

Культивирование микоплазм — ретроспектива и перспективы

С.Т. Орлова¹, соискатель кафедры эпизоотологии и организации ветеринарного дела
<https://orcid.org/0000-0002-0830-1364> (werta.sto@mail.ru),

А.А. Сидорчук¹, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры эпизоотологии и организации ветеринарного дела (saa48@mail.ru),

Т.В. Гребенникова², доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель лаборатории молекулярной диагностики (t_grebennikova@mail.ru).

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина (109472, Москва, ул. Ак. Скрябина, д. 23)

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, подразделение Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18).

Изоляция и идентификация микоплазм от разных видов домашних животных приобретает в последнее время все большую актуальность. Это побудило нас провести исследовательскую работу по упрощению методов пробоотбора, культивирования, клонирования и сохранения микоплазм, обитающих на слизистых оболочках собак и кошек. Однако уникальные свойства этих бактерий, фактически занимающих промежуточное положение между внеклеточными и внутриклеточными паразитами, зачастую приводят к путанице и недопониманию. Так, даже высококвалифицированные ветеринарные врачи нередко высказывают неверное суждение, что микоплазмы, подобно хламидиям или риккетсиям, являются облигатными внутриклеточными бактериями. Поэтому прежде, чем изложить основные результаты своих исследований, мы дали краткое описание этих необычных бактерий в небольшом обзоре, делая акцент на тех их свойствах, которые затрудняют лабораторную диагностику.

Ключевые слова: микоплазмы, собаки, кошки, респираторные микоплазмозы, микоплазменные конъюнктивиты, лабораторная диагностика.

Сокращения: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ПЦР — полимеразная цепная реакция, СПИД — синдром приобретенного иммунодефицита

Введение

В последние годы микоплазменная инфекция привлекает пристальное внимание ветеринарных врачей разных профилей — занимающихся лечением как мелких домашних животных, так и сельскохозяйственных. Регулярно появляющиеся в периодической печати статьи и обзоры, посвященные микоплазмозам, свидетельствуют о том, что как для большинства видов одомашненных животных, так и для человека, в этой области инфекционной патологии остается много неясных или даже спорных вопросов [5, 6, 9, 15, 16, 18, 20, 22, 26, 28, 30, 34, 35]. На наш взгляд такое положение дел вызывается двумя основными причинами.

Первая причина заключается в том, что большинство микоплазм причисляют к комменсалам, то есть нормальным обитателям слизистых оболочек. Они способны причинять вред организму-хозяину только при действии на него каких-нибудь дополнительных факторов, как правило, ослабляющих иммунитет. Соответственно, большинство болезней, которые вызывают микоплазмы, — так называемые факторно-инфекционные или просто факториальные.

Вторая причина — диагностические сложности при выявлении и особенно типировании микоплазм. Чтобы пояснить, чем они вызваны, необходимо привести краткую информацию о том, что представляют собой микоплазмы.

Общая характеристика микоплазм

Как принято говорить о микоплазмах, они являются самыми маленькими среди способных к самовоспроизведению бактерий. Основная отличительная черта микоплазм — отсутствие клеточной стенки: их клетка окружена только плазматической мембраной. Эти два уникальных свойства — маленький размер и отсутствие клеточной стенки, делают микоплазм очень пластичными, что позволяет им проходить через бактериальные фильтры. Поэтому, будучи впервые обнаруженными в конце XIX века при попытке выяснить природу контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота, они были приняты за вирусы. Вскоре было установлено, что в отличие от вирусов микоплазмы все-таки могут расти на искусственных (бесклеточных) питательных средах, если эти среды являются обогащенными и содержат сыворотку крови. Поэтому их причислили к бактериям.

Позже выяснилось, что большинство бактерий при определенных условиях (вообще — физические, химические или биологические факторы), в том числе под воздействием некоторых ферментов (например, лизоцима), или β-лактамов антибиотиков (таких, как

пенициллины и цефалоспорины) могут терять клеточную стенку полностью или частично. Но когда условия вновь становятся благоприятными, их клеточная стенка обычно восстанавливается. Открытие это было сделано в 1935 году английской исследовательницей Эмми Кляйнебергер–Нобель. Она назвала бактерии, утратившие клеточную стенку из-за неблагоприятных условий, L-формами бактерий в честь Листеровского института в Лондоне, где работала. После открытия L-форм бактерий, которые также способны проходить через бактериальные фильтры, микоплазм приняли за эту разновидность жизни. И лишь после начала серьезного изучения структуры ДНК был окончательно подтвержден их самостоятельный таксономический статус. Дело в том, что у них в геноме нет генов, отвечающих за синтез клеточной стенки, и, таким образом, они не могут ею обзавестись ни при каких условиях [1].

По мере открытия новых представителей микоплазм некоторых из них стали выделять из первоначального рода. Из-за отсутствия клеточной стенки форма клетки микоплазм может быть крайне разнообразной, поэтому использовать морфологический критерий при распределении по родам оказалось практически невозможно. Лишь спироплазмы были выделены в самостоятельный таксон по спиралевидной форме их клетки.

Имеющаяся классификация в основном базируется на биохимических свойствах. Например, по отсутствию потребности в холестерине выделяются представители рода Ахолеплазма. Уреаплазмы способны гидролизовать мочевину. Анезроплазмы являются анаэробами. Весь же таксон приобрел название класс Mollicutes (от molli — мягкий и cutes — кожа). Эта классическая микробиологическая классификация была одобрена Таксономическим комитетом при Международной организации микоплазмологов. Согласно ей, в классе Mollicutes сейчас насчитывается 8 родов: *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Acholeplasma*, *Entomoplasma*, *Mesoplasma*, *Spiroplasma*, *Anaeroplasmataceae*, *Asteroplasma* (табл. 1) [1, 36]. При этом всех молликут до сих пор принято называть просто «микоплазмами» по названию сохранившегося в классе изначального рода *Mycoplasma*, что само по себе способно вносить некоторую путаницу. Для млекопитающих и человека имеют значение 3 из 8 родов — *Mycoplasma*, *Ureaplasma* и *Acholeplasma*

(они выделены в таблице 1 жирным шрифтом). Основное место их обитания — слизистые оболочки респираторного и урогенитального трактов, а также эпителий глаз, пищеварительного тракта, молочных желез и суставов.

