

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
(ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ)

**ПРОВЕДЕНИЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА  
ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ**

*Научно-практические рекомендации*

Составители: М.Е. Остякова, З.А. Литвинова,  
И.С. Шульга, Д.А. Желябовская, В.А. Почтарь

Благовещенск  
Издательство Дальневосточного ГАУ  
2018

УДК 619:616.98:578.835.1

ББК 48.73

П78

**Составители:**

*М.Е. Остякова, д-р биол. наук, доц., директор ФГБНУ ДальЗНИВИ  
З.А. Литвинова, канд. биол. наук, доц., завкафедрой  
ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и микробиологии  
ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ;*

*И.С. Шульга, канд. биол. наук, завотделом ФГБНУ ДальЗНИВИ;  
Д.А. Желябовская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ ДальЗНИВИ;  
В.А. Почтарь, мл. науч. сотр. ФГБНУ ДальЗНИВИ*

**П78 Проведение бактериологических исследований биологического материала при острых кишечных инфекциях новорожденных телят:** научн.-практ. рекомендации / сост. М. Е. Остякова, З. А. Литвинова, И. С. Шульга, Д. А. Желябовская, В. А. Почтарь. – Благовещенск: Изд-во Дальневосточного гос. аграрного ун-та, 2018. – 38[1] с.

**ISBN 978-5-9642-0408-4**

Настоящие рекомендации основаны на сведениях, содержащихся в научно-технической документации ветеринарного и медицинского профилей и других источниках по диагностике кишечных инфекций и дисбактериозов.

Предназначены для сотрудников научных лабораторий, аспирантов и соискателей, могут быть использованы в учебном процессе при изучении соответствующих разделов дисциплин.

**УДК 619:616.98:578.835.1**

**ББК 48.73**

Рекомендованы к изданию научно-техническим советом  
ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ  
(Протокол № 7 от 20 марта 2018 г.)

ISBN 978-5-9642-0408-4 © ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

1	ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СЕМЕЙСТВЕ <i>Enterobacteriaceae</i> .....	5
2	БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ .....	6
2.1	Отбор проб для исследования .....	6
2.2	Посев материала и выделение чистой культуры .....	7
2.3	Идентификация энтеробактерий .....	10
2.4	Серологическая диагностика.....	20
2.5	Определение патогенных свойств культур .....	20
3	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА НА ДИСБАКТЕРИОЗ КИШЕЧНИКА .....	21
3.1	Отбор проб и посев на питательные среды.....	23
3.2	Учет результатов исследования .....	26
3.3	Интерпретация результатов исследования .....	31
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	33
	Приложение 1 Результат бактериологического исследования на дисбактериоз (форма).....	34
	Приложение 2 Результат бактериологического исследования на дисбактериоз (пример заполнения формы).....	35
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	36

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день актуальной проблемой ветеринарной практики являются острые кишечные инфекции новорожденных животных. В отдельных хозяйствах до 80% телят погибает в первые две недели жизни, при этом общие потери по причине желудочно-кишечных болезней с симптомокомплексом диареи иногда составляют до 50% от общего падежа молодняка. Одной из первостепенных причин развития острых кишечных инфекций является условно-патогенная микрофлора. Успех в борьбе с этой проблемой во многом зависит от своевременного обнаружения патогенного агента в организме новорожденного.

К настоящему времени общепризнано, что при установлении природы кишечных инфекций нельзя игнорировать значение состава микрофлоры кишечника. Различные факторы окружающей среды негативно воздействующие на организм, его микрофлору, приводят к появлению синдрома нарушения микроэкологии пищеварительного тракта, что является основанием для определения качественного и количественного состава кишечной флоры, особенно в тех случаях, когда инфекционная природа заболеваний не доказана.

В настоящих научно-практических рекомендациях изложены основные этапы микробиологических исследований при диагностике острых кишечных инфекций и дисбактериозов у новорожденных телят.

## 1 ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СЕМЕЙСТВЕ

### *Enterobacteriaceae*

Семейство *Enterobacteriaceae* получило свое название вследствие того, что некоторые типичные его представители являются постоянными обитателями толстого кишечника млекопитающих и человека (от греч. entero – кишечник).

Семейство *Enterobacteriaceae* объединяет бактерии, которым присущи следующие признаки:

- отрицательная окраска по Граму;
- прямые палочки, размером 0,3–1,8 мкм, подвижные за счет перитрихальных жгутиков или неподвижные, не образующие спор;
- оксидазоотрицательные и каталазоположительные;
- катаболизм углеводов с образованием кислоты и газа или только кислоты;
- факультативные анаэробы, обладающие метаболизмом дыхательного и бродильного типа;
- большинство из них восстанавливают нитраты в нитриты;
- хемоорганогетеротрофы;
- не содержат цитохромоксидазу;
- не кислотоустойчивые;
- большинство видов хорошо растет при температуре 37<sup>0</sup> С, однако представители некоторых видов лучше растут при 25–30<sup>0</sup> С.

Семейство *Enterobacteriaceae* насчитывает более 30 родов и более 100 видов. Наибольшую опасность для животных представляют роды *Escherichia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, *Morganella*.

## **2 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ**

### **2.1 Отбор проб для исследования**

Для прижизненной бактериологической диагностики кишечной инфекции в лабораторию направляют фекалии больных телят с признаками диареи. Отбор проб проводят до начала антибактериальной терапии. Материал берут от 5-6 заболевших животных в стерильные емкости с плотно закрывающимися крышками непосредственно из прямой кишки телят с помощью прокипяченного резинового катетера в количестве 2-3 граммов. Для взятия материала используют стерильные ректальные тампоны, ватные или ватно-марлевые, укрепленные на металлической петле или деревянной палочке. Тампон увлажняют стерильным изотоническим раствором натрия хлорида или транспортной средой. Его вводят *per rectum* на глубину 5–6 см и, поворачивая тампон, осторожно его извлекают, контролируя появление на тампоне фекальной окраски. Тампон помещают в пробирку с изотоническим раствором хлорида натрия, если к исследованию материала приступят в течение 2 ч, в ином случае – в транспортную среду. При необходимости материал транспортируют в холодильной сумке.

Транспортная среда предупреждает гибель микробных клеток, сохраняет их жизнеспособность, препятствует размножению микроорганизмов, что исключает или существенно ограничивает преимущественный рост менее требовательных микроорганизмов при ассоциативной микрофлоре.

Для посмертной диагностики кишечной инфекции в лабораторию направляют 2-4 свежих трупа или убитых с диагностической целью животных, либо патологический

материал: голову, трубчатую кость, сердце, селезенку, долю печени с желчным пузырем, брыжеечные лимфатические узлы, регионарные воспаленному участку кишечника, пораженный отрезок тонкого кишечника, перевязанный с двух концов лигатурой. Патологический материал исследуют в день поступления его в лабораторию.

