

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ РЕПТИЛИЙ

В статье представлен анализ результатов бактериологических исследований биологического материала рептилий разных отрядов, содержащихся в неволе. Определён количественный и качественный состав микрофлоры рептилий, в том числе выделены патогенные и условно-патогенные варианты микроорганизмов.

Ключевые слова: рептилии, черепаха, варан, сцинк, пятнистый зублефар, бактериоскопия, культивирование, патогенность.

A.A. Moroz, I.Ya. Stroganova A.A. Tailakov

BACTERIAL ASSOCIATIONS OF REPTILES

The analysis of the bacteriological study results of the biological material of the reptile different groups in the captivity is presented in the article. The quantitative and the qualitative composition of the reptile microflora is determined, the pathogenic and the opportunistic variants of microorganisms are singled out.

Key words: reptiles, turtle, monitor lizard, skink, spotted eublepharis, bacterioscopy, cultivation, pathogenicity.

Введение. В настоящее время рептилии пользуются наибольшим спросом среди экзотических животных, которых содержат в неволе. С учетом действующей классификации рептилий насчитывают около 8000 видов [1].

Содержание рептилий требует специальных знаний. Неудовлетворительные условия содержания, кормления и ухода могут вызывать стрессовые состояния у рептилий и приводить к снижению естественной резистентности организма, что является одной из причин возникновения и распространения инфекционных болезней, вызываемых патогенными микроорганизмами, а также вирусами [2].

Необходимо отметить, что вирусные, бактериальные и грибковые агенты вызывают заболевания при оптимальных условиях содержания животных [3]. К сожалению, вирусоносительство и бактерионосительство у рептилий недостаточно изучены с точки зрения потенциальной опасности распространения инфекции, как среди животных, так и среди людей [4]. Например, сообщения об обнаружении вирусов в тканях больных и клинически здоровых рептилий начали появляться с конца 60-х годов XX века. Более чем за 40 лет вирусы были найдены у представителей всех отрядов рептилий. К настоящему моменту у рептилий выделены представители не менее 7 семейств РНК-содержащих вирусов и не менее 6 семейств ДНК-содержащих вирусов.

Рептилиям экспериментально инокулировали возбудителей более 12 вирусных болезней человека и животных. При этом отмечали широкий диапазон ответных реакций организма рептилий от низкотитровых до нормальной репродукции вирусов в тканях инфицированных животных. Тем не менее полноценных нозологических единиц, т.е. четко охарактеризованных (в соответствии с постулатами Коха), не так уж много и далеко не все из них имеют серьезное значение в ветеринарии. Однако открытие в последние годы нескольких новых инфекций, несущих потенциальную угрозу не только искусственно созданным, но и природным популяциям рептилий и амфибий, заставляет гораздо внимательнее относиться к вирусам как к вероятным этиологическим агентам.

К новым инфекциям можно отнести рановирус и хитридиомикоз амфибий, распространение вируса Западного Нила (ВЗН) в популяции миссисипских аллигаторов в США и других регионах земного шара. А также заболевание содержащихся в неволе ящериц иридовирусом насекомых,

распространение герпесвируса черепах за пределы естественного энзоотического ареала, обнаружение серопозитивных микоплазм черепах в естественных популяциях и хламидийных инфекций у европейских видов гадюк [14–16].

В настоящее время черепахи остаются наиболее популярными рептилиями при содержании в неволе по сравнению с прочими отрядами [5]. Сальмонеллез считается одним из самых опасных инфекционных заболеваний для рептилий и, в свою очередь, для человека. Так, периодические вспышки сальмонеллеза у детей были отмечены в США и в Европе как следствие игры с ручными черепахами [6].

Вопросы инфекционной патологии рептилий приобретают все большее значение не только при их содержании в зоопарках или при использовании их как объектов зоокультуры, но и при реализации программ по сохранению и репродукции редких видов, а также при регуляции торговли, транспортировке. В этом смысле ветеринарное законодательство пока остается несовершенным.

Так, в нашей стране при ввозе рептилий, проходящих по категории «прочие животные», предусмотрены только капроскопия и бактериологическое исследование на сальмонеллез. При этом такие серьезные заболевания, как криптоспоридиоз, гексометиаз, амебиаз, диссеминированные микозы и подавляющее большинство вирусных инфекций, остаются за рамками стандартного диагностического протокола. Предусмотренный для этих животных 30-дневный карантин, как правило, недостаточен для выявления многих болезней как бактериальных, так и вирусных этиологий.

Необходимо своевременное их выявление, использование современных иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования. В нашей стране (РФ) разрабатывается и широко используется в диагностике инфекционных болезней сельскохозяйственных и домашних животных метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [7–10]. Но в доступной отечественной литературе мы не встретили данных об использовании ПЦР в диагностике инфекционных болезней рептилий. Значительный прогресс в разработке современных методов диагностики был достигнут за рубежом за последние годы, что позволило выявить ряд новых нозоологий и в некоторых случаях проанализировать эпизоотическую ситуацию эволюции патогенов.