Сейчас при распределении по родам используется также филогенетический подход, то есть установление родства между организмами на основании наименьших расхождений в первичной структуре их геномов. Основанная на нем классификация более современна, но менее удобна и не является общепризнанной. По ней микоплазмы делят на 5 основных групп: *Anaeroplasmataceae*, *Asteroplasma*, *Hominis*, *Pneumoniae*, *Spiroplasma*. Группа *Hominis* в свою очередь делится на 8 кластеров: *Mycoplasma bovis*, *M. equigenitalium*, *M. hominis*, *M. lipophilum*, *M. neurolyticum*, *M. pulmonis*, *M. sualvi*, *M. synoviae* [11, 19].

Благодаря филогенетическому анализу в настоящее время к микоплазмам отнесли также риккетсии родов *Haemobartonella* и *Eperythrozoon*, которые иногда служат причиной инфекционных анемий у разных видов млекопитающих. Они действительно имеют с традиционными микоплазмами много сходных черт, но паразитируют на эритроцитах, а не на клетках слизистых оболочек. Поэтому их выделили в отдельный таксон «Гемотрофные микоплазмы», а традиционных микоплазм стали называть «Негемотрофными микоплазмами» [3, 24, 25, 38]. На рисунках 1 и 2 изображены типичные представители гемотрофных и негемотрофных микоплазм при сканирующей электронной микроскопии — это гемотрофная *Mycoplasma ovis* comb. nov. (ранее *Eperythrozoon ovis*) на эритроците овцы и негемотрофная *Mycoplasma hyopneumoniae* на ресничках эпителия трахеи поросят. По приведенным примерам видно, что, к сожалению, название вида ге-

1. Таксономия микоплазм [1], с изменениями авторов			
1. Taxonomy of mycoplasmas [1], with the authors' changes			
Класс	Порядок	Семейство	Род
Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma Ureaplasma
	Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	Acholeplasma
	Entomoplasmatales	Entomoplasmataceae	Entomoplasma Mesoplasma
		Spiroplasmataceae	Spiroplasma
	Anaeroplasmatales	Anaeroplasmataceae	Aneroplasmataceae Asteroplasma

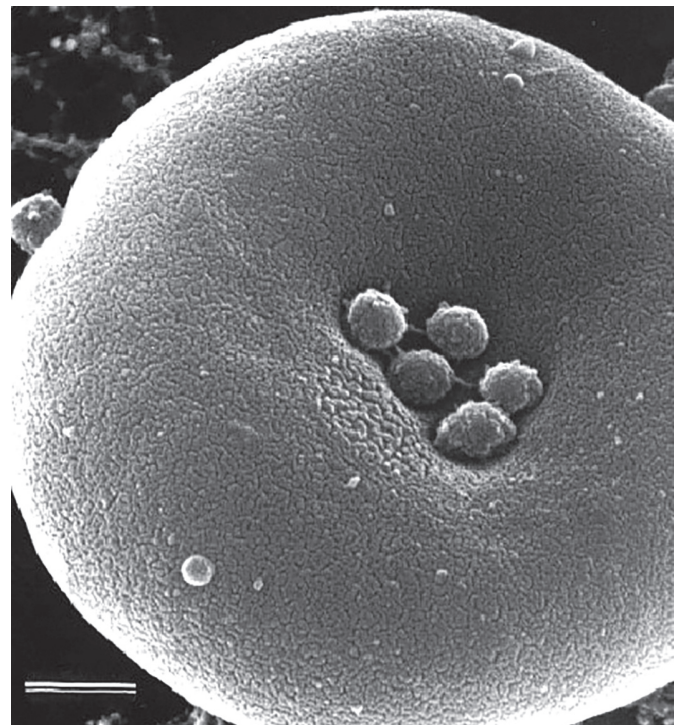


Рис. 1. *Mycoplasma ovis* на эритроцитах естественно инфицированной овцы (сканирующая электронная микроскопия), 0,5 мкм [25]
Fig. 1. *Mycoplasma ovis* on erythrocytes of naturally infected sheep (scanning electron microscopy), 0.5 μm [25]

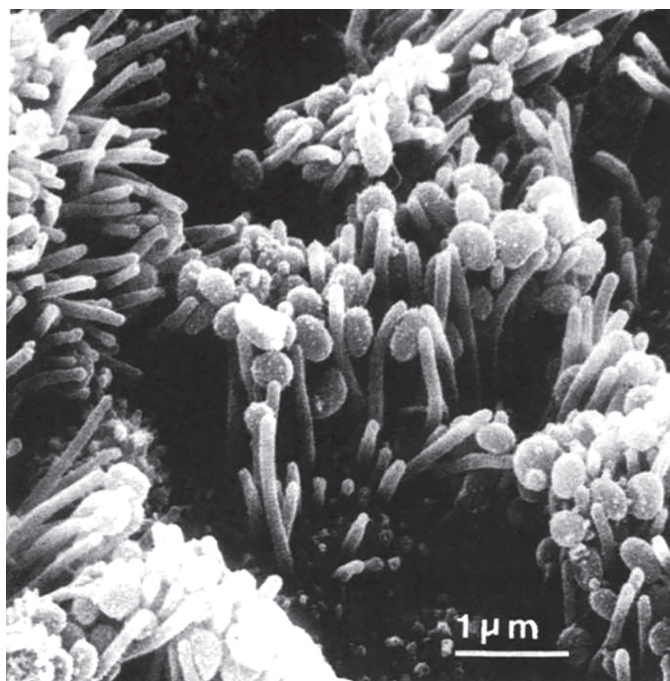


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия трахеи поросят через 2 недели после инокуляции *Mycoplasma hyopneumoniae*. В данном случае микоплазмы тесно связаны с верхней частью ресничек, но некоторые виды могут крепиться к ресничкам около их основания, 1 μm [8]

Fig. 2. Scanning electron microscopy of the piglet's trachea 2 weeks after the inoculation of *Mycoplasma hyopneumoniae*. In this case, mycoplasmas appear closely associated with the upper part of cilia, but some species can be attached to cilia near their base, 1 μm [8]

мотрофных микоплазм не всегда содержит указание на их принадлежность к таксону в виде приставки *haemo-* (как например, *Mycoplasma haemofelis* или *Mycoplasma haemocanis*), и это тоже делает систематику микоплазм немного запутанной.

Открыто более 200 представителей класса Mollicutes, причем считают, что это только меньшая его часть [1, 37]. Практически все они являются факультативными паразитами или комменсалами животных и растений. Способность жить самостоятельно (в окружающей среде) частично сохранена лишь у некоторых Ахлеплазм. Паразитируют микоплазмы на всевозможных объектах — растениях, насекомых, рептилиях, птицах, млекопитающих (включая человека) — и представлены в природе чрезвычайно широко. Масштабы их распространения показывает тот факт, что более 600 известных заболеваний растений 96 семейств связаны с представителями класса Mollicutes [1].

