

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.09.02 Пищевые токсикозы и токсикоинфекции

Направление подготовки : 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза»

Профиль образовательной программы: Ветеринарно-санитарная экспертиза

Форма обучения: очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	3
1.1 Лекция № 1 Введение в дисциплину	3
1.2 Лекция № 2 Эшерихиозы	6
1.3 Лекция № 3 Пищевой сальмонеллез	7
1.4 Лекция № 4 Отравления, вызванные бактериями «протей»	10
1.5 Лекция № 5 Кишечный иерсиниоз	12
1.6 Лекция № 6 Кампилобактериоз	13
1.7 Лекция № 7 Ботулизм	15
1.8 Лекция № 8 Микроорганизмы рода <i>Staphylococcus</i>	17
1.9 Лекция № 9 Микроорганизмы рода <i>Enterococcus</i>	19
1.10 Лекция № 10 <i>Bacillus anthracis</i>, как инфекционный агент вызывающий пищевое заболевание	20
1.11 Лекция № 11 Пищевые отравления, вызываемые <i>Bacillus cereus</i>	22
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ	24
2.1 Лабораторная работа № ЛР-1 Классификация бактериальных токсинов	24
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 Эндотоксины бактерий	26
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 Экзотоксины бактерий	27
2.4 Лабораторная работа № ЛР-4 Факторы патогенности диарегенных <i>E. Coli</i>	28
2.5 Лабораторная работа № ЛР-5 Энтеропатогенные кишечные палочки	29
2.6 Лабораторная работа № ЛР-6 Энтеротоксигенные кишечные палочки	30
2.7 Лабораторная работа № ЛР-7 Факторы патогенности сальмонелл	31
2.8 Лабораторная работа № ЛР-8 Сальмонеллез у свиней	32
2.9 Лабораторная работа № ЛР-9 Сальмонеллез у крупного рогатого скота	34
2.10 Лабораторная работа № ЛР-10 Санитарная оценка мяса и мясопродуктов при отравлениях животных бактериями «протей»	35
2.11 Лабораторная работа № ЛР-11 Классификация иерсиний	37
2.12 Лабораторная работа № ЛР-12 Лабораторная диагностика иерсиниоза	37
2.13 Лабораторная работа № ЛР-13 Клиническая картина при кампилобактериозе	39
2.14 Лабораторная работа № ЛР-14 Клиническая картина при ботулизме	41
2.15 Лабораторная работа № ЛР-15 Токсинообразование у стафилококков	42
2.16 Лабораторная работа № ЛР-16 Патогенез стафилококковой инфекции	43
2.17 Лабораторная работа № ЛР-17 Лабораторная диагностика стафилококковой инфекции	44
2.18 Лабораторная работа № ЛР-18 Токсинообразование у стрептококков	46
2.19 Лабораторная работа № ЛР-19 Возбудитель мыта: токсинообразование, патогенность, лабораторная диагностика	47
2.20 Лабораторная работа № ЛР-20 Возбудитель диплококковой инфекции: токсинообразование, патогенность, лабораторная диагностика	47
2.21 Лабораторная работа № ЛР-21 Возбудитель сибирской язвы: токсинообразование, патогенность, патогенез	48
2.22 Лабораторная работа № ЛР-22 Лабораторная диагностика сибирской язвы	50
2.23 Лабораторная работа № ЛР-23 Патогенность <i>Bacillus cereus</i>	50
2.24 Лабораторная работа № ЛР-24 Токсинообразование <i>Bacillus cereus</i>	52
2.25 Лабораторная работа № ЛР-25 Профилактика заболеваний, вызываемых <i>Bacillus cereus</i>	53

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1. 1 Лекция № 1 (2 часа).

Тема: «Введение в дисциплину»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. История развития учения о пищевых отравлениях.
2. Пищевая токсикоинфекция.
3. Пищевые токсикозы.
4. Пищевые инфекции.

1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. История развития учения о пищевых отравлениях.

Пищевые отравления были распространены во все периоды развития человеческого общества. Многочисленные ограничения в потреблении тех или иных продуктов, упоминающиеся во многих документах древности, свидетельствуют, что ценой большого числа жертв люди приходили к правильному определению вредности продукта или вида пищи. Еще на заре современной цивилизации возникла необходимость при убое животных отличать больных от здоровых, чтобы не допустить использование некачественного мяса для питания. В Древнем Египте существовала каста жрецов, которые определяли пригодность животных для получения от них мяса на пищевые цели. Связь между здоровьем населения и качеством пищи понимали народы эллинско-римской цивилизации. Некоторые элементы санитарной гигиены питания получили отражение в работах ученых того времени (Гиппократ, Демокрит, Цельсий, Гален). Так еще Ксенофонтом (400 лет до н.э.) дано классическое описание вспышки пищевых отравлений медом. Гиппократ и его ученики свидетельствовали об опасности употребления в пищу угрей. Плиний младший указывал на возможность отравления рыбой. Александр Македонский запрещал в походных условиях употребление рыбы. В Древней Греции существовал закон, запрещающий торговцам рыбой садиться до тех пор, пока рыба не будет распродана; указания об пищевых отравлениях имеются и у Галена.

Известны факты проведения определенных санитарно-гигиенических мероприятий в древнейшие времена народами Закавказья (Грузия, Армения, Азербайджан), Средней Азии и сопредельных с ними стран - Ирана, Аравии и др. Не случайно в древней медицине вопросам питания уделялось большое внимание (Абу-Али-Хусейн-Сина, Махмуд-Ибн-Ильяс, Мехитар, Гораций, Хонели и др.). Многие факты, дошедшие до нас в документах разных эпох убедительно свидетельствуют о распространении массовых пищевых отравлений. Особенно часто это происходит в периоды войн, когда люди питались случайной пищей, нередко длительно хранившейся и подвергшейся той или иной степени порчи. Так, в эпосе киргизского народа упоминаются отравления пищевыми продуктами воинов Манаса Великодушного.

В Германии в IX веке были известны отравления кровяной колбасой, в связи с чем под страхом строгих наказаний запрещалось употребление в пищу кровяных колбас. Поэтому в середине века в ряде городов Европы был организован элементарный санитарный надзор за продажей пищевых продуктов. В России данным вопросам так же уделялось значительное внимание.

В древнерусском литературном произведении «Домострой» отведено много места проблеме питания - обработке и хранению пищевых продуктов, их качеству.

В начале XVII века, в 1624 г. царь Михаил Федорович издал указ -память «для смотрения за печением и продажей хлеба». В 1629 г. были даны указания об упорядочении торговли пищевыми продуктами, закреплении ее на определенных местах с тем, чтобы каждым продуктом торговали в определенном ряду.

Указами Петра I предписывалось торговцам съестными припасами носить «кафтаны белые полотняные», а полки и скамьи, на которых торгуют, покрывать холщовыми покрывалами и «около шалашей иметь чистоту». В 1713 г. Петр I сенатским решением запретил продажу «худого мяса». В инструктивном письме от 1722г. он требовал наблюдения за мясниками и указывал, что лиц, виновных причислить к преступникам - бить кнутом и ссылат на каторгу.

В XVIII веке в России проводится ряд оздоровительных мероприятий, даются указания по борьбе с эпидемиями, впервые предпринимается попытка регламентировать питание в госпиталях и в детских учреждениях (воспитательном доме) и др. В это же время издается ряд медицинских сочинений, содержащих сведения о пищевых продуктах, их качестве. В 1745 г. выходит сочинение «Юности честное зерцало», где наряду с правилами поведения молодежи в обществе приведены сведения и о питании.

Однако мероприятия в области гигиены питания вплоть до середины XVIII века носили характер санитарного надзора, профилактики.

Эти «профилактические мероприятия», если их можно так назвать, основывались больше на опыте, чем на научных данных. В дальнейшем с развитием научных знаний в объяснении причин пищевых отравлений, создавались различные теории, среди которых наибольшее распространение получила теория о химической природе отравлений.

В прошлом столетии в объяснении пищевых отравлений господствовала птомаинная теория. Данный термин «птомаины» введен итальянским ученым Сельми, 1872 г. Учение о птомаинах, как о причине пищевых отравлений было общепринятым (птомаины - ядовитые вещества, образующиеся в продуктах при их гниении - кадаверин, путренин и др.),

Бурное развитие бактериологии в конце прошлого столетия в корне подорвало теорию о птомаинах и позволило найти правильный путь в определении этиологии пищевых отравлений. С этого периода бактериальная природа пищевых отравлений (токсикоинфекций) получает общее признание.

Первым, кто установил связь пищевых отравлений с употреблением мяса больных животных, был Боллингер. В 1876 г. на основе изучения большого количества фактического материала (17 вспышек при 2400 пострадавших) показал несомненную корреляцию между возникновением отравлений с заболеваниями убойных животных. Однако Боллингеру не удалось раскрыть характер и сущность этой связи. Это восполнил в 1888 г. А. Гертнер, который впервые выявил бактериальную природу пищевых отравлений. Он выделил, во время вспышки пищевого отравления в г. Франкенгаузене, из органов умершего человека и из мяса прирезанной больной энтеритом коровы микроорганизм одного вида.

Значительный вклад в изучение пищевых отравлений людей внес Ван Эрменгам, который в 1897г. расшифровал причину наиболее опасного отравления людей - ботулизма, выделив микроб, получивший название *botulus*, что означает колбаса.

Таким образом, этиологическая (причинная) роль микроорганизмов в большинстве пищевых отравлений людей стала все очевидней. Этот, научно обоснованный опыт позволил впоследствии расшифровать многие вспышки заболеваний у людей, обусловленные микроорганизмами, находящимися в продуктах питания.

2. Пищевая токсикоинфекция.

Обширная группа острых инфекционных заболеваний человека, вызываемых различными Мй-пробами и их токсическими веществами при употреблении инфицированных пищевых продуктов. Болезнь сопровождается повышением температуры, расстройством сердечно-сосудистых функций (вплоть до развития коллапса) и симптомами острого гастроэнтерита.

Возбудители пищевых токсикоинфекций составляют обширную группу бактерий (более 300 различных представителей), важнейшими из которых являются бактерии группы *Salmonella*, в том числе бактерии Бреслау (*S. typhi murium*), палочки Гертнера (*S.*

enteritidis Gartneri) и др. Помимо салмонелл, токсикоинфекций могут вызываться также условно патогенными бактериями (*B. proteus vulgaris*, *B. Morgani*, *B. coli*, *B. paracoli*), а также патогенными стафилококками. Токсикоинфекций, вызываемые условно патогенными микробами, возникают в случае массивного инфицирования продуктов питания, снижения защитных свойств организма и расстройства ферментации кишечника.

Основной причиной возникновения пищевых салмонеллезов является инфицированное мясо.

В случае прижизненного заражения микробы проникают в организм животных из кишечника.

Источником токсикоинфекции, вызванных патогенными стафилококками, как правило, бывают лица, занятые приготовлением пищи и имеющие гнойничковые заболевания кожи рук.

Особую опасность представляет измельченное мясо (фарш, паштет, холодец и др.), где микробы получают наиболее благоприятные условия для размножения.

К развитию патологического процесса при токсикоинфекциях ведет не только общая интоксикация организма бактериальными токсинами, накопившимися в пищевых продуктах, но также действие продуктов массового распада бактерий, являющихся возбудителями болезни.

3. Пищевые токсикозы.

Пищевые токсикозы бактериальные, болезни человека, возникающие при употреблении пищи, содержащей токсины некоторых патогенных бактерий, при отсутствии образующих токсины возбудителей. К токсинообразующим бактериям относятся в основном стафилококки, обладающие энтеротоксическими свойствами, и палочка ботулизма, пищевой токсикоз стафилококковой этиологии.

Пищевые токсикозы возникают обычно при наличии в инкриминируемом продукте (пище) не менее 50 000 патогенных стафилококков в 1 г.

Основные источники заражения пищевых продуктов патогенными стафилококками - человек (главным образом работники пищевых предприятий) и особенно - молочный скот, болеющий маститами, в том числе скрытыми.

Пищевые токсикозы, вызываемые палочкой ботулизма, в основном возникают при употреблении заражённых продуктов домашнего изготовления: консервированные грибы в герметически закрытых банках, консервы домашнего изготовления (овощные, фруктовые, мясные, рыба солёная, вяленая и копчёная).

Профилактика (в промышленных и домашних условиях): ограждение продуктов от попадания спор палочки ботулизма, соблюдение чистоты при обработке сырья; тщательная промывка грибов, овощей, фруктов от загрязнения землёй, пылью; быстрое удаление кишечника при послеубойной разделке туш; эвентрация рыбы (особенно красной) немедленно после её вылова, соблюдение условий и сроков хранения рыбы, упакованной в плёнку, посол рыбы только в охлаждённом состоянии.

4. Пищевые инфекции.

Пищевые инфекции – такие инфекционные заболевания, при которых пищевые продукты являются только передатчиками токсигенных микроорганизмов. Таким образом, в пищевых продуктах патогенные микроорганизмы не размножаются, но могут длительное время сохранять свою жизнеспособность и вирулентность.

Кишечные инфекции. К ним относятся брюшной тиф, паратифы А и В, дизентерия, холера. Возбудители этих заболеваний выделяются во внешнюю среду с фекалиями, которые попадают в воду и на пищевые продукты.

Возбудителями брюшного тифа и паратифа являются бактерии рода *Salmonella*.

Возбудителем холеры является *Vibrio cholerae*, который имеет форму палочки, изогнутой в виде запятой, подвижной, не образующей спор и капсул, грамтрицательной.

Возбудители кишечных инфекций сохраняют свою жизнеспособность на пищевых продуктах длительное время (от 10 – 20 дней до нескольких месяцев).

В предупреждении кишечных инфекций большое значение имеет соблюдение санитарно – гигиенических правил и личной гигиены работников на пищевых предприятиях, предохранение пищевых продуктов от контакта с бактерионосителями, борьба с мухами.

Зооантропонозы– инфекционные заболевания, которыми болеют и человек и животные. Эти инфекции передаются через зараженные продукты (молоко и молочные продукты, мясо и мясопродукты). К зооантропонозам относятся бруцеллез, сибирская язва, туберкулез, ящур.

1.2. Лекция № 2 (2 часа)

Тема: «Эшерихиозы»

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства кишечной палочки.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.2.2 Краткое содержание вопросов:

1. Морфология и культуральные свойства кишечной палочки.

Эшерихии представляют собой короткие толстые палочки, в препаратах располагаются беспорядочно. Спор не образуют, некоторые варианты образуют в организме микрокапсулу.

Факультативные анаэробы, растут на простых питательных средах при pH 7,2-7,8, оптимум для роста 37°C.

На дифференциально-диагностических средах Эндо, Левина, Плоскирева кишечные палочки образуют окрашенные колонии, так как разлагают лактозу.

Они обладают выраженными сахаролитическими свойствами.

2. Антигенная структура.

По антигенным, а главное, токсиногенным свойствам, различают два варианта *E.coli*:

- условно-патогенные кишечные палочки;
- патогенные палочки, вызывающие диарею.

Кишечная палочка содержит О-, К- и Н-антигены. О(соматические) - антигены у *E.coli*, связаны с липополисахаридом (ЛПС) клеточной стенки.

Количество сахаров в одном и том же концевом звене, так же как и число детерминантных звеньев у разных серогрупп эшерихий, неодинаковое.

К-антигенами обозначают поверхностные антигены, которые связаны с капсулой и с ЛПС кишечной палочки. Их подразделяют на А-, В- и L-антигены, отличающиеся друг от друга чувствительностью к высокой температуре и химическим агентам.

Н-жгутиковые, или флагеллярные, антигены присущи активно-одвижным штаммам.

Кишечные палочки обозначаются по антигенным формулам: на первом месте ставится номер О-антигена, на втором - К-антигена, на третьем - Н-антигена. Тип К-антигена указывается в скобках.

3. Устойчивость.

Бактерии кишечной палочки неустойчивы к высоким температурам.

Технологические температурные режимы в 68-72°C, используемые в большинстве случаев при приготовлении пищевых продуктов инактивируют (убивают) *E.coli*.

Они обладают и длительной устойчивостью (до 12 месяцев) к минусовым температурам (-18°C...-20°C).

В 20 % растворе поваренной соли (концентрация достаточная для посолки) эти микробы сохраняют жизнеспособность несколько месяцев.

4. Патогенность.

Болезнетворность энтеропатогенных штаммов кишечной палочки обусловлена: во-первых, действием выделяемых токсинов, во-вторых, умением размножаться в организме животного или человека.

Бактерии кишечной палочки образуют экзотоксины и эндотоксины.

Факторы патогенности диареегенных *E.coli*, Способность диареегенных *E.coli* вызывать заболевания обусловлена наличием у них следующих 4 факторов патогенности.

1. Факторы адгезии и колонизации. Они необходимы для прикрепления к клеткам ткани и их колонизации.

2. Факторы инвазии. С их помощью энтероинвазивные *E.coli* проникают в эпителиальные клетки кишечника, размножаются в них и вызывают их разрушение.

3. Экзотоксины. У диареегенных *E.coli* обнаружено два типа экзотоксинов: цитотонины и цитотоксины.

4. Эндотоксины — липополисахариды. Они определяют антигенную специфичность бактерий; форму колоний и являются причиной эндотоксикоза.

5. Клиника болезни.

Инкубационный период эшерихиоза длится от нескольких часов до 1 ...2 сут. У телят различают три формы болезни: септическую, энтеротоксемическую и энтеритную.

Различают сверхострое, острое и подострое течение болезни.

Остро болезнь протекает у телят в возрасте первых 3...7 дней.

Подострое течение у телят в возрасте 6... 10 дней сопровождается развитием вторичной микрофлоры верхних дыхательных путей.

У поросят эшерихиоз может проявляться в септической и энтеритной (кишечной) формах, а в пред- и послеотъемном периодах -- в энтеритной и колиэнтеротоксемической.

У ягнят в хозяйствах, неблагополучных по эшерихиозу, часто отмечают внутриутробное заражение и рождение инфицированных животных.

Болезнь протекает остро и подостро. При остром течении различают две формы болезни -- энтеритную и септическую. При энтеритной форме поражается желудочно-кишечный тракт.

У жеребят болезнь проявляется в первые 5...6 дней жизни. Клинические признаки характеризуются диареей, угнетением, температура тела субфебрильная.

1.3. Лекция № 3 (2 часа)

Тема: «Пищевой сальмонеллез»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства сальмонелл.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.3.2 Краткое содержание вопросов:

1. Морфология и культуральные свойства сальмонелл.

Сальмонеллез (Salmonellosis) - группа бактериальных болезней, преимущественно молодняка сельскохозяйственных и промысловых животных, характеризующихся при остром течении лихорадкой, явлениями септицемии, токсикоза и поражением кишечника, а при хроническом - воспалением легких.

Возбудители - бактерии рода *Salmonella* отнесены к семейству Enterobacteriaceae.

Независимо от серологического варианта сальмонеллы представляют собой мелкие (1-4х0,5 мкм) палочки с закругленными концами, по Граму окрашиваются отрицательно, спор и капсул не образуют, подвижные.

В основу классификации сальмонелл положена их антигенная структура, установленная Кауфманом и Уайтом (1940), по которой определяют группу и серотип возбудителя.

Являются аэробами или факультативными анаэробами. Оптимальная реакция среды для роста слабощелочная (рН 7,2-7,5), а температура роста 37 °С.

Ферментативные свойства бактерий обусловлены набором ферментов, отражают определенные условия питания и обмена веществ, свойственные данному виду микроорганизмов в тех или иных условиях внешней среды.

