≤ 16	17-19	≥ 20
Диоксидин	30	≤ 14	15-18	≥ 10

ИММУНИТЕТ

Неспецифический и специфический иммунитет условно можно подразделить: антимикробный (факторы, сдерживающие рост бактерий и обеспечивающие нормальный фагоцитоз) и антитоксический иммунитет (факторы, нейтрализующие токсические свойства некоторых экстрацеллюлярных продуктов метаболизма или поверхностных компонентов клеточной стенки).

Неспецифические механизмы защиты включают физический барьер эпителиальных поверхностей тела, слизистых оболочек респираториого и желудочно-кишечного тракта. Кроме того, слизистые оболочки покрыты секретом, содержащем вещества с антимикробной активностью (лизоцим, лактоферии, интерферон и компоненты комплемента). Кислотность желудоч-

ного сока для синегнойной палочки губительна. Кожа имеет кислый pH и обеспечивает механический барьер для возбудителя синегнойной инфекции. Кроме того, макрофаги и нейтрофильные лейкоциты фагоцитируют некапсулированные бактерии.

Гуморальный иммунитет представлен антитоксическими антителами нейтрализующие соответствующие токсины.

Эти антитела являются протективными и содержатся в основном в IgM фракции.

Антимикробный иммунитет в отношении синегнойной инфекции обеспечивается наличием иммуноглобулинов классов - M и G, которые при наличии их в крови участвуют в защите от инфекции, а JgG, обладая меньшим размером молекулы, способны проникать в интерстициальную жидкость и оказывать свое действие.

Естественные («природные») антитела к синегнойной палочке обнаружены в сыворотке крови многих видов животных и человека, которые в течение всей жизни неоднократно, а иногда и постоянно контактируют с этим микроорганизмом.

Состояние гуморального иммунитета имеет основное значение для защиты от синегнойной инфекции. Исходя из этого, можно предположить, что наиболее значительные патогенетические механизмы развития инфекционного процесса, вызываемого синегнойной палочкой, связаны с подавлением или функциональным повреждением гуморальной иммунной системы организма.

Следовательно, при лечении и профилактике псевдомоноза следует обязательно рекомендовать применение препаратов, направленных на иммунокоррекцию организма.

ПРОФИЛАКТИКА

Основой общей профилактики псевдомоноза является соблюдение высокой санитарной культуры ведения животноводства, птицеводства и пушного звероводства.

Для предупреждения желудочно-кишечных расстройств у новорожденных телят, обусловленных синегнойной палочкой, строго соблюдают принцип «пусто-занято». В зависимости от количества коров и нетелей на ферме необходимо иметь два или три сменных профилактория. При наличии на ферме одного профилактория в случае возникновения псевдомоноза следует сделать перерыв в работе родильного отделения и профилактория. Неотелившихся коров отправляют в коровник, телят из профилактория переводят в телятник для группового содержания, после чего помещения подвергают механической чистке и двукратной дезинфекции горячим раствором 2-3%-ного едкого натра или 2%-ного формалина или 3% р-ром хлорамина. Дезинфицируют также предметы ухода, посуду, спецодежду.

Во время проведения санитарных обработок растел проводят в коровниках. Для приема телят клетки приспосабливают в тамбурах или в торцовых частях помещений и содержат в них 7-10 дней.

В летний период целесообразна санация стационарных родильных отделений и профилакториев. Растел коров и содержание новорожденных телят проводят в летних лагерях.

Дезинфекцию кожных покровов, копытец и задней части туловища у беременных животных проводят перед родами, а вымени - перед каждым доением. Для этого используют растворы калия перманганата, йодинол, хлорамин и другие препараты не раздражающие кожу. Текущую дезинфекцию в родильном отделении проводят ежедневно. В профилактории каждые 3-4 дня проводят аэрозольную дезинфекцию, молочной, муравьиной, борной кислотой (с помощью генераторов) или хлорной известью со скипидаром (возгонкой).