Подавляющее большинство микоплазм обитают на поверхности клеток организма-хозяина (это не внутриклеточные паразиты). Поскольку поверхностные мембраны клетки микоплазмы и клетки организма-хозяина устроены почти одинаково, возможен очень тесный мембранный контакт между ними: мембраны практически сливаются или «растворяются» друг в друге. Это облегчает транспорт необходимых для микоплазмы соединений из цитоплазмы клетки хозяина, лишая ее необходимости самой их синтезировать. Из-за такой тесной связи мембран микоплазм называют «мембранными паразитами» [1]. Способность проникать внутрь клетки бесспорно доказана для представителей рода *Spiroplasma*. Внутриклеточ-

ную локализацию представителей рода *Mycoplasma* при электронной микроскопии ультратонких срезов тканей млекопитающих долгое время связывали с фагоцитозом, поскольку их обнаруживали внутри клеток, обладающих фагоцитарной активностью. Сейчас достоверно известно, что несколько видов рода *Mycoplasma* тоже могут проникать внутрь клетки. Так, *M. fermentans* обнаруживали у больных СПИДом людей в различных клетках, не являющихся фагоцитами. У *M. penetrans* был открыт и детально изучен специальный аппарат инвазии, благодаря которому она способна проникать в человеческие клетки различных типов. Было также установлено, что *M. genitalium* и *M. pneumoniae* проникают внутрь культивируемых клеток человека *in vitro* [1]. Размножаются ли эти микоплазмы внутри клетки-хозяина, оставалось неясным [1]. Позднее для *M. pneumoniae* были описаны внутриклеточные рост и репликация *in vitro*, однако характер течения этих процессов снова не был достоверно установлен во время естественного инфицирования человека данной микоплазмой [37]. Полногеномное секвенирование *M. pneumoniae* косвенно подтверждает соответствие генома данной микоплазмы жизненному циклу внутриклеточного организма [23]. В некоторых ветеринарных публикациях указанная черта, присущая отдельным видам микоплазм человека, автоматически переносится на всех представителей рода *Mycoplasma* [29]. Мы не можем сказать, насколько это обоснованно.

В целом, исходя из имеющихся на сегодняшний день данных, можно утверждать, что микоплазмы занимают уникальную нишу, фактически являясь промежуточной формой между внеклеточными и внутриклеточными бактериями. Они еще могут самостоятельно размножаться, но уже практически лишились способности жить без клетки-хозяина, из которой получают многие необходимые им для жизни вещества в готовом виде. Благодаря длительному паразитированию геном микоплазм редуцировался и способность синтезировать эти вещества самостоятельно они утратили.

Доказательства патогенности на основе постулатов Генле—Коха были получены только для нескольких видов микоплазм [1]. Однако примерно 1/3 микоплазм в той или иной степени патогенна для своих хозяев в естественных и экспериментальных условиях [1]. Как правило, если иммунный ответ хозяина нормальный, то есть он здоров, такие микоплазмы ведут себя как комменсалы. Но если у хозяина проблемы со здоровьем — главным образом, вызванная чем-либо иммуносупрессия — они могут переходить к массовому размножению и вызывать патологические процессы в организме. Нередко триггером для развития микоплазменной инфекции становится другое бактериальное или вирусное заражение. Такие инфекции принято называть оппортунистическими.

Поскольку микоплазмы имеют сродство к эпителиальным тканям, широко распространенным в организме, они могут населять многие органы (слизистые оболочки респираторного и урогенитального трактов, эпителий глаз, пищеварительного тракта, молочных желез и суставов). Соответственно, спектр возможных патологий очень широк: это респираторные и урогенитальные микоплазмозы, микоплазменные конъюнктивиты (в более глубоких поражениях глаз микоплазмы

замечены не были), маститы и артриты. При попадании в кровь (обычно, вследствие глубокого повреждения слизистых оболочек любой этиологии) микоплазмы могут расселяться по организму и обсеменять любые внутренние органы вплоть до головного мозга, что для них все-таки нетипично [7, 17].

Примерно половина известных микоплазм выделяется обычно от 1 хозяина, примерно столько же — от нескольких (2...5), и лишь некоторые имеют широкий спектр хозяев [1]. В целом у большинства видов домашних животных (как и у человека) на сегодняшний день насчитывается около 15...20 видов микоплазм, часто выделяемых как от больных, так и от здоровых представителей вида и, по-видимому, являющихся частью нормофлоры слизистых оболочек. Кошки и собаки не являются исключением из данного правила. От них было выделено по 16 видов из класса Mollicutes (в основном, представители рода *Mycoplasma*), 8 из которых встречаются у обоих видов животных.

Кошачьими видами молликут являются: *Acholeplasma laidlawii*; *Mycoplasma arginini*; *M. arthritidis*; *M. canadense*; *M. canis*; *M. cynos*; *M. feliminutum*; *M. felis*; *M. gallisepticum*; *M. gateae*; *M. hyopharyngis*; *M. lipophilum*; *M. pulmonis*; *M. spumans*; *Ureaplasma cati*; *U. felinum* [14].

От собак на сегодняшний день подтверждено выделение: *Acholeplasma laidlawii*; *Mycoplasma arginini*; *M. bovigenitalium*; *M. canis*; *M. cynos*; *M. edwardii*; *M. feliminutum*; *M. felis*; *M. gateae*; *M. maculosum*; *M. molare*; *M. opalescens*; *M. spumans*; *Mycoplasma sp. HRC 689*; *Mycoplasma sp. VJC 358*; *Ureaplasma canigenitalium* [10]. Но список, скорее всего, не полный, так как при обнаружении у кошки или собаки представителей класса Mollicutes видовая идентификация проводилась далеко не всегда.

Каждое индивидуальное животное чаще всего является носителем сразу нескольких видов микоплазм. Поэтому при развитии оппортунистической инфекции трудно бывает определить, какие виды микоплазм следует считать «более патогенными» для данного вида животных. Но даже если такие «более патогенные» виды известны, их обнаружение при отсутствии клинических признаков болезни ни о чем не говорит. По имеющимся на сегодняшний день данным, более патогенной для респираторного тракта собак принято считать *M. cynos*, а для их урогенитального тракта — *M. canis*.