Но в настоящее время новые диагностические тест-системы не имеют широкого практического применения, в том числе и в нашей стране, и остаются лишь в арсенале у нескольких исследовательских лабораторий США и Европы [14–16].

Вероятно, в будущем численность ветеринарных лабораторий, имеющих в наличии необходимые диагностические тест-системы и возможность проводить достойную бактериологическую и вирусологическую диагностику болезней рептилий, существенно возрастет.

В этом случае в ряде стран такие исследования будут введены в стандартный протокол при получении ветеринарных сертификатов. Тогда и список инфекций рептилий, контроль которых в случае перемещения животных обязателен, заметно расширится.

В связи с вышеперечисленными данными и с учетом используемой экспериментальной базы, условий для проведения исследований **целью** нашей работы явилось изучение бактериальных ассоциаций у рептилий, содержащихся в неволе.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ИПБиВМ ФГБОУ ВПО КрасГАУ и парка флоры и фауны «Роев ручей» г.Красноярска в 2014 г.

Материалами для исследования являлись: условия содержания рептилий в парке флоры и фауны «Роев ручей», пробы биоматериала, полученные от варана, сцинка, трех видов черепах и пятнистого зублефара, взятые при помощи зонд-тампон-тумпферов и стерильного физиологического раствора с поверхности спины, брюха, анального отверстия, слизистой ротовой полости.

Пробы биологического материала, полученные от рептилий, исследовали бактериологически по общепринятым методикам [11–13]. Для проведения бактериоскопии мазки из биоматериала и культур микроорганизмов окрашивали по Граму и изучали морфологические и тинкториальные свойства при помощи светового микроскопа под иммерсией и увеличением 90°. Для выделения чистой культуры микроорганизмов производили посев биоматериала на искусственные питательные

среды: мясо-пептонный агар (МПА) и мясо-пептонный бульон (МПБ), а затем пересевали на селективные питательные среды Сабуро, Эндо, дифференциально-диагностические Плоскирева, висмут-сульфатагар (ВСА), Левина. Культивирование микроорганизмов проводили в термостате при температуре 37⁰С, а на среде Сабуро – при комнатной температуре. Биопробу ставили на белых мышах. Патогенность выделенных чистых культур микроорганизмов определяли внутрибрюшинным заражением белых мышей в дозе 500 тыс. микробных клеток, гибель последних наблюдали через 24–96 часов после заражения.

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ условий содержания рептилий в парке флоры и фауны «Роев ручей» показал, что их можно считать оптимальными в связи с наличием необходимых террариумов и контролем ветеринарных специалистов за соблюдением ветеринарно-санитарных норм и правил содержания и кормления животных. Первичная бактериоскопия мазков, окрашенных по Граму, от варана, сцинка, среднеазиатской черепахи показала наличие большого количества плесневых грибов, различного рода палочек и кокков.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Первичное бактериоскопическое исследование биоматериала варана и сцинка

Биопробы	Результаты бактериоскопии
Варан (<i>Varanus salvator</i>)	
Кожа спины	Кишечная палочка, плесневые грибы, бациллы
Ротовая полость	Стрептококк, стафилококк, бациллы
Клоака	Кишечная палочка, плесневые грибы, бациллы
Сцинк (<i>Tiliqua gigas</i>)	
Кожа спины	Кишечная палочка, плесневые грибы, бациллы
Кожа живота	Кишечная палочка, плесневые грибы, бациллы
Ротовая полость	Стрептококк, стафилококк, бациллы
Среднеазиатская черепаха (<i>Testudo horsfieldii</i>)	
Панцирь спины	Кишечная палочка, плесневые грибы
Панцирь живота	Кишечная палочка, плесневые грибы
Клоака	Эшерейхи, кишечная палочка, стафилококк, стрептококк, кокки
Красноухая черепаха (<i>Trachemys scripta elegans</i>)	
Панцирь спины	Бациллы, стафилококк, актиномецеты
Панцирь живота	Бациллы, актиномецеты, кокки
Клоака	Палочковидные бактерии
Черепаха греческая, средиземноморская (<i>Testudo graeca</i>)	
Панцирь спины	Бациллы, стафилококк, актиномецеты
Панцирь живота	Плесневые грибы, бациллы
Клоака	Кокки, палочковидные бактерии
Пятнистый зублефар (<i>Eublepharis macularius</i>)	
Кожа спины	Стафилококк, плесневые грибы, бациллы
Ротовая полость	Стрептококк, стафилококк, энтеробактерии
Кожа живота	Палочковидные бактерии, плесневые грибы, бациллы

Таким образом, при первичной бактериоскопии были обнаружены грамотрицательные и грамположительные палочки, относящиеся к следующим группам микроорганизмов: стафило-

стрептококки, энтеробактерии (сальмонеллы, кишечная палочка, протей), сапрофитные группы спорообразующих микроорганизмов. При изучении патогенных свойств выделенной микрофлоры установили, что наиболее выраженную патогенетическую активность проявляли представители семейства энтеробактерий, такие как кишечные палочки и некоторые варианты плесневых грибов, относящиеся к семейству актиномицетов.

