

УДК: 619.98:576.8

Кісера Я.В., д. вет. н., професор
Сторчак Ю.Г., аспірант[©]

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького

ВИВЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

При посіві *Streptococcus pneumoniae* на кров'яний МПА із додаванням 10% глюкози ріст культури проходив у вигляді плоских колоній блакитного кольору із вираженою зоною α -гемолізу. Штами *Streptococcus pneumoniae* мали виражену чутливість щодо затримки росту на енрофлоксацин та офлоксацин, а резистентність була виявлена у трьох штаммах до тетрацикліну.

Патогенною дією найбільш володіють виділені штами культури 107, 106, 108, які викликали загибель тварин відповідно через 12, 16 та 36 годин.

Ключові слова: інфекція, стрептококи, патогенні властивості, білі миші.

Вступ. Стрептококи широко поширені у природі, викликаючи захворювання як людей, так і тварин. Багатогранність факторів і систем захисту створили умови для нормального функціонування організму, проте особливу небезпеку викликають захворювання молодняка сільськогосподарських тварин.

Метою нашої роботи було вивчити морфологічно-тинкторіальні, культурально-біохімічні та біологічні властивості штамів культур *Streptococcus pneumoniae*.

Матеріал і методи. Дослідження проведенні в лабораторії бактеріологічного контролю якості і безпечності ветеринарних препаратів Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. В умовах віварію інституту проведені експериментальні дослідження на білих мишах, які були інфіковані трьома різними штамми *Streptococcus pneumoniae* (штам 106, 107, 108). Проведені дослідження з визначення культурально-морфологічних, біохімічних, біологічних властивостей (LD_{50}) і резистентності досліджуваних штамів до антибактеріальних засобів.

Морфологію бактерій вивчали мікроскопічними дослідженнями в мазках, фарбованих за Грамом. При вивченні культурально-морфологічних властивостей штамів визначали характер росту на сироватково-цукровому МПА (шоколадний агар), а також на сироватковому МПБ. Вірулентність штамів для білих мишей визначали методом титрування [4, 5] і проводили визначення величини LD_{50} в десятикратних розведеннях від 1 до 10 ступенів. Розрахунок величини LD_{50} проводили за методом Кербера [6]. Антибіотикорезистентність штамів визначали стандартним дискодифузійним методом [7, 8]. У дослідженнях використовували комерційні диски з різними антибактеріальними препаратами.

Результати дослідження. При дослідженнях *Streptococcus pneumoniae* ріст культури спостерігався у всіх трьох досліджуваних штаммах. Розмір колоній становив 1,5 (штам 106), 1,2 (штам 107) та 1,4 мм (штам 108). Розміщення стрептококів попарне, у МПБ – короткими ланцюжками, вони не рухливі та не утворюють спор. Фарбуються за Грамом позитивно (стрептококи зафарбовані у синій колір). Розмір колоній у штаммах варіює від 1,2 до 1,5 мм (таблиця 1).

Таблиця 1

**Морфологічно-тинкторіальні властивості штамів
*Streptococcus pneumoniae***

Показники	штам 106	штам 107	штам 108
Розмір колоній, мм	1,5	1,2	1,4
Розташування	попарно		
Рухливість	-		
Утворення спор	-		
Фарбування за Грамом	+		

Проведенням досліджень на культурально-біохімічні властивості (таблиця 2) встановлено, що на кров'яному МПА з додаванням 1% глюкози в усіх трьох штаммах спостерігався ріст із вираженими плоскими колоніями блакитного кольору та утворенням чіткою зоною α -гемолізу.

Таблиця 2

Культурально-біохімічні властивості штамів *Streptococcus pneumoniae*

Показники	штам 106	штам 107	штам 108
Ріст на поживному середовищі			
5%-й кров'яний МПА з 1% глюкози	плоскі колонії блакитного кольору з чіткою зоною α -гемолізу		
Сироватковий МПБ	рівномірне помутніння	рівномірне помутніння з невеликим осадом на дні пробірки	невеликий осад
Біохімічні властивості			
Глюкоза	+	+	+
Лактоза	+	+	+
Арабіноза	-	-	-
Мальтоза	+	+	+
Інулін	+	+	-
МПБ з 20% жовчі	+	+	+

На сироватковому МПБ штам 106 спричинив рівномірне помутніння, а у штамі 107 спостерігалось рівномірне помутніння із утворенням незначного осаду на дні пробірки. Штам 108 також спричинив утворення незначного осаду.

При проведенні біохімічних досліджень кожного із штамів спостерігалось розщеплення глюкози, мальтози та лактози. Розщеплення арабінози не спостерігалось у жодного із штамів. Розщеплення інуліну спостерігалось при дослідженні штаму 106 та 107.

За результатами вивчення біологічних властивостей (таблиця 3) видно, що штам збудника 107 має більш виражену патогенну дію на організм піддослідних лабораторних тварин, викликавши загибель протягом 12 годин. Штами 106 та 108 володіють невисокою патогенністю, викликавши загибель тварин за 16 год (у концентрації $6,8 \times 10^4$ м.т.) та за 36 годин із найбільшою концентрацією введення культури відповідно.