Ввиду сходства бактерий рода *Salmonella* с другими микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae* возникает необходимость их дифференциации.

Для наиболее эффективного выделения сальмонелл из патологического материала, содержащего большое количество сопутствующей микрофлоры, препятствующей их росту, используют специальные среды обогащения.

Ферментативные свойства сальмонелл не всегда стабильны и могут изменяться в зависимости от условий внешней среды.

2. Антигенная структура.

Каждый серотип сальмонелл имеет, характерный только для него, набор определенных антигенных факторов. Этот набор, составляющий антигенную структуру серотипа, складывается из сочетания О- и Н-антигенов микроба. В соответствии с предложением Кауфмана и Уайта (1934) все подроды сальмонелл по О-антигену делят на серологические группы, а по Н-антигену — на серотипы. О-антиген расположен на поверхности микробной клетки и представляет собой фосфолипидо-полисахаридный комплекс, включающий 60% полисахарида, 20—30% липида и 3,5—4,5% гексозамина (углевода). Этот комплекс термостабилен, не разрушается при кипячении в течение 2,5 ч., а автоклавированием при 120°С в течение 30 мин. Чувствителен к действию формалина, но резистентен к этанолу. Деление сальмонелл на серологические группы производят в соответствии с содержанием тех или иных О-антигенов, при этом отдельные антигенные факторы обозначают арабскими цифрами. Обнаружено 65 О - антигенов. Наличие у сальмонелл Н-антигена определяется жгутиками и выделение серологических типов обусловлено Н-антигенами. Они термолабильны, разрушаются нагреванием при температуре 75-100°С, под воздействием HCl, этанола и протеолитических ферментов, но устойчивы к формалину. Н – антигены у сальмонелл могут встречаться в двух серологических фазах: первой («специфическая») и второй («неспецифическая»). Антигены 1-й фазы (их обнаружено более 80 вариантов) обозначают прописными буквами латинского алфавита, 2-й фазы (9 вариантов)— арабскими цифрами или прописными латинскими буквами с арабскими цифрами. Сальмонеллы, в которых Н-антигены представлены двумя фазами, называют двухфазными в отличие от монофазных, имеющих только антигенные факторы 1-й фазы. Состав антигенов, определяющий антигенную формулу сальмонелл, не является стабильным. Это представляется тем, что благодаря развитию различных вариаций Н- и О-антигенов у сальмонелл могут возникать закономерные изменения этих антигенов. Как уже упоминалось, современная серологическая классификация сальмонелл насчитывает свыше 2200 серовариантов. Помимо указанных выше антигенов, у сальмонелл выявлены поверхностные К (Vi) - антигены – антигены вирулентности. Они представляют собой белково-полисахаридный комплекс с выраженными антигенными свойствами. Он термолабилен, чувствителен к действию HCl и этанола, полностью разрушается при кипячении в течение 10 мин, частично инактивируется под действием фенола и при температуре 60 °С в течение 1 ч. Температурный оптимум для него 37 °С. F. Kauffmann обнаружил М-антиген (1935, 1936) и Т-антиген (1956, 1957) сальмонелл. Несмотря на многочисленность и вариабельность

антигенов при серологической идентификации сальмонелл, принимают во внимание три основных антигена — О, Н, Vi. Во всех лабораториях мира используется диагностическая схема Кауфмана — Уайта, построенная на анализе этих трех антигенов. В соответствии с особенностями структуры О-антигенов в этой схеме выделены примерно 50 О-групп. Каждая группа объединяет большее или меньшее количество сероваров, расположенных в алфавитном порядке по обозначению 1-й фазы их Н-антигена. Определение серовара сальмонелл начинается с изучения выделенной культуры, в реакции агглютинации на стекле с поливалентной (ABCDE) адсорбированной О-сывороткой и далее с монорецепторными Н-сыворотками. После определения антигенов 1-й фазы анализируют антигены 2-й, что позволяет установить антигенную формулу серовара. При отсутствии агглютинации с поливалентной ABCDE О-сывороткой и положительной реакции с поливалентной сывороткой редких групп, проводят дополнительные биохимические тесты с целью определения принадлежности к под родам сальмонелл. При положительном решении далее исследуют штамм с помощью моновалентных О-сывороток редких групп и Н-сывороток.

3. Устойчивость.

Устойчивость этих бактерий к воздействию часто встречаемых физических и химических факторов высокая. Они могут длительное время выживать в пыли, навозе, сухом кале, почве, воде и животных кормах, сохраняя вирулентность. В воде открытых водоёмов и питьевой воде они живут 11-120 сут, в морской воде - 15-27 сут, в почве — 1-9 мес, в комнатной пыли — 80-547 сут,. В сухом кале крупного рогатого скота сальмонеллы сохраняются до 4-х лет. Сальмонеллы переживают в течение длительного времени на керамических, металлических и стеклянных предметах соответственно 70, 55 и 43 дня. Наиболее устойчива *S. typhimurium*, остающаяся жизнеспособной на тканях и на бумаге до года. Выдерживают 5-6 кратное замораживание и оттаивание. Выживание сальмонелл в различных пищевых продуктах неодинаково. Мясо, молоко - являются благоприятной средой для размножения. В сыре, масле, они не размножаются, но не теряют жизнеспособность. В мясе, хранящемся на холоде, эти микроорганизмы также сохраняются, а при повышении температуры до 5°C и выше начинают размножаться. В мороженом мясе живут до 3-х лет, в колбасных изделиях – до 130 дней, яйцах – до 13 месяцев, яичном порошке – до 9 месяцев, на замороженных овощах и фруктах — 0,5-2,5 мес. При температуре ниже 5°C роста сальмонелл в течение 3-х недель не наблюдают; при 5-8°C в первые два дня рост мало замечен, а после 3-4 дней идет интенсивное размножение.

4. Патогенность.

Патогенность сальмонелл обусловлена действием 2-х типов токсических веществ, выделяемых данными бактериями. К первому типу токсинов - экзотоксинов относятся вещества, выделяемые при жизни бактерий. Второй тип токсических веществ - эндотоксины образуются в результате разрушения бактериальной клетки и представляют собой ее структуру.

Сальмонеллы способны образовать термоустойчивые токсические вещества, которые вызывают заболевания и гибель при внутривенном, внутрибрюшинном введении. Токсины могут образовываться этими бактериями в пищевых продуктах. В сыром мясе, зараженном сальмонеллами и хранившемся при 16-20°C, эти вещества накапливаются от 2-х до 7 дней; при 0-4°C они не образуются даже в течение месяца.

У сальмонелл имеются факторы адгезии и колонизации, факторы инвазии; они имеют эндотоксин и, наконец, они, по крайней мере *S. typhimurium* и некоторые другие серотипы, могут синтезировать два типа экзотоксинов:

- 1) термолабильные и термостабильные энтеротоксины типа LT и ST;
- 2) шигаподобные цитотоксины.

1. Особенностью токсинов является внутриклеточная локализация и выделение после разрушения бактериальных клеток. LT сальмонелл имеет структурное и

функциональное сходство с LT энтеротоксигенных *E.coli* и с холерогеном. Он устойчив в диапазоне pH 2,0-10,0. Токсинообразование у сальмонелл сочетается с наличием у них двух факторов кожной проницаемости:

а) быстродействующего - продуцируется многими штаммами сальмонелл, термостабилен (при 100 °С сохраняется до 4-х ч.), действует в течение 1-2 ч;

б) замедленного — термолабилен (разрушается при 75 °С в течение 30 мин), вызывает эффект (уплотнение кожи кролика) через 18-24 ч после введения.

2. Цитотоксин, продуцируемый сальмонеллами, термолабилен, его цитотоксическое действие проявляется в угнетении синтеза белка энтероцитами. Обнаружено, что отдельные штаммы сальмонелл могут одновременно синтезировать LT, ST и цитотоксин, другие — только цитотоксин.

Вирулентность сальмонелл зависит также от обнаруженной у них плазмиды с м.м. 60 МД, утрата ее значительно снижает вирулентность бактерий. Предполагается, что появление эпидемических клонов сальмонелл связано с приобретением ими плазмид вирулентности и R-плазмид.

5. Клиника болезни.

Сальмонеллез у молодняка протекает остро, подостро, хронически и атипично (у телят).

При остром течении у телят, поросят, ягнят и жеребят наблюдается вялость, температура тела повышается на 1-2 °С.

У поросят развивается конъюнктивит с выделением экссудата, который, засыхая в виде желто-грязных корочек, склеивает веки.

У жеребят, заразившихся в период внутри-утробного развития, клинические признаки острого сальмонеллеза проявляются сразу после рождения.

Подострое течение характеризуется менее выраженными симптомами, с появлением признаков пневмонии

При хроническом сальмонеллезе, который чаще развивается после острой или подострой стадии, наряду с упорными диареями начинают преобладать признаки воспаления легких.

Иногда у телят старших возрастных групп (2-4 мес) наблюдают легкое переболевание сальмонеллезом.

У пушных зверей, заразившихся сальмонеллами, повышается температура тела, отмечают понос и нередко рвоту.

1.4. Лекция № 4 (2 часа)

Тема: «Отравления, вызванные бактериями «протей»»

1.4.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства протей.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.4.2 Краткое содержание вопросов:

1. Морфология бактерий и культуральные свойства.

Микроорганизмы рода *Proteus* так же, как и кишечная палочка, широко распространены во внешней среде, в каловых массах животных и человека, что и является источником обсеменения пищевых продуктов.

Как и кишечная палочка этот микроорганизм в мазках, окрашенных по методу Грама - грамтрицателен. Палочки размерами 1-3х0,4-0,8 мкм, капсул и спор не имеют.

Протеи — факультативные анаэробы, хемоорганотрофы. Температурный оптимум — 37°C.

Гидролизуют мочевины. Расщепляют тирозин, растут на средах KCN, восстанавливают нитраты. Обитают в кишечнике многих видов позвоночных животных, почве, сточных водах и разлагающихся органических остатках.

Протеи растут на простых средах в диапазоне температур 10-43 °C (оптимальная — 35-37 °C), оптимум pH — 7,2-7,4.

2. Антигенная структура.

Антигенная структура идентична таковой у прочих энтеробактерий, у протеев выделяют О-, Н- и К- антигены. Для серологической идентификации определяют структуру О- и Н- Аг, обозначаемых арабскими цифрами. В настоящее время антигенная формула включает в себя более 49 О-антигенов и 19 Н-антигенов, всего 110 сероваров.. В отличие от бактерий кишечной палочки, бактерии протеев нельзя с твердой уверенностью разделить на болезнетворные и не болезнетворные штаммы по показаниям антигенной формулы. Хотя отмечено, что при кишечных заболеваниях людей наиболее часто выделяют палочки протеев определенной серологической группы по О-антигену. В любом случае определение антигенной формулы микроорганизма, выделенного от больного человека и сравнение ее с антигенной формулой микроорганизма того же вида, но выделенного из пищевого продукта, мяса (послужившего сырьем для приготовления этого продукта), людей, контактировавших с данным продуктом, позволяет проследить и выявить источник заражения людей.

3. Устойчивость.

Данный микроорганизм выдерживает нагревание в 65°C в течение 30 минут. При 70°C он инактивируется (но в водных растворах), есть данные, что он выдерживает первоначальные режимы пастеризации молока. Замораживание слабо влияет на его жизнеспособность. При хранении мяса в режиме -13°C эти микробы выделяли из него в течение 6 месяцев. Бактерии достаточно устойчивы к высоким концентрациям хлористого натрия (поваренной соли). Они отмирали только после 17% концентрации, таким образом рассолы с более низкой концентрацией не убивают протей. Данный микроорганизм очень устойчив и к кислотному воздействию, сохраняя свои жизненные функции в диапазоне pH 3,5 - 12,0. Поэтому, попадая на мясо от здорового животного, где величина pH в пределах 5,8 - 6,2 палочка протеев, в отличие от других болезнетворных микроорганизмов, может размножиться. Даже такой метод хранения пищевого продукта, как маринование т.е. [КСВ1] понижение кислотности до величин 4,5-5,0, не убивают эту бактерию.

4. Патогенность.

Факторы патогенности многочисленны, важнейшие из них - способность к «роению», фимбрии, бактериальные протеазы и уреазы, гемолизины и гемагглютинины.

Механизм патогенности у бактерий данного рода такой же, как и у всех микроорганизмов семейства энтеробактерий

При экспериментальном введении в организм мимо желудочно-кишечного тракта (внутривенно, внутрибрюшинно) протейный эндотоксин оказывает сильное ядовитое действие.

Для возникновения пищевой токсикоинфекции, необходимо наряду с наличием эндотоксина, обсеменение пищевого продукта живыми бактериями.

5. Клиника болезни.

Проявление данной болезни у людей достаточно своеобразно. Инкубационный период (от момента попадания в организм до проявления болезни) укладывается в 4 - 20 часов. Болезнь может иметь внезапное начало, сопровождается схваткообразными, режущими болями в кишечнике, тошнотой и рвотой, поносом. В фекальных и рвотных массах иногда отмечают наличие крови. В тяжелых случаях наблюдают судороги, падение сердечной деятельности, побледнение слизистых. Длительность болезни до 5 дней. Смертельный исход возможен в пределах 1,5 %. Необходимо отметить, что палочка

протей в сочетании с возбудителем другого инфекционного агента, способствует повышению болезнетворного процесса. У животных этот микроорганизм вызывает воспалительные процессы в желудке, кишечнике. Достаточно часто данное заболевание у животных встречается совместно с другой инфекцией, осложняя его. Различные патологические (патология - отклонение от нормы) процессы, вызванные любой причиной (раны, маститы, бронхопневмонии и тому подобное), способствуют проникновению палочки протей из кишечника в кровь.

1.5. Лекция № 5 (2 часа)

Тема: «Кишечный иерсиниоз»

1.5.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства иерсиний.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.5.2 Краткое содержание вопросов:

1. Морфология и культуральные свойства иерсиний.

Кишечный иерсиниоз - острая инфекционная болезнь, характеризующаяся преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта у молодняка сельскохозяйственных животных, полиморфизмом клинических проявлений у взрослых животных (маститы, аборты, истощение) и рецидивирующим, затяжным течением.

Иерсинии - мелкие энтеропатогенные факультативно-внутриклеточные грамотрицательные, биполярно окрашивающиеся полиморфные микроорганизмы (палочки, кокковидные, "овоидные, шарообразные), факультативные анаэробы. Относятся к семейству энтерококков.

Кишечные иерсинии по биохимическим свойствам подразделяются на 5 биовариантов, из них 3-й и 4-й - наиболее патогенные для животных и человека.

Они имеют сложную антигенную структуру, включающую фимбриальные капсульные вещества и экстрацеллюлярные белки, обладающие свойствами экзо- и эндотоксинов.

Слизь, выделяемая иерсиниями, способствует их длительному выживанию во внешней среде (особенно во влажной) и невысокой температуре (14...18°C).

Бактерии чувствительны к низким значениям pH среды (3,4...4,0), высушиванию, УФ-облучению, действию высокой температуры (погибают при кипячении в течение 30 с, а при нагревании до 60 °C -- в течение 20...30 мин).

Иерсинии обладают выраженной чувствительностью к антибиотикам разных групп, при этом имеют характерную особенность - устойчивость к препаратам группы пенициллина.

2. Антигенная структура.

Имеет эндотоксин, оказывающий энтеротоксическое действие, у некоторых штаммов обнаружено вещество, соответствующее экзотоксину. Факторы патогенности: адгезины к клеткам эпителия тонкого кишечника, инвазины, энтеротоксин. Бактерии имеют О- и Н-антигены. По О-антигену разделены на 30 сероваров; от больных выделяют О3 и О9 серовары.

3. Устойчивость.

Иерсинии по своей устойчивости к физическим и химическим агентам во многом сходны с представителями семейства кишечных. Растворы дезинфицирующих веществ (хлорамин, карболовая кислота и алкоголь) в обычных прописях убивают микробов в течение нескольких минут. К холоду иерсинии устойчивы: хорошо переносят температуру

от -200С и в этих условиях могут длительно существовать, при температуре от +4 до 140С не только сохраняются, но размножаются. В тушках цыплят, хранившихся при -18°С в течение 3-х месяцев, количество бактерий снижалось очень незначительно. Данный микроорганизм может размножаться в пищевых продуктах при температуре холодильника (+4°С), что представляет опасность для здоровья человека. В эксперименте установлено, что в свинине, хранившейся в течение 2 - х недель при температуре холодильника, количество бактерий в 1 грамме продукта увеличилось в три раза, по сравнению с первоначальными показателями. Ленченко Е.М, совместно с Штукаревой М.Ю были проведены опыты по изучению сроков выживаемости иерсиний в мясе и мясопродуктах. Установлено, что в говядине и свинине при 4°С иерсиний выживали 35 суток (срок наблюдения); при - 18°С сохранялись 75 суток. К воздействию высокой температуры микроорганизмы *Y. enterocolitica* менее устойчивы по сравнению с *E.coli*. При нагревании до 60-80° С бактерии погибают через 15-30 мин, при кипячении при 100°С - в течение нескольких секунд. При температурной обработке продуктов (варка мяса, пастеризация молока), применяемых в промышленности, *Y. enterocolitica* быстро погибают. По сравнению с кишечной палочкой *Y. enterocolitica* менее устойчива к воздействию УФ-облучения, гамма-лучей. На прямом солнечном свете иерсинии в течение 30 мин инактивируются, при рассеянном отмирают через 6-8 ч. Быстро они погибают при высушивании.

4. Патогенез

Попадая в организм в основном алиментарно, иерсинии проявляют паразитические свойства за счет факторов патогенностиTM, репродукции в клетках, способности противостоять фагоцитозу в организме теплокровных животных.

Y. enterocolitica, проявляя адгезивные свойства, колонизирует кишечник. В дальнейшем поражает лимфоидный аппарат, вызывая при этом различной степени выраженности воспалительный процесс.

Y. pseudotuberculosis, попав в организм, оседают в регионарных лимфатических узлах, вызывая их гнойное воспаление, либо с током крови разносятся по органам и тканям, в результате чего развиваются септицемия, лимфаденит брюшной полости, затрудняется кровообращение.

Животные погибают в результате сердечной недостаточности, нарушения деятельности центральной нервной системы, асфиксии и кахексии.

5. Клиника болезни.

Продолжительность инкубационного периода 1...6 дней.

У взрослого крупного рогатого скота иерсиниоз чаще протекает латентно с выделением возбудителя в окружающую среду.

У свиней болезнь охватывает большое число животных, многие погибают. При этом у поросят отмечают повышение температуры тела на 0,3...0,5 °С, учащение пульса и дыхания, диарею, геморрагический диатез, дерматит, поражение суставов.

У коз летальный исход наступает внезапно, без предшествующих симптомов, но с выраженными дегенеративными изменениями внутренних органов.

У собак и кошек иерсинии в основном не вызывают клинических симптомов. О

У птиц болезнь часто протекает латентно.

Ввиду многообразия клинических признаков инфекции и отсутствия типичного для данного заболевания симптомокомплекса клиническая диагностика затруднена.

1.6. Лекция № 6 (2 часа)

Тема: «Кампилобактериоз»

1.6.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства кампилобактерий.
2. Антигенная структура.

3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.6.2 Краткое содержание вопросов.

1. Морфология и культуральные свойства кампилобактерий.