Аналогичные мероприятия осуществляют в свиноводстве. За 7-10 дней до опороса супоросных свиноматок переводят в индивидуальные станки свинарника-маточника, разделенного на секции. Предварительно у свиноматок обрабатывают кожный покров и конечности дезинфицирующими средствами (0,5% раствор лизола, формальдегида или едкого натра).

В теплое время года опоросы целесообразно проводить в летних лагерях.

Соблюдают профилактические перерывы в технологическом цикле содержания и выращивания свиней, необходимые для проведения санитарного ремонта станков, систем навозоудаления и вентиляции, очистки, мойки, дезинфекции (влажной и аэрозольной), просушки помещений. В свинарниках поддерживают оптимальные параметры микроклимата.

После каждого случая падежа, аборта, а также освобождения станка в свинарнике-маточнике проводят дезинфекцию. Для влажной дезинфекции используют горячий 2% раствор едкого натра или 2% формалина или 1% раствор хлорамина.

В птицеводческих хозяйствах обеспечивают своевременный сбор, сортировку и дезинфекцию яиц на всем этапе поступления их из производственных цехов в цех инкубации. Эффективна система глубинной обработки яиц перед закладкой в инкубатор, которая проводится в два этапа:

1 этап. Обработка яиц ультрафиолетовыми лучами в течение 2,5 мин, мойка их водопроводной водой и обработка 0,02%-ным хлоргексидином в течение 1 мин.

2 этап. Яйца обрабатывают в вакуумной ванне с раствором, содержащим 0,06% диоксидина, 0,02% гентамицина и 0,5% фармазина при вакууме 0,4 атм. в течение 5 мин, а затем при давлении 0,4 атм 5 мин.

Эффективна аэрозольная дезинфекция. С этой целью используют формалин 15-20 мл/м^3 при экспозиции 12-20 час, надуксусную кислоту 20-25 мл/м^3 в течение 12 час, 24% глутаровый альдегид 20 мл/м^3 - 24 час. Перед

дезинфекцией помещения освобождают от животных.

Для аэрозольной дезинфекции помещеиий в присутствии животных используют 40% раствор молочной кислоты, 20% раствор резорцина, 20% раствор йодтриэтиленгликоля из расчета 0,1-0,5 мл/м^3 при экспозиции 20-30 мин., распыления в которых осуществляют с помощью генераторов.

Ежеквартально, а при необходимости чаще, проводят контроль за состоянием обменных процессов у животных, а также бактериологические и микотоксикологические исследования кормов.

С целью повышения резистентности организма молодняка и взрослых животных в рационы необходимо вводить витаминно-минеральные премиксы. Для нормального формирования кишечного микробиоценоза целесообразно новорожденным животным применять пробиотические препараты: АБК, БАМИК, ПАБК, препараты сенной палочки, бифидо- и лактобактерий.

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

Вакцины против синегнойной инфекции готовят различными методами: из живых бактериальных суспензий, взвесей, убитых нагреванием, фенолом, формалином; из культуральных фильтратов, экстрактов клеточных стенок, мембран и слизи, включая ЛПС, полисахариды и гликолипопротеиды.

В настоящее время для специфической профилактики псевдомоноза норок используются биофабричные, моновалентная формолквасцовая и ассоциированная вакцина против вирусного энтерита, ботулизма и псевдомоноза биофабричного производства. Для профилактики болезни других видов животных и птицы применяются вакцины из местных штаммов.

Большим спросом в звероводческих хозяйствах пользуется вакцина «Бионор», которая содержит сбалаисированные в антигенном и иммуногенном отношениях производственные штаммы вируса энтерита норок н вируса чумы плотоядных из штамма ЭПМ, анатоксин ботулизма типа С, наиболее часто встречаемые серовары возбудителя псевдомоноза. При возникновении заболевания всех зверей в очаге инфекции (шеде) обрабатывают поливалентной сывороткой или глобулином в соответствии с наставлением, а остальных зверей хозяйства иммунизируют имеющейся в наличии вакциной.

