

УДК 579:616.157

**КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ
ДЕЛЬФИНОВ-АФАЛИН ПРИ БАКТЕРИЕМИИ**

¹Андреева Н.А., ¹Сергиевская М.О., ²Патыка В.Ф.

¹Научно-исследовательский центр “Государственный океанариум”, ул. Епроновская, 7, г. Севастополь, Украина

²Институт микробиологии и вирусологии
им. Д.К. Заболотного НАНУ,
ул. Академика Заболотного, 154, г. Киев, 03143, Украина

Исследованы изменения клинических показателей крови дельфинов при бактериемии. Выявлены основные возбудители бактериемии у этих животных. Отмечена морфологическая изменчивость нативных культур, выделенных из крови дельфинов в течение нескольких пассажей данных микроорганизмов на твердых средах.

Ключевые слова: *бактериемия, клинические показатели крови, дельфин-афалина.*

Кровь здоровых животных стерильна, так как она обладает сильным антимикробным свойством, обусловленным наличием в ней системы различных иммунокомпетентных клеток. Однако почти при всех инфекционных и воспалительных процессах в крови появляется и циркулирует в течение различного срока возбудитель заболевания или (и) его токсины. Через кровь очень часто происходит распространение возбудителя по организму. Чаще всего мы имеем дело с так называемой бактериемией (кратким пребыванием и циркуляцией в крови бактерий). Она возникает в результате проникновения возбудителя в кровь через естественные барьеры макроорганизма. Бактериемия является симптомом болезни и одной из ее стадий. В дальнейшем при отсутствии лечения бактериемия может перейти в септицемию и сепсис. В двух последних случаях микроорганизмы в кровяном русле начинают активно размножаться, вызывая генерализацию инфекционного процесса. Присутствие грамположительных бактерий в кровяном русле сопровождается выделением экзотоксинов (белков-ферментов), которые воздействуют на

цикл Кребса, вызывая нарушение деятельности физиологических систем макроорганизма. Грамотрицательные бактерии влияют на организм хозяина посредством эндотоксинов – поверхностных липополисахаридов.

Было выявлено [8], что причиной сепсиса только в исключительных случаях служат патогенные бактерии. Практически единственной причиной сепсиса и бактериемии являются условно патогенные микробы-комменсалы, обычно хорошо уживающиеся с организмом хозяина. К этой группе относятся облигатные и факультативные представители нормальной микрофлоры: золотистый стафилококк, стрептококки, пневмококки и грамотрицательная палочковидная флора. Могут присутствовать дрожжи.

О развитии бактериемии свидетельствуют такие изменения клеток крови, как токсическая зернистость, вакуолизация цитоплазмы, диффузная цитоплазматическая базофилия, пикнотические изменения ядер, появление телец Деле и некоторые другие [3]. Исследователями также было установлено, что наличие бактериемии четко коррелирует с присутствием в цитоплазме нейтрофилов хорошо заметных вакуолей. Степень выраженности изменений лейкоцитарной формулы крови обычно не может служить надежным диагностическим критерием, но информативность ее значительно повышается при исследовании в динамике. В прогностическом отношении некоторые исследователи [1] большое значение придают динамике лимфоцитов. Несомненно, если в острой стадии процесса количество лейкоцитов снижено, то увеличение их – благоприятный симптом и, наоборот, появление лимфопении на фоне высокого лейкоцитоза обычно указывает на истощение защитных сил организма. Положительную динамику процесса отражает количество моноцитов как показателя регенерации ретикуло-эндотелиальной системы.

Целью наших исследований было выявление изменений клинических показателей крови у дельфинов при бактериемии различной этиологии.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись клинические показатели крови дельфинов-афалин, обитающих в Севастопольском океанариуме, при бактериемии различной этиологии.

Взятие крови от животных осуществлялось стерильно одноразовым шприцом объемом 2 см³ из крупного сосуда (артерии

или вены) хвостового плавника.

Кровь высевали в пробирку с 6 мл мясопептонного бульона (МПБ) с 1% глюкозы в соотношении 1:10. Культивирование посевов осуществлялось при 37 °С в течение 7 суток. Визуальные наблюдения и микроскопирование мазков из гемокультуры, окрашенных по Грамму, проводилось через сутки, двое суток и в конце инкубации. Для подтверждения наличия в крови микроорганизмов материал из жидкой культуры высевали на твердые среды (МПА и кровяной агар) методом истощающего мазка [6].

Микроскопирование и фотографирование микроорганизмов на препаратах производилось при помощи унифицированной приставки РА-7У4.2 и Mustek mini-2 (для цифровой фотосъемки), смонтированной на базе светового микроскопа МИКМЕД-1. При обработке фотоматериала использовались возможности программного обеспечения ПК. Идентификацию микроорганизмов осуществляли по общепринятым в микробиологии методикам [7, 9].