Возбудитель болезни — *Campylobacter fetus* — полиморфный микроорганизм, имеющий вид короткой изогнутой палочки в виде запятой, летящей чайки или буквы S. Реже встречаются короткие спирали в 2-5 завитков. Кампилобактерии имеют длину 0,5-5 мкм, ширину 0,2-0,8 мкм.

Микробы подвижны, спор и капсул не образуют, грамотрицательные (в старых культурах при диссоциации могут быть грамположительными), хорошо окрашиваются всеми анилиновыми красками.

Основным возбудителем кампилобактериоза крупного рогатого скота является *C. fetus subsp. fetus* — облигатный паразит, вызывающий бесплодие и аборт у коров, передающийся половым путем.

Кампилобактерии патогенны также для свиней, коз, кур и человека, 7-15-дневных куриных эмбрионов, беременных морских свинок и крольчих, золотистых хомячков и белых мышей. Патогенные свойства их связаны с муциназной активностью и способностью выделять эндотоксин. Остальные виды бактерий не патогенны для животных.

Кампилобактеры — микроаэрофилы, то есть растут при пониженной концентрации кислорода (5-8%). Оптимум pH=7,0, температурный оптимум для роста *C. jejuni* и *C. coli* равен 42-43°C, для *C. fetus* и *H. pylori* 37°C. Для культивирования применяется среда, содержащая аминокислоты, кровь, активированный уголь. Могут культивироваться на среде, предназначенной для бруцелл. Элективные среды для кампилобактеров содержат полимиксин, линкомицин или триметоприм. Растут медленно, колонии появляются через двое-трое суток.

Биохимически мало активны, углеводы не расщепляют, энергию получают путем расщепления аминокислот.

2. Антигенная структура.

Кампилобактерии имеют O-, H- и K-антигены. *C. jejuni* и *C. coli*, наиболее часто вызывающие заболевания у человека, серологически гетерогенны. В зарубежной литературе описано 55 серогрупп, различающихся по термостабильному O-антигену. Установлено, что штаммы, выделенные от человека, дают реакцию агглютинации только с сывороткой от людей, а сывороткой от иммунизированных животных они не агглютинируются. Можно предположить, что идет формирование штаммов, специфичных для человека.

3. Устойчивость.

Во внешней среде — в испражнениях больных, в воде кампилобактерии сохраняются в течение недели, в замороженном мясе — несколько месяцев, на различных предметах при комнатной температуре — до двух недель. Чувствительны к дезинфицирующим веществам, к высокой температуре, при кипячении погибают. Устойчивы к действию желудочного сока и желчи, что позволяет им преодолевать желудочный барьер и сохраняться в желчном пузыре.

4. Патогенность.

В естественных условиях кампилобактериозом болеют крупный рогатый скот и овцы, реже козы. Основным возбудителем кампилобактериоза крупного рогатого скота — подвид венералис, овец — фетус. От крупного рогатого скота также выделяют подвид фетус, кампилобактер еюни и сапрофитный подвид бубулюс. Описаны случаи диареи у коров, овец, коз, свиней и собак, вызванные кампилобактером еюни. Заболевание свиней

могут обусловить подвиды венералис и мукозалис. Для кур патогенен кампилобактер еюни.

К экспериментальному заражению культурой кампилобактеров восприимчивы только беременные животные: овцы, козы, морские свинки, хомячки. Материал им вводят подкожно, внутрибрюшинно, интравагинально или орально.

Кампилобактериальные гастроэнтериты выявляются повсеместно. У человека процесс вызывает кампилобактер еюни и протекает как острое желудочно-кишечное заболевание (энтероколит), имеются сообщения о выделении подвидов венералис и фетус. Установлено, что патогенность кампилобактера еюни связана с продукцией термолабильного энтеротоксина. Источники инфекции – животные, от которых возбудители могут попадать в организм человека при употреблении сильно обсемененных продуктов. Важная роль принадлежит диким водоплавающим птицам, способным загрязнять источники водопользования.

5. Клиника болезни.

Кампилобактериоз крупного рогатого скота проявляется клинически в виде симптомокомплекса, в котором ведущими признаками являются вагиниты, задержание последов, эндометриты, сальпингиты и оофориты.

Аборт может наступить в любой стадии стельности, но чаще (82,5 %) на 4 -7-м мес. Бывают случаи прерывания беременности и в первые 2 мес. беременности, что обычно не замечается обслуживающим персоналом.

У быков нет выраженных симптомов болезни, за исключением покраснения слизистой оболочки препуция и полового члена, а также выделений обильной слизи в течение первых 2-3 дней.

Патологоанатомические изменения при кампилобактериозе крупного рогатого скота в общем аналогичные: матка отечная, в ее рогах — очаги воспаления. Карункулы увеличены, сочные, бледные, иногда с очагами воспаления легко отделяются от плодной плаценты.

У абортированных плодов обнаруживают отеки отдельных участков кожи, подкожной клетчатки и мышц, кровоизлияния в грудной и брюшной полостях и в паренхиматозных органах.

Содержимое сычуга плодов обычно разжиженное, мутное, коричневого цвета с примесью серовато-белых хлопьев. В печени имеются серо-желтые очаги некроза. Часть плодов мумифицирована.

1.7. Лекция № 7 (4 часа)

Тема: «Ботулизм»

1.7.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства клостридий.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.7.2 Краткое содержание вопросов.

1. Морфология и культуральные свойства.

Вегетативные клетки — палочки с закругленными концами размером 4-8×0,6-0,8 мкм, подвижны (перитрихи). При неблагоприятных условиях образуют эндоспores, расположенные терминально и субтерминально. Строгие анаэробы; молодые культуры

окрашиваются грамположительно, 4-5-суточные — грамотрицательно. Оптимум pH для роста 7,3-7,6, для прорастания спор 6,0-7,2.

Морфология колоний. На кровяном агаре с глюкозой образуют очень мелкие сероватые или мутные желтоватые колонии линзообразной формы (на различных средах у одного и того же штамма могут варьировать). Вокруг колонии образуются зоны гемолиза различной ширины. На печеночном агаре образуют полиморфные звездчатые колонии, на желатине — сероватые, окруженные зоной разжиженного желатина. На столбике агара можно обнаружить диссоциаты, R-формы имеют форму чечевичных зерен, S-формы — пушинок. Хорошо растут на жидких средах (обычно на бульоне Тарроцци, бульонах из гидролизатов казеина, мяса или рыбы) при условии предварительного удаления O₂ из среды кипячением в течение 15-20 мин с быстрым охлаждением. Вызывают помутнение среды и газообразование, иногда имеется запах прогорклого масла, но этот признак непостоянен.

2. Антигенная структура.

Серологическая идентификация *Clostridium botulinum* основана на выявлении токсинов, по их структуре бактерии разделяют на 8 сероваров — А, В С1 (а), С2 (b), D, E, F и G. Антигенная структура бактерий остается малоизученной, показано наличие жгутиковых, группоспецифических (H) и соматических, типоспецифических (O) Ag, не проявляющих токсических свойств. Оптимальная температура для токсинообразования переменна для бактерий типов А, В, С и D 35°C, для бактерий типов E и F 28-30°C

3. Устойчивость

Длительное сохранение *C. botulinum* в природе и в различных пищевых продуктах связано с их спорообразованием. Споры сохраняются в почве долгое время, а при благоприятных условиях в летнее время могут прорасти и размножиться. Они хорошо переносят низкие температуры (не погибают даже при —190 °C). В высушенном состоянии сохраняют жизнеспособность десятилетиями. Споры устойчивы и к нагреванию (особенно типа А). Споры типов А и В переносят кипячение в течение 5 ч, при 105 °C погибают через 1-2 ч, при 120 °C — через 20-30 мин. Встречаются штаммы, споры которых переносят температуру 120 °C в течение нескольких часов. Наименее устойчивы к температуре споровая форма бактерии типа E. При 100°C она отмирает примерно через 2 минуты, при 80°C - через 40 минут. Но нельзя забывать тот факт, что теплопроводимость любого пищевого продукта иная по сравнению с водой. По данным литературы, термоустойчивость спор в консервах «Говядина тушеная» вдвое превышала термоустойчивость таких же споровых форм бактерий, но только в воде. Содержание жира повышает устойчивость спор к температуре. Неспоровая форма бактерий (вегетативная форма) под действием 80°C отмирает в течение 30 минут, а при кипячении - через 5 минут.

4. Патогенность

Clostridium botulinum различна для различных видов млекопитающих; заболевания человека вызывают бактерии типов А, В, E и F; *Clostridium botulinum* типов С и D вызывают заболевания животных и птиц (в редких случаях от больных животных выделяют бактерии типов А и В). Патогенность типа G для человека и животных не доказана.

Патогенность *Cl. botulinum* определяется токсином. Токсин, выделяемый палочкой *Cl. botulinum*, один из самых сильных ядов в мире. По данным Л. Месробяну (1963г.) достаточно 10 мг токсина типа «Д», чтобы убить все население Земного шара. Безвредная активность токсина типа «А» такова, что 1 г его достаточно для того, чтобы уничтожить 60 миллиардов мышей, вес которых составляет 1 миллион 200 тысяч тонн. Поэтому главным фактором патогенности возбудителя ботулизма являются продуцируемые им экзотоксины. Хотя они отличаются по своим антигенным свойствам, их биологическая активность одинакова. Все они являются вариантами единого нейротоксина. Установлено, что антигенная специфичность и летальная активность

определяются различными детерминантами экзотоксина. Токсины всех известных типов продуцируются в виде токсических белковых комплексов (прогениторных токсинов). В зависимости от их молекулярной массы и структуры эти комплексы делят соответственно константам седиментации на 3 группы: 12 S-, 16 S- и 19 S-токсины. 12 S-токсины (М-токсины) состоят из молекулы нейротоксина, ассоциированной с молекулой нетоксического белка, который не обладает гемагглютинирующими свойствами. 16 S-токсины (L-токсины) — структуры, состоящие из М-комплекса и нетоксического белка, который отличается от белка М-комплекса и обладает гемагглютинирующими свойствами. 19 S-токсины (LL-токсины) — наиболее крупные структуры, включающие в себя нейротоксин и нетоксический белок со свойствами гемагглютинина.

5. Клиника болезни

ботулизма обычно складывается из сочетания различных синдромов, из которых раньше всего проявляется неспецифическая симптоматика (недомогание, общая слабость, головная боль). Могут наблюдаться жжение в желудке, тошнота, многократная рвота, понос. Через несколько часов после начала заболевания неспецифическая симптоматика сменяется специфической – первый признак офтальмоплегический: у больного нарушается аккомодация, неравномерно расширяются зрачки, появляется косоглазие, двоение в глазах, опущение век, а иногда и слепота. Эти симптомы связаны с поражением глазодвигательных нервов. В дальнейшем наступает паралич мягкого неба, языка, глотки, гортани, появляются расстройства речи, нарушается акт жевания и глотания, наблюдается выделение густой тягучей слизи. Вследствие паралича лицевых мышц, выражение лица изменяется иногда до неузнаваемости. Парезы мышц желудка и кишечника ведут за собой резкие нарушения моторной функции кишечника, появление стойкого запора и метеоризма. Отмечается сухость во рту и глотке. температура тела не соответствует частоте пульса - нормальная или ниже нормы; пульс учащен. Начинают преобладать нервно-паралитические явления, как результат расстройства деятельности нервных центров, регулирующих функцию слюнных, слезных желез, мышц носоглотки и лица. К ранним симптомам заболевания относится постепенно развивающееся расстройство зрения.. Продолжительность болезни обычно 4-8 суток, реже - 3-4 недели. Смерть наступает, как правило, в результате дыхательной недостаточности от паралича дыхания и сердца при ясном сознании. Летальность составляет 35-85%. Но заболевание не всегда протекает в такой форме.

1.8. Лекция № 8 (2 часа)

Тема: «Микроорганизмы рода *Staphylococcus*»

1.8.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства стафилококков.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.8.2 Краткое содержание вопросов.

1. Морфологические и культуральные свойства.

Эти микроорганизмы в мазках под микроскопом выглядят как шары, образуя скопления напоминающие гроздь винограда (отсюда и название *staphylos* – гроздь). Спор они не образуют, значит они не обладают высокой устойчивостью к температурному воздействию, однако из беспоровых форм они одни из самых устойчивых бактерий. Жгутиков у них нет, таким образом в их антигенной формуле отсутствует Н-антиген, а присутствует только соматический антиген самой микробной клетки. Грамположительны. Стафилококки неподвижны; факультативные анаэробы; хемоорганотрофы с

окислительным и ферментативным метаболизмом, каталаза-положительны; содержат цитохромы, но обычно оксидаза-отрицательны, чувствительны к действию лизостафина, но не лизоцима (Schleifer, Kloos. 1975). Растут на средах содержащих до 15% NaCl, температурный оптимум роста — 35-40°C; предпочтительна слабощелочная реакция среды (7,0-7,5). На плотных средах образуют мутные круглые ровные колонии кремового, желтого или оранжевого цвета. Цвет колоний обусловлен наличием липохромного пигмента, его образование происходит только в присутствии кислорода и наиболее выражено на средах, содержащих кровь, углеводы или молоко. Вызывают характерное разжижение желатина с образованием воронки, заполненной жидкостью (на 4-5 сут.) На жидких средах дают равномерное помутнение, а затем рыхлый осадок, превращающийся в тягучую массу. Восстанавливают нитраты, образуют H₂S, разлагают глюкозу, ксилозу, сахарозу, мальтозу, глицерин, маннит с выделением кислоты; уреазы-положительны; крахмал не гидролизуют; индол не образуют. По наличию коагулазы все стафилококки разделяют на две группы; среди патогенных видов коагулаза-положителен лишь *S. aureus*. остальные виды называют коагулаза-отрицательными. Типовой вид — *S. aureus*.

2. Антигенная структура.

Серологические исследования (например, идентификация) не имеют принципиального значения, а результаты часто носят противоречивый характер. До настоящего времени реагенты для идентификации TSST-1 и AT к нему остаются слабо доступными.

3. Устойчивость.

Стафилококки хорошо переносят высушивание, сохраняя вирулентность; погибают при прямом воздействии солнечного света в течение 10-12 ч. Довольно устойчивы к нагреванию — при 70-80°C погибают за 20-30 мин; сухой жар убивает их за 2 ч. Менее устойчивы к действию дезинфектантов, но резистентны к воздействию чистого этанола. Кокковые микроорганизмы обладают устойчивостью к внешним воздействиям: способны расти при температуре 6,5-46°C, длительно переносят низкие температуры (-20°C), обладают выраженной солеустойчивостью, размножаются в продуктах с содержанием поваренной соли до 15 - 17%, 40% желчи. Они устойчивы и к воздействию кислой среды, сохраняясь в продуктах, где показатель кислотности достигает величины pH = 3,0 (гораздо ниже, чем в маринаде), возможен рост в пределах pH 4,2-9,3. Однако нельзя забывать, что сама по себе кокковая микрофлора не вызывает пищевых отравлений. Опасен токсин, выделяемый этими микроорганизмами, а его устойчивость значительно превышает устойчивость кокков. Токсин термоустойчив, хорошо сохраняется во внешней среде, устойчив к низким температурам, кислотам. Абсолютный спирт не разрушает его. Токсин полностью не разрушается при нагревании до 100°C в течение 30 минут; он разрушается при кипячении в течение 2 часов, а также автоклавировании при 120°C в течение 30 минут. На размножение кокков и токсинообразование в пищевых продуктах оказывают влияние концентрация соли и сахара. Содержание в продукте до 12% поваренной соли и до 30% сахара не препятствует токсинообразованию. Рост этих микроорганизмов подавляется при концентрации сахара свыше 30% и хлористого натрия 20-25%; препятствует накоплению токсина и высокая кислотность продукта.

4. Патогенность.

В основе токсикозов, обусловленных кокками, лежит токсическое начало, т.е. принятие с пищей готовых токсинов. Наличие кокков в пищевых продуктах, способность их размножаться, недостаточны для возникновения пищевого отравления, необходимо образование и накопления в них токсина. Токсины способны продуцировать лишь патогенные кокки, которые обладают энтеротоксигенными свойствами.

Будучи грамположительными микроорганизмами, стафилококки не обладают способностью к образованию эндотоксинов, но продуцируют значительное количество экстрацеллюлярных протеиновых факторов с токсическими свойствами — экзотоксинов. Истинные экзотоксины стафилококков не вызывают лизиса клеток, а воздействуют на их

метаболизм через локализованные на цитоплазматической мембране специфические рецепторы. При этом все многообразие стафилококковых экзотоксинов может быть объединено в две неравновеликие группы – эксфолиативные токсины, вызывающие специфическое поражение кожного покрова и энтеротоксины.

5. Клиника болезни.

известно более 100 клинических форм проявлений стафилококковых инфекций. Стафилококки способны поражать практически любые ткани и органы человека. При снижении защитных сил организма эти микробы вызывают следующие гнойно-воспалительные заболевания: ангины, отиты, холециститы, пневмонии, сепсис, фурункулез. Особенно велика их роль в акушерско-гинекологической практике, так как они могут вызывать маститы у рожениц и сепсис у новорожденных. Стафилококковые инфекции протекают очень тяжело, часто с летальным исходом. Также золотистый стафилококк является основным возбудителем инфекций опорно-двигательного аппарата (остеомиелиты, артриты); в частности, он вызывает 70—80% случаев септических артритов у подростков, реже у взрослых. Иммуитет после перенесенных стрептококковых инфекций остается непродолжительным. Лица, которые являются носителями стафилококка, чаще болеют кожными стафилококковыми инфекциями.

1.9. Лекция № 9 (2 часа)

Тема: «Микроорганизмы рода *Enterococcus*»

1.9.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства энтерококков.
2. Антигенная структура.
3. Устойчивость.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.9.2 Краткое содержание вопросов.

1. Морфология и культуральные свойства.

Микроорганизмы рода *Enterococcus* образуют овальные бактерии размером 0,6-2,0?0,6-2,5 мкм, в мазках культур, выращенных на жидких средах, располагаются парами или короткими цепочками. Спор не образуют, некоторые виды ограниченно подвижны (имеют небольшие жгутики), капсул не имеют. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы (метаболизм ферментативный); расщепляют различные углеводы с образованием кислоты (преимущественно молочной) без газа. Пищевые потребности сложные, каталаза-отрицательны, в редких случаях восстанавливают нитраты. Растут в интервале 10-45°C (оптимум 37°C) Типовой вид — *E. faecalis*. Выделение возбудителя обычно не представляет трудностей, т.к. энтерококки хорошо растут на простых средах; на кровяном агаре могут давать зоны полного (редко) или неполного гемолиза. Через 24 ч энтерококки образуют сероватые колонии диаметром 0,4-1 мм; признаками, дифференцирующими их от зеленеющих стрептококков, являются способность расти на средах, содержащих 6,5% NaCl, а также способность изменять окраску лакмусового молока или молока с этиленовым синим через 4-6 ч при 37°C.

2. Антигенная структура.

Серологическая классификация имеет практическое значение для дифференциации имеющих сложное антигенное строение стрептококков. В основе классификации - группоспецифические полисахаридные антигены клеточной стенки. Выделяют 20 серогрупп, обозначенных заглавными латинскими буквами. Наибольшее значение имеют стрептококки серогрупп A, B и D.

У стрептококков серогруппы А имеются типоспецифические антигены - белки М, Т и R. По М - антигену гемолитические стрептококки серогруппы А подразделены на серовары (около 100).

3. Устойчивость.