По возможности, исследуемый материал сохраняют при  $t$  4-6° С до учета результата посевов на пластинчатые среды, при целенаправленном исследовании на иерсинии – до 14 дней (с целью накопления).

## **2.2 Посев материала и выделение чистой культуры**

Для выделения энтеробактерий в чистой культуре соблюдают ряд условий:

- максимально ранний посев взятого материала;
- подбор соответствующих питательных сред для первичного посева;
- техника посева должна обеспечить рост изолированных колоний;
- для культивирования посевов используют оптимальный по температуре и времени инкубационный режим;
- подлежащую исследованию колонию снимают бактериологической петлей, прикасаясь к колонии в центре и не затрагивая соседние участки среды;
- недопустимо охлаждать петлю прикосновением к поверхности питательной среды, визуалью свободной от микробного роста, на ней могут быть невидимые микроколонии.

Каждую пробу фекалий помещают в отдельную пробирку, содержащую 10 см<sup>3</sup> стерильного 0,85%-ного раствора хлорида натрия; тщательно встряхивают и выдерживают 10-15 минут до осаждения крупных частиц. С целью получения изолированных колоний бактерий супернатант

засевают бактериологической петлей частыми, широкими штрихами в чашки Петри на поверхность плотных дифференциально-диагностических сред: Эндо (или Левина) и висмут–сульфит агар (ВСА) (или среду Плоскирева).

Для выделения из биологического материала сальмонелл неразведенные пробы засевают в одну из сред обогащения (селенитовый бульон, магниевую, Мюллера или др.) в соотношении 1:5.

Патологический материал (за исключением содержимого тонкого кишечника) засевают в пробирки с мясопептонным бульоном (МПБ) и на плотные дифференциально-диагностические среды: Эндо (или Левина) и ВСА (или среду Плоскирева). Посев материала в МПБ проводят пастеровской пипеткой, на плотные среды – путем отпечатков разрезанной поверхностью кусочка органа из предварительно профламбированного участка на подсушенную питательную среду или вносят пастеровской пипеткой на поверхность среды, равномерно растирая его стеклянным шпателем.

Все посевы (кроме посевов для выделения иерсиний) инкубируют в термостате 18-24 часа при  $t\ 37^{\circ}\text{C}$ .

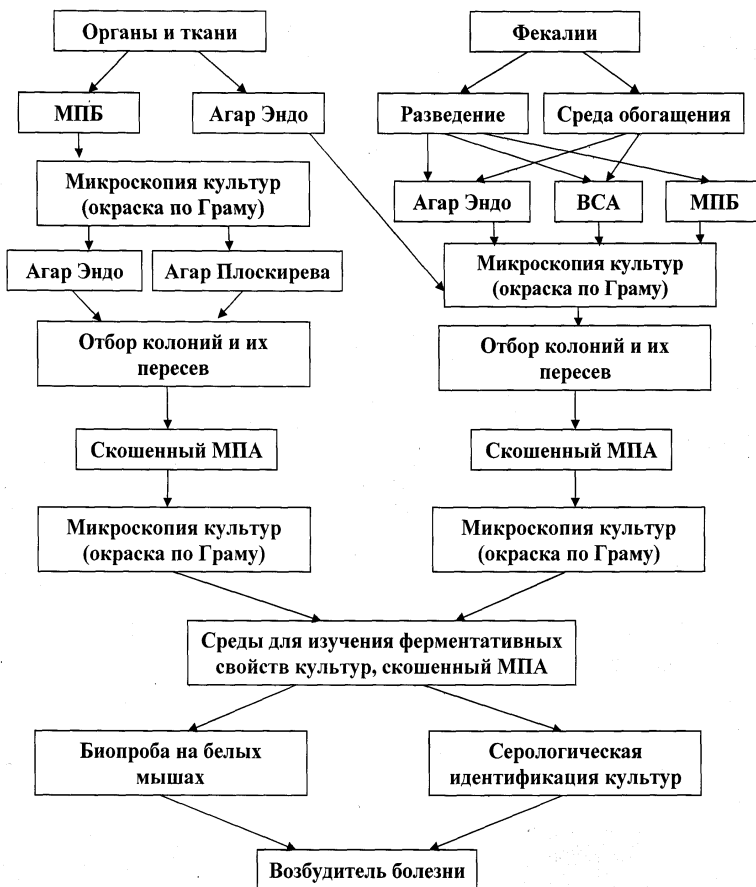
При исследовании на иерсиниеоз посевы инкубируют при  $t\ 22-25^{\circ}\text{C}$  в течение 18-28 часов, просматривая чашки повторно через 24-36 часов инкубации. При отрицательных результатах высевы повторяют на 5, 7, 11 и 14-й дни инкубации. Засеянную забуферную среду следует сохранять в холодильнике.

При отсутствии роста на плотных питательных средах в первичных посевах на плотных средах из соответствующих органов и тканей проводят пересев культур, полученных на МПБ, на плотные селективные среды. Перед



пересевом проводят микроскопию мазков МПБ для установления наличия мелких грамотрицательных палочек.

Схема бактериологического исследования биоматериала на энтеробактериозы новорожденных телят представлена на рисунке 1.



**Рис.1. Схема бактериологического исследования биоматериала на энтеробактериозы**

## 2.3 Идентификация энтеробактерий

Для дальнейшего изучения посевов проводят просмотр и отбор выросших колоний, руководствуясь характеристиками, приведенными в соответствии с их родовой принадлежностью (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Характеристика колоний энтеробактерий различных родов**

Род	Среда		
	Эндо	Плоскирева	BCA
1	2	3	4
<i>Salmonella</i>	Размер 2-2,5 мм в диаметре, иногда 1 мм, слегка выпуклые, с ровным краем и гладкой поверхностью, влажные.		
	Обычно прозрачные, слегка розоватые	Бесцветные, мутноватые, уплотненные	Черные, с характерным металлическим блеском, среда под колониями подкрашена в черный цвет, колонии; <i>S. paratyphi</i> зеленоватые, светлые, нежные
<i>Escherichia</i>	Более крупные, чем колонии сальмонелл; могут быть выпуклые или плоские, с ровным или слегка волнистым краем, непрозрачные или прозрачные и слегка опалесцирующие, влажные или сухие, иногда слизистые; у лактозоположительных штаммов темно-красные с металлическим блеском или без него, розовые или с бесцветным ободком и интенсивно красным или розовым центром		