Клинические исследования крови проводили согласно унифицированным методикам, общепринятым в гематологической лабораторной практике. Фиксацию и окрашивание мазков крови для подсчета лейкоцитарной формулы проводили по методике Крюкова-Папенгейма [4].

Результаты и их обсуждение. В результате многолетних гематологических исследований нами были разработаны нормативы основных клинических показателей крови черноморских дельфинов-афалин, адаптированных к условиям океанариума. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Нормативы клинических показателей крови *Tursiops truncatus ponticus*

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ), мм/час	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9$ кл/л	Эритроциты, $\times 10^{12}$ кл/л	Нейтрофилы, %		Эозинофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %
				палочко-ядерные	сегменто-ядерные			
1,8–2,4	155,3–165,1	6,63–11,33	3,37–3,79	0,94–1,54	51,4–65,0	14,53–24,25	1,21–3,81	16,2–24,8

За период 2000–2003 гг. было проведено бактериологическое

исследование более 200 образцов крови от 25 животных. Положительные результаты представлены в табл. 2. Микрофлора обнаружена в 29 образцах крови. Данные показывают, что наиболее часто в крови больных дельфинов присутствовали дрожжи. Вероятно, это связано с кожными очагами поражения, часто встречающимися у этих животных. В других случаях выявлялись: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, коринеформные бактерии, актиномицеты и некоторые неидентифицированные грамотрицательные палочки. Следует отметить, что у исследуемых животных при бактериемии в крови выявляли только один вид микроорганизмов.

Возникновению бактериемии способствуют факторы, снижающие сопротивляемость организма. Для человека транзиторная бактериемия достаточно заурядное явление. Бактерии нередко попадают в кровь из нормальной микрофлоры после процедур, нарушающих гематотканевые барьеры [5]. Относительно причин возникновения бактериемии у дельфинов сведений в литературе практически нет. Наши данные свидетельствуют, что в крови дельфинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях микроорганизмы присутствуют почти всегда. В дальнейшем патогенетически значимая бактериемия может эволюционировать по-разному, но ее трансформация в сепсис в основном зависит от иммунного статуса организма.

Присутствие микроорганизмов в крови, как уже указывалось, связано с изменением клинических показателей крови макроорганизма. Так, в крови исследуемых дельфинов стафилококковая бактериемия сопровождалась увеличением СОЭ, анемией и лейкоцитозом, который был сопряжен с увеличением процентного отношения нейтрофилов (нейтрофилезом). По данным некоторых авторов [3, 4] нейтрофилез может являться результатом острых инфекций, в том числе вызываемых кокками (стафилококками и стрептококками). Наблюдаемое снижение процентного отношения эозинофилов и лимфоцитов также свидетельствует об остром инфекционном заболевании. Уменьшение количества эозинофилов обычно встречается при некоторых воспалительных процессах, включая бактериальные и вирусные инфекции [3]. Кроме того, одновременное снижение количества эозинофилов и лимфоцитов может указывать на снижение сопротивляемости организма и служить неблагоприятным прогностическим признаком [4].

Таблица 2. Изменение клинических показателей крови дельфинов при бактериемии различной этиологии

Возбудитель	СОЭ, мм/час	Hb, г/л	L x10 ⁹ кл/л	Эр. x10 ¹² кл/л	Нейтро- филы, %		Э, %	М, %	Л, %
					П	С			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12–32	130–165	13,80–18,30	3,36–3,84	2–3	78	6–7	1–2	11–12
<i>Staphylococcus aureus</i>	27–52	136–152	15,40–18,05	3,19–3,43	2–5	73–79	2–3	2–3	10–11
<i>Pasteurella sp.</i>	4–15	125–130	11,15–15,55	2,79–3,43	1–3	48–82	4–26	1–4	9–24
<i>Streptococcus sp.</i>	2–3	140–144	6,25–7,75	3,20–3,61	1	59–63	6–5	2	23–28
Коринебактерии	32–40	134–138	10,75–14,60	3,50–3,60	1–2	60–69	15–17	1–2	9–14
Актиномицеты	63	120	24,7	3,44	5	85	1	3	6
Дрожжи	1–34	130–158	5,65–24,45	3,16–3,87	0–3	46–82	2–28	0–3	10–32
Неидентифици-рованные микро-организмы	2–3	144–148	7,10–6,35	3,50–3,74	1	70–72	15–16	2–3	8–12

Примечание: СОЭ – скорость оседания эритроцитов, Hb – гемоглобин, L – лейкоциты,
Эр. – эритроциты, П – палочкоядерные нейтрофилы, С – сегментоядерные нейтрофилы,
Э – эозинофилы, М – моноциты, Л – лимфоциты

При выявлении в гемокультуре у дельфинов дрожжеподобных микроорганизмов, в связи с гетерогенностью данной группы, повышение СОЭ отмечено в большинстве случаев, снижение гемоглобина – всегда, а в изменении формулы крови прослеживаются лишь тенденции. Так, увеличение процента палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и снижение процента эозинофилов и моноцитов обнаруживается только в отдельных случаях. Может наблюдаться лейкоцитоз, эритропения и лейкопения.