M. felis связывают с конъюнктивитами кошек. Возможно, что эта же микоплазма принимает участие в развитии у кошек болезней респираторного тракта. Ее часто выделяют с конъюнктивы кошек, больных конъюнктивитом, и из респираторного тракта здоровых кошек [27].

Подтверждением большей патогенности 3 перечисленных видов микоплазм явилось развитие хотя бы у части экспериментально зараженных животных клинических признаков болезни и/или патолого-анатомических изменений соответствующих органов [14, 31, 32]. Иногда к кошачьим патогенам причисляют также *M. gateae*, но нам это кажется сомнительным, поскольку обоснованием большей патогенности стало развитие полиартрита после ее внутривенного введения [14]. Однако такой способ заражения не является естествен-

ным для микоплазм — обитателей слизистых оболочек. Как мы уже упоминали выше, оказавшись по той или иной причине в крови, практически все микоплазмы могут расселяться по организму и обсеменять любые внутренние органы, вызывая у животного проблемы со здоровьем атипичной для них локализации.

Диагностика и контроль лечения микоплазмозов

Диагностика и контроль лечения осложнены присутствием микоплазм на слизистых оболочках не только у больных, но и у значительной части здоровых животных. В настоящее время среди лабораторных методов диагностики микоплазмозов собак и кошек используют серологическое исследование крови на наличие антител к микоплазмам, ПЦР для обнаружения ДНК микоплазм в мазках со слизистых оболочек либо в различных органах и тканях, а также культивирование (бактериологическое исследование) с последующими микроскопией и изучением биохимических свойств выделенных изолятов микоплазм [4].

Диагностировать микоплазменные инфекции путем измерения уровня специфических антител довольно трудно. Серологические тесты с использованием реакции непрямой гемагглютинации и реакции связывания комплемента продемонстрировали присутствие в сыворотке крови здоровых собак антител к большинству собачьих микоплазм [27]. Специфические антитела к *M. felis* также имеются почти у всех кошек. Небольшое число здоровых и больных кошек имеет антитела к *A. laidlawii*, *M. arginini* и *M. gateae* [27]. Поэтому применение серологических методов в данном случае однозначно требует проведения ретроспективных исследований, в ходе которых титр антител должен увеличиться в пробах, взятых с 3-недельным интервалом, не менее чем в 2 раза [33]. В целом использование серологических тестов затруднено большим числом видов микоплазм, паразитирующих на слизистых оболочках собак и кошек, а также отсутствием четкого понимания, какие из этих видов следует считать «более патогенными» [12].

ПЦР-диагностика получила исключительно широкое применение за последние два десятилетия. Но для микоплазм здесь тоже имеется ряд нюансов. Чаще всего проводят анализ на наличие представителей рода *Mycoplasma*, так как готовых наборов для обнаружения отдельных видов микоплазм в России практически нет в продаже, имеются только родовые тест-системы. Но такое носительство чрезвычайно распространено и у здоровых животных. Некоторые лаборатории начали проводить диагностику на *M. cynos* и *M. canis* для собак, а также на *M. felis* и *M. gateae* для кошек. Но результат анализа на наличие обоих видов чаще всего выдается в виде «Обнаружены» или «Отсутствуют» без их дифференцировки. Такой результат не имеет большой диагностической ценности, поскольку, например, обнаружение в респираторном тракте собак достаточно широко распространенной в популяции и обычно не вызывающей развития респираторной симптоматики *M. canis*, в сущности, ни о чем не говорит. То же самое можно сказать и об обнаружении *M. cynos* у них в урогенитальном тракте. Тем более сложно извлечь какую-то полезную информацию из обнаружения в респираторном тракте или на конъюнктиве кошки

M. gateae с учетом того, что этот вид микоплазм был пока уличен лишь в возможной причастности к развитию полиартритов.

Кроме того, с помощью ПЦР невозможно оценить жизнеспособность микроба. А это может быть особенно важно для контроля лечения. Микоплазмы имеют очень тесный мембранный контакт с клетками, на которых они паразитируют. Вероятнее всего, даже погибнув, они будут оставаться на поверхности клеток эпителия и, соответственно, детектироваться посредством ПЦР вплоть до его слушивания и замены на свежий в течение нескольких недель. Но при отсутствии жизнеспособных микоплазм продолжать лечение антибиотиками в этот период уже бессмысленно.

Напротив, бактериологическое исследование хорошо позволяет оценить жизнеспособность микоплазм и при этом обладает высокой, практически соизмеримой с ПЦР, чувствительностью [10]. Следует отметить, что в западных странах для диагностики микоплазмозов все три лабораторных метода (серологический, бактериологический и ПЦР) часто применяют одновременно, особенно в медицине человека. Они способны хорошо дополнять друг друга [37].

Особенности культивирования микоплазм

В современной России, к сожалению, складывается ситуация, в которой специалисты, способные работать с трудно культивируемыми микробами — вирусами, внутриклеточными бактериями, анаэробами, постепенно «вымирают». Функции, которые они выполняли, частично возмещает молекулярная диагностика. Эта тенденция затронула и микоплазмологию. Культивированием микоплазм занимаются в России лишь единичные лаборатории. Большинство же обычных микробиологов считают эту область слишком сложной и практически полностью ее избегают.

Микоплазм, безусловно, следует отнести к довольно требовательным микробам. В естественных условиях они находятся в очень тесном контакте с клеткой организма-хозяина, что облегчает транспорт из ее цитоплазмы некоторых необходимых им соединений в готовом виде. Получая такие соединения напрямую от клетки-хозяина, микоплазмы утратили кодирующие их гены в процессе регрессивной эволюции [1]. Поэтому бесклеточные питательные среды для их выращивания должны содержать все те соединения, которые микоплазмы уже не умеют синтезировать сами. Таким образом, среды имеют сложный состав и включают в себя большое количество питательных добавок.

Белковая основа сред для выращивания микоплазм обычно содержит вытяжку из бычьего сердца и пептон, реже — мясной экстракт и панкреатический гидролизат казеина. В качестве ростового фактора к ней добавляют большое количество дрожжевого экстракта. Источником стеролов чаще всего служит лошадиная сыворотка крови; ее тоже требуется довольно много. Для получения энергии разные виды микоплазм используют либо гликолиз (ферментативное расщепление глюкозы), либо гидролиз L-аргинина или мочевины. Поэтому в среды для их культивирования принято добавлять какую-либо одну из этих трех (глюкоза, L-аргинин или мочевина) «энергетических добавок». В процессе их расщепления микоплазмами изменяется

pH среды, что сопровождается изменением цвета, если среда содержит индикатор. Для того, чтобы сделать эти до чрезвычайности питательные среды селективными, в них вносят β-лактамы антибиотики (пенициллины и цефалоспорины), нарушающие синтез бактериальной клеточной стенки. Поскольку у микоплазм нет клеточной стенки, они не чувствительны к этой группе антибиотиков. Ну и, конечно, для получения сред разной плотности в них может быть добавлено соответствующее количество агара [1, 4].