Энтерококки высокорезистентны к различным факторам внешней среды и дезинфицирующим средствам, могут длительное время сохранять жизнеспособность на предметах домашнего обихода, в течение нескольких месяцев — на обычных агаровых косяках, выдерживают нагревание до 60°C в течение 30 минут.

4. Патогенез.

Известно, что факторы вирулентности энтерококков (цитолизин, желатиназа, агрегационная субстанция) могут быть вовлечены в патогенез инфекционного процесса по-разному, то есть экспрессия вирулентности может меняться от одного типа инфекции к другому и от одного вида макроорганизма к другому.

Отмечаются различия в степени выраженности вирулентных свойств энтерококков в моно- и микстинфекциях, так в эксперименте по моделированию перитонита у крыс при смешанном перитоните факторы вирулентности энтерококков по большей части увеличивали выраженность воспалительных реакций, тогда как различия по микробиологическим параметрам были минимальными. Комбинация двух факторов вирулентности незначительно повышала тяжесть инфекции и в модели на мышах, и в полимикробной модели на крысах.

Несмотря на то, что продукция гемолизина-бактериоцина рассматривается исследователями как фактор вирулентности, имеется и другая точка зрения на роль этого фактора в обеспечении жизнеспособности энтерококковой популяции. Оказалось, что данный цитолизин обладает эффектом замедления роста других микроорганизмов биоценоза полости рта, что существенно влияет на колонизацию поверхности зубов и на формирование кариозной полости. Кратковременная колонизация бактериоцин-продуцируемым штаммом *E. faecalis* приводила к значительным количественным и качественным изменениям в структуре популяций чувствительных микроорганизмов. Как считают авторы, *E. faecalis* - продуцент бактериоцина может оказаться одним из кандидатов для применения в качестве штамма при замещающей терапии.

5. Клиника болезни.

Клиническая картина кокковых токсикозов у людей обычно проявляется сравнительно быстро после приема пищи (через 2-6 ч.) и сопровождается следующими симптомами: головной болью, головокружением, общей слабостью, тошнотой, рвотой с судорожными позывами, поносом, болями в подложечной области, иногда озноб; в тяжелых случаях упадком сердечной деятельности, судорогами, ослаблением зрения и потерей сознания с падением кровяного давления, иногда повышением температуры до 38,5°C. Выздоровление обычно наступает через 1-3 суток. Смертельных случаев почти не наблюдают. Возможно и иное проявление болезни: внезапное начало, боли в животе, жидкий стул несколько раз в сутки, нередко с кровью, иногда тошнота и рвота, головная боль, слабость. Это зависит от характера токсинов выделяемых кокковой микрофлорой.

1.10. Лекция № 10 (2 часа)

Тема: «*Bacillus anthracis*, как инфекционный агент вызывающий пищевое заболевание»

1.10.1 Вопросы лекции:

1. Общая характеристика возбудителя.
2. Морфология и культуральные свойства *Bacillus anthracis*.
3. Антигенная структура.
4. Патогенность.
5. Клиника болезни.

1.10.2 Краткое содержание вопросов.

1. Общая характеристика возбудителя.

Возбудитель сибирской язвы - *Bacillus anthracis* - принадлежит к семейству Bacillaceae.

возбудитель сибирской язвы. *Bacillus anthracis* — спорообразующая, грамположительная неподвижная палочка, имеющая размер 1—1,2 на 3—5 мкм. *Bacillus anthracis* — первый доказанный возбудитель заболеваний человека, выделенный в 1877 году в чистую культуру Робертом Кохом

2. Морфология и культуральные свойства *Bacillus anthracis*.

B. anthracis — крупные палочки, в мазках располагаются попарно или короткими цепочками. Неподвижны, вне организма образуют споры, очень устойчивые во внешней среде. Бациллы сибирской язвы в организме человека и животных образуют капсулы. Грам+, аэробы или факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых средах при pH 7,2—7,8. На мясопептон-ном агаре образуют шероховатые колонии с неровными краями, напоминающими львиную гриву. При росте на жидких средах не дают равномерного помутнения, а образуют осадок на дне пробирки, который напоминает комочек ваты.

Ферментативные свойства. Бациллы сибирской язвы обладают высокой биохимической активностью. Содержат ферменты: липазу, дегидразу, пероксидазу, каталазу. Гид-ролизуют крахмал. В отличие от сапрофитов, палочки сибирской язвы не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде. Молоко свертывают и пептонируют за 3-5 суток. С образованием кислоты бациллы ферментируют глюкозу, сахарозу, мальтозу.

3. Антигенная структура.

В состав антигенов бациллы антракса входят неиммуногенный соматический полисахаридный комплекс и капсульный глутаминполипептид. Полисахаридный антиген не со-здает иммунитета у животных и не определяет агрессивных функций бациллы, его всегда обнаруживают как у вирулентных, так и авирулентных штаммов. В связи с тем что полисахарид тесно связан с телом бактериальной клетки, он получил название соматического антигена. Сибиреязвенный соматический антиген очень часто обозначается буквой С, капсульный полипептид — буквой Р. Капсульный антиген бациллы антракса представлен сложным полипептидом d-глутаминовой кислоты и рассматривается как группоспецифическое вещество, так как он дает перекрестные серологические реакции с полипептидом *B.subtilis*, *B.circus* и *B.megaterium*. Активными антигенами также являются все три компонента сибиреязвенного экзотоксина.

4.Патогенность.

К возбудителю сибирской язвы восприимчивы все виды млекопитающих. В естественных условиях чаще болеют овцы, крупный рогатый скот и лошади, могут заражаться ослы и мулы. Чрезвычайно восприимчивы козы, буйволы, верблюды и северные олени. Свиньи менее чувствительны. Среди диких животных восприимчивы все травоядные. Известны случаи заболевания собак, волков, лисиц, песцов, среди птиц — уток и страусов.

5. Клиника болезни.

Инкубационный период при сибирской язве зависит от пути передачи инфекции, инфицирующей дозы возбудителя и колеблется от 1 до 6-7 дней (чаще 2-3 дня).

длительность инкубационного периода при ингаляционной форме сибирской язвы обратно пропорциональна количеству поступившего в организм возбудителя.

Различают кожную, ингаляционную (легочную) и гастроинтестинальную (кишечную) формы сибирской язвы.

Гастроинтестинальная (кишечная) форма сибирской язвы встречается в развивающихся странах. В настоящее время она регистрируется крайне редко: около 1% случаев.

1.11. Лекция № 11 (4 часа)

Тема: «Пищевые отравления, вызываемые *Bacillus cereus*»

1.11.1 Вопросы лекции:

1. Морфология и культуральные свойства *Bacillus cereus*.
2. Устойчивость.
3. Патогенность.
4. Клиника болезни.

1.11.2 Краткое содержание вопросов.

1. Морфология и культуральные свойства.

Bacillus cereus (от лат. *cera* — воск, свеча) широко распространена в природе, морфологически сходна с *Bacillus anthracis* (характерно расположение микробных тел в виде штакетника).

Bacillus cereus подвижная бактерия, значит обладает H-антигеном, по которому различают более 20 серологических вариантов.

Микроорганизм не обладает капсулой, но образует споры - устойчив к воздействию высокой температуры. Грамположительный.

Температурный оптимум роста 30°C, оптимум pH 7-9,5. На МПА образует «распластанные» колонии с неровными краями; на КА колонии «распластанные», зернистые, с широкой зоной гемолиза, на яичном агаре образует широкую зону преципитации белого цвета (эффект бактериальной лецитиназы), зона быстро растет и через несколько суток инкубации охватывает всю поверхность чашки. Колонии, выросшие на агаре, имеют характерный восковидный вид.

2. Устойчивость.

Данный микроорганизм выделяют практически из всех пищевых продуктов, муки и теста, мясных продуктов, из практически всех видов специй (лавр, перец, сухой чеснок и т.д.).

Основная среда обитания это почва, откуда микроб попадает в воздух и воду. Вегетативная форма бактерий отмирает при воздействии температуры в 70°C. При температуре холодильника, бактерии не размножаются, при низких температурах (до – 20°C) сохраняет жизнеспособность до 4-х месяцев.

Споровая форма бактерий выдерживает режимы пастеризации, температуру в 100°C выдерживает 1 час, в 125°C – 10-13 минут.

3. Патогенность.

Пищевые отравления, причиной которых является *Bacillus cereus* возникают при употреблении продуктов питания животного, растительного и смешанного происхождения. *Bacillus cereus* вызывает два типа пищевых отравлений (гастроэнтеритов); интоксикацию опосредует энтеротоксин, образуемый вегетирующими формами, прорастающими из спор устойчивых к определенным термическим режимам обработки пищевых продуктов. Бациллы образуют токсины только *in vivo*, во время прорастания спор.

Первый тип отличает укороченный инкубационный период (около 4-5 ч.), характерны изнуряющие диарея и рвота.

Второй тип отравлений характеризует более продолжительный инкубационный период (около 17 ч); патогенез полностью опосредован действием энтеротоксина, больные жалуются на схваткообразные боли в животе, диарею; этот комплекс симптомов часто и ошибочно принимают за пищевые отравления, вызванные клостридиями.

Считается, что патогенность *B. cereus* связана с ее способностью синтезировать и секретировать два экзотоксина: диареогенно-летальный токсин, цереолизин.

При бактериологической диагностике таких пищевых отравлений необходимо обращать внимание на количественное содержание *B. cereus* в продуктах (10⁶ и более

клеток в 1 г). Серологическое подтверждение диагноза дают обнаружение в сыворотке антител к *V.cereus* и нарастание их титра. Длительность болезни 3-6 дней. Смертельный исход редок.

4.Клиника болезни.

Первый тип отличает укороченный инкубационный период (около 4-5 ч.), характерны изнуряющие диарея и рвота. Заболевание развивается при употреблении пищи, обсемененной большим количеством микроорганизмов. Часты случаи отравлений в связи с употреблением жареного риса, содержащего проросшие споры *Bacillus cereus*, эти случаи не менее часто ошибочно связывают с отравлениями стафилококковым энтеротоксином.

Подобные отравления можно считать токсикозами, связанными не столько с активностью токсина, сколько с действием метаболитов, накапливающихся в пищевых продуктах

Второй тип отравлений характеризует более продолжительный инкубационный период (около 17 ч); патогенез полностью опосредован действием энтеротоксина, больные жалуются на схваткообразные боли в животе, диарею; этот комплекс симптомов часто и ошибочно принимают за пищевые отравления, вызванные клостридиями. Патогенез обоих типов отравлений в большей или меньшей степени связан с действием энтеротоксина. В материалах семинара, состоявшегося в 1990 году, опубликована работа Ю.В.Езепчука и А.Р.Битцаева «Структурное сходство токсинов *Bac.cereus* и *Bac.anthraxis*». Авторы считают, что существует структурное и функциональное сходство между диареегенным - летальным токсином (DLT) *Bac.cereus* и экзотоксином *Bac.anthraxis*. DLT обладает тремя типами биологической активности: диареегенным, летальным и васкулярным, увеличивающим проницаемость. Однако механизмы действия токсина *Bac.cereus* остаются до конца не изученными. Считается, что патогенность *V.cereus* связана с ее способностью синтезировать и секретировать два экзотоксина. Один из них состоит из трех белковых компонентов, обладает, как выше указывалось, диареегенной, летальной активностью и повышает проницаемость сосудов (диареегенно-летальный токсин). Второй токсин — цереолизин — вызывает цитолитический и летальный эффект и также нарушает проницаемость кровеносных сосудов. Попадая в пищевые продукты, патогенные варианты *V.cereus* размножаются в них и продуцируют экзотоксины. Под влиянием протеолитических и других ферментов, выделяемых *V.cereus*, в продуктах накапливаются различные ядовитые вещества (птомаины). Все это вместе взятое и приводит к развитию пищевого отравления. Заражение чаще всего происходит при употреблении зараженных *V.cereus* растительных продуктов и молока (40-55%), а также мясных (25%) и других продуктов

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа № 1 (2 часа).

Тема: «Классификация бактериальных токсинов»

2.1.1 Цель работы: ознакомиться с методами классификации бактериальных токсинов.

2.1.2 Задачи работы:

1. Классификация по природе и химических свойствам.
2. Классификация по механизму действия.
3. Классификация по секторным механизмам.

2.1.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Луи Пастером в 1887 г. были проведены опыты доказывающие, что веществами, которые образуются в результате жизнедеятельности микроорганизмов и находятся в питательном бульоне, можно вызывать такие же клинические признаки заболевания, как и при заражении самим возбудителем болезни. Э. Ру и А. Иерсин в своих экспериментах 1889 года подтвердили этот вывод. Дальнейшие исследования показали, что безмикробные, стерильные фильтраты, полученные с жидких питательных сред, где размножались изучаемые микроорганизмы, вызывают клинические проявления и патологические изменения, характерные для столбняка, ботулизма, холеры, скарлатины. Познее выяснилось, что проявление ряда патологических процессов при многих инфекционных заболеваниях вызвано продуктами жизнедеятельности микробов. Эти продуцируемые микроорганизмами вещества получили название микробных токсинов. Уже к 1890 году были обнаружены токсины двух важнейших патогенных для человека микроорганизмов (вызывающих большой процент смертельного исхода при заболевании) *C. diphtheriae* - дифтерия и *Cl. tetani* - столбняк. Постепенно, в ходе экспериментов, все токсины микробной этиологии разделили на две группы. В первую включили токсические продукты связанные со стромой (телом) микробной клетки. Они становятся токсичными только после гибели и разрушения микроорганизмов. Эту группу токсинов выявили у грамотрицательных бактерий и назвали эндотоксинами (эндо - endo - внутри). Для них характерна низкая специфичность действия. При введении экспериментальным животным, все они вызывают схожие клинические и патологические симптомы. Изучение их природы и места локализации в клетке потребовало длительного, интенсивного исследования. Сейчас установлено, что эндотоксины – это комплекс липополисахаридов с белками, которые находятся в наружных слоях клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Во вторую группу отнесли секретируемые или растворимые микробные токсины. Они выделяются в окружающую среду при жизни микроорганизмов и не связаны со стромой последних. Эти токсины оказались чувствительны к нагреванию и являются белками. Так как они присутствуют в среде и не являются структурной частью микроорганизма, то получили название экзотоксины (экзо – exo – снаружи, вне). В экспериментах было доказано, что экзотоксины оказывают специфическое действие на организм, характерное для той или иной болезни. Термины «эндотоксины» и «экзотоксины», которыми называют две выше указанные группы токсических веществ не должны вводить в заблуждение. В настоящее время есть данные, показывающие, что

многие «экзотоксины» связаны с бактериальными клетками во время их роста и высвобождаются только после гибели и лизиса (разрушения) бактерий. Общепринято что, экзотоксины являются белками, а эндотоксины - молекулярными комплексами, содержащими белок, липид и полисахарид. Приведенные выше термины, в настоящее время настолько общеприняты, что отказываться от них никто не хочет. Предложенный М. Далиным и Н. Фишем (1980) термин «мезотоксины», объединяющий те токсины микроорганизмов, что имеют общие характеристики первой и второй групп, не получил признания. В таблице 1 дана дифференциальная характеристика экзо- и эндотоксинам.

Однако, биохимики, разделение микробных токсинов на группы, проводят в соответствии с данными об их природе и химических свойствах. Они различают группу простых и сложных белков (протеотоксины), группу со стероидной конфигурацией (афлотоксины) и группу липополисахаридных комплексов, токсическую активность которых определяет липидный компонент (липид А). Такой биохимический, а в последствии иммунохимический подход позволил теоретически и биохимически обосновать получение антитоксинов (Э. Беринг, 1892г.). С их помощью смогли отличать один токсический микробный биополимер от другого, микробиологи – отличать *in vitro* (в пробирке) токсигенные штаммы от нетоксигенных, патофизиологи – понимать (в какой-то степени) механизм поражающего действия токсинов. П. Эрлих (P. Ehrlich), используя антитоксины, как молекулярные зонды, впервые выявил молекулярную характеристику микробных токсинов. Позднее Г. Рамон (G. Ramon) опираясь на его теоретические разработки, организовал производство анатоксинов. Исследования по антитоксинам позволили провести разделение, дифференциацию токсинов на серотипы (серогруппы, сероварианты) в соответствии с их антигенной структурой. Однако при серологическом анализе доказана некоторая идентичность токсинов, вырабатываемых бактериями разных видов и родов. Выяснилось, что антигенно-родственными оказались холерный токсин и термолабильные энтеротоксины, продуцируемые *E.coli*, *Sal.typhimurium*. Установлена антигенная похожесть энтеротоксинов выделяемых бактериями видов *Sh.plexneri* и *Sh.dysenteriae*. Высокая степень сходства отмечается у токсинов (гемолизина) *Cl.tetani*, *Bac.cereus* и *Diplococcus pneumoniae* и *St.pyogenes*, *CL.perfringens*.

Проведенные иммунологические исследования позволяют рассматривать микробные токсины как совокупность серогрупп, которые сходны в каких-то структурах по своему молекулярному строению. Стало ясно, что микробные токсины можно группировать не только по сходству происхождения (эндо- или экзо-), химической природе (белки, липополисахариды), по сходству в молекулярной организации, по его антигенной структуре, но и потому, какую роль играют отдельные структурные единицы или молекулы в патогенезе интоксикации на клеточном или субклеточном уровнях. Так, например выявлено, что экзотоксины шигелл, синегнойной палочки, дифтерийной бактерии почти одинаковым образом блокируют синтез белков на субклеточном уровне, причем два последних выводят из строя один и тот же фермент - трансферазу II. Обнаружилась функциональная общность холерного токсина и термолабильного токсина *E.coli*, поражающее действие которых связано со способностью активировать клеточную аденилатциклазу.

Благодаря методическому подходу по разделению (дифференциации) микробных токсинов по указанному принципу были уточнены некоторые особенности микробных токсинов.

Получены данные, что они отдельными участками своих молекул иммитируют (подражают) структуре ферментов, гормонов, нейромедиаторов макроорганизма. Возможно, эта особенность и обеспечивает микробным токсинам способность вмешиваться в обменные процессы у макроорганизма (человека).

2.2 Лабораторная работа № 2 (2 часа).

Тема: «Эндотоксины бактерий»

2.2.1 Цель работы: изучить методы определения и методы удаления эндотоксинов.

2.2.2 Задачи работы:

1. Изучить метод ультрафильтрации удаления эндотоксинов.
2. Определить использование системы двухфазного разделения при удалении эндотоксинов.
3. Ознакомиться с LAL тестом для определения эндотоксинов.

2.2.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы

Методы удаления эндотоксинов

Существует целый ряд методов, которые применяют для удаления бактериальных эндотоксинов: ионообменная хроматография, аффинные сорбенты, гель-фильтрация, ультрафильтрация, центрифугирование в градиенте сахарозы, использование системы двухфазного разделения.

Способ удаления определяется масштабами и экономической целесообразностью. Для удаления эндотоксинов из больших объемов обычно используют ультрафильтрацию и ионообменную хроматографию. Ультрафильтрация очень эффективна для удаления эндотоксинов из воды и водных растворов, но совершенно не годится в случаях очистки от эндотоксинов растворов, содержащих белки или нуклеиновые кислоты. Те же недостатки ультрафильтрации относятся и к ионообменной хроматографии. Использование аффинных сорбентов, как правило, иммобилизованных на агарозе, сефарозе, акриламиде и других носителях, является, пожалуй, самым эффективным способом удаления бактериальных эндотоксинов. Основные минусы такого подхода: 1. длительность процесса удаления (необходимо многократно пропускать пробу через колонку, скорость потока при этом не может быть большой, т.к. это приводит к деформации сорбента), 2. разбавление пробы в процессе очистки может быть от 10 до 100-кратной, 3. стоимость аффинного сорбента может быть очень большой.