Сыворотки крови животных, гипериммунизированных различными серогруппами синегнойной палочки, предохраняют восприимчивых животных от заражения гомологичными и гетерологичными штаммами возбудителя.

Эффективно комбинирование пассивной и активной иммунизации.

ЛЕЧЕНИЕ

В качестве средств этиотропной терапии при синегнойной инфекции наиболее эффективными являются антипсевдомонадные пенициллины - карбенициллин, азлоциллин, пиперациллин; аминогликозиды - амикацин, гентамицин, тобрамицин; цефалоспорины 3-го поколения - цефзулодин, цефоперазон, цефтазидин, цефотаксим; фторхинолоны - энрофлоксацин, пефлоксацин, абоктан, норфлоксацин, ципрофлоксацин; 8-оксихинолины-нитроксалин, хинозол; хиноксалины - диоксидин. Контроль эффективности применения антибиотиков проводится определением антибиотикограммы.

Исходя из того, что синегнойная палочка у сельскохозяйственных животных и птиц вызывает заболевания с различными клиническими проявлениями, имеют место некоторые особенности при их терапии.

Наиболее эффективны следующие схемы применения препаратов: канамицин-сульфат и неомицин из расчета 200 мкг/м^3 4 дня подряд 1 раз в сутки с экспозицией в 1 ч; гентамицин - 200 мкг/м^3 в течение 4 дней 1 раз в сутки экспозицией 45 мин. Эффективны также фторхинолоны, которые назначают один раз в сутки с водой или кормом.

Телята. В качестве этиотропных средств при псевдомонозе чаще используют антибиотики аминогликозидного ряда, полимиксин М, карбенициллин и фторхинолоны. Препараты применяют в дозах: стрептомицин - 3-5 мг/кг 2 раза в день внутримышечно; неомицин - 5-10 мг/кг 3 раза в день внутримышечно; канамицин - 5-10 мг/кг 2 раза в день внутримышечно; гентамицин - 1,5-2 мг/кг 3 раза в день внутримышечно; апрамицин - 10-20 мг/кг 2 раза в день перорально; сизомицин - 1-2 мг/кг 2 раза в день внутримышечно; полимиксин М - 3-4 мг/кг 3 раза в день перорально; карбенициллин - 50-100 мг/кг 3 раза в день внутримышечно; энрофлоксацин - 2,5 мг/кг 1 раз в день внутримышечно; пефлоксацин - 5 мг/кг 1 раз в день внутримышечно; цефотаксим в дозе 100 мг/кг 2 раза в день внутримышечно; нитроксолин - 5 мг/кг 2 раза в день перорально; диоксидин - в дозе 10-15 мг/кг 2 раза в день внутрь или внутривенно в виде 1% раствора.

Терапевтический эффект повышается при одновременном применении карбенициллина с гентамицином или тобрамицином, цефалоспоринов с амикацином или тобрамицином, полимиксина М с тетрациклином. Введение в схему терапии нитрофуранов и сульфаниламидов повышает лечебный эффект за счет действия их на ассоциантов синегнойной палочки - различных представителей энтеробактерий (E.coli, Proteus, Citrobacter, Providencia и др.).

Наряду с применением средств этиотропной терапии необходимо проведение регидратации и назначение препаратов, повышающих неспецифическую резистентность.

Регидратация позволяет корректировать гемоконцентрацию и снижение

микроциркуляции крови в результате инстенсивного выведения воды из межклеточного пространства; общий дефицит в организме калия, натрия и хлоридов; ацидоз, обусловленный потерями бикарбонатов и анаэробным обменом; гипогликемию и дефицит энергии в целом. Для пероральной регидратации используют рекуральтан, лерс, стартин, ветсептол, калинат, ветглюкосалан. При отстуствии сосательного рефлекса целесообразно проводить инфузионную терапию с использованием растворов Рингера, Шарабрина или физиологического раствора.