Продолжение табл.1

1	2	3	4
	У лактозоотрицательных штаммов колонии под цвет сред или с розоватым оттенком	У лактозоотрицательных штаммов колонии с желтоватым оттенком	
<i>Citrobacter</i>	Более крупные, чем колонии сальмонелл, выпуклые; у лактозоотрицательных штаммов - слегка опалесцирующие, в тон среды или с розоватым оттенком, у лактозоположительных штаммов - интенсивно розовые или красные с темным центром; рост колоний сопровождается резким неприятным запахом	Лактозоположительные колонии имеют более интенсивную розовокрасную окраску с темным центром; лактозоотрицательные штаммы образуют слегка опалесцирующие выпуклые колонии, окрашенные в тон среды (слегка розоватые)	Светло-зеленые, коричневатые или черные. Через 48 часов инкубации дают обильный рост под колонией. Рост более обильный, чем у сальмонелл, отличается неприятным запахом
<i>Klebsiella</i>	Большие (диаметр 3мм), выпуклые, влажные, слизистые, нередко сливающиеся друг с другом или менее крупные, неслизистые, сухие; колонии лактозоположительных штаммов сходны с колониями эшерихий, с металлическим блеском или без него; колонии могут быть красные, розовые, бесцветные, с белым ободком в сочетании с темным или розовым центром, на среде Плоскирева могут быть бежевые или желтые		

Продолжение табл.1

1	2	3	4
<i>Enterobacter</i>	Колонии обычного размера, слизистые и неслизистые, напоминающие колони эшерихий или клебсиелл (лактозоположительные варианты); малиновые или розовые, с металлическим блеском или без него; замедленно расщепляющие лактозу штаммы растут подобно патогенным кишечным бактериям, образуя бесцветные колонии с розовым или бежевым оттенком на среде Эндо или с желтоватым – на среде Плоскирева		
<i>Proteus</i>	<i>P. vulgaris</i> и <i>P. mirabilis</i> , проявляя способность роения, дают сливной рост, другие виды образуют колонии, сходные с колониями сальмонелл	2-3 мм в диаметре прозрачные и полупрозрачные, слегка выпуклые с желтовато-розоватым (перламутровым) оттенком, вокруг колоний желтоватый ореол	Темные колонии, без металлического блеска и почернения среды под ними
<i>Yersinia</i>	В течение первых суток роста (при 22 °С) колонии мелкие (росинки), обычно выпуклые, блестящие бесцветные, с ровным краем; в течение вторых суток становятся крупнее		

Продолжение табл.1

1	2	3	4
<i>Morganella</i>		В первые сутки роста колонии имеют росинчатый вид, полупрозрачные, голубовато-серого цвета; на вторые-третьи сутки приобретают серовато-белый цвет	Колонии зелено-оливкового цвета S-формы с более плоской поверхностью средних размеров

Примечание: диаметр и окраска колоний могут варьировать в зависимости от массивности роста.

После просмотра культур пересевают колонии лактозоположительных бактерий (круглые, средних размеров S-формы, красно-малинового цвета на агаре Эндо и темно-фиолетового цвета на агаре Левина с наличием или отсутствием металлического блеска) на мясоептонный агар (МПА). Лактозонегативные колонии (не менее трех) пересевают в пробирки со скошенным МПА или с одной из комбинированных сред – Олькеницкого, Клиггера, Расселя. Посевы выдерживают в термостате 18-20 часов при  $t\ 37^{\circ}\text{C}$ .

При наличии на агаре Эндо роящегося налета, характерного для бактерий рода *Proteus*, пересевают в конденсационную воду свежескошенного агара (метод Шукевича). Через несколько часов отмечается роение микроба, ползучий рост, в виде H-формы (поверхность МПА покрывается тонкой прозрачной пленкой).

Чашки с первичными посевами на ВСА инкубируют при  $t\ 37^{\circ}\text{C}$  -  $38^{\circ}\text{C}$  в течение 24-48 часов. После просмотра культур пересевают мелкие круглые колонии S-формы, черного

цвета с металлическим блеском параллельно в пробирки со скошенным МПА или на одну из комбинированных сред. Пробирки с пересевами помещают в термостат на 18-24 часа.

Комбинированные среды применяют для первичной идентификации энтеробактерий. На данных средах наряду с получением культуры для дальнейшего изучения выявляют одновременно несколько её признаков: способность образовывать сероводород и отношение к глюкозе, лактозе (а также сахарозе и мочеvine – на среде Олькеницкого). Посев материала из колонии на комбинированную среду проводят бактериологической петлей вначале по скошенной части штрихом и заканчивают уколом в толщу агарового столбика, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при  $t\ 37^{\circ}\text{C}$  в течение 18-20 часов, а при исследовании на иерсиниоз - в течение того же времени, но при  $t\ 22-25^{\circ}\text{C}$ .

О ферментации лактозы и сахарозы в среде Олькеницкого и ферментации лактозы в среде Клиглера судят по появлению желтой окраски в скошенной части агара, а о ферментации глюкозы – по такому же окрашиванию в столбике. Газообразование устанавливают по появлению пузырьков, разрывам агара или его отслоению от стенок пробирки. Образование сероводорода обычно устанавливают по почернению среды обычно в средней части столбика. При значительном образовании сероводорода можно наблюдать почернение всей среды. В среде Олькеницкого при росте культуры, гидролизующей мочеvine, происходит подщелачивание, вследствие чего среда приобретает диффузный яркий красно-малиновый цвет. В этом случае учет ферментации углеводов невозможен.

По совокупности биохимических свойств, выявленных на комбинированных средах, делают предположительное заключение о возможной родовой принадлежности культур (табл. 2).

Таблица 2

**Первичная идентификация энтеробактерий по биохимическим реакциям в комбинированной среде**

Реакция в среде Олькеницкого, Клиглера				Предполагаемые энтеробактерии
лактоза** и (или) сахароза*	глюкоза**	сероводород**	мочевина*	
–	К	–	–	некоторые серовары сальмонелл
–	К Г	–	–	<i>S. paratyphi A</i> и некоторые другие серовары сальмонелл, <i>Escherichia</i>
–	К	+	–	<i>S. typhi</i> и некоторые другие серовары сальмонелл
–	К Г	+	–	<i>Salmonella, Citrobacter</i>
+	К Г	–	–	<i>Escherichia, Citrobacter</i> или не энтеробактерии
+	К Г	–	–	<i>Escherichia, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter,</i>
+	К Г	+	–	<i>Citrobacter</i>
●	●	●	+	<i>Proteus, Yersinia</i>
–	К Г	–	+	<i>Morganella</i>
●	Г	●	+	<i>Proteus</i>
–	–	–	–	не энтеробактерии
+	–	–	–	не энтеробактерии

Примечание: К – кислота, Г – газ, ● - учет реакции затруднен, (–) - отрицательная, (+) – положительна, \* – при использовании среды Олькеницкого, \*\* – при использовании среды Клиглера проводят параллельный посев в среду с мочевиной.

Суточные культуры бактерий на скошенном МПА микроскопируют (окраска по Граму). При наличии в мазках однородных мелких грамотрицательных палочек, не образующих капсул, культуры используют для изучения ферментативных, патогенных и антигенных свойств. Для

выявления капсулы проводят окраску мазков по методу Гинса.