Двухфазная система разделения является самым дешевым и самым эффективным способом удаления эндотоксинов. Основной принцип этого метода - образование двухфазной мицеллярной системы за счет добавляемого в водный раствор мицеллообразующего полимера. Бактериальный эндотоксин захватывается образующимися мицеллами из водной гидрофильной части и при разделении фаз остается в гидрофобной среде

Использование трех циклов обработки двухфазной системой позволяет снизить уровень эндотоксинов во всех рекомбинантных белках, получаемых из *E. coli*, более чем на 99%. При этом биологическая активность и свойства самих белков не претерпевают изменений.

Минус двухфазной системы - в водной фазе после разделения всегда остается некоторое количество добавляемого мицеллообразующего полимера. Некоторые исследователи считают, что примеси этого полимера оказывают негативное влияние при дальнейшем использовании очищенных таким образом препаратов. Другие исследователи опровергают негативное такое негативное влияние. Наш опыт использования препаратов, очищенных от бактериальных эндотоксинов при помощи двухфазной мицеллярной системы, как в системе *in vitro*, так и *in vivo*, не показал никаких негативных эффектов ни

на клетки, ни на животных, в которые вводили очищенные препараты.

По-видимому, работа с такой системой требует некоторых навыков и их недостаток может проявляться в последующих результатах.

Определение эндотоксинов

Для определения эндотоксинов стандартно применяют LAL тест (LAL: Limulus Amebocyte Lysate). С семидесятых годов этот тест вытеснил применявшийся ранее так называемый "пирогенный тест", когда испытуемый препарат вводили кроликам. Кролики очень чувствительны к эндотоксинам и их реакция на вводимые препараты долгое время служила индикатором пирогенности.

В настоящее время стал применяться также EAA тест (EAA: Endotoxin Activity Assay). Этот тест разработан компанией Spectral Diagnostics Inc. (www.spectraldx.com) и позволяет выявлять уровень эндотоксинов в крови.

По международной классификации концентрацию эндотоксинов обозначают в EU (endotoxin units): EU/мл или EU/мг. Одна единица (1 EU) приблизительно соответствует 100 пг эндотоксина. Одна бактериальная грам-негативная клетка содержит приблизительно 10-15г или 1 фг эндотоксина, таким образом, 1 EU производят 105 бактерий. 1 мл ночной культуры E. coli содержит от $5 \cdot 10^8$ до 10^9 клеток, что соответствует до 10'000 EU на 1 мл культуры.

2.3 Лабораторная работа № 3 (2 часа).

Тема: «Экзотоксины бактерий»

2.3.1 Цель работы: изучить экзотоксины бактерий.

2.3.2 Задачи работы:

1. Классификация экзотоксинов.
2. Токсигенность.
3. Серотип экзотоксинов.

2.3.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Экзотоксины - это токсическое вещество, выделяемое клеткой в окружающую среду. Как правило, экзотоксины более специфичны и более токсичны, чем эндотоксины. Один из наиболее известных экзотоксинов - ботулотоксин, вызывающий ботулизм. Многие экзотоксины образуются грамположительными бактериями.

Экзотоксины в зависимости от прочности их соединения с микробной клеткой подразделяются:

- на полностью секретируемые (собственно экзотоксины) в окружающую среду;
- частично секретируемые;
- несекретируемые.

Последние освобождаются только в процессе разрушения бактериальных клеток, что делает их сходными по этому свойству с эндотоксинами.

По механизму действия на клетки макроорганизма бактериальные токсины делятся на несколько типов, хотя это деление достаточно условно и некоторые токсины могут быть отнесены сразу к нескольким типам:

1-й тип - мембранотоксины (гемолизины, лейкоцидины);

2-й тип - функциональные блокаторы, или нейротоксины (тета-носпазмин, ботулинический токсин), -- блокируют передачу нервных импульсов в синапсах (в клетках

спинного и головного мозга);

3-й тип - термостабильные и термолабильные энтеротоксины - активизируют клеточную аденилатциклазу, что приводит к нарушению энтеросорбции и развитию диарейного синдрома. Такие токсины продуцируют холерный вибрион (холероген), энтеротоксигенные кишечные палочки;

4-й тип - цитотоксины - токсины, блокирующие синтез белка на субклеточном уровне (энтеротоксин золотистых стафилококков, дерматонекротоксины стафилококков, палочек сибирской язвы, сине-зеленого гноя и возбудителя коклюша); сюда же относят антиэлонгаторы - препятствующие элонгации (наращиванию) или транслокации, т. е. передвижению и-РНК вдоль рибосомы, и тем самым блокирующие синтез белка (дифтерийный гистотоксин, токсин синегнойной палочки);

5-й тип - эксфолиатины, образуемые некоторыми штаммами золотистого стафилококка, и эритрогенины, продуцируемые пиогенным стрептококком группы А.

Они влияют на процесс взаимодействия клеток между собой и с межклеточными веществами и полностью определяют клиническую картину инфекции (в первом случае возникает пузырьчатка новорожденных, во втором - скарлатина)

Многие бактерии образуют не один, а несколько белковых токсинов, которые обладают разным действием - нейротоксическим, цитотоксическим, гемолитическим: стафилококк, стрептококк.

В то же время некоторые бактерии могут одновременно образовывать как белковые экзотоксины, так и эндотоксины: кишечная палочка, холерный вибрион.

Токсигенность - свойство бактерий продуцировать и выделять во внешнюю среду экзотоксины (дифтерийный, ботулинистический, токсин *Clostridium difficile*, холерный, стафилококковый и др.), играющие решающую роль в развитии заболеваний.

Если существует несколько серологических вариантов экзотоксина, то определяют его серотип. Определение серотипа токсина имеет важное значение для назначения адекватной серотерапии (лечения сыворотками). Так при ботулизме определение типа токсина позволяет использовать моновалентную сыворотку и сокращает количество чужеродного лошадиного белка, вводимого в организм. Серотипы экзотоксинов выявляют с использованием одного из следующих методов:

- ИФА;
- реакции преципитации;
- реакции обратной пассивной гемагглютинации;
- иммунохроматографии с использованием антител, меченных коллоидным золотом;
- реакции нейтрализации на животных или в культуре клеток.

2.4 Лабораторная работа № 4 (2 часа).

Тема: «Факторы патогенности диареегенных *E. coli*»

2.4.1 Цель работы: изучить факторы патогенности диареегенных *E. coli*.

2.4.3 Задачи работы:

1. Факторы патогенности.
2. микробиологическая диагностика.

2.4.4 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

E. coli — это мелкие грамотрицательные палочки с закругленными концами. В мазках они располагаются беспорядочно, не образуют спор, перитрихи. Некоторые штаммы имеют микрокапсулу, пили.

Факторы патогенности

Образует эндотоксин, обладающий энтеротропным, нейротропным и пирогенным действием. Диареогенные эшерихии продуцируют экзотоксин вызывающий значительное нарушение водно-солевого обмена. Кроме того, у некоторых штаммов, как и возбудителей дизентерии, обнаруживается инвазивный фактор, способствующий проникновению бактерий внутрь клеток. Патогенность диареогенных эшерихий - в возникновении геморагии, в нефротоксическом действии. К факторам патогенности всех штаммов *E.coli* относятся пили и белки наружной мембраны, способствующие адгезии, а также микрокапсула, препятствующая фагоцитозу.

В зависимости от обладания какими-либо из этих свойств патогенные эшерихии классифицированы на 5 категорий:

1. энтеропатогенные (ЭПКП);
2. энтероинвазивные (ЭИКП);
3. энтеротоксигенные (ЭТКП);
4. энтерогеморрагические (ЭГКП);
5. энтероагрегативные кишечные палочки (ЭАКП).

Энтеропатогенные бактерии (ЭПКП) являются возбудителями коли-энтеритов, главным образом, у детей первого года жизни.

Энтероинвазивные кишечные палочки (ЭИКП) вызывают дизентерие-подобные заболевания у детей и взрослых.

Энтеротоксигенные кишечные палочки (ЭТКП) вызывают холероподобные заболевания у детей и взрослых, что связано с их способностью продуцировать экзотоксин, подобный холерогену.

Энтерогеморрагические кишечные палочки (ЭГКП) продуцируют цитотоксин и вызывают заболевания, похожие на дизентерию Григорьева— Шига.

Выделена также категория энтероагрегативных кишечных палочек (ЭАКП) с не идентифицированными серогруппами и сероварами. Энтероагрегативные кишечные палочки выделены в отдельную группу в середине 80-х гг. XX в. Эти эшерихии обладают способностью вызывать заболевания главным образом у лиц с ослабленной сопротивляемостью инфекции.

Микробиологическая диагностика

Основной метод — бактериологический. Определяют вид чистой культуры (грамотрицательные палочки, оксидазоотрицательные, ферментирующие глюкозу и лактозу до кислоты и газа, образующие индол, не образующие сероводород) и принадлежность к серогруппе, что позволяет, отличить условно-патогенные кишечные палочки от диареогенных. Внутривидовая идентификация, имеющая эпидемиологическое значение, заключается в определении серовара с помощью диагностических адсорбированных иммунных сывороток.

2.5 Лабораторная работа № 5 (2 часа).

Тема: «Энтеропатогенные кишечные палочки»

2.5.1 Цель работы: изучить энтеропатогенные кишечные палочки.

2.5.2 Задачи работы:

1. Энтеропатогенная кишечная палочка.
2. Факторы вирулентности.

2.5.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Энтеропатогенная кишечная палочка часто обозначается аббревиатурой на латинице — ЕТЕС. Кишечные инфекции, вызываемые энтеропатогенными штаммами кишечных палочек, развиваются чаще всего в тонкой кишке у детей первого года жизни, в том числе у новорождённых. Заболевание сопровождается сильным поносом с водянистым стулом без примеси крови, выраженными болями в животе, рвотой. Энтеропатогенные *Escherichia coli* являются частой причиной диарей в родильных домах. Штаммы ЕТЕС являются основной причиной развития острой водянистой диареи в развивающихся странах, особенно в тёплый и влажный сезон. Как в развитых, так и в развивающихся странах штаммы энтеропатогенной кишечной палочки являются наиболее распространенной причиной «диареи путешественников», которая обычно проходит без лечения.

Энтеропатогенная кишечная палочка имеет два важных фактора вирулентности:

1. фактор колонизации, за счет которых происходит прилипание ЕТЕС к энтероцитам тонкой кишки
2. токсический фактор: штаммы ЕТЕС продуцируют термолабильные (LT) и/или термостабильные (ST) энтеротоксины, вызывающие секрецию сока и электролитов, что приводит к водянистой диарее. ЕТЕС не разрушают кисточковую кайму и не внедряются в слизистую оболочку кишечника.

2.6 Лабораторная работа № 6 (2 часа).

Тема: «Энтеротоксигенные кишечные палочки»

2.6.1 Цель работы: изучить энтеротоксигенные кишечные палочки.

2.6.2 Задачи работы:

1. Энтеротоксигенные кишечные палочки.

2.6.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Вызывают холероподобную инфекцию у детей и взрослых. Это связано с белковыми энтеротоксинами, напоминающими по механизму действия холероген. ЭТКП адгезируют на энтероцитах преимущественно за счет своих пилей, причем адгезия не сопровождается воспалительной реакцией. После колонизации энтероцитов возбудитель локализуется на поверхности клеток и продуцирует два типа энтеротоксина - термолабильный и термостабильный, которые нарушают водно-солевой обмен. Первый отличается от второго тем, что он активирует аденилатциклазу, что приводит к накоплению цАМФ (циклический аденозинмонофосфат), нарушению секреции и развитию острой диареи. Термолабильный токсин обладает иммуногенными свойствами. Термостабильный энтеротоксин действует через систему гуанилатциклазы и лишен иммуногенных свойств. ЭТКП принадлежат к сероварам 025, 0124, 0144 и др.

2.7 Лабораторная работа № 7 (2 часа).

Тема: «Факторы патогенности сальмонелл»

2.7.1 Цель работы: ознакомится с факторами патогенности сальмонелл.

2.7.2 Задачи работы:

1. Факторы патогенности.
2. Лабораторная диагностика.

2.7.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

У сальмонелл имеются факторы адгезии и колонизации, факторы инвазии; они имеют эндотоксин и, наконец, они, по крайней мере *S. typhimurium* и некоторые другие серотипы, могут синтезировать два типа экзотоксинов:

1. термолабильные и термостабильные энтеротоксины типа LT и ST;
2. шигаподобные цитотоксины.

Особенностью токсинов является внутриклеточная локализация и выделение после разрушения бактериальных клеток. LT сальмонелл имеет структурное и функциональное сходство с LT энтеротоксигенных *E. coli* и с холерогеном. Его м. м. 110 кД, он устойчив в диапазоне pH 2,0-10,0. Токсинообразование у сальмонелл сочетается с наличием у них двух факторов кожной проницаемости:

1. быстродействующего - продуцируется многими штаммами сальмонелл, термостабилен (при 100 °C сохраняется в течение 4 ч), действует в течение 1-2 ч;
2. замедленного - термолабилен (разрушается при 75 °C в течение 30 мин), вызывает эффект (уплотнение кожи кролика) через 18-24 ч после введения.

Молекулярные механизмы диареи, вызываемой LT и ST сальмонелл, по-видимому, также связаны с нарушением функции аденилат- и гуанилатциклазных систем энтероцитов. Цитотоксин, продуцируемый сальмонеллами, термолабилен, его цитотоксическое действие проявляется в угнетении синтеза белка энтероцитами. Обнаружено, что отдельные штаммы сальмонелл могут одновременно синтезировать LT, ST и цитотоксин, другие - только цитотоксин.

Вирулентность сальмонелл зависит также от обнаруженной у них плазмиды с м.м. 60 МД, утрата ее значительно снижает вирулентность бактерий. Предполагается, что появление эпидемических клонов сальмонелл связано с приобретением ими плазмид вирулентности и R-плазмид.

Лабораторная диагностика сальмонеллеза.

Основной метод диагностики сальмонеллезной инфекции - бактериологический. Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, кровь, промывные воды желудка, моча, послужившие причиной отравления продукты. Особенности бактериологической диагностики сальмонеллезозов:

- использование сред обогащения (селенитовой, магниевой), в особенности при исследовании испражнений;
- для обнаружения сальмонелл пробы следует брать из последней, более жидкой, части испражнений (верхнего отдела тонкого кишечника);
- соблюдать соотношение 1: 5 (одна часть испражнений на 5 частей среды);
- в связи с тем, что *S. arizonae* и *S. diarizonae* ферментируют лактозу, использовать в качестве дифференциально-диагностической не только среду Эндо, но и

висмут-сульфитагар, на котором колонии сальмонелл приобретают черный (некоторые - зеленоватый) цвет;

- для посева крови использовать среду Рапопорт;
- использование для предварительной идентификации колоний 01-сальмонеллезного фага, к которому чувствительны до 98 % сальмонелл;
- для окончательной идентификации выделенных культур вначале используют поливалентные адсорбированные О- и Н-сыворотки, а затем - соответствующие моновалентные О- и Н-сыворотки.

Для быстрого обнаружения сальмонелл могут быть использованы поливалентные иммунофлуоресцентные сыворотки. Для выявления антител в сыворотке крови больных и переболевших используется РПГА с применением поливалентных эритроцитарных диагностикумов, содержащих полисахаридные антигены серогрупп А, В, С, D и Е.

2.8 Лабораторная работа № 8 (2 часа).

Тема: «Сальмонеллез у свиней»

2.8.1 Цель работы: изучить сальмонеллез у свиней.

2.8.2 Задачи работы:

1. Этиология
2. Эпизоотология.
3. Патогенез.
4. Клинические признаки.

2.8.4 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Этиология. Заболевание у свиней вызывают в основном следующие виды сальмонелл: сальмонелла холерасуис, сальмонелла энтеритидис, сальмонелла тифимуриум и сальмонелла тифисуис. Сальмонеллы представляет из себя — маленькие палочки (1-4* 0,5мкм), с закругленными концами, грамотрицательные, подвижные, спор и капсул не образуют. Во внешней среде довольно устойчивы- сохраняясь на объектах внешней среды до 160дней, в навозе-420 суток, в воде- свыше 500 суток, в соленом и копченом мясе- 2,5-3месяца, в замороженном состоянии в течение 4-5месяцев, на солнечном свете до 150дней, при нагревании до 70-75 градусов инактивируется за 15-30минут. При биотермическом обеззараживании в навозе инактивируется в течение трех недель. Бактерии неустойчивы к дезинфицирующим средствам : 4% раствор едкого натра, хлорная известь содержащая 4% активного хлора, 20%-ная взвесь свежегашеной извести, 1%-ный раствор карболовой кислоты и креолина.

Эпизоотология. Возникновению сальмонеллеза в хозяйстве способствуют антисанитарные условия содержания поросят (неудовлетворительный микроклимат в свинарнике), а также скормливание недоброкачественных кормов, наличие у свиней других заболеваний. Поросята сальмонеллезом заболевают с первых дней жизни до 4-х месячного возраста, но эпизоотии у поросят чаще возникают после отъема. Первые случаи заболевания поросят сальмонеллезом на свинарнике в основном зависят от ослабления устойчивости молодняка в результате неудовлетворительных условий кормления, ухода и содержания. Вначале заболевают слабые, недоразвитые поросята. По мере пассажа, вирулентность возбудителя усиливается и начинает заражаться нормальный молодняк.

Источником сальмонеллеза являются больные поросята, а также переболевшие

животные-бактерионосители и их экскременты. Особую опасность на свинарнике представляют подсосные свиноматки-бактерионосители, когда сальмонеллезная инфекция, возникнув в пометах таких свиноматок, распространяется на другие пометы.

Патогенез. Сальмонеллы попав поросётам алиментарным путем (с молоком, кормом, водой и пр.) нарушают целостность слизистой оболочки кишечника и проникают в кровь. Попав в кровь, они повреждают стенку сосудов, в результате чего происходит выход эритроцитов в окружающие ткани, развиваются экссудативные процессы. Одновременно сальмонеллы и их токсины оказывают воздействие на центральную нервную систему, вызывая в ней токсико-дистрофические изменения, приводя в итоге к нарушению функции всего организма.

Клинические признаки

Свиньи.

Болезнь часто протекает бессимптомно, в период супоросности иногда отмечают кратковременную лихорадку, аборт, рождение нежизнеспособного молодняка, низкую молочность маток.

Поросёта.

При *остром течении* болезни основные признаки – лихорадка (температура 41-42°C) и диарея. Цианоз кожи подгрудка, нижней части живота, паха, кончиков ушей, хвоста. Длительность болезни до 10 дней.

При *подостром течении* температура тела повышается периодически, поносы сменяются запорами, появляются признаки поражения легких: одышка, кашель. Резкое похудение. Посинение кожи в области ушей, пяточка, промежности и других бесшерстных или малошерстных участков кожи. Длительность болезни 3 – 4 недели.

При *хроническом течении* – поросёта истощены, отстают в росте и развитии (заморыши), аппетит извращен, кожа местами со струпами, перемежающийся понос, у отдельных животных – хроническая пневмония. Длительность болезни – недели и месяцы.