Из средств патогенетической терапии эффективны витаминные препараты, которые при диспептических расстройствах применяют парентерально в виде масляных (витамины А и Д) и водных растворов (витамины группы В, аскорбиновая кислота, никотиновая кислота). При назначении витаминов А и Д соблюдают принцип соотношения их доз 6:1-10:1. Витамии А применяют из расчета 7-10 тыс. ЕД на 1 кг массы тела 1 раз в сутки, а витамин С (аскорбиновая кислота) в виде 5%-иого водного раствора (готовят асептически, но не кипятить!) в дозе 10-15 мл иа животное в течение 5-6 дней подряд. При появлении симптомов расстройства центральной нервной системы (судороги, параличи, парезы) назначают витамины из группы В (B_1, B_2, B_6, B_{12}). Для коррекции антиинфекционных механизмов и повышения эффективности антибактериальной терапии показано применение неспецифических иммуностимуляторов: нуклеонат иатрия 0,5-0,8 г – 1 раз в сутки, пентоксил – 0,4 г 2 раза в день, калия оротат – 100 мг/кг, нилверм 5% р-р 5 мл в/м, дибазол 10 мг/кг, метилурацил – 20 мг/кг, тималин – 2,5-5 мг/гол, янтарная к-та – 10 мг/кг и др.

Восстановление качественного и количественного состава нормальной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте и нормализации его функций осуществляют путем применения биологических препаратов: специфического псевдомонас бактериофага бифидобактерина, колибактерина, лактобактерина по 10-30 доз в сочетании с желудочным соком лошади или АБК, ПАБК по 3 мл/кг массы 3 раза в день за 10 мин до кормления молозивом или молоком, а также с ветома-1.1, стрептобифида, бифитрилака, ромакола и др.

Поросята. Лечение то же, что при псевдомонозе у телят. Особенностью является то, что регидратационные препараты эффективнее применять в виде внутрибрюшинных иифузий.

Терапия быков и хряков-производителей при псевдомонозе сводится к проведению общих мероприятий и местному применению лекарственных средств. Быков и хряков-псевдомоноиосителей изолируют, от них прекращают взятие спермы, а уже собранную консервируют и не пускают в работу. Из антибактериальных препаратов эффективны: 1%-ный сульфадиазин серебра, 4-10%-ный сульфамилон (мафенид), 0,5%-ный нитрат серебра, гентамициновые покрытия. Для местной терапии (промывание препуция) используют также 0,5%-ный раствор полимиксина и 0,25%-ный раствор нео-

мицина с протеолитическими ферментами, 5%-ный раствор борной кислоты, 1%-ный раствор уксусной и молочной кислот, 0,1%-ный раствор солафура, 0,5% раствор хинозола. В качестве аппликаций используют комбинацию полимиксина М с 10%-ной стрептоцидной мазью или рыбьим жиром и вазелиновым маслом. Наиболее высокий терапевтический эффект достигается при сочетании местного применения лекарственных средств с общей антибактериальной терапией в течение 4-5 дней (энрофлоксацины, норфлоксацин, гентамицин, ципрофлоксацин, абоктан и др.). При парентеральном введении антибиотиков первые их дозы должны быть максимальными ударными. При невысоком эффекте вводимый антибиотик следует заменить на другой.

Эффективна следующая схема лечения хряков-производителей: в препуциальную полость вводят 150-200 мл 2-3% раствора хлорамина, перекиси водорода, или раствор марганца в разведении 1:3000, зажимают кожную складку препуция и проводят массаж в течение 3 мин с целью извлечения гнойного эксудата. Затем дезинфицирующие растворы удаляют и вводят 100-150 мл водно-маслянной эмульсии полимиксина М (2 млн ЕД). Одновременно внутримышечно применяют полимиксин В (колистин) в дозе 1 млн ЕД. Препуций обрабатывается один раз в сутки, а полистин инъецируют два раза в сутки. Лечение осуществляется в течение 5 дней. Вместо хлорамина препуциальную полость производителей можно промывать 5% р-ром энрофлона в течение 5 дней подряд.