Ферментативные свойства изучают у 2-6 агаровых культур бактерий, выделенных из одного биологического материала, на наборе сред с углеводами и индикатором Андреде или полужидких средах с индикатором ВР, а так же на средах с мочевиной, серноокислым железом, агаре Симонса, в бульоне Хоттингера или МПБ, мясопептонной желатине, ацетатном агаре, среде с фенилаланином. При использовании комбинированных сред Олькеницкого или Клиглера учитывают изменения, вызываемые представителями разных родов. Предварительные результаты изучения ферментативных свойств культур учитывают через 24 часа, окончательные результаты – через 48 часов.

При постановке основных биохимических тестов важно четко различать их основные результаты. Критерии, указанные в таблице 3, позволят наиболее правильно оценить результаты тестов.

**Таблица 3**

**Результаты основных биохимических реакций  
на комбинированных средах  
и минимальном дифференцирующем ряде**

Тест или субстрат	Реакция через 18-24 часа культивирования		Максимальные сроки учета результатов в случаях замед- ленных реак- ций (в сутках)
	положительная	отрицательная	
1	2	3	4
Подвижность	Помутнение среды, диффуз- ное или в от- дельных участ- ках укола	Среда остается прозрачной рост по ходу укола	2 (с инкубацией посевов при t 22 <sup>0</sup> C)



Продолжение табл.3

1	2	3	4
Сероводород в среде Олькеницкого или Клиглера	Почернение в разной степени по всей среде или в отдельных участках	Отсутствие почернения в среде	
Индол (с применением реактива Ковача)	Верхний слой жидкости приобретает красномалиновый цвет	Верхний слой жидкости окрашивается в желтый цвет	
1	2	3	4
Фенилаланиндезаминаза	Зеленое окрашивание агаровой поверхности после добавления нескольких капель 10% раствора $FeCl_3$	Отсутствие изменения цвета	
Мочевина по Преусу	Синее окрашивание среды	Пожелтение среды	2
Мочевина по Кристенсу	Малиновое окрашивание среды	Отсутствие изменения цвета	4
Ацетат натрия	Наличие роста и синее окрашивание среды	Отсутствие роста и изменения цвета среды	4 (редко до 7)
Цитрат Симонса	Наличие роста и синее окрашивание среды	Отсутствие роста и изменения цвета среды	4 (редко до 14)
Реакция в среде Кларка с метиловым красным	Красное окрашивание среды	Желтое окрашивание среды	2-4

**Продолжение табл.3**

1	2	3	4
Реакция Фогес-Проскауэра	Вишневое окрашивание после добавления реактивов	Отсутствие изменения цвета среды после добавления реактивов	2-4
Желатин	Разжижение среды, не исчезающее после часового охлаждения в рефрижераторе (t 4-6°C)	Отсутствие разжижения среды или его исчезновение после часового охлаждения в рефрижераторе (t 4-6°C)	
Среды с углеводами	Изменение окрашивания среды в зависимости от индикатора	Отсутствие изменения цвета	

Родовую и видовую принадлежность устанавливают по показателям таблицы 4.

Изучение ферментативных свойств энтеробактерий можно проводить с помощью тест-систем для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий (ЭНТЕРО-тест 16, ЭНТЕРОтест 24, ПБДЭ, МИКРО-ЛА-ТЕСТ для идентификации энтеробактерий). Родовую и видовую идентификацию культур осуществляют по таблице, прилагаемой к инструкции.

Таблица 4

## Дифференциальные признаки энтеробактерий по ферментативным свойствам

Род и вид микроорганизма	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Мальтоза	Маннит	Дульцит	Цитрат Симонса	Индол	Сероводород	Фенилаланин	Реакция с метилротом	Реакция Фоггеса-Проскауера	Подвижность
<i>Escherichia coli</i>	+	+/-	+/-	+	+	+/-	-	+	-	-	+	-	+/-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+	-	+/-	-	+	-	+
<i>Citrobacter diversus</i>	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+	+	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	+/-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+/-	+	-	-	-	+/-	+/-	-
<i>Salmonella (нодпод1)</i>	+/-	-	-	+	+	+/-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	+	+	-	-	+/-	+	+	+	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	+/-	-	-	-	+	-	+	+	+	+/-	+
<i>Proteus myxofaciens</i>	+	-	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	+	+
<i>Morganella morganii</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+/-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	-	+	+	+	-	-	+/-	-	-	-	+	t 37 <sup>0</sup> – t 25 <sup>0</sup> +/-

Примечание : (+) - положительный результат у 90% штаммов, (-) – отрицательный результат у 90% штаммов, (+/-) – различные реакции у разных штаммов.

## 2.4 Серологическая диагностика

При наличии показаний в этот же день культуры, отнесенные к родам *Escherichia*, *Salmonella* и *Morganella* испытывают в реакциях агглютинации с диагностическими сыворотками согласно существующим наставлениям. Для серологического изучения используют суточные культуры на скошенном МПА, засеваемом одновременно с посевами на минимальный ряд, для родовой и видовой идентификации.

## 2.5 Определение патогенных свойств культур

Патогенные свойства определяют у культур бактерий, относящихся к родам *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, а так же к родам *Escherichia* и *Morganella*, не имеющих адгезивных антигенов и не типизируемых по О-антигену в биопробе на белых мышах.

Для этого используют агаровые культуры вышеуказанных микроорганизмов, выделенные из двух внутренних органов и тканей погибших или фекалий больных животных. С каждой из двух культур одного вида бактерий готовят смывы стерильным физиологическим раствором, устанавливают взвесь 1 млрд микробных клеток/мл, после чего смешивают в равной пропорции. Взвесьями культур заражают по три белой мыши массой 14-15 г внутрибрюшинно в дозе 0,5 млрд микробных клеток в 1 мл. Культуру считают патогенной в случае гибели двух и более мышей в течение трех суток после заражения и относят ее к возбудителю болезни.

При выделении культур энтеробактерий, относящихся к одному виду, из селезенки, крови сердца, костного, головного мозга (не менее, чем из двух перечисленных органов и тканей) патогенные свойства этих культур не определяют и их серологическую типизацию не проводят. Такие культуры относят к возбудителю болезни.

### **3 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА НА ДИСБАКТЕРИОЗ КИШЕЧНИКА**

Желудочно-кишечный тракт является не только органом пищеварения, но и важным звеном иммунитета. Естественная защитная система желудочно-кишечного тракта помимо иммунной системы, эпителия кишечника и слизистого барьера представлена кишечной микрофлорой, которая обуславливает мощный барьерный эффект. Заселение пищеварительного тракта определенными видами и штаммами микроорганизмов приводит к формированию нормального биоценоза. Нормальная микрофлора кишечника выполняет ряд функций, основными из которых являются: обеспечение колонизационной резистентности организма; участие в пищеварительной и детоксицирующей функциях кишечника; стимуляция синтеза и синтез биологически активных веществ; поддержание высоких уровней лизоцима, секреторных иммуноглобулинов, интерферона, важных для иммунологической резистентности; морфокинетическое действие и усиление физиологической активности желудочно-кишечного тракта.