Остропротекающий сальмонеллез чаще встречается у поросётов 1-4- месячного возраста. Летальность при остром течении болезни достигает 80%, при подостром и хроническом – 60% заболевшего молодняка. На неблагополучной по сальмонеллезу ферме клинические проявления болезни отмечают, как правило, только у части молодняка. Большинство инфицированного молодняка и взрослых животных переболевают бессимптомно и остаются сальмонеллоносителями.

Ущерб от сальмонеллеза складывается из падежа животных, отставания в росте и развитии переболевших животных, абортов, расходов, связанных с проведением диагностических исследований, организацией профилактических и лечебных мероприятий.

Диагноз ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов бактериологического исследования.

В основе борьбы с сальмонеллезом, помимо общих ветеринарно-санитарных мероприятий, лежит специфическая профилактика болезни.

Для активной профилактики используют живые или инактивированные вакцины. Каждый тип вакцин имеет свои преимущества и недостатки, поэтому используют их с учетом эпизоотической обстановки. Из живых вакцин целесообразно использовать только генетически маркированные препараты.

Из числа инактивированных препаратов НПО НАРВАК выпускает вакцину против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза поросётов, которую применяют для иммунизации поросётов и супоросных свиноматок в хозяйствах, неблагополучных по данным инфекциям.

2.9 Лабораторная работа № 9 (2 часа).

Тема: «Сальмонеллез у крупного рогатого скота»

2.9.1 Цель работы: изучить сальмонеллез крупного рогатого скота.

2.9.2 Задачи работы:

1. Эпизоотология.
2. Патогенез.
3. Клинические признаки.

2.9.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Эпизоотология

Сальмонеллы патогенны для животных многих видов, в том числе и птиц, но клинически выраженную болезнь обычно вызывают отдельные серологические варианты, адаптировавшиеся к конкретным видам. В неблагополучном по сальмонеллезу хозяйстве заболевает часть молодняка. Большинство же инфицированных молодых и взрослых животных переболевают бессимптомно и остаются длительное время сальмонелл-носителями.

Патогенез

Сальмонеллы, попав в кишечник с кормом и водой, размножаются в тонком кишечнике, заселяют толстый, проникают в солитарные фолликулы и пейеровы бляшки, а также мезентеральные лимфатические узлы, из которых попадают в кровь. Заболевание в таких случаях протекает по типу септицемии. Если организм животного обладает достаточной резистентностью, то под влиянием защитных факторов (фагоциты, антитела и др.) часть возбудителей погибает в крови. В организме вырабатывается иммунитет.

Если же резистентность организма слабая, то возбудитель размножается, и микробные клетки частично разрушаются с освобождением эндотоксина. В местах размножения развивается воспаление (слизистая кишечника, желчный пузырь, печень), а эндотоксин обуславливает экссудативные процессы и диapedез с последующим появлением обильных геморрагии на серозных и слизистых оболочках и приводит к некрозам клеток печени, селезенки и почек. Возможны поражения легких, суставов, головного мозга, матки и плода. Гибель животного наступает от обезвоживания, многочисленных кровоизлияний, интоксикации и сепсиса.

Клинические признаки.

Сальмонеллы, попав в кишечник с кормом и водой, размножаются в тонком кишечнике, заселяют толстый, проникают в солитарные фолликулы и пейеровы бляшки, а также мезентеральные лимфатические узлы, из которых попадают в кровь. Заболевание в таких случаях протекает по типу септицемии. Если организм животного обладает достаточной резистентностью, то под влиянием защитных факторов (фагоциты, антитела и др.) часть возбудителей погибает в крови. В организме вырабатывается иммунитет.

Если же резистентность организма слабая, то возбудитель размножается, и микробные клетки частично разрушаются с освобождением эндотоксина. В местах размножения развивается воспаление (слизистая кишечника, желчный пузырь, печень), а эндотоксин обуславливает экссудативные процессы и диapedез с последующим появлением обильных геморрагии на серозных и слизистых оболочках и приводит к некрозам клеток печени, селезенки и почек. Возможны поражения легких, суставов,

головного мозга, матки и плода. Гибель животного наступает от обезвоживания, многочисленных кровоизлияний, интоксикации и сепсиса.

Течение и клинические проявления

Сальмонеллез у молодняка протекает остро, подостро, хронически и атипично (у телят). Инкубационный период колеблется от 1...3 до 7 сут в зависимости от резистентности организма, вирулентности и дозы возбудителя, а также способа заражения и условий, в которых находится восприимчивое животное.

У телят острое течение болезни наблюдается до 1,5-месячного возраста. Отмечают повышение температуры тела до 40...41,7°C, слабость, учащение пульса (100... 160 ударов в 1 мин) и дыхания (30...51 в 1 мин), которое становится поверхностным, брюшного типа.

Диарея появляется на 2-й день после повышения температуры, а иногда позже. Кал становится жидким, от желтого до зеленого цвета, с хлопьями слизи и фибрина, нередко с прослойками крови. Хвост и задняя часть тела загрязнены испражнениями. С появлением диареи температура тела снижается, появляются дрожание и подергивание в области бедренной и локтевой групп мышц. Теленок постепенно худеет, слабеет, волосяной покров теряет блеск, отмечают шаткость походки, конъюнктивит и ринит.

Мочеиспускание становится частым, болезненным, дыхание прерывистым. При остром течении болезни в полукоматозном состоянии животное погибает на 5... 10-й день.

Подострое течение болезни характеризуется менее выраженными симптомами и субфебрильной лихорадкой. Общее состояние животного подавленное, волосяной покров теряет блеск.

Диарея сменяется запором, начинается пневмония (истечение из носовых ходов, кашель, хрипы в легких, лихорадка перемежающегося типа).

При хроническом сальмонеллезе, который чаще развивается после острого или подострого течения, наряду с диареей преобладают признаки воспаления легких. Больные-хроники резко отстают в росте, упитанность у них снижается; поражаются запястные, коленные, заплюсневые суставы.

Диагностика и дифференциальная диагностика

Диагноз устанавливают на основании анализа эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных, а также результатов бактериологических исследований. Для бактериологического исследования в лабораторию посылают образцы паренхиматозных органов (печень с желчным пузырем и лимфатическими узлами, сердце, легкие, селезенку, почку); мезентериальные лимфатические узлы; трубчатую кость; абортированные плоды с плодовыми оболочками и околоплодной жидкостью. Для установления сальмонеллоносительства исследуют печень, селезенку. Материалом для прижизненной диагностики служат кровь и фекалии больных животных. Бактериологические исследования проводят в соответствии с методическими указаниями «Лабораторная диагностика сальмонеллез человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды».

При дифференциальной диагностике у телят исключают эшерихиоз, стрептококкоз, рота- и коронавирусную диарею, аденовирусный пневмоэнтерит и парагрипп; у поросят — эшерихиоз, дизентерию, стрептококкоз, чуму, вирусный гастроэнтерит; у ягнят — анаэробную дизентерию, эймериоз.

2.10 Лабораторная работа № 10 (2 часа).

Тема: «Санитарная оценка мяса и мясопродуктов при отравлениях животных бактериями «протей»»

2.10.1 Цель работы: ознакомиться с действующими правилами ветсанэкспертизы мяса и мясопродуктов, при отравлениях животных бактериями «протей»

2.10.2 Задачи работы:

1. Бактерии рода протей
2. Бактериологическое исследование мяса.

2.10.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Бактерии рода протей - граммотрицательные палочки, не образующие спор и капсул, подвижные. Протей чаще всего обнаруживается в мясных и рыбных продуктах, винегретах, салатах. Протей интенсивно вызывает гидролиз белков.

Диагноз отравлений протейной этиологии может быть поставлен по выделению этого микроба из продуктов и фекалий больных, а также при обнаружении в исследуемых продуктах ядовитых веществ, образующихся при гидролизе белков.

Бактериологическое исследование мяса проводят в следующих случаях: вынужденный убой животных, когда необходимо исключить заразные болезни; подозрение на септико-пиемические процессы и отравления (флегмоны, гнойные и гангренозные раны); острые воспалительные процессы в вымени, суставах, сухожильных влагалищах и копытах; осложнения, связанные с тяжелыми родами; желудочно-кишечные заболевания; тяжело протекающие заболевания дыхательных органов; отравления; резкие нарушения общего состояния организма, а также субнормальная температура без выясненной причины; удаление кишечника из туши позднее 2 ч после убоя животного (особенно летом); подозрение на наличие первичной или вторичной сальмонеллезной инфекции.

Для бактериологического исследования берут куски мышц размером не менее 8х6х6 см, покрытых фасцией (желательно из сгибателей или разгибателей передней или задней конечности); поверхностный шейный и внутренние подвздошные лимфатические узлы вместе с окружающей их соединительной и жировой тканями; селезенку; почку; часть печени с желчным пузырем и лимфатическим узлом. От мелких животных и свиней, кроме вышеуказанных проб, берут трубчатую кость.

Каждую пробу в отдельности завертывают в пергаментную бумагу, складывают в непроницаемую тару (металлическая, стеклянная посуда) и опечатывают. Одновременно пишут сопроводительный документ, где указывают вид животного или продукции, кому принадлежит продукт, какой материал направлен и в каком количестве, причину направления материала для исследования, какие установлены в продукте изменения, предполагаемый диагноз и какое требуется провести исследование (бактериологическое, биохимическое и др.).

Внешний вид мяса и мясопродуктов, зараженных сальмонеллами, как правило, не изменен, и не вызывает никаких подозрений. В основе санитарной оценки мяса и мясопродуктов, зараженных сальмонеллами, лежит патогенность этих бактерий для человека при попадании в пищеварительный тракт с пищей. Поэтому мясо сальмонеллезных животных нельзя выпускать из предприятия без ограничения.

По действующему ветеринарному законодательству при обнаружении сальмонелл (независимо от вида) в органах или туше животного, органы направляют на техническую утилизацию или уничтожают, а тушу проваривают или переваривают на мясные хлеба и консервы по установленному режиму. Готовые мясные изделия, обсемененные сальмонеллами, направляют на техническую утилизацию или уничтожают.

2.11 Лабораторная работа № 11 (2 часа).

Тема: «Классификация иерсиний»

2.11.1 Цель работы: ознакомиться с классификацией иерсиний.

2.11.2 Задачи работы:

- 1.Класификация иерсиний.
2. Классификация иерсиниозов.

2.11.4 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Род *Yersinia* в соответствии с систематикой по Bergey's (1994) входит в семейство Enterobacteriaceae, 5-ую секцию, 1-ый отдел Gracilicutes, царство Procaryotae. Ранее возбудители чумы и псевдотуберкулеза относили к роду *Pasteurella* и именовали *Pasteurella pestis* и *Pasteurella pseudotuberculosis*. J. van Loghem (1946) предложил выделить вышеуказанных бактерий в новый род - *Yersinia*, назвав его так в честь французского исследователя Иерсена (A. Yersin), впервые выделившего возбудителя чумы. В 1954г. Н. Mollaret, E. Thal предложили включить род *Yersinia* в семейство Enterobacteriaceae. В дальнейшем в род *Yersinia* был включен возбудитель иерсиниоза - *Yersinia enterocolitica* (*Pasteurella* X). В настоящее время род *Yersinia* состоит из 11 видов - *Y.pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenia*, *Y. kristensenia*, *Y. aldovae*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, *Y. ruckeri*.

Рассматриваемое нами заболевание располагает собственной классификацией, которая включает в себя гастроинтестинальную форму, форму генерализованную и форму вторично-очаговую. Так, гастроинтестинальная форма включает в себя гастроэнтерит и термальный илеит. Сюда же относится острая форма иерсиниозного аппендицита. Течение генерализованной формы возможно в виде гепатита, пневмонии, сепсиса, менингита, пиелонефрита, возможна, в том числе, и смешанная форма, определяющая соответствующую специфику заболевания. Разделение вторично-очаговой формы подразумевает под собой синдром Рейтера, иерсиниозный артрит и миокардит, также сюда относится энтероколит и узловатая эритема. Течение заболевания возможно в легкой форме, в форме среднетяжелой, а также в тяжелой форме. При этом каждая из этих форм может приобретать впоследствии циклическое острое течение или течение хроническое, относится сюда и рецидивирующее течение.

2.12 Лабораторная работа № 12 (2 часа).

Тема: «Лабораторная диагностика иерсиниоза»

2.12.1 Цель работы: ознакомиться с лабораторной диагностикой иерсиниоза.

2.12.2 Задачи работы:

1. Биологические свойства иерсиний.
2. Методы обнаружения возбудителей.
3. Определение вирулентности.

2.12.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые

должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Биологические свойства иерсиний.

Морфологические свойства. Грамотрицательные палочки. При культивировании в жидких средах или при выделении из организма могут окрашиваться биполярно. Спор и капсул не образуют.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. Оптимальная температура - 28 - 29 °С, могут размножаться при температуре от 2 до 40 °С. Подвижны при температуре 22 - 28 °С и неподвижны при 37 °С. Иерсинии хорошо растут на дезоксихолатном агаре, средах: Мак-Конки, Эндо, Серова и с бромтимоловым синим (БТС)

Среда Плоскирева, висмут-сульфит агар обладают ингибирующим действием на оба вида иерсиний, в связи с чем рост их колоний требует большего времени инкубации (не менее 5 суток).

Биохимические свойства. На среде Хью-Лейфсона ферментируют и окисляют глюкозу, не обладают цитохромоксидазой, не образуют сероводород (на железосодержащих средах), не разжижают желатин, не имеют фенилаланиндезаминазы, лизиндекарбоксилазы и аргинингидролазы, цитрат Симонса не утилизируют.

Антигенное строение и серологическая характеристика.

Y. pseudotuberculosis имеет жгутиковый (H), 2 соматических (O) антигена - S и R, антигены вирулентности - V, W и другие, расположенные в наружной мембране и цитоплазме клетки, многие из них выражены только при 37 °С и в условиях *in vivo*.

H-антиген термолабилен, диагностического значения не имеет.

Вирулентность для лабораторных животных.

К важнейшим патогенным свойствам Y. pseudotuberculosis относят: адгезивность и колонизацию; инвазивность и внутриклеточное размножение (в эпителиальных клетках, макрофагах), цитотоксичность и способность вызывать генерализованный инфекционный процесс. Основной моделью для определения вирулентности является энтеральное заражение морских свинок. В широкой практике с этой целью используют конъюнктивальное заражение морских свинок (т.н. кератоконъюнктивальная проба).

К важнейшим патогенным свойствам Y. enterocolitica относят: адгезивность и способность к колонизации на поверхности эпителиальных клеток, энтеротоксигенность, выраженную у большинства штаммов, а также инвазивность, установленную у штаммов патогенных сероваров. Основными моделями для определения вирулентности этих иерсиний являются: заражение культуры клеток Нер-2, тест на мышках-сосунках и энтеральное заражение морских свинок.

Методы обнаружения возбудителей.

Среды, используемые для выделения иерсиний:

жидкие среды накопления: фосфатно-буферный раствор – ФБР, уферно-казеиново-дрожжевая среда – БКД.

Плотные питательные среды: дифференциально-диагностическая среда Серова, Эндо, среда с бромтимоловым синим – БТС.

Комбинированные среды для первичной идентификации: Олькеницкого, Универсальный скошенный столбик - УСС

Материал для исследования и его обработка.

Для исследования используют различный материал от больных людей, животных и различных объектов внешней среды

Порядок бактериологического исследования.

Несмотря на невысокую эффективность прямого посева исследуемого материала на плотные питательные среды, его следует проводить при групповых заболеваниях. Для этих целей лучше применять среду Серова или БТС (на среде Эндо вырастает много

посторонней микрофлоры).

Целесообразно использовать следующую схему.

Посев в среду накопления проводят после предварительной подготовки исследуемого материала. Внесенный в пробирки с 5 мл БКД или ФБР материал ставят в холодильник и выдерживают в нем при 4 - 8 °С 7 - 15 дней или до положительного посева.

Высевы на чашечные среды проводят на 2 - 3, 5 и 7-е сутки, а с ФБР - дополнительно на 10 - 15-е сутки. Высевы производят петлей (или стеклянной палочкой) из верхней трети слоя среды (но не с поверхности). Перед посевом содержимое пробирок не взбалтывают.

Идентификация иерсиний. Видовую принадлежность выделенных культур устанавливают по комплексу типичных морфологических, культуральных, биохимических, антигенных и других свойств.

Для дальнейшей биохимической идентификации отбирают бактериальные культуры, обладающие на среде Олькеницкого уреазной активностью (малиновое окрашивание), на УСС - окрашивающие среду в желтый или малиновый цвет.

Определение вирулентности.

Для постановки кератоконъюнктивальной пробы используют морских свинок массой 200 - 300 г. Заражение проводят суточной культурой свежевыделенных штаммов иерсиний псевдотуберкулеза, выращенных на агаре Хоттингера. В конъюнктивальную полость бактериологической

петлей диаметром 2 - 5 мм вводят бактерии в дозе 1×10^8 - 1×10^{10} . Для каждого штамма используют не менее двух животных, заражая у них один глаз (второй служит контролем). Для этого левой рукой морскую свинку фиксируют на поверхности стола, а правой с помощью петли вводят культуру под приподнятое верхнее веко и осторожными движениями петли распределяют культуру по своду конъюнктивы. После этого извлекают петлю из конъюнктивальной полости, веки зараженного глаза смыкают на 1 мин., а петлю стерилизуют в пламени спиртовки. Животных содержат в индивидуальных банках или клетках. Ежедневно в течение недели, начиная со второго дня, оценивают изменения слизистой оболочки глаза.

2.13 Лабораторная работа № 13 (2 часа).

Тема: «Клиническая картина при кампилобактериозе»

2.13.1 Цель работы: ознакомиться с клинической картиной при кампилобактериозе.

2.13.2 Задачи работы:

1. Клиническое проявление у коров.
2. Кампилобактериозный энтерит.

2.13.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Течение и симптомы болезни. Клиническая картина при кампилобактериозе может варьировать от бессимптомного бактерионосительства до тяжелых форм заболевания. Болезнь протекает остро или хронически, проявляется в типичной или стертой форме. У производителей болезнь протекает скрыто. При внимательном обследовании можно выявить покраснение слизистой оболочки препуция и полового члена, в первые 1-3 дня обильное выделение слизи.

У коров кампилобактериоз клинически проявляется:

частыми перегулами коров; удлинением фазы покоя в половом цикле (на 20-40 дней и более) увеличением сервис-периода; абортom; оофоритом; сальпингитом; вагинитом; цервицитом; задержанием последа.

В неблагополучном стаде отмечаем нарастание бесплодия, у коров яловость достигает 20-55%, у телок 60-64%.

У отдельных коров и телок через 6-15 дней после заражения отмечаем: повышение температуры тела, появление беспокойства, покраснение и набухание слизистой оболочки влагалища, из половой щели обильное выделение слизи. При гинекологическом обследовании регистрируем катаральный и катарально-узелковый вагинит. Такое животное, стоит сгорбившись, хвост у него приподнят, на клиторе и в нижней части влагалища скапливаются мутные с примесью гноя клейкие выделения, которые засыхают в виде темно-бурых корочек. Через 15-20 дней при проведении вагинального исследования на стенке влагалища ближе к клитору, шейке матки выявляем кровоизлияния размером до горошины; выделения слизи с кровью. Спустя 1,5-2 месяца, на месте воспаления устанавливаем грануляционный вагинит, вульвит и цервицит.