Через 6-10 дней после лечения с интервалом в 5 дней проводят бактериологические исследования спермы и смывов из препуциальной полости и при 3-кратных отрицательных результатах производителей считают здоровыми. Если синегнойная палочка продолжает выделяться, то лечение повторяют с учетом чувствительности возбудителя к антибиотикам.

Для лечения хряков внутрь примеияют также коливет по 12 г 1 раз в сутки в течение 5 дней, 5% раствор лазина в дозе 10 мг/кг 1 раз в день 3 дня подряд. Ежедневно у хряков промывают полость препуция 2-3% раствором хлорамина или перекиси водорода.

Для лечения быков и хряков можно используют препарат лефуран или аналогичные ему средства, имеющие в своем составе диметилсульфоксид (ДМСО), в который можно дополнительно ввести энрофлоксацин или пефлоксацин в концентрации 0,1%. Целесообразно назначить уросептики: уротропин, нитроксолин, калидиксовую кислоту, норфлоксоцин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин

Для саиации спермы быков и хряков-производителей используют полиген или ГАМП-комплексе антибактериальные препараты на основе различных антибиотиков.

При эндометритах используют: гинобиотик по 1-3 коровам и 1-2 таблетки свиноматкам внутриматочно с интервалом 48 г; метригент - 200 внутриматочно по 1-2 таблетки с интервалом 72 ч; экзутер П внутриматочно

коровам по 2-4 таблетки, свиноматкам 2 таблетки однократно либо с интервалом 24 ч., 5% масляную суспензию эндофарма и жироформ-плюс внутриматочно в дозе 120-150 мл. При применении последнего нейротропных и гормонально средств не назначаются. Из других этиотропных средств при эндометритах применяют также йодоксид в дозе 150-200 мл с интервалом 72-96 ч; спумосан в дозе 50-70 мл один раз в 5-7 дней.

При маститах, обусловленных или осложненных синегнойной палочкой, применяют мастисан-Б по 5-10 мл интрацистернально с интервалом 12 ч 2-3 дня подряд; мастилекс и мастимикс один раз в сутки 3-4 дня подряд; тетра-дельта один раз в сутки в течение 2-3 дней. Кроме того, эффективные этиотропные средства, вводят парентерально: гентамицин в дозе 1,5-2 мг/кг, энрофлоксацин 2,5-3 мг/кг, пефлоксацин 5 мг/кг.

Пушные звери. Для их лечения в начале эпизоотии эффективно применять внутримышечно полимиксин в сочетании с тетрациклином (по 20-30 тыс.ЕД) или гентамицин + карбенициллин (соответственно 2-5 мг/кг и 250-400 мг/кг), а также препараты энрофлоксацина и пефлоксацина парентерально и перорально соответственно в дозах 2,5 мг/кг и 5 мг/кг.

Птица. Наиболее целесообразен аэрозольный метод терапии с охватом большого поголовья.

Эффективны препараты полисепт и катапол из расчета 1 мл/м^3 1% водного раствора. Распыление проводят в закрытом помещении аппаратами САГ-1 или САГ-10, при экспозиции 30 мин, двукратно 2 дня с 5 дневными перерывами.

Для снижения бактериальной обсемененности в инкубатории рекомендуется обработка 1% раствором дезосредств на основании четвертичных аммониевых соединений (ВВ-1, ВВ-5, сепустин).

С введением в действие настоящих методических рекомендаций утрачивают силу "Методические указания по лабораторным исследованиям на псевдомоноз животных и птиц", утвержденных ГУВ Госагропрома СССР от 14 ноября 1988 г. № 432-3.

Отпечатано ООО «ЮгПолиграф».
353680, г. Ейск, ул. Армавирская, 45. VIII-2003 г.
Заказ № 600. Тираж 500 экз.

gost.e-ecolog.ru