У телят в первые дни жизни кишечник заселяют преимущественно энтеробактерии, энтерококки и другие аэробные микроорганизмы, а физиологический уровень численности бифидо- и лактофлоры устанавливается лишь к 2-3 – недельному возрасту, и только в возрасте 14-15 дней микробный пейзаж кишечника находится на относительно-постоянном уровне. Такая физиологическая особенность пищеварения телят, когда только формирующийся качественный и количественный состав нормофлоры не способен предотвратить заселение кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, подвергает их в большей степени, чем

взрослых животных, к возникновению заболеваний желудочно-кишечного тракта на фоне кишечных инфекций.

В ряде случаев острые кишечные расстройства у новорожденных телят могут проявляться и при отсутствии патогенных энтеробактерий. В таких случаях диагностическое значение имеет бактериологический анализ на дисбактериоз.

Дисбактериозом принято считать нарушение нормальной микрофлоры кишечника, характеризующееся исчезновением или снижением количества облигатных ее представителей и увеличением популяционного уровня условно-патогенных микробов, отсутствующих или встречающихся в ничтожных количествах в норме.

С целью диагностики дисбактериоза кишечника чаще всего исследуют микрофлору толстого кишечника, которая представлена тремя группами микробов.

–облигатная микрофлора, составляющая более 90% от общего количества биоценоза (бифидобактерии, бактероиды, лактобактерии, кишечная палочка, энтерококки);

–факультативная микрофлора, на долю которой приходится менее 10% от общего количества бактерий (кlostридии, стафилококки, протеи, кампилобактерии, дрожжеподобные грибы и другие условно-патогенные организмы);

–транзиторная (случайная) микрофлора, содержится в количествах не более 1% и представлена синегнойной палочкой, грибами рода кандиды, патогенными энтеробактериями и другими микроорганизмами.

В ветеринарной клинической практике диагностика дисбактериозов у животных не получила распространение.

Изучением данного вопроса занимаются преимущественно научно-исследовательские ветеринарные лаборатории. В связи с этим, считаем, что изложение основных положений по проведению бактериологического анализа на дисбактериоз кишечника в наших рекомендациях по проведению бактериологических исследований при острых кишечных расстройствах новорожденных телят является актуальным.

### **3.1 Отбор проб и посев на питательные среды**

Правила отбора и доставки биоматериала (фекалии) аналогичны взятию материала для диагностики кишечных инфекций (изложены в разделе 2.1).

После поступления материала на исследование и регистрации проводят его навеску. Взвешивают 1 г нативного кала, гомогенизируют в 9 мл стерильного физиологического раствора, чтобы получить исходное разведение материала в 10 раз. Так готовят первое десятикратное разведение. Содержимое контейнера оставляют при комнатной температуре на 10-15 минут.

Из исходного разведения делают ряд последующих разведений материала до  $10^{-10}$ . Каждое разведение проводят с использованием новой стерильной пипетки.

Из исходного разведения делают высев на плотные питательные среды (для обнаружения патогенных энтеробактерий) и на жидкие среды обогащения. Из приготовленных разведений делают высевы на питательные среды для культивирования различных групп микроорганизмов. Примерный набор сред для культивирования представлен в таблице 5.

Таблица 5

## Среды, используемые для посева на дисбактериоз

Микроорганизмы	Питательные среды
Бифидобактерии	Блаурокка и среды для выделения бифидобактерий
Эшерихии	Эндо, Эндо с 2,5% кровью, 3-5% кровяной агар, желчно-кровоной агар, МакКонки и др.
Лактобактерии	МРС-2, МРС-4, лактобакагар, среда Рогоза-Маана и др.
Бактероиды	Кровоной агар с ростовыми добавками, М805
Другие ассоциации энтеробактерий	Эндо, Левина, Плоскирева, МакКонки, селенитовый бульон, Конго-рот-агар и др.
Протей	Скошенный агар по Шукевичу, амфолан агар
Клостридии	Вильсон-Блера, агар для выделения клостридий
Энтерококки	Желчно-эскулиновый агар с азидом натрия, Конго-рот-агар, энтерококкагар и др.
Стафилококки	ЖСА, МЖСА, 3-5 % кровяной агар, Брэд-Паркер агар и др.
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	Сабуро, Никкерсона и Хромогенный агар для грибов <i>Candida</i> и др.

На плотные питательные среды наносят по 0,1 мл взвеси из соответствующих разведений с последующим растиранием материала по всей поверхности среды стерильным шпателем. Можно также применять стеклянные бусы (заранее простерилизованные по 10-20 шт. в пробирке), которые помещают в чашку с посевным материалом. При легком покачивании чашки с бусами в течение 1 минуты материал равномерно распределяется по питательной среде. Посев бусами начинают со среды, где засеян наиболее разведенный материал, а затем бусы переносят на чашки с посевами менее разведенного материала.



В жидкие, полужидкие среды, разлитые в пробирки высоким столбиком вносят 1 мл взвеси на 9 мл среды.

Разведениями материала и составом набора питательных сред можно варьировать, сохраняя общий принцип исследования.

Все посеы инкубируют в условиях, указанных в описании соответствующих питательных сред. Анаэробов культивируют в анаэробных условиях, с использованием анаэроостатов, анаэробных камер, эксикаторов. Для удаления воздуха из вакуумных приборов предпочтительно использовать вакуумные насосы или газогенерирующие пакеты.

Некоторые авторы для упрощения исследования на дисбактериоз допускают использование метода секторного посева по Gold, как при исследовании мочи. Данная методика рекомендована для определения этиологической роли условно-патогенной микрофлоры при дисбактериозе. Для этого полученное исходное разведение фекалий оставляют на 5-10 минут для осаждения крупных частиц, после чего из исходного разведения  $10^{-1}$  осуществляют посев на питательные среды.

Методика посева градуированной петлей штриховым методом заключается в следующем: бактериологической петлей диаметром 2 мм емкостью 0,005 мл проводят посев исследуемого материала на первый сектор чашки Петри с питательной средой (30-40 штрихов), после этого петлю прожигают и делают четыре штриховых посева из первого сектора во второй, аналогично из второго – в третий, из третьего – в четвертый, каждый раз прожигая петлю. После инкубации подсчитывают число колоний, выросших на разных секторах питательной среды. Количество бактерий в  $1 \text{ см}^3$  суспензии фекалий определяют по расчетной таблице 6.

**Таблица 6**

**Расчетная таблица для определения количества бактерий  
в 1 мл жидкости**

А	Количество колоний в секторах			Количество бактерий в 1мл
	1	2	3	
1-6	-	-	-	Менее 1 000
8-20	-	-	-	3 000
20-30	-	-	-	5 000
30-60	-	-	-	10 000
70-80	-	-	-	50 000
100-150	5-10	-	-	100 000
Не сосчитать	20-30	-	-	500 000
Не сосчитать	40-60	-	-	1 млн.
Не сосчитать	100-140	10-20	-	5 млн.
Не сосчитать	Не сосчитать	30-40	-	10 млн.
Не сосчитать	Не сосчитать	60-80	Ед. колонии	100 млн.