У больных кампилобактериозом аборт может наступить на любой стадии стельности, но чаще аборты бывают (более 80%) на 4-7-м месяце. При этом абортom в инфицированном стаде подвержено от 10 до 60% животных. В результате прошедшего аборта у абортировавших животных возникают гинекологические заболевания (задержание последа, эндометрит, метрит, вагинит и т.д.).

Телята родившиеся от инфицированных животных в первые 2-4 дня заболевают расстройствами желудочно-кишечного тракта (токсическая диспепсия) и погибают на 3-7 день.

При кампилобактериозном энтерите, вызванном *C. Jejuni*, отмечают:

1. водянистая диарея, кал имеет коричневатый цвет;
2. быстро наступает токсикоз;
3. температура тела нормальная или слегка повышена, аппетит сохранен;
4. у больных животных отмечают коликоподобные симптомы и кровавистые истечения из кишечника;
5. по истечению 3-х дней от начала заболевания кал снова становится нормальной консистенции и цвета;
6. через 2 недели симптомы болезни в инфицированном стаде прекращаются.

Основным клиническим признаком кампилобактериоза у овец являются массовые аборты во второй половине суягности. Абортom могут от 10 до 70% овцематок. У некоторых овцематок за 5 дней до аборта появляются: вялость, анорексия, покраснение и отечность срамных губ, выделения из половой щели, ягнята рождаются мертвыми или нежизнеспособными. После аборта у овцематок часто отмечаем гинекологические заболевания (метриты) сопровождающиеся повышением температуры до 41,2-41,4° С, приводящие при отсутствии своевременного лечения к падежу.

У свиней, зараженных *C. fetus intestinalis*, кампилобактериоз сопровождается абортom в последние месяцы супоросности с появлением мумифицированных или нормально развитых плодов или рождением мертвых и нежизнеспособных поросят, а при инфицировании *C. hyoin – testinalis* – в форме кишечного аденоматоза.

При кампилобактериозном гепатите кур примерно около 10% инфицированной

птицы имеет следующую клиническую картину: угнетенный вид, перьевой покров взъерошен, длительную диарею, снижение на 35% яйценоскости. Болезнь длится несколько недель.

Для человека кампилобактерии обычно являются этиологическими агентами диарейных заболеваний, сопровождающихся абдоминальными спазмами, симптомами общего недомогания, головной болью и лихорадкой.

2.14 Лабораторная работа № 14 (2 часа).

Тема: «Клиническая картина при ботулизме»

2.14.1 Цель работы: ознакомиться с клинической картиной при ботулизме.

2.14.2 Задачи работы:

1. Клиническое проявление у лошадей.
2. Клиническое проявление у КРС и МРС.
3. Клиническое проявление у птиц.

2.14.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Инкубационный период, в зависимости от количества поступившего в организм животного токсина, колеблется от нескольких часов до 18-20 суток. Чаще всего заболевание наступает через 1-3 дня после приема животным токсического корма. Тяжесть и длительность болезни зависит от количества и силы попавшего в организм токсина. Продолжительность вспышки ботулизма обычно бывает 8-12 дней, а максимальное выделение больных – в первые три дня. Заболевание развивается при нормальной или даже пониженной температуре тела. Острое течение болезни у всех видов животных длится от одного до 3-4, реже 6-10 дней. При сверхостром течении болезни смерть наступает в течение нескольких часов.

Клинические признаки лучше изучены у лошадей, которые наиболее чаще заболевают ботулизмом, чем другие виды крупных животных. При относительно медленном развитии болезни признаки ботулизма проявляются в следующей последовательности. У лошадей отмечается вялость жевания, слюнотечение, частая зевота. Иногда приходится наблюдать скоропроходящие легкие колики. В этот период болезни язык лошади, вынутый изо рта, медленно втягивается обратно. Через некоторое время (10-20 часов) у лошади появляется паралич глотки. Лошадь сохраняет в полной мере аппетит, жажда даже усиливается. Предложенный лошади корм пережевывается непрерывно, но он вываливается изо рта. По мере развития болезни жевание у лошади становится все более затруднительным и наступает паралич языка. Вначале из ротовой полости торчит кончик языка, затем язык вываливается наружу, ущемляется между зубами и подвергается изъязвлению. Дальнейшее развитие болезни вызывает у лошади паралич нижней челюсти и верхних век. Процесс жевания для лошади становится почти невозможным. Нижняя челюсть отвисает. Это обычно происходит незадолго до смерти животного.

У больных лошадей постепенно происходит расслабление скелетной мускулатуры. Лошади неохотно и с трудом передвигаются, походка у них становится шаткой. К концу болезни лошадь уже не может стоять и ложится. Больные лошади также постепенно теряют голос (ржание тихое, хриплое). При клиническом осмотре слизистые оболочки глаз, носа и рта чаще всего гиперемированы, иногда желтушны, к концу болезни цианотичны. Дыхание у больных животных учащенное и поверхностное, ноздри

воронкообразно расширены. При затянувшемся течении болезни (7-8 дней) у отдельных лошадей возникает пневмония или гангрена легких как осложнение вследствие аспирации пищевых масс. Пульс у больных лошадей в разгар болезни достигает до 80-100 ударов в минуту. В деятельности сердца отмечаем аритмию и развитие сердечной слабости. Для ботулизма характерно с самого начала болезни ослабление перистальтики кишечника, переходящая в стойкую атонию кишечника, запор, в результате чего кал отходит небольшими порциями, скупилы твердые, покрыты слизью. У больных лошадей замедляется мочеиспускание. Не повышенная температура тела перед смертью лошади падает ниже нормы. Чувствительность к внешним раздражениям сохраняется. Корнеальный, пальпебральный, ушной, хвостовой и другие рефлексы сохранены. В тяжелом состоянии, а также перед смертью животного кожная чувствительность на укол иглы понижена.

При исследовании крови отмечаем замедление СОЭ и некоторое увеличение количества эритроцитов, что связано с обезвоживанием организма. Количество лейкоцитов в пределах нормы.

У крупного и мелкого рогатого скота клиническая картина ботулизма почти такая же, как и у лошади. Отмечаем быструю утомляемость, затруднение движения, нарушение акта глотания, запор, ослабление сердечной деятельности, депрессия. У коров и волов ботулизм иногда может протекать хронически и продолжаться до 33 и даже 60 дней. У больного ботулизмом животного наступает стойкое залеживание и прогрессирующее исхудание.

У птиц (куры, утки, гуси) при ботулизме наблюдается вялость, они неохотно принимают корм и воду, с трудом передвигаются и больше сидят нахохлившись. Отмечаются расстройства пищеварения (поносы, запоры), а также паралич мигательной перепонки. Постепенно наступают параличи крыльев, затем шеи и ног. Птица сидит, она не может держать голову и опускает ее вниз, упираясь клювом в землю. Данная поза у птиц является характерной при заболевании птиц ботулизмом.

2.15 Лабораторная работа № 15 (2 часа).

Тема: «Токсинообразование у стафилококков»

2.15.1 Цель работы: изучить токсинообразование у стафилококков.

2.15.2 Задачи работы:

1. Гемолизины.
2. Цитотоксин.
3. Энтеротоксин.
4. Эксfolлиатин.

2.15.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Стафилококк вырабатывает много продуктов с выраженными токсическими свойствами. Вероятно, никакой другой микроб не продуцирует их в таком количестве. Среди них экстрацеллюлярные токсины, гемолизины (стафилолизины), ферменты. Все они, в той или иной степени, обуславливают болезнетворность и вирулентность микроба. Ни один штамм не способен вырабатывать все токсические продукты сразу.

Гемолизины – это экзотоксины, действующие непосредственно на клеточную мембрану, вследствие чего происходит лизис эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов

макрофагов и развивается поражение многих тканей. Действием гемолизина, вероятно, объясняются фатальные исходы многих случаев стафилококковых инфекций.

Цитотоксин – один из наиболее важных факторов вирулентности стафилококков, вызывает агрегацию тромбоцитов и избирательно действует на гладкую мускулатуру мелких вен.

Лейкоцидин – негемолитический экзотоксин, разрушающий клетки белой крови.

Энтеротоксин – внеклеточный токсин, который вырабатывают около 50% коагулазоположительных штаммов и который вызывает большинство случаев пищевого отравления. Токсин действует непосредственно на рвотный центр центральной нервной системы.

Эксфолиатин (эксфолиативный токсин) – это токсин, который избирательно повреждает некоторые клетки кожи таким образом, что обширные участки кожного покрова могут отслаиваться полностью. Особенно чувствительны к действию токсина новорожденные и маленькие дети. Это поражение получило название «синдром ошпаренной кожи».

2.16 Лабораторная работа № 16 (2 часа).

Тема: «Патогенез стафилококковой инфекции»

2.16.1 Цель работы: изучить патогенез стафилококковой инфекции.

2.16.2 Задачи работы:

1. Патогенез.
2. Факторы вирулентности.
3. Резистентность стафилококков.

2.16.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Стафилококковые инфекции обычно развиваются в результате сочетания таких факторов, как вирулентность бактерий и снижение защитных сил организма. К важным факторам вирулентности стафилококков относятся их способность к выживанию при неблагоприятных условиях, компоненты клеточной стенки, продукция ферментов и токсинов, содействующих проникновению в ткани, способности к внутриклеточной персистенции в определенных фагоцитах и приобретению резистентности к противобактериальным препаратам. К важным защитным функциям организма человека относят целостность слизисто-кожного барьера, достаточное количество функционально активных нейтрофилов и удаление чужеродных тел или омертвевших тканей.

Факторы вирулентности микроорганизма. К компонентам оболочки золотистого стафилококка относятся большой пептидогликановый комплекс, придающий ей прочность и способствующий выживанию в неблагоприятных условиях осмотического давления, уникальная тейхоевая кислота, связанная с пептидогликаном, и протеин А, существующий как в связанной с пептидогликаном форме на большей части поверхности клетки, так и в свободной, растворимой, форме. Как пептидогликан, так и тейхоевая кислота может активировать превращение комплемента по альтернативному пути. Наряду с опсонизацией микроорганизмов для их поглощения фагоцитами активация комплемента может также играть определенную роль в патогенезе шока и диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Протеин А связывается с Fc-фрагментом определенных

классов IgG и с Fc-рецептором фагоцитов и может служить блокирующим фактором, предотвращающим поглощение микроорганизмов нейтрофилами. Специфические рецепторы для ламинина, основного гликопротеина базальной мембраны сосудов, могут способствовать реализации возможности широкого распространения золотистого стафилококка. Некоторые штаммы эпидермального стафилококка могут быть покрыты антифагоцитарной капсулой, для переваривания которой требуются специфические антитела. Клеточная стенка определенных штаммов этого стафилококка может активировать комплемент; при этой инфекции развиваются шок и диссеминированное внутрисосудистое свертывание, хотя и реже, чем при инфекции, вызываемой золотистым стафилококком. Способность эпидермального стафилококка прилипать к канюлям, введенным в сосуд, и сосудистым протезам можно объяснить его склонностью инфицировать чужеродные тела; природа лигандов неизвестна.

Резистентность стафилококков к противобактериальным препаратам благоприятствует их персистенции в условиях больницы. Более 90% госпитальных и бытовых штаммов золотистого стафилококка, вызывающих инфекцию, обладают резистентностью к пенициллину. Она обусловлена β -лактамазами, которые обычно продуцируются с помощью плазмид. Вскоре после внедрения в практику противобактериальных препаратов, устойчивых к пенициллиназе, вначале в Европе и Скандинавии были выделены так называемые метициллину-устойчивые золотистые стафилококки. Они резистентны ко всем β -лактамовым противобактериальным препаратам и к цефалоспорином, несмотря на то, что результаты стандартного теста с чувствительными дисками могут указать на чувствительность к последним. Резистентность золотистого стафилококка к метициллину определяется хромосомами, а не изменением препарата под влиянием ферментов. Это, возможно, обусловлено изменениями белков, связывающих стафилококки с пенициллином. Довольно часто метициллину-устойчивые золотистые стафилококки приобретают R-плазмиды, вызывающие некоторые комбинации резистентности к эритромицину, тетрациклину, левомицетину, к-линдамицину, аминогликозидным антибиотикам. Этот вид стафилококка все шире распространяется в мире, особенно в консультативных клиниках третьего уровня. В США приблизительно 5% золотистых стафилококков, в больницах устойчивы к метициллину. В 1/3 обследованных больниц были зарегистрированы случаи бактериемии, вызванной этим видом стафилококка. Несмотря на его выживаемость, частота выделения микроорганизма оставалась относительно постоянной с 1980 г. Вспышки инфекции периодически встречались в виде внутрибольничных эпидемий. Показатель носительства среди населения в целом невысок, хотя у некоторых больных, например у больных наркоманией, вводящих наркотики парентерально, этот вид стафилококка определяется уже при поступлении в больницу. Они остаются чувствительными к ванкомицину.

2.17 Лабораторная работа № 17 (2 часа).

Тема: «Лабораторная диагностика стафилококковой инфекции»

2.17.1 Цель работы: ознакомиться с лабораторной диагностикой стафилококковой инфекции.

2.17.2 Задачи работы:

1. Микроскопический метод.
2. Бактериологический метод.
3. Состав питательных сред.

2.17.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Микроскопический метод имеет самостоятельное значение лишь при асептической работе с материалами, которые у здорового человека стерильны (например, кровь, спинномозговая жидкость). Обнаружение стафилококков при этом имеет самостоятельное диагностическое значение. В остальных случаях микроскопический метод применяется как предварительный, ориентировочный. При его использовании необходимо обращать внимание на количество микроорганизмов в каждом поле зрения (при стафилококковых заболеваниях патогенный возбудитель может вытеснить остальную микрофлору и обнаруживаться в мазках в громадных количествах), размеры гроздей (при высокой патогенности стафилококк усиленно делится, особи не успевают разойтись и дают большие грозди-скопления), величину отдельных особей (патогенные стафилококки в большинстве своем очень мелкие).

Бактериологический метод - выделение чистой культуры возбудителей и их идентификация.

Стафилококки относятся к числу весьма распространенных микроорганизмов. Они обнаруживаются и у здорового человека. Поэтому для диагностики заболевания, установления его стафилококковой природы очень важно доказать патогенность выделенных бактерий. Решение диагностической задачи при этом тесно связано с выяснением вопросов эпидемиологии, лечения и профилактики данной инфекции. На этом основании бактериологический метод складывается из нескольких этапов и направлений.

1. Диагностика заболевания - выделение чистой культуры стафилококка и установление его вирулентности.

2. Выявление источников инфекции и возможных путей ее распространения - фаготипирование стафилококков, выделенных из разных, но связанных между собою источников.

3. Выбор наиболее эффективного способа лечения - определение чувствительности культур к антибиотикам и лечебному бактериофагу, в частности поливалентному пиофагу, моновалентному стафилофагу.

Выделение чистой культуры возбудителя должно осуществляться с учетом его культуральных особенностей галофильности (хорошее развитие в присутствии избыточного содержания поваренной соли при одновременном угнетении прочей микрофлоры), высокой потребности в белках и углеводах. Это достигается путем применения элективных питательных сред, выполняющих одновременно и функции дифференциально-диагностических.

Состав питательных сред для стафилококка.

7,5% солевой МПА с pH 7,2-7,4: мясная вода - 100 мл, пептон-10 г, хлористый натрий-75 г, агар-агар - 20,0. Среда стерилизуется при +100 °C -30 минут.

Молочно-солевой МПА готовят из 7,5% солевого МПА, но с добавлением в расплавленную и остуженную до 45 °C среду 10-20% стерильного снятого молока. После этого производят дробную стерилизацию 3 дня подряд по 30 минут.

Кровяной МПА готовится из обычного МПА при добавлении к нему 5% дефибринированной кроличьей или бараньей крови. Использование человеческой крови нецелесообразно.

При выполнении анализа необходимо учитывать следующие возможности отклонения от типичной характеристики стафилококков.

1. Обычная грампозитивность стафилококков может теряться в процессе их изменчивости: при возникновении лекарственной устойчивости, при воздействии ультрафиолетовых лучей, лизоцима. Это надо иметь в виду при изготовлении мазков из крови, культуры с кровяного МПА.

2. Пигментообразование в последние годы перестало быть устойчивым признаком стафилококков в связи с широким применением антибиотиков и их изменчивостью. Пигмент может меняться при пересевах. Золотистый пигмент не всегда совпадает с патогенностью возбудителя, а наличие белого и других пигментов не исключает участия данного стафилококка в этиологии заболевания.

2.18 Лабораторная работа № 18 (2 часа).

Тема: «Токсинообразование у стрептококков»

2.18.1 Цель работы: изучить токсинообразование у стрептококков.

2.18.2 Задачи работы:

1. Гемотоксины.
2. Лейкоцидин.
3. Энтеротоксины.

2.18.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Патогенные стафилококки синтезируют и секретируют высокоактивные экзотоксины и ферменты. Среди экзотоксинов выделяют четыре типа гемотоксинов (стафилолизина), лейкоцидин и энтеротоксины.

К гемотоксинам относятся альфа-, бета-, гамма- и дельта-гемолизины.

Альфа-гемолизин вызывает лизис эритроцитов овец, свиней, собак, обладает летальным и дерматонекротическим действием, разрушает лейкоциты, агрегирует и лизирует тромбоциты.

Бета-гемолизин лизирует эритроциты человека, овец, крупного рогатого скота, летален для кроликов.

Гамма-гемолизин обнаруживается у штаммов, выделенных от человека, его биологическая активность низкая.

Дельта-гемолизин вызывает лизис эритроцитов человека, лошадей, овец, кроликов, разрушает лейкоциты.

Все стафилококковые гемолизины—мембранотоксины: они способны лизировать мембраны клеток эукариотов.

Лейкоцидин негемолитический экзотоксин, вызывает дегрануляцию и разрушение лейкоцитов.

Энтеротоксины — термостабильные полипептиды, образуются при размножении энтеротоксигенных стафилококков в питательных средах, продуктах питания (молоко, сливки, творог и др.), кишечнике. Устойчивы к действию пищеварительных ферментов. Известно шесть антигенных вариантов. Энтеротоксины вызывают пищевые токсикозы человека, к ним чувствительны кошки, особенно котята, и щенки собак.

К факторам патогенности стафилококков также относятся ферменты коагулаза, гиалуронидаза, фибринолизин, ДНК-аза, лецитовителлаза и др. Коагулаза — бактериальная протеиназа, свертывающая плазму крови животных. Наличие коагулазы является одним из наиболее важных и постоянных критериев патогенности стафилококков.

2.19 Лабораторная работа № 19 (2 часа).

Тема: «Возбудитель мыта: токсинообразование, патогенность, лабораторная диагностика»

2.19.1 Цель работы: 1. Изучить возбудитель мыта. 2. Ознакомится с токсинообразованием, патогенностью и лабораторной диагностикой.

2.19.2 Задачи работы:

1. Токсинообразование.
2. Патогенность.
3. Лабораторная диагностика.

2.19.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.

Мыт (*Streptococcus equi*) - это острая, высоко контагиозная болезнь молодняка цельнокопытных животных, характеризующаяся катарально-гнойным воспалением верхних дыхательных путей, а также подчелюстных и заглоточных лимфатических узлов. При злокачественном течении животные погибают. Возбудитель впервые открыт Щютцем в 1888 г.

Токсинообразование выражено слабо.

Патогенность - восприимчивы цельнокопытные животные жеребята в возрасте до 6 мес. Заражаются через рот с кормом и водой или слизистую носа. Воротами инфекции считается глотка. Из лабораторных животных восприимчивы котята, белые мыши. Мытный стрептококк выделенный из гноя вирулентен для жеребят, но культура данного стрептококка выделенная с питательной среды авирулентна. Причина этого явления не изучена.