Понятно, что сами среды, каким бы сложным составом они не обладали, при современном уровне развития промышленного производства не являются серьезной проблемой. Готовую сухую основу среды и готовые сухие или лиофилизированные добавки к ней выпускает подавляющее большинство компаний, занимающихся производством сред для микробиологии. Приготовить их по инструкции производителя и смешать не составляет особого труда.

А вот сами классические методики работы с микоплазмами, большая часть которых разработана десятки лет назад, действительно достаточно трудоемки и сложны [2, 13]. В значительной степени это связано с тем, что на большинстве сред микоплазмы дают нежный, едва видимый глазу рост. При этом микроскопическое подтверждение наличия роста затруднено из-за чрезвычайно мелкого размера клеток и их полиморфизма. Поэтому если, например, экспериментатор не увидел явных признаков роста микоплазм на жидких средах, ему рекомендуется сделать несколько последовательных слепых пассажей. Кроме того, для засеянных жидких сред с каждой из энергетических добавок (глюкозой, L-аргинином и мочевиной) обычно советуют делать серию десятикратных разведений до 10^{-5} . Это необходимо в основном для полуколичественной оценки содержания микоплазм в пробе.

Если рассмотреть в качестве примера предложенную М. Ogata методику работы с образцами, полученными от собак и кошек, то схема первичного посева каждого образца включает в результате посев на две чашки Петри с твердыми средами (одна без энергетических добавок, вторая — с мочевиной), три пробирки с жидкими средами (с глюкозой, L-аргинином или мочевиной) и по пять пробирок жидких сред всех трех типов (с разными энергетическими добавками) в серии десятикратных разведений до 10^{-5} [27]. Таким образом, общее число пробирок и чашек Петри, используемых для первичного посева одного образца, составляет 20 штук (табл. 2). Для удобства дальнейшего изложения мы решили назвать пробирки и чашки Петри с разными (по плотности и содержащейся энергетической добавке) типами сред, используемые для посева одного образца, «**посевными единицами**».

С учетом рекомендуемых в рассматриваемой методике дальнейших пересевов с жидких и твердых сред и возможных слепых пассажей, число «посевных единиц», засеянных одним образцом, может достигать 40...50 штук. Для всех полученных в ходе работы изолятов классическая методика предлагает их последующую дополнительную очистку по фильтрационно-клонировочной методике, а затем изучение биохимических свойств и типирование с помощью серологических методов.

2. Схема посева одного кошачьего или собачьего образца по методике М. Ogata [27]
2. Scheme of inoculation of one feline or canine sample according to the method of M. Ogata [27]

Плотность	Добавка																			
	—	Г	Г ×10 ⁻¹	Г ×10 ⁻²	Г ×10 ⁻³	Г ×10 ⁻⁴	Г ×10 ⁻⁵	А	А ×10 ⁻¹	А ×10 ⁻²	А ×10 ⁻³	А ×10 ⁻⁴	А ×10 ⁻⁵	М	М ×10 ⁻¹	М ×10 ⁻²	М ×10 ⁻³	М ×10 ⁻⁴	М ×10 ⁻⁵	
ж	×	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
т	•	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	•	×	×	×	×	×	×

Обозначения:

- ж — жидкая среда;
т — твердая среда;
«—» — среда с добавлением глюкозы;
А — среда с добавлением L-аргинина;
М — среда с добавлением мочевины;
• — на этот тип среды производится посев («посевная единица»);
× — такого посева не было.

Наши отечественные ученые, работавшие с микоплазмами, выделяли их в основном от продуктивных, а не от мелких домашних животных [2, 13]. Но если распространить их рекомендации по культуральным работам с микоплазмами от других животных на собак и кошек, то результат окажется ничуть не проще. Например, в случае отсутствия признаков роста ими рекомендовано сделать для каждой из сред до 8 последовательных слепых пассажей с интервалом 5 дней. Это в несколько раз увеличивает не только число задействованных «посевных единиц», но и время проведения исследования.

Мы предприняли попытку упростить методы работы с микоплазмами (если это приведет к приемлемой потере чувствительности) и адаптировать их к современным условиям, чтобы сделать более доступным бактериологическое лабораторное исследование образцов от кошек и собак на наличие микоплазм. За основу нами была взята классическая методика по выращиванию кошачьих и собачьих микоплазм, описанная М. Ogata в 1983 году [27]. Кроме непосредственно первичного посева, мы пытались также упростить все остальные этапы работы с микоплазмами — начиная с пробоотбора и заканчивая клонированием, идентификацией клонов, адаптацией изолятов и клонов через пассирование на бесклеточных питательных средах, а также хранение изолятов и клонов. Мы решили, что не стоит противопоставлять 2 замечательных высокочувствительных метода — бактериологическое исследование и ПЦР, а, напротив, нужно дополнить их друг другом. Так, ПЦР-анализ на родовой тест-системе использовался нами для подтверждения наличия или отсутствия роста на средах разных типов в сомнительных случаях. Идентификацию клонов мы тоже проводили с помощью методов молекулярной диагностики. Полученные нами результаты будут последовательно изложены в периодической печати в ближайшее время.

Библиография

1. Борхсениус, С.Н. Микоплазмы: молекулярная и клеточная биология, взаимодействие с иммунной системой млекопитающих, патогенность, диагностика / С.Н. Борхсениус, О.А. Чернова, В.М. Чернов и др. — СПб: Наука, 2002. — 319 с.
2. Методические рекомендации по выделению, культивированию и идентификации микоплазм, ахлеплазм и уреоплазм. — М.: ВАСХНИЛ – ВИЭВ, 1982. — 47 с.