Полученные результаты умножают на 10 (учитывая кратность исходного разведения фекалий) и получают количество микроорганизмов в 1 г фекалий.

### 3.2 Учет результатов исследования

При оценке результатов бактериологического исследования в первую очередь необходимо обращать внимание на наличие в посевах патогенных энтеробактерий.

Для учета отбирают чашки с плотными питательными средами, на которых выросло от 5 до 150 колоний. Определение количества микроорганизмов в 1 г образца проводят по формуле:

$$M = N \times 10^{n+1},$$

где M – число микробов в 1 г;  
N – количество выросших колоний;  
n – степень разведения материала.

*На среде Эндо* подсчитывают число и процент лактозонегативных колоний по отношению ко всему числу выросших колоний. Колонии со слабо выраженными ферментативными свойствами подсчитывают по отношению к общему числу колоний кишечной палочки. Затем рассчитывают количество кишечных палочек в 1 г фекалий, для чего количество колоний умножают на 10 (так как для посева берут 0,1 мл материала) и на степень разведения.

Пример расчета: при посеве 0,1 мл из шестого разведения фекалий на чашке выросло 40 колоний, из них 20 лактозонегативных, следовательно, в 1 г исследуемого материала содержится  $4 \times 10^8$  кишечной палочки, из них лактозонегативных –  $2 \times 10^8$ . Окончательный результат количественного содержания бактерий в 1 г фекалий выражается как среднее арифметическое из всего количества колоний, подлежащих учету. Для этого сумму колоний, выросших на чашках, делят на количество исследуемых чашек, учитывая степень разведения.

*На среде Плоскирева* (или аналоге) отбирают колонии подозрительные на патогенные или условно-патогенные энтеробактерии: нежные, прозрачные, бесцветные с ровным или неровными краями.

Отобранные однотипные колонии с чашек со средами Эндо, Левина, Плоскирева засевают на среду Клигlera для получения чистой культуры и идентификации.

*На 3-5%-ном кровяном агаре* учитывают процентное соотношение колоний кишечной палочки, обладающих и не обладающих гемолизирующими свойствами; соотношение колоний кишечной палочки и кокковых форм; соотношение гемолизирующих и негемолизирующих кокков. Количество в 1 г фекалий указанных групп микробов учитывают, как

было указано в примере расчета на среде Эндо.

С кровяного агара колонии разного вида пересевают на скошенную поверхность слабощелочного агара. После 20-22 – часовой инкубации в термостате при  $t\ 37^0\text{C}$  проводят микроскопию окрашенных по Граму мазков. Культуры стафилококка с кровяного агара проверяют в реакции плазмокоагуляции, в отношении лецитиназной активности и учитывают рост в анаэробных условиях на среде с маннитом.

На наличие стафилококков посев можно проводить непосредственно на желточно-солевой агар, среду Брэд-Паркера и другие аналоги из разведений  $10^{-1}$ - $10^{-4}$ . Инкубируют в течение двух суток. В этом случае учитывают количество стафилококков, определяют их лецитиназную активность и дополнительно – гемолитические свойства и плазмокоагулирующую способность.

*На среде Эндо с 2,5% крови* возможен одновременный подсчет общего количества колоний и числа лактозонегативных и гемолизирующих колоний кишечной палочки.

*На Конго-рот-агаре* дифференцируют патогенные энтеробактерии от непатогенных или условно-патогенных по лактозному признаку.

Лактозоположительная кишечная палочка формирует на среде колонии серого цвета; лактозоотрицательная – бледно-розовые мутноватые с ровными краями. Кроме того, клебсиелла растет в виде крупных выпуклых колоний желтого цвета. Лактозоотрицательные микроорганизмы (сальмонеллы, шигеллы, протей) формируют красные прозрачные колонии в тон среды. В случае использования данной среды дальнейшая идентификация осуществляется с помощью общепринятых подтверждающих тестов. Среда

также обеспечивает рост и дифференциацию грамположительной кокковой флоры. Стафилококки образуют круглые непрозрачные колонии оранжевого цвета с черным центром или без него, стрепто- и энтерококки – мелкие от точечных до 0,1 мм в диаметре. В процессе культивирования происходит изменение цвета среды вокруг колоний: красного – в черный.

Селективный рост бактерий родов протей, морганеллы, провиденции учитывают на амфолан-агаре. Преимущество этой среды – выделение в чистой культуре бактерий выше названных родов и отсутствие роста у «роящихся» его видов.

С целью обнаружения патогенных грибов посеvy на среде *Сабуро* инкубируют в течение 3-5 дней при  $t\ 28-30^{\circ}\text{C}$ , выделяют плотные непрозрачные колонии в пробирки со скошенной поверхностью этой же среды. Посевы снова выдерживают в термостате при той же температуре 3-4 суток. Затем проводят микроскопию препарата из живой культуры в капле стерильной водопроводной воды при помощи объектива 40, окуляра 10. К патогенным грибам относят культуры почкующихся клеток при наличии длинных нитей мицелия (псевдомимиделий) или более коротких нитей (истинный мицелий).

*Хромогенный агар для грибов Candida* является селективной и дифференциальной средой. Позволяет быстро (в течение 48 часов) выделить из смешанных культур грибы из рода *Candida*, наиболее часто встречающиеся при исследованиях и дифференцировать их по цвету и морфологии колоний. *C. albicans* образует гладкие зеленые колонии, *C. tropicalis* – синие или синие с металлическим оттенком выпуклые колонии, *C. glabrata* – колонии от кремового до белого цвета, *C. krusei* – пурпурного цвета

расплывчатые колонии.

На средах для бифидобактерий рост и морфология колоний разнообразны: на кровяном агаре вырастают как резко выпуклые, гладкие, так и уплощенные колонии от беспигментного до светло- и темно-коричневого цвета. На высоком столбике среды Блаурокка встречаются колонии чечевицеобразные, ромбовидные и бесформенные шероховатые («кочочок ваты»), чаще белого цвета. Количество бифидобактерий подсчитывают из пробирок с видимым ростом, при наличии характерных клеток. Обнаружение грамположительных палочек с разветвлениями на концах, расположенных в виде римской V, X с несколько утолщенными концами или в виде скоплений, напоминающие китайские иероглифы, подтверждает их принадлежность к бифидобактериям.

Лактобактерии на агаре (лактобакагар, среда Рогоза) образуют мелкие нежные колонии с гладкими или изрезанными краями («паучкообразные»). На среде МРС-4 – гладкие белые, выпуклые, средние по величине колонии; могут быть и более крупные, шероховатые, молочно-белые. О количестве лактобактерий судят по числу характерных колоний, которые подвергают микроскопии и дальнейшей идентификации.