При постановке биопробы на мышах и котятах гибель животных происходит от одной десятимиллиардной дозы бульонной культуры при подкожном введении через 3-10 дней.

Токсинообразование выражено слабо. Гемотоксин, лейкоцидин агрессивны.

Антигенная структура. *Streptococcus equi* относят к серогруппе С. Они содержат полисахарид С, секретирует экстрацеллюлярные антигены (токсины) О-стрептолизин (белок) и S-стрептолизин (липидо-протеиновый комплекс). Все они способны вызывать лизис эритроцитов.

Лабораторная диагностика. Патологический материал (истечения из носовых отверстий, гнойный экссудат или пунктат подчелюстных лимфоузлов), направленный в лабораторию, исследуют по общей схеме: микроскопия мазков; посев поступившего материала на питательные среды для выделения чистой культуры стрептококков и их идентификации; биологическая проба – на белых мышах, кошках. Особенно восприимчивы котята, которые гибнут от одной десятиллионной дозы бульонной культуры при подкожном заражении в течение 3-10 суток.

2.20 Лабораторная работа № 20 (2 часа).

Тема: «Возбудитель диплококковой инфекции: токсинообразование, патогенность, лабораторная диагностика»

2.20.1 Цель работы: 1. Изучить возбудитель диплококковой инфекции. 2. Ознакомится с токсинообразованием, патогенностью и лабораторной диагностикой.

2.20.2 Задачи работы:

1. Токсинообразование.
2. Патогенность.
3. Лабораторная диагностика.

2.20.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Диплококковая инфекция — заболевание, приводящая к сепсису, воспалению суставов, легких и кишечника. Болезнь протекает у молодняка в виде септицемии, у взрослых особей в форме послеродовых эндометритов и маститов. Возбудитель диплококковой инфекции— ланцетовидный диплококк. При комнатной температуре он сохраняется в течение 2 месяцев, погибает при нагревании до 70 °С. Возбудитель диплококковой инфекции - *Diplococcus septicus*, имеет вид парных кокков, ланцетовидной или округлой формы.

Токсинообразование.

На полужидком агаре с кровью и мальтозой продуцируют токсин, вызывающий смертельное отравление котят при пероральном введении.

Патогенность.

Наиболее чувствительны к пневмококкам белые мыши и кролики. Подкожное введение небольших доз культуры вызывает гибель мышей от септицемии в течение 12--36 ч. При заражении слабовирулентными культурами развиваются длительно протекающие хронические заболевания. Патогенными пневмококки являются также для крупного и мелкого рогатого скота, собак, крыс и других животных.

Диплококк патогенен для мышей, кроликов, поросят, ягнят, телят, а при введении в сосок молочной железы -- для овец, свиней, коров.

Наиболее вирулентны свежие культуры пневмококка, выделенные из трупов молодняка, павшего от диплококковой инфекции (при токсикосептической форме). Токсины специфичны, т. е. нейтрализуются только противодиплококковой сывороткой.

Лабораторная диагностика.

В лабораторию направляют трупы молодняка или паренхиматозные органы, трубчатые кости, суставы, кровь сердца в запаянных пипетках, головной мозг. При подозрении на диплококковый эндометрит или мастит у взрослых животных исследуют выделения из половых органов и молоко.

Диагноз ставят на основании микроскопического исследования выделения чистой культуры и результатов биопроб.

Биопробу ставят на белых мышах, которые после внутрибрюшинного или подкожного заражения гибнут через 16--48 ч.

2.21 Лабораторная работа № 21 (2 часа).

Тема: «Возбудитель сибирской язвы: токсинообразование, патогенность, патогенез»

2.21.1 Цель работы: 1. Изучить возбудитель сибирской язвы. 2. Ознакомится с токсинообразованием, патогенностью и патогенезом.

2.21.2 Задачи работы:

1. Токсинообразование.
2. Патогенность.
3. Лабораторная диагностика.

2.21.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Возбудитель сибирской язвы -- *Bacilla anthracis* (Cohn, 1872) -- типичный представитель патогенных бацилл. Относится к семейству *Bacillaceae* и роду *Bacillus*. Этот микроб часто называют бациллой антракса.

Сибирская язва (*Anthrax*) -- зооантропоноз. К ней восприимчивы животные многих видов, особенно травоядные, и человек. Инфекционный процесс протекает преимущественно остро с явлениями септицемии или с образованием различной величины карбункулов. Болезнь регистрируют в виде sporadических случаев, возможны энзоотии и даже эпизоотии.

Токсинообразование.

Бацилла антракса образует сложный экзотоксин. Он состоит из трех компонентов (факторов), которые обозначаются: эдематогенный фактор (EF), протективный антиген (РА) и летальный фактор (LF) или соответственно факторы I, II, III. Их синтезируют капсульные и бескапсульные варианты микроба. Эдематогенный фактор вызывает местную воспалительную реакцию -- отек и разрушение тканей.

В химическом отношении это липопротеин. Протективный антиген -- носитель защитных свойств, обладает выраженным иммуногенным действием. В чистом виде нетоксичен. Летальный фактор сам по себе нетоксичен, но в смеси со вторым фактором (РА) вызывает гибель крыс, белых мышей и морских свинок. Протективный антиген и летальный фактор -- гетерогенные в молекулярном отношении белки. Все три компонента токсина составляют синергическую смесь, оказывающую одновременно эдематогенное и летальное действия, каждый из них обладает выраженной антигенной функцией и серологически активен.

Инвазивные свойства микроба обусловлены капсульным полипептидом d-глутаминовой кислоты и экзоферментами.

Патогенность.

К возбудителю сибирской язвы восприимчивы все виды млекопитающих. В естественных условиях чаще болеют овцы, крупный рогатый скот и лошади, могут заражаться ослы и мулы. Чрезвычайно восприимчивы козы, буйволы, верблюды и северные олени. Свины менее чувствительны. Среди диких животных восприимчивы все травоядные. Известны случаи заболевания собак, волков, лисиц, песцов, среди птиц -- уток и страусов.

Патогенез.

Бацилла антракса обладает выраженной инвазивностью и легко проникает через царапины кожных покровов или слизистых оболочек. Заражение животных происходит преимущественно алиментарно. Через поврежденную слизистую пищеварительного тракта микроб проникает в лимфатическую систему, а затем в кровь, где фагоцитируется и разносится по всему организму, фиксируясь в элементах лимфоидно-макрофагальной системы, после чего снова мигрирует в кровь, обуславливая септицемию.

Размножаясь в организме, бацилла антракса синтезирует капсульный полипептид и выделяет экзотоксин. Капсульное вещество ингибирует опсонизацию, в то время как экзотоксин разрушает фагоциты, поражает центральную нервную систему, вызывает отек, возникает гипергликемия и повышается активность щелочной фосфатазы.

В терминальной фазе процесса в крови снижается содержание кислорода до уровня, несовместимого с жизнью. Резко нарушается метаболизм, развивается вторичный шок и наступает гибель животных.

Возбудитель сибирской язвы из организма может выделяться с бронхиальной слизью, слюной, молоком, мочой и испражнениями.

2.22 Лабораторная работа № 22 (2 часа).

Тема: «Лабораторная диагностика сибирской язвы»

2.22.1 Цель работы: Ознакомиться с лабораторной диагностикой сибирской язвы.

2.22.2 Задачи работы:

1. Лабораторная диагностика.
2. Бактериоскопия.

2.22.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).
2. Опрос.
3. Рассмотрение новой темы.
Лабораторная диагностика.

Для лабораторного исследования на сибирскую язву чаще всего направляют ухо павшего животного. Можно взять кровь из надреза сосуда и нанести толстую каплю на предметное стекло. При вынужденном убое или подозрении на сибирскую язву во время вскрытия осторожно отбирают кусочки селезенки, печени, измененные лимфоузлы. От трупов свиней берут кусочки отечных тканей в области глотки и заглоточные лимфоузлы. Материал должен быть свежим: в разложившихся тканях бацилла антракса лизируется. Исследуют также пробы почвы, фуража, воды, шерсти и кожевенно-мехового сырья; объектами для серологического исследования по реакции преципитации служат пробы кожевенно-мехового сырья и разложившиеся ткани.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, выделение и изучение свойств чистой культуры, биопроба на лабораторных животных, при необходимости серологические исследования -- реакция преципитации и иммунофлюоресцентный анализ.

Бактериоскопия.

Из патологического материала для микроскопии готовят мазки, часть красят по Граму и обязательно на капсулы по Михчну, Ребигеру, Ольту и др. Важным диагностическим признаком является обнаружение типичных по морфологии капсульных палочек.

Посев на питательные среды. Исходный материал засевают в МПБ и на МПА (рН 7,2--7,6), инкубируют посевы при температуре 37 °С в течение 18--24 ч, при отсутствии роста их выдерживают в термостате еще 2 сут. Культуры просматривают, определяют их типичность, готовят препараты, микроскопируют. В мазках из культур обнаруживают бескапсульные палочки и споры.

Биологическая проба. Осуществляется на белых мышах, морских свинках, кроликах, одновременно с посевом материала на питательные среды. Белых мышей заражают подкожно в заднюю часть спины (по 0,1--0,2 мл), морских свинок и кроликов -- под кожу в область живота (по 0,5--1,0 мл). Мыши погибают через 1--2 сут, морские свинки и кролики -- через 2---4 сут. Павших животных вскрывают, делают мазки и посевы из крови сердца, селезенки, печени и инфильтрата на месте инъекции исследуемого материала.

2.23 Лабораторная работа № 23 (2 часа).

Тема: «Патогенность *Bacillus cereus*»

2.23.1 Цель работы: изучить патогенность *Bacillus cereus*.

2.23.2 Задачи работы:

1. Патогенность.
2. Патогенез.

2.23.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Патогенность.

Bacillus cereus является условно патогенным микроорганизмом, который вызывает у человека спорадические пищевые отравления. *Bacillus cereus* повсеместно распространен в природе. Этиологическая роль *Bacillus cereus* при пищевых отравлениях первоначально изучена и описана Нauge в 1950 г. Источником пищевых отравлений, обусловленных *Bacillus cereus*, сперва считали кулинарные изделия, содержащие картофельный крахмал. Затем были описаны вспышки аналогичных отравлений, обусловленные растительными, мясными, рыбными и другими пищевыми продуктами. Наиболее быстро *Bacillus cereus* размножается в измельченных продуктах (фарш, котлеты, колбаса, кремы). В сырье допускается не более 100 клеток/г, в консервах присутствие *Bacillus cereus* не допускается. В стерилизованных мясных консервах при соблюдении установленных технологических режимов, клетки этой бактерии отсутствуют. Когда в консервированном продукте остаются жизнеспособные споры, то в условиях хранения консервов при 20°C может отмечаться размножение возбудителя. На поверхности продукта при этом появляется налет серого цвета, изменяются его запах и консистенция.

Bacillus cereus способен вызывать диарейный синдром также у животных, птиц и насекомых по истечении 6-18 ч после поедания ими зараженного корма. Первично это обусловлено несколькими видами токсинов (NHE, HBL, bc-D-ENT), содержащимися в инфицированной пище, а впоследствии – размножением бактерии в кишечнике. Этот комплекс токсинов *Bacillus cereus* вызывает цитотоксический эффект и секрецию жидкости в кишечнике. При постановке биопробы на мышах у животных в месте введения наблюдается некроз кожи, а в последующем гибель.

Патогенез.

Пищевые токсикоинфекции проявляются при употреблении в пищу продукта, содержащего большое количество живых клеток *Bacillus cereus*, продуцирующих энтеротоксины. Пищевые токсикоинфекции возникают в случаях, когда живые микроорганизмы вследствие различных санитарных и технологических нарушений при приготовлении, хранении и реализации пищевых продуктов, попав в них, начинают интенсивно размножаться и при приеме пищи попадают в организм человека в больших количествах. Инкубационный период у больного колеблется от 3-4 до 10-16 ч. Болезнь возникает внезапно, сопровождается рвотой и острой диареей. Летальность менее 1% и отмечается крайне редко: у лиц с ослабленным здоровьем, главным образом у стариков и детей. Попав в желудочно-кишечный тракт, микробы по лимфатическим путям проникают в кровь, вызывая бактериемию. При этом поступившие в кровь из первичного очага микробы в ней не размножаются, а лишь транспортируются в другие органы и ткани. В клетках ретикуло-эндотелиальной системы бактерии размножаются. Продуцируемый бациллами эндотоксин поражает лимфатический аппарат кишечника, вызывая дистрофические изменения в стенках кишок. Общее недомогание обусловлено действием эндотоксина на центральную нервную систему. Последствием перенесения токсикоинфекции является бактерионосительство, причем в некоторых случаях довольно длительное. Для окружающих больные не опасны; контактное заражение отсутствует, поскольку возбудитель выделяется с рвотными массами и испражнениями непродолжительное время и обладает малой патогенностью. Клиническая картина выражается проявлениями гастроэнтерита (коликообразные боли в животе, тошнота,

диарея). Энтеротоксины влияют на транспорт жидкости, электролитов и глюкозы клетками кишечника. Температура тела заболевшего человека обычно в пределах нормы, либо повышается незначительно. Более тяжелые формы заболевания сопровождаются резкой головной болью, рвотой, судорогами и даже потерей сознания. Продолжительность пищевой токсикоинфекции до 4-6 суток. На основании преобладающих симптомов пищевого отравления, вызванного *Bacillus cereus*, выделяют две формы заболеваний: диарейную и токсикозоподобную (рвотную). Диарейный тип пищевого отравления чаще возникает при употреблении некачественных мяса, рыбы, молока, овощей. При диарейной форме клиническая картина развивается через 24 ч после употребления инфицированного продукта. Температура, как правило, не повышается. Диарейная форма развивается при поступлении в организм больших количеств *Bacillus cereus* (свыше 10⁶ микробных клеток), продуцирующих энтеротоксины диарейного типа. Токсикозоподобная (рвотная) форма пищевого отравления имеет чрезвычайно короткий инкубационный период 0,5-6 ч. Характеризуется тошнотой и рвотой, длящейся до 24 ч. В инфицированном продукте и рвотных массах регистрируется специфический термостабильный рвотный энтеротоксин. Возникновение конкретной формы пищевого отравления зависит от условий размножения *Bacillus cereus*. Рвотная форма заболевания связана, как правило, с контаминацией крупяных, картофельных и макаронных блюд, салатов, пудингов, соусов. Во всех случаях интенсивному накоплению бактерий и стимулированию токсинообразования способствует нарушение температурных условий и сроков хранения готовых к употреблению блюд и скоропортящихся продуктов. При этом интенсивное размножение *Bacillus cereus* в таких продуктах происходит при температуре выше 15°C.

2.24 Лабораторная работа № 24 (2 часа).

Тема: «Проявления внешних признаков пищевого отравления, вызываемого *Bacillus cereus*»

2.24.1 Цель работы: изучить проявления внешних признаков пищевого отравления, вызываемого *Bacillus cereus*.

2.24.2 Задачи работы:

1. клинические проявления.

2.24.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Пищевые отравления, причиной которых является *Bac.cereus* возникают при употреблении продуктов питания животного, растительного и смешанного происхождения. *Bacillus cereus* вызывает два типа пищевых отравлений (гастроэнтеритов); интоксикацию опосредует энтеротоксин, образуемый вегетирующими формами, прорастающими из спор устойчивых к определенным термическим режимам обработки пищевых продуктов. Бациллы образуют токсины только *in vivo*, во время прорастания спор.

Первый тип отличает укороченный инкубационный период (около 4-5 ч.), характерны изнуряющие диарея и рвота. Заболевание развивается при употреблении пищи, обсемененной большим количеством микроорганизмов. Часты случаи отравлений в связи с употреблением жареного риса, содержащего проросшие споры *Bacillus cereus*, эти случаи не менее часто ошибочно связывают с отравлениями стафилококковым энтеротоксином.

Подобные отравления можно считать токсикозами, связанными не столько с активностью токсина, сколько с действием метаболитов, накапливающихся в пищевых продуктах

Второй тип отравлений характеризует более продолжительный инкубационный период (около 17 ч); патогенез полностью опосредован действием энтеротоксина, больные жалуются на схваткообразные боли в животе, диарею; этот комплекс симптомов часто и ошибочно принимают за пищевые отравления, вызванные клостридиями. Патогенез обоих типов отравлений в большей или меньшей степени связан с действием энтеротоксина. В материалах семинара, состоявшегося в 1990 году, опубликована работа Ю.В.Езепчука и А.Р.Битцаева «Структурное сходство токсинов *Bac.cereus* и *Bac.anthraxis*». Авторы считают, что существует структурное и функциональное сходство между диареогенным - летальным токсином (DLT) *Bac.cereus* и экзотоксином *Bac.anthraxis*. DLT обладает тремя типами биологической активности: диареогенным, летальным и васкулярным, увеличивающим проницаемость. Однако механизмы действия токсина *Bac.cereus* остаются до конца не изученными. Считается, что патогенность *B.cereus* связана с ее способностью синтезировать и секретировать два экзотоксина. Один из них состоит из трех белковых компонентов, обладает, как выше указывалось, диареогенной, летальной активностью и повышает проницаемость сосудов (диареогенно-летальный токсин). Второй токсин — цереолизин — вызывает цитолитический и летальный эффект и также нарушает проницаемость кровеносных сосудов. Попадая в пищевые продукты, патогенные варианты *B.cereus* размножаются в них и продуцируют экзотоксины. Под влиянием протеолитических и других ферментов, выделяемых *B.cereus*, в продуктах накапливаются различные ядовитые вещества (птомаины). Все это вместе взятое и приводит к развитию пищевого отравления. Заражение чаще всего происходит при употреблении зараженных *B.cereus* растительных продуктов и молока (40-55%), а также мясных (25%) и других продуктов.

При бактериологической диагностике таких пищевых отравлений необходимо обращать внимание на количественное содержание *B.cereus* в продуктах (10⁶ и более клеток в 1 г). Серологическое подтверждение диагноза дают обнаружение в сыворотке антител к *B.cereus* и нарастание их титра. Длительность болезни 3-6 дней. Смертельный исход редок.

2.25 Лабораторная работа № 25 (2 часа).

Тема: «Токсинообразование *Bacillus cereus*»

2.25.1 Цель работы: ознакомиться с токсинообразованием *Bacillus cereus*.

2.25.2 Задачи работы:

1. Токсинообразование.

2.25.3 Описание (ход) работы:

1. Вводное слово преподавателя (цели занятия, основные вопросы, которые должны быть рассмотрены).

2. Опрос.

3. Рассмотрение новой темы.

Токсикозоподобная (рвотная) форма пищевого отравления имеет чрезвычайно короткий инкубационный период 0,5-6 ч. Характеризуется тошнотой и рвотой, длящейся до 24 ч. В инфицированном продукте и рвотных массах регистрируется специфический термостабильный рвотный энтеротоксин. Возникновение конкретной формы пищевого отравления зависит от условий размножения *Bacillus cereus*. Рвотная форма заболевания связана, как правило, с контаминацией крупяных, картофельных и макаронных блюд,

салатов, пудингов, соусов. Во всех случаях интенсивному накоплению бактерий и стимулированию токсинообразования способствует нарушение температурных условий и сроков хранения готовых к употреблению блюд и скоропортящихся продуктов. При этом интенсивное размножение *Bacillus cereus* в таких продуктах происходит при температуре выше 15°C.