3. Орлова, С.Т. Респираторные микоплазмы собак. Часть I. Роль микоплазм в респираторной патологии собак / С.Т. Орлова, А.А. Сидорчук // РВЖ МДЖ (Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные). — 2013. — № 6. — С. 36–39.
4. Орлова, С.Т. Респираторные микоплазмы собак. Часть II. Сложности диагностики и терапии / С.Т. Орлова, А.А. Сидорчук, Т.В. Гребенникова // РВЖ МДЖ (Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные). — 2014. — № 1. — С. 43–48.
5. Atkinson T.P. Is asthma an infectious disease? New evidence / T.P. Atkinson // Curr Allergy Asthma Rep (Current allergy and asthma reports). — 2013. — No. 13 (6). — pp. 702–709.
6. Barber, R.M. Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis / R.M. Barber, B.F. Porter, Q. Li et al. // J Vet Intern Med (Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine). — 2012 — No. 26 (4) — pp. 962–968.
7. Beauchamp, D.J. Mycoplasma felis-associated meningoencephalomyelitis in a cat / D.J. Beauchamp, R.C. da Costa, C. Premanandan et al. // J Feline Med Surg (Journal of Feline Medicine and Surgery). — 2011. — No. 13 (2), — pp. 139–143.
8. Blanchard, B. Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with Mycoplasma hyopneumoniae / B. Blanchard, M.M. Vena, A. Cavalier et al. // Vet Microbiol (Veterinary microbiology). — 1992. — No. 30 (4). — pp. 329–341.
9. Chae, Ch. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and Mycoplasma hyopneumoniae / Ch. Chae // Vet J (The veterinary journal). — 2016. — No. 212. — pp. 1–6.
10. Chalker V.J. Canine mycoplasmas / V.J. Chalker // Res Vet Sci (Research in Veterinary Science). — 2005. — No. 79 (1). — pp. 1–8.
11. Chalker, V.J. Taxonomy of the canine Mollicutes by 16S rRNA gene and 16S/23S rRNA intergenic spacer region sequence comparison / V.J. Chalker, J. Brownlie // Int J Syst Evol Microbiol (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology). — 2004. — No. 54 (2). — pp. 537–542.
12. Chalker, V.J. Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease / V.J. Chalker, W.M.A. Owen, C. Paterson et al. // Microbiology. — 2004. — No. 150 (10). — pp. 3491–3497.
13. Edited by Tully J.G. & Razin S. Methods in Mycoplasmaology. Volume II: Diagnostic Mycoplasmaology. NY: Academic Press, 1983. — 105–113 p.
14. Greene, C.E. Nonhemotropic Mycoplasma, Ureaplasma, and L-Form Infections / C.E. Greene, V.J. Chalker // In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th edition. — Edited by Greene C.E. USA: Elsevier Inc., 2012. — 319–325 p.
15. Grissett, G.P. Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex / G.P. Grissett, B.J. White, R.L. Larson // J Vet Intern Med (Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine). — 2015 — No. 29 (3). — pp. 770–780.
16. Horner, P. Should we be testing for urogenital Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and U. urealyticum in men and women? — Position Statement from the European STI Guidelines Editorial Board. / P. Horner, G. Donders, M. Cusini et al. // J Eur Acad Dermatol Venereol (Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV). — 2018. — 26 p. [in press].

17. Ilha, M.R. Meningoencephalitis caused by *Mycoplasma edwardii* in a dog / M.R. Ilha, S. Rajeev, C. Watson et al. // *J Vet Diagn Invest (Journal of Veterinary Diagnostic Investigation)*. — 2010. — No. 22 (5). — pp. 805–808.
18. Jacobson, E.R. Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises: a review and update / E.R. Jacobson, M.B. Brown, L.D. Wendland // *Vet J (The veterinary journal)*. — 2014. — No. 201 (3). — pp. 257–264.
19. Johansson K.-E., Taxonomy of Mollicutes. / K.-E. Johansson, B. Pettersson // In: *Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas*. — Edited by Razin S. & Herrmann R. NY: Kluwer, 2002. — 1–27 p.
20. Le Boedec, K. A systematic review and meta-analysis of the association between *Mycoplasma* spp and upper and lower respiratory tract disease in cats / K. Le Boedec // *J Am Vet Med Assoc (Journal of the American Veterinary Medical Association)*. — 2017 — No. 250 (4). — pp. 397–407.
21. Lee-Fowler, T. Feline respiratory disease: what is the role of *Mycoplasma* species? / T. Lee-Fowler // *J Feline Med Surg (Journal of feline medicine and surgery)*. — 2014 — No. 16 (7). — pp. 563–571.
22. Maksimović, Z. Genital mycoplasmas of healthy bitches / Z. Maksimović, A. Maksimović, A. Halilbašić et al. // *J Vet Diagn Invest (Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians)*. — 2018. — No. 30 (4). — pp. 651–653.
23. Meseguer, M.A. *Mycoplasma pneumoniae*: a reduced-genome intracellular bacterial pathogen / M.A. Meseguer, A. Alvarez, M.T. Rejas et al. // *Infect Genet Evol (Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases)*. — 2003 — No. 3 (1). — pp. 47–55.
24. Messick, J.B. Hemotropic Mycoplasmosis (Hemobartonellosis) / J.B. Messick, J.W. Harvey // In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th edition*. — Edited by Greene C.E. USA: Elsevier Inc., 2012. — 310–319 p.
25. Neimark, H. *Mycoplasma ovis* comb. nov. (formerly *Eperythrozoon ovis*), an eperythrocyclic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats / H. Neimark, B. Hoff, M. Ganter // *Int J Syst Evol Microbiol (International journal of systematic and evolutionary microbiology)*. — 2004. — No. 54 (Pt 2). — pp. 365–371.
26. Nicholas, R.A.J. *Mycoplasma mastitis* in cattle: To cull or not to cull / R.A.J. Nicholas, L.K. Fox, I. Lysnyansky // *Vet J (The veterinary journal)*. — 2016. — No. 216. — pp. 142–147.
27. Ogata, M. Recovery and identification of canine and feline mycoplasmas / M. Ogata // In: *Methods in Mycoplasmaology. Volume II: Diagnostic Mycoplasmaology*. — Edited by Tully J. G. & Razin S. NY: Academic Press, 1983. — 105–113 p.
28. Priestnall, S.L. New and emerging pathogens in canine infectious respiratory disease / S.L. Priestnall, J.A. Mitchell, C.A. Walker et al. // *Vet Pathol (Veterinary pathology)*. — 2014. — No. 51 (2). — pp. 492–504.
29. Reed, N. Respiratory and Ocular Mycoplasmal Infections: Significance, Diagnosis, and Management / N. Reed // In: *August's Consultations in Feline Internal Medicine, Volume 7*. Edited by Little S.E. USA: Elsevier Inc., 2016. — 23–33 p.
30. Rosales, R.S. Mycoplasmas: Brain invaders? / R.S. Rosales, R. Puleio, G.R. Loria et al. // *Res Vet Sci (Research in veterinary science)*. — 2017. — No. 113. — pp. 56–61.
31. Rosendal, S. Canine mycoplasmas: pathogenicity of mycoplasmas associated with distemper pneumonia / S. Rosendal // *J Infect Dis (The Journal of Infectious Diseases)*. — 1978. — No. 138 (2). — pp. 203–210.
32. Rosendal, S. Canine mycoplasmas: their ecologic niche and role in disease / S. Rosendal // *J Am Vet Med Assoc (Journal of the American Veterinary Medical Association)*. — 1982. — No. 180 (10). — pp. 1212–1214.
33. Rycroft, A.N. Serological evidence of *Mycoplasma cynos* infection in canine infectious respiratory disease / A.N. Rycroft, E. Tsounakou, V. Chalker // *Vet Microbiol (Veterinary microbiology)*. — 2007. — No. 120 (3-4). — pp. 358–362.
34. Saraya, T. The History of *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia / T. Saraya // *Front Microbiol (Frontiers in microbiology)*. — 2016. — No. 7. — article 364.
35. Sorci, G. Immunity, resistance and tolerance in bird-parasite interactions / G. Sorci // *Parasite Immunol (Parasite immunology)*. — 2013. — No. 35 (11). — pp. 350–361.
36. Taylor-Robinson, D. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update / D. Taylor-Robinson // *Clin Infect Dis (Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America)*. — 1996. — No. 23 (4). — pp. 671–682.
37. Waites, K.B. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections / K.B. Waites, M.F. Balish, T.P. Atkinson // *Future Microbiol (Future microbiology)*. — 2008. — No. 3 (6). — pp. 635–648.
38. Willi, B. From Haemobartonella to hemoplasma: molecular methods provide new insights / B. Willi, F.S. Boretti, S. Tasker et al. // *Vet Microbiol (Veterinary Microbiology)*. — 2007. — No. 125 (3-4). — pp. 197–209.