Бактероиды культивируют на кровяном агаре или на селективной среде с желчью и эскулином (М805). Колонии на кровяном агаре круглые, гладкие, мелкие. Рост сопровождается характерным специфическим запахом. На агаре с желчью и эскулином бактериоиды образуют черные колонии. Подсчет колоний ведется с учетом морфологии и каталазного теста (как правило, бактериоиды каталазоположительны).

Для определения клостридий используют среду

*Вильсон-Блера* (или аналог). По 1 мл материала из разведений  $10^{-2}$ - $10^{-6}$  засевают в расплавленную и охлажденную до  $t$   $50^{\circ}\text{C}$  среду Вильсон-Блера (по две пробирки из каждого разведения). По одной пробирке каждого разведения помещают на водяную баню при  $t$   $80^{\circ}\text{C}$  на 20 минут. О количестве клостридий судят по числу черных колоний в глубине агарового столбика.

*Энтерококки* выделяют на разнообразных средах: на сахарном и на кровяном агарах энтерококки чаще вырастают в виде мелких, выпуклых, гладких, полупрозрачных серовато-белых колоний; на желчно-эскулиновом агаре с азидом натрия – формируют черные колонии, за счет гидролиза эскулина. Если выросли другие по морфологии колонии, то их принадлежность к роду *Enterococcus* можно подтвердить по отсутствию каталазной активности и характерной морфологии клеток при микроскопии мазков, окрашенных по Граму.

### **3.3 Интерпретация результатов исследования**

Степень изменения микрофлоры кишечника определяют на основании данных бактериологических исследований.

Показателем дисбактериоза являются снижение или исчезновение представителей облигатной микрофлоры, снижение или повышение общего количества кишечной палочки, увеличение количества кишечной палочки со слабо выраженными ферментативными свойствами, лактозонегативных энтеробактерий, наличие гемолизирующих эшерихий, микробов рода протей, грибов рода кандиды, увеличение количества энтерококков, большое процентное содержание стафилококков.

При выдаче результатов исследования необходимо отметить наличие или отсутствие в посеве кала патогенных энтеробактерий, а так же дать описание состава кишечной микрофлоры. С этой целью в бланке направления заполняют графу «Результат исследования» (прил.1).

Конечной целью исследования является установление дисбиотических изменений микрофлоры кишечника.

### **Примеры оценки результата состояния микрофлоры кишечника:**

– дисбактериоз не выявлен.

– дисбактериоз выявлен и характеризуется: преобладанием гемолизирующей кишечной палочки или других условно-патогенных микробов, ассоциацией лактозонегативных энтеробактерий, гемолизирующего стафилококка, наличием микробов рода протей, грибов рода кандиды; отсутствием *B. bifidum* в минимальном разведении фекалий \_\_\_\_\_.

При повторном исследовании необходимо отразить положительные или отрицательные сдвиги по сравнению с предыдущими исследованиями:

А. По сравнению с исследованием фекалий от \_\_\_\_\_ числа имеются положительные сдвиги в аэробной микрофлоре кишечника: увеличение числа полноценной кишечной палочки (...%), уменьшение или исчезновение палочковидной и кокковой гемолизирующей микрофлоры - (...%) и т.д. *B. bifidum* обнаружены в разведении фекалий от \_\_\_\_\_ до \_\_\_\_\_.

Пример результата бактериологического исследования и оценки состояния кишечной микрофлоры приведен в приложении 2.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время для лечения острых кишечных инфекций новорожденных животных имеется широкий спектр различных препаратов, наиболее распространенными из которых являются антибиотики и пробиотики.

Недостатком антибиотических препаратов является возникновение мультирезистентности у большинства условно-патогенных микроорганизмов, участвующих в развитии такого патологического состояния новорожденных телят, как диарея. Недостатком пробиотиков являются такие их свойства, как слабая выживаемость и несоответствие состава симбиотических микроорганизмов нормальной микрофлоре желудочно-кишечного тракта новорожденных животных.

В рекомендациях подробно изложены методы отбора и подготовки биологического материала к исследованиям, описаны ростовые характеристики энтеробактерий на основных питательных средах. Приведена первичная идентификация энтеробактерий на комбинированных средах. Дается характеристика основных критериев для правильной интерпретации положительных и отрицательных результатов. Методика дифференциальной диагностики позволит сделать заключение о родовой принадлежности выделенных культур. Доступно изложена методика анализа на дисбактериоз.

Следуя научно-практическим рекомендациям, можно определить составляющие патологического процесса при острых кишечных инфекциях новорожденных телят, изучить устойчивость штаммов возбудителей инфекции к действию антибактериальных препаратов, грамотно подобрать терапевтические средства, контролировать эффективность проводимых лечебных и профилактических мероприятий. Полученные диагностические данные позволят провести мониторинг эпизоотической ситуации по бактериальным кишечным инфекциям новорожденных телят, изучить роль микрофлоры желудочно-кишечного тракта как этиологического аспекта в возникновении заболеваний органов пищеварения, усовершенствовать эмпирическую терапию данных заболеваний в хозяйствах разных форм собственности. Предложенная схема исследования может быть использована как модель лабораторной диагностики кишечных инфекций животных любого возраста и вида.

# Приложение 1

## Результат бактериологического исследования на дисбактериоз (форма)

Исследование № \_\_\_\_\_ « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Дата и время взятия материала \_\_\_\_\_

Адрес и наименование хозяйства \_\_\_\_\_

Вид животного, возраст, инвентарный номер \_\_\_\_\_

Время начала исследования \_\_\_\_\_

Группы микроорганизмов	Результат, КОЕ в 1 г фекалий	Норма, КОЕ в 1 г фекалий
Бифидобактерии		$10^7-10^9$
Лактобактерии		$10^5-10^7$
<i>E.coli</i> с нормальной ферментативной активностью		$10^7-10^8$
Лактозоположительная <i>E.coli</i>		$\leq 10^5$
<i>E.coli</i> гемолитические		~
Энтерококки		$10^5-10^7$
Другие условно-патогенные энтеробактерии (указать вид)		$\leq 10^3$
Стафилококк золотистый		~
Стафилококки (сапрофитный, эпидермальный)		$\leq 10^3-10^4$
Клостридии		$\leq 10^3$
Дрожжевые грибы <i>Candida</i>		$\leq 10^3$
Неферментирующие бактерии		$\leq 10^3$

Заключение \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Рекомендации \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Дата отчета \_\_\_\_\_ Подпись \_\_\_\_\_

## Приложение 2

### Результат бактериологического исследования на дисбактериоз (пример заполнения формы)

Исследование № 12 « 17 » марта 2017г.