В остальных случаях бактериемии, вызванной другими микроорганизмами, общим показателем изменения крови является снижение гемоглобина и, чаще всего, возрастание СОЭ, а также уменьшение процентного количества лимфоцитов. По остальным показателям четких закономерностей не обнаруживается. В литературе отмечается [3], что большинство бактерий может в некоторых случаях вызывать нейтропению.

Была выявлена морфологическая изменчивость нативных культур микроорганизмов, выделенных из крови дельфинов в течение нескольких пассажей на твердые среды.

Так, при первичном посеве материала из гемокультуры, полученной от больного животного, на мясопептонном (МПА) и кровяном (КА) агаре выросли колонии с волнистым кружевным краем и бугристой шероховатой поверхностью. Исследование мазков из колоний, окрашенных по Грамму, и некоторых физиолого-биохимических характеристик культуры, позволило определить ее как *Pasteurella sp.* Как известно из литературы [2], у этого организма обнаруживается три типа колоний: слизистые (M), гладкие (S) и шероховатые (R). В данном случае образовывались R-колонии. Через 2–3 пассажа наблюдался переход R-формы в M-форму и дальнейшее ее преобразование в S-форму. Следует отметить, что одновременно с присутствием бактерий в кровяном русле у того же самого дельфина из дыхательных путей и с кожных покровов также выделялась нативная культура *Pasteurella sp.*, имеющая колонии S-типа.

Таким образом, исследование клинических показателей крови черноморских дельфинов-афалин при бактериемии показало, что в основном их изменение связано со снижением уровня гемоглобина и возрастанием показателя СОЭ. При стафилококковой бактериемии наблюдалась нейтрофилия, а также эозинопения и лимфопения, которые были характерны и для большинства других случаев

бактериемии. При наличии в крови дрожжеподобных организмов, в связи с гетерогенностью данной группы, изменение клинических показателей крови в каждом конкретном случае неоднозначно. Наиболее обычным является повышение СОЭ и снижение уровня гемоглобина. Изменения в формуле крови в данном случае носят характер тенденции. Была выявлена морфологическая изменчивость культуры *Pasteurella sp.*, выделенной из крови больного животного, в течение нескольких пассажей на твердые среды.

1. Белокуров Ю.Н., Граменицкий А.Б., Молодкин В.М. Сепсис. – М.: Медицина, 1983.

2. Домардский И.В. Возбудители пастереллезов и близких к ним заболеваний. – М.: Медицина, 1971. – 286 с.

3. Козинец Г.И., Высоцкий В.В., Погорелов В.М., Еровиченков А.А., Малов В.А. Кровь и инфекция. – М.: Триадфарм, 2001. – 451 с.

4. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Касатонова Т.В., Петросова С.А. Клинические лабораторные исследования. – М.: Медицина, 1984. – С. 158–159.

5. Маянский А.Н. Микробиология для врачей. – Нижний Новгород: НГМА, 1999. – 392 с.

6. Методы общей бактериологии /Под ред. Ф. Герхарда и др. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – С. 318–321.

7. Определитель бактерий Берджи: В 4 т. /Под ред. Дж. Хоулта, Н. Кригера, П. Спита, Дж. Стейли и С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 799 с.

8. Соринсон С.Н. Сепсис (экология, патогенез, клиника, диагностика, терапия): Краткое справочное руководство. – Нижний Новгород: НГМА, 2000. – 64 с.

9. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования /Под ред. М.О. Биргера. – М.: Медицина, 1982. – 461 с.

КЛІНІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ДЕЛЬФІНІВ-АФАЛІН ПРИБАКТЕРІЄМІЇ

¹Андрєєва Н.О., ¹Сергієвська М.О., ²Патика В.П.

¹Науково – дослідний центр “Державний океанаріум”, 99024,

м. Севастополь,

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ

Досліджено зміни клінічних показників крові дельфінів при бактеріємії. Виявлені головні збудники бактеріємії у цих тварин. Відмічалась морфологічна мінливість нативних культур, які були виділені із крові дельфінів, протягом декількох пасажів цих мікроорганізмів на твердих середовищах.

Ключові слова: бактеріємія, клінічні показники крові, дельфін-афаліна.

VARIATION OF DOLPHIN-AFALINA BLOOD CLINICAL INDEXES BY BACTERIZED HEMATAL

¹Andrejeva N.A., ¹Sergievska M.O., ²Patyka V.F.

¹State Oceanarium of Ukraine, Sevastopol,

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv

The variatioin of dolphin blood clinical indexes by bacterized hematal have been investigated. The essential bacterized hematal contagions are determined in these animals. It is noted morphological variability native cultures of the microorganisms which are allocated from dolphin blood during several bacteriological plating on firm solid mediums.

Key words: bacterized hematal, blood clinical indexes, dolphin-afalina