При заражении чистыми культурами данных видов микроорганизмов у лабораторных животных отмечали развитие специфической симптоматики, впоследствии приводящей к гибели животных.

Результаты исследования по культивированию проб биоматериалов от рептилий на искусственных питательных средах приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты культивирования и бактериоскопии биоматериала рептилий на искусственных питательных средах

Биопроба	Левина	ВСА	Эндо	Плоскирева	Сабуро
Варан (Varanus salvator)					
Кожа спины	+	+	+	-	+
Ротовая полость	-	+	-	+	-
Клоака	+	+	+	+	+
Сцинк (Tiliguagigas)					
Кожа спины	+	+	+	-	+
Кожа живота	+	-	+	-	+
Ротовая полость	+	+	-	+	-
Среднеазиатская черепаха (Testudo horsfieldii)					
Панцирь спины	+	+	+	+	+
Панцирь живота	+	+	+	+	+
Клоака	+	+	-	-	+
Красноухая черепаха (Trachernys scripta elegans)					
Панцирь спины	+	-	+	+	+
Панцирь живота	+	-	+	+	+
Клоака	+	+	-	-	-
Черепаха греческая, средиземноморская (Testudo graeca)					
Панцирь спины	+	-	+	+	+
Панцирь живота	+	-	+	+	+
Клоака	+	+	-	-	-
Пятнистый зублефар (Eublepharis macularius)					
Кожа спины	+	-	+	+	+
Ротовая полость	+	+	+	+	+
Кожа живота	-	+	-	-	-

Примечание. «+» – наличие роста; «-» – отсутствие роста.

Таким образом, в ротовой полости и в клоаке наблюдается рост бактерий, обладающих следующими культуральными свойствами: белые, блестящие R и S типа, размерами от 1 до 2,5–5 см, из которых получены чистые культуры.

Выводы. Проведение бактериологических исследований позволило установить наличие у рептилий различного рода патогенных организмов, таких как кокки, бациллы, палочковидные бактерии и т.д., которые могут представлять угрозу для человека.

Литература

1. Даревский И.С., Орлов Н.Л. Редкие и исчезающие животные. Земноводные и пресмыкающиеся. – М.: Высш. шк., 1988. – 211 с.
2. Ярофке Д., Ланде Ю. Рептилии. Болезни и лечение. – М.: Аквариум, 2005. – 209 с.
3. Мартышин А.В. Некоторые данные по заболеваемости пресмыкающихся, находящихся в условиях неволи, принципы диагностики и лечения // Проблемы современной аграрной науки: мат-лы Междунар. науч.конф. – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2010. – С. 117–120.
4. Мартышин А.В., Ковальчук Н.М. Микологическое и микробиологическое исследование организма рептилий: науч.-практ. рекомендации / Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2013. – 40 с.
5. Васильев Д.Б. Черепахи. Содержание, болезни и лечение. – М.: Аквариум, 2005. – 90 с.
6. Чегодаев А.Е. Сухопутные черепахи. Содержание. Разведение. Кормление. Лечение заболеваний. – М.: Аквариум-Принт, 2008. – 128 с.
7. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Строганова И.Я. Выявление респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота при помощи ОТ-ПЦР // Вопросы вирусологии. – 2011. – № 5. – С. 34–37.
8. Распространение калицивируса среди кошек и его тропность к органам / Т.И. Глотова, Т.Г. Ядренкина, А.Г. Глотов [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние животные. – 2013. – № 4. – С. 29–31.
9. Строганова И.Я., Трухненко А.А., Гуменная Е.Ю. Полимеразная цепная реакция в диагностике микоплазм крупного рогатого скота в хозяйствах Восточной Сибири // Вестник КрасГАУ. – 2014. – № 12 – С. 147–150.
10. Бычкова А.А., Строганова И.Я. Диагностика микоплазменных, вирусных и хламидиозных инфекций свиней методом полимеразной цепной реакции в хозяйствах Средней Сибири // Вестник КрасГАУ. – 2015. – № 1. – С. 166–169.
11. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции / Б.И. Антонов [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1986. – 272 с.
12. Костенко Т.С., Скаршевская Е.И., Штельсон С.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: Агропромиздат, 1989. – 272 с.
13. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / М.О. Биргер [и др.]. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
14. Garner M., Raymond S. Methods for diagnosing inclusion body disease in snakes // Proc.ARAV. – 2004. – P. 21–25.
15. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting the antibody response in Argentine boa constrictors (*Boa constrictors occidentalis*) Amer. / B.A. Zock [et al.] // L.Vet.Res. – 2003. – Vol. 64. – P.388–395.
16. Nested PCR amplification and sequencing of a reptile reovirus associated with ophidiosis in Mojave rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*). / J.Wellehan [et al.] // Proc / ARAV. – 2005.