References

1. Borhsenius S.N., Chernova O.A., Chernov V.M. i dr. *Mikoplazmy: molekulyarnaya i kletchnaya biologiya, vzaimodejstvie s immunoj sistemoj mlekopitajushchih, patogennost', diagnostika (Mycoplasmas: molecular and cellular biology, interaction with the immune system of mammals, pathogenicity, diagnostics)*, Saint Petersburg, Nauka, 2002, 319 p.
2. *Metodicheskie rekomendacii po vydeleniyu, kul'tivirovaniyu i identifikacii mikoplazm, aholeplazm i ureaplazm (Systematic recommendations regarding the isolation, the cultivation and the identification of Mycoplasma, Acholeplasma and Ureaplasma)* Moscow, VASKHNIL, VIEHV, 1982, 47 p.
3. Orlova S.T., Sidorchuk A.A., Respiratornye mikoplazmozy sobak. CHast' I. Rol' mikoplazm v respiratornoj patologii sobak. *RVZH MDZH (Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye)*, 2013, No. 6, pp. 36–39.
4. Orlova S.T., Sidorchuk A.A., Grebennikova T.V. Respiratornye mikoplazmozy sobak. CHast' II. Slozhnosti diagnostiki i terapii. *RVZH MDZH (Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye)*, 2014, No. 1, pp. 43–48.
5. Atkinson T.P., Is asthma an infectious disease? New evidence, *Curr Allergy Asthma Rep (Current allergy and asthma reports)*, 2013, No. 13 (6), pp. 702–709.
6. Barber R. M., Porter B. F., Li Q. et al. Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis, *J Vet Intern Med (Journal of Veterinary Internal Medicine medicine / American College of Veterinary Internal Medicine)*, 2012, No. 26 (4), pp. 962–968.
7. Beauchamp D.J., da Costa R.C., Premanandan C. et al., *Mycoplasma felis*-associated meningoencephalomyelitis in a cat, *J Feline Med Surg (Journal of Feline Medicine and Surgery)*, 2011, No. 13 (2), pp. 139–143.
8. Blanchard B., Vena M.M., Cavalier A. et al., Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Vet Microbiol (Veterinary microbiology)*, 1992, No. 30 (4), pp. 329–341.
9. Chae Ch., Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Vet J (The veterinary journal)*, 2016, No. 212, pp. 1–6.
10. Chalker V.J., Canine mycoplasmas, *Res Vet Sci (Research in Veterinary Science)*, 2005, No. 79 (1), pp. 1–8.
11. Chalker V. J. & Brownlie J., Taxonomy of the canine Mollicutes by 16S rRNA gene and 16S/23S rRNA intergenic spacer region sequence comparison, *Int J Syst Evol Microbiol (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)*, 2004, No. 54 (2), pp. 537–542.
12. Chalker V.J., Owen W.M.A., Paterson C. et al., Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease, *Microbiology*, 2004, No. 150 (10), pp. 3491–3497.
13. Edited by Tully J.G. & Razin S. *Methods in Mycoplasmaology. Volume II: Diagnostic Mycoplasmaology*, NY, Academic Press, 1983, 105–113 p.
14. Greene C.E. & Chalker V.J. *Nonhemotropic Mycoplasmal, Ureaplasma, and L-Form Infections*. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th edition*, Edited by Greene C.E. USA, Elsevier Inc., 2012. 319–325 p.
15. Grissett G.P., White B.J., Larson R.L., Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex, *J Vet Intern Med (Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine)*, 2015, No. 29 (3), pp. 770–780.
16. Horner P., Donders G., Cusini M. et al., Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *U. urealyticum* in men and women? — Position Statement from the European STI Guidelines Editorial Board, *J Eur Acad Dermatol Venereol (Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV)*, 2018, 26 p. [in press].
17. Ilha M.R., Rajeev S., Watson C. et al., Meningoencephalitis caused by *Mycoplasma edwardii* in a dog, *J Vet Diagn Invest (Journal of Veterinary Diagnostic Investigation)*, 2010, No. 22 (5), pp. 805–808.
18. Jacobson E.R., Brown M.B., Wendland L.D., Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises: a review and update, *Vet J (The veterinary journal)*, 2014, No. 201 (3), pp. 257–264.
19. Johansson K.-E. & Pettersson B. *Taxonomy of Mollicutes*, In: *Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas*, Edited by Razin S. & Herrmann R., NY, Kluwer, 2002, 1–27 p.
20. Le Boedec K., A systematic review and meta-analysis of the association between *Mycoplasma* spp and upper and lower respiratory tract disease in cats, *J Am Vet Med Assoc (Journal of the American Veterinary Medical Association)*, 2017, No. 250 (4), pp. 397–407.
21. Lee-Fowler T., Feline respiratory disease: what is the role of *Mycoplasma* species?, *J Feline Med Surg (Journal of feline medicine and surgery)*, 2014, No. 16 (7), pp. 563–571.