Дата и время взятия материала : 18.03.2017, 9-25

Адрес и наименование хозяйства: ООО «Амурский партизан», с. Косицино Тамбовского района Амурской области

Вид животного, возраст, инвентарный номер: теленок, 8 дн., №7635

Время начала исследования : 11-05

Группы микроорганизмов	Результат, КОЕ в 1 г фекалий	Норма, КОЕ в 1 г фекалий
Бифидобактерии	$4,2 \times 10^5$	$10^7-10^9$
Лактобактерии	$3,3 \times 10^4$	$10^5-10^7$
<i>E.coli</i> с нормальной ферментативной активностью	$3,6 \times 10^4$	$10^7-10^8$
Лактозоположительная <i>E.coli</i>	$2,9 \times 10^5$	$\leq 10^5$
<i>E.coli</i> гемолитические	~	~
Энтерококки E. faecium E. faecalis	$2,5 \times 10^4$ $5,4 \times 10^4$	$10^5-10^7$
Другие условно-патогенные энтеробактерии: C.diversus P.mirabilis	$2,6 \times 10^3$ $5,8 \times 10^3$	$\leq 10^3$
Стафилококк золотистый	~	~
Стафилококки (сапрофитный, эпидермальный)	$2,8 \times 10^3$	$\leq 10^4$
Клостридии	~	$\leq 10^3$
Дрожжевые грибы <i>Candida</i>	~	$\leq 10^3$
Неферментирующие бактерии	~	$\leq 10^3$

Заключение: Дисбактериоз выявлен и характеризуется снижением количества бифидо- и лактобактерий, *E.coli* с нормальной ферментативной активностью, наличием лактозоположительной *E.coli*, высоким соотношением Л<sup>+</sup> *E.coli*: Л<sup>-</sup> *E.coli* - 8:1, наличием условно-патогенных энтеробактерий *C.diversus* *P.mirabilis*

Рекомендации: коррекция дисбактериоза с применением пребиотиков.

Дата отчета 23.03.2017 Подпись \_\_\_\_\_

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных / утв. Департаментом ветеринарии МСХ и продовольствия РФ.27.07.2000, N 13-7-2/2117 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.bmvl.ru/vetzak/document/475.html>.

2. Методические указания по лабораторной диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями / утв. Департаментом ветеринарии МСХ и продовольствия РФ 11.10.1999, N 13-7-2/1759 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.bmvl.ru/vetzak/document/316.html>.

3. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинко-диагностических лабораториях : приложение 1 к приказу Минздрава СССР № 535, 22.04.1985 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://www.libussr.ru/doc\\_ussr/usr\\_12667.htm](http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_12667.htm).

4. Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями / утв. Минздравом СССР 17.12.1984 № 04-723/3 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://docs.cntd.ru/document/1200112237>.

5. ОСТ 91500.11.0004-2003 Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://docs.cntd.ru/document/1200119089>

6. Арбузова, А.А. Этиологические аспекты возникновения желудочно-кишечных заболеваний телят раннего постнатального периода / А.А. Арбузова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, / Казанская гос. акад. вет. медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2010. – С. 11-17.

7. Афанасьев, В.А. Микробный пейзаж кишечника телят в норме и при диспепсии / В.А. Афанасьев, А.А. Эленшлегер //

Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – № 5 (151). –2017. – С.137-140.

8. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: методические рекомендации / Московский науч.-исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии МЗ РСФСР, утв. Минздравом РСФСР 14.04.1977. [Электронный ресурс].– Режим доступа: [http://www.libussr.ru/doc\\_ussr/usr\\_9196.htm](http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_9196.htm)

9. Бондаренко, В.М. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника : методические рекомендации / В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед // ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН. – М., 2007. – 66 с. [Электронный ресурс].– Режим доступа: <http://www.himedialabs.ru/literat>

10. Воронин, Е.С. Иммуномодуляторы и пробиотики при болезнях молодняка - перспективное направление в ветеринарной медицине / Е.С. Воронин, Р.В. Петров, В.П. Шишков и др. // Иммунодефициты с.-х. животных: материалы 1-й всерос. науч. конф. - М., 1994. - С. 4-5.

11. Газиумарова, Л.Д. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: Инструкция по применению / Газиумарова Л.Д., Л.П. Титов, Н.Л. Ключко // ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, УЗ Городская детская инфекционная клиническая больница г. Минска. – Минск, 2010. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://med.by/methods/pdf/086-0310.pdf>

12. Гафаров, Х.З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят / Х.З. Гафаров, А. В. Иванов, Е.А. Непоклонов, А.З. Равилов.– Казань : Изд-во ФЭП , 2002 . – 592 с.

13. Есаулов, А. С. Бактериологический метод лабораторной диагностики : учеб. пособие / А. С. Есаулов, Н. Н. Митрофанова, В. Л. Мельников. – Пенза : Изд-во ПГУ, 2015. – 84 с.

14. Козловский, А.А. Дисбактериоз кишечника у детей : методические рекомендации / А.А. Козловский // Гомельский гос. мед. ин-т. – Минск, 2001. – 23 с.

15. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции : справочник / под ред. Б.И. Антонова. – М.: Агропромиздат, 1986. – 352 с.

16. Определение микробиоценоза кишечного тракта животных в норме и при дисбактериозах : рекомендации / В.Н. Алешкевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2017. – 40 с.

17. Остякова, М.Е. Особенности энтеробиоценоза и характеристика показателей крови при желудочно-кишечных заболеваниях новорожденных телят / М.Е. Остякова, Д.А. Желябовская, И.С. Шульга, Л.А. Лаврушина, В.А. Коноплев, В.А. Почтарь // Дальневосточный аграрный вестник.– Благовещенск: изд-во Дальневосточный ГАУ, 2016.– №4(40).– С.112–117.

18. Пирожков, М.К. Диагностика, специфическая профилактика и лечение при бактериальных болезнях животных / М.К. Пирожков, С.В. Ленев, Е.В. Викторова, С.А. Стрельченко, Л.И. Тихонов, О.Д. Скларов // Ветеринария. - 2011. - №1. - С. 24-28

19. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника : информационное письмо / В.П. Иванов, А.Г. Бойцов, А.Д. Коваленко, О.Н. Ластовка, Е.А. Нилова. – СПб., 2002 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pandia.ru/text/80/201/57603.php>

20. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи / Дж. Хоулт, Н. Кинг, П. Смит, Дж. Стейли, С.Уильямс // Справочник по микробиологии, Т. 1. – М.: Изд-во Мир, 1997. – С. 206-225.

*Научное издание*

ПРОВЕДЕНИЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА  
ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

*Научно-практические рекомендации*

*Марина Евгеньевна Остякова,  
Зоя Александровна Литвинова,  
Ирина Станиславовна Шульга,  
Дина Анатольевна Желябовская,  
Виктория Александровна Почтарь*

*В редакции составителей*

Лицензия ЛР 020427 от 25.04.1997 г.  
Подписано к печати 26.06.2018 г. Формат 60×90/16.  
Уч.-изд.л. – 1,3. Усл.-п.л. – 2,5.  
Тираж 300 экз. Заказ 63.

---

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии издательства  
Дальневосточного государственного аграрного университета  
675005, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86