Таблиця 3

Біологічні властивості штамів Streptococcus pneumoniae

Показники	штам 106	штам 107	штам 108
LD50	$6,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^6$
Термін загибелі тварин, год.	16	12	36

Дослідження чутливості штамів 106, 107 та 108 (таблиця 4) до різних антибактеріальних препаратів засвідчили, що всі штами чутливі до енрофлоксацину, висока чутливість у штаму 106 до офлоксацину. До тетрацикліну резистентні усі досліджувані штами, а також штам 107 резистентний до ванкоміцину, цефалексину, стрептоміцину, амоксицикліну, аміциліну, цефазоліну та лінкоміцину. У штаму 108 резистентність виявлена до цефалексину, доксицикліну, стрептоміцину, цефазоліну та еритроміцину.

Таблиця 4

Чутливість культури Streptococcus pneumoniae до антибактеріальних препаратів

Назва препарату	штам 106			штам 107			штам 108		
	Затримка росту, мм								
Енрофлоксацин	35	35	35	25	24	26	24	23	23
Фурадонізол	19	19	20	17	18	18	20	20	20
Ванкоміцин	17	18	17	-	-	-	17	18	18
Рифампіцин	24	22	23	22	21	21	24	25	24
Тетрациклін	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Поліміксин В	13	12	14	18	19	19	12	11	12
Канаміцин	24	23	23	16	15	16	22	22	22
Цефалексин	14-20	16-21	15-18	-	-	-	-	-	-
Доксициклін	19	20	20	16	17	17	-	-	-
Офлоксацин	25-28	25-27	24-26	14	13	13	20	22	21
Гентаміцин	24	25	24	16	15	17	22	21	21
Стрептоміцин	16	16	17	-	-	-	-	-	-
Амоксициклін	18	17	18	-	-	-	14	15	14
Ампіцилін	14-18	13-18	14-17	-	-	-	12	12	13
Цефазолін	17	17	18	-	-	-	-	-	-
Лінкоміцин	12	11	11	-	-	-	15	15	16
Еритроміцин	22	22	23	20	22	20	-	-	-

Висновки:

1. Досліджувані штами Streptococcus pneumoniae за Грамом фарбуються у синій колір (Грамм +), стрептококи розташовані попарно, в МПБ – невеликими ланцюжками, не рухливі, спор не утворюють.

2. При посіві на кров'яному МПА із 1% глюкози досліджувані штами дали ріст у вигляді плоских колоній блакитного кольору із чітко вираженою зоною α -гемолізу. На сироватковому МПБ спостерігалось рівномірне помутніння та незначний осад на дні пробірки.

3. Досліджувані штами культури розщеплюють глюкозу, лактозу, мальтозу.

4. Штам 107 має більш виражену патогенну дію на організм лабораторної тварини, викликавши загибель протягом 12 годин. Штами 106 та 108 викликали загибель тварин за 16 і 36 годин відповідно.

5. У досліджуваних штамів найбільш виражена затримка росту до енрофлоксацину, у штаму 106 до офлоксацину. Резистентність виявлена у трьох штамів до тетрацикліну, а також у штамів 107 та 108 до цефалексину. Штам 107 проявив резистентність до стрептоміцину, амоксицикліну, ампіциліну, цефазоліну талінкоміцину, штам 108 – до еритроміцину.

Література

1. Каришева А.Ф. Спеціальна епізоотологія /А.Ф. Каришева. – К.: Вища освіта. – 2002. – с.471-477.

2. Кравців Р.Й. Інфекційні хвороби великої рогатої худоби /Р.Й. Кравців., Я.Д. Злонкевич, Б.А. Корж, І.І. Олексюк – Львів. – 2001. – С. 318-328.

3. Терехов В.И. Стрептококкоз телят и поросят /В.И.Терехов, А.В.Скориков, О.Б.Терехова //Ветеринария Кубани. – 2007. – №1. – С 5-8.

4. Гайдукевич О.М. Аналітична хімія. / О. М. Гайдукевич, В. В. Болотов, Ю. В. Сич. — Х.: Основа; Вид-во НФАУ, 2000.— 432 с.

5. Болотов В.В. Аналітична хімія /В.В. Болотов, О.М.Свечнікова, С.В.Колісник. – Х., 2004. – 447 с.

6. Івченко В.М. Загальні методи лабораторних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини /В.М. Івченко, Н.І. Сахнюк, Т.О. Гаркавенко. – Біла Церква. – 2012. – 78с.

7. МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки. – К.іїв, 2007. – С. 43-67.

8. Семина Н.А. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам /Н.А. Семина. С.В, Сидоренко, С.П. Резван. //Методические указания МУК 4.21890-04. – 2004 – 54с.

Summary

Y.V. Kiser, Doctor of Veterinary Sciences, Professor;

Storchak Y.G., postgraduate

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnology
named of S. Z. Gzitskyj*

STUDYING MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

When sowing Streptococcus pneumoniae on blood MDA with addition of 10% glucose culture growth took place in the form of flat colonies with blue marked area of α -hemolysis. Strains of Streptococcus pneumoniae were pronounced sensitivity to growth retardation on enrofloxacin and ofloxacin, and resistance was detected in three strains to tetracycline.

Pathogenic action of isolates of culture is 107, 106, 108, which caused the death of animals respectively, in 12, 16 and 36 hours.

Key words: *infection, streptococcus, pathogenic properties, white mouse.*

Рецензент – д.б.н., професор Маслянюк Р.П.