22. Maksimović Z., Maksimović A., Halilbašić A. et al., Genital mycoplasmas of healthy bitches, *J Vet Diagn Invest (Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians)*, 2018, No. 30 (4), pp. 651–653.
23. Meseguer M.A., Alvarez A., Rejas M.T. et al., Mycoplasma pneumoniae: a reduced-genome intracellular bacterial pathogen, *Infect Genet Evol (Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases)*, 2003, No. 3 (1), pp. 47–55.
24. Messick J.B. & Harvey J.W. Hemotropic Mycoplasmosis (Hemobartonellosis), In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th edition, Edited by Greene C.E., USA, Elsevier Inc., 2012. 310–319 p.
25. Neimark H., Hoff B., Ganter M., Mycoplasma ovis comb. nov. (formerly Eperythrozoon ovis), an eperythrocyclic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats, *Int J Syst Evol Microbiol (International journal of systematic and evolutionary microbiology)*, 2004, No. 54 (Pt 2), pp. 365–371.
26. Nicholas R.A.J., Fox L.K., Lysnyansky I., Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull, *Vet J (The veterinary journal)*, 2016, No. 216, pp. 142–147.
27. Ogata M., Recovery and identification of canine and feline mycoplasmas, In: Methods in Mycoplasmaology. Volume II: Diagnostic Mycoplasmaology, Edited by Tully J.G. & Razin S., NY, Academic Press, 1983, 105–113 p.
28. Priestnall S.L., Mitchell J.A., Walker C.A. et al., New and emerging pathogens in canine infectious respiratory disease, *Vet Pathol (Veterinary pathology)*, 2014, No. 51 (2), pp. 492–504.
29. Reed N., Respiratory and Ocular Mycoplasma Infections: Significance, Diagnosis, and Management, In: August's Consultations in Feline Internal Medicine, Volume 7, Edited by Little S.E., USA, Elsevier Inc., 2016, 23–33 p.
30. Rosales R.S., Puleio R., Loria G.R. et al., Mycoplasmas: Brain invaders?, *Res Vet Sci (Research in veterinary science)*, 2017, No. 113, pp. 56–61.
31. Rosendal S., Canine mycoplasmas: pathogenicity of mycoplasmas associated with distemper pneumonia, *J Infect Dis (The Journal of Infectious Diseases)*, 1978, No. 138 (2), pp. 203–210.
32. Rosendal S., Canine mycoplasmas: their ecologic niche and role in disease, *J Am Vet Med Assoc (Journal of the American Veterinary Medical Association)*, 1982, No. 180 (10), pp. 1212–1214.
33. Rycroft A.N., Tsounakou E., Chalker V., Serological evidence of Mycoplasma cynos infection in canine infectious respiratory disease, *Vet Microbiol (Veterinary microbiology)*, 2007, No. 120 (3-4), pp. 358–362.
34. Saraya T., The History of Mycoplasma pneumoniae Pneumonia, *Front Microbiol (Frontiers in microbiology)*, 2016, No. 7, article 364.
35. Sorci G., Immunity, resistance and tolerance in bird-parasite interactions, *Parasite Immunol (Parasite immunology)*, 2013, No. 35 (11), pp. 350–361.
36. Taylor-Robinson D., Infections due to species of Mycoplasma and Ureaplasma: an update, *Clin Infect Dis (Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America)*, 1996, No. 23 (4), pp. 671–682.
37. Waites K.B., Balish M.F., Atkinson T.P., New insights into the pathogenesis and detection of Mycoplasma pneumoniae infections, *Future Microbiol (Future microbiology)*, 2008, No. 3 (6), pp. 635–648.
38. Willi B., Boretti F. S., Tasker S. et al., From Haemobartonella to hemoplasma: molecular methods provide new insights, *Vet Microbiol (Veterinary Microbiology)*, 2007, No. 125 (3-4), pp. 197–209.

ABSTRACT

S.T. Orlova¹, A.A. Sidorchuk¹, T.V. Grebennikova²

¹Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA by K. I. Skryabin (23, Ac Scriabin str., Moscow, 109472, Russia)

²Division Institute of Virology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya str., Moscow, 123098, Russia)

Cultivation of mycoplasmas — a retrospective and prospects. Isolation and identification of mycoplasmas from different species of domestic animals have recently become increasingly important. This prompted us to carry out research work to simplify the methods of sampling, cultivation, cloning, and storage of mycoplasmas living on the mucous membranes of dogs and cats. However, the unique properties of these bacteria, actually occupying an intermediate position between extracellular and intracellular parasites, often lead to confusion and misunderstanding. Indeed, even highly qualified veterinarians often have the wrong judgment that mycoplasmas are obligate intracellular bacteria similar Chlamydia or Rickettsia. Therefore, before presenting the main results of our studies, we gave a brief description of these unusual bacteria in this small review, with putting a focus on the properties which prevent to effective laboratory diagnostics.

Keywords: canine and feline mycoplasmas, respiratory mycoplasmosis, mycoplasma conjunctivitis, laboratory diagnostics.

Ветеринарные врачи улучшили навыки работы с экзотическими животными



Кроме того, были изучены возбудители инфекционных (бактерий, вирусов и грибов) и паразитарных болезней (гельминтов, клещей, пиявок), их клиническое проявление, методы диагностики, лечения и профилактики, причины возникновения незаразных болезней, и создание оптимальных условий содержания и кормления экзотических животных и грызунов.

На практических занятиях ветеринарные врачи отработали клинические, лабораторные, инструментальные методы диагностики инфекционных, инвазионных и незаразных болезней, способы их фиксации и введения лекарственных веществ, осуществления простейших манипуляций с учетом видовых особенностей анатомо-топографического строения экзотических животных и грызунов.

По окончании курса слушатели получили удостоверения о повышении квалификации.

Экзотические животные, как и любые другие, подвержены болезням, но узких специалистов, способных лечить таких необычных пациентов, немного. Данный курс был направлен на повышение уровня квалификации врачей государственной ветеринарной службы Москвы и совершенствования навыков работы с экзотическими животными.

В рамках теоретических занятий слушатели рассмотрели и изучили биологические особенности, различные патологии, методы диагностики, лечения и профилактики болезней домашних экзотических животных, пушных зверей и грызунов.