



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9203
http://nvlvet.com.ua

UDC 619:616.98:619:616.08 (477.83)

Circulating microflora and its resistance to antibacterial medications in the conditions of Farm “Pchani-Denkovich” of Zhydachiv district of Lviv region

Ya.V. Kisera, L.Ya. Bozhyk, Yu.G. Storchak

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv, Ukraine

Article info

Received 08.10.2018
Received in revised form
08.11.2018
Accepted 09.11.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies of Lviv,
Pekarska str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-606-58-25
E-mail: kiseras3@gmail.com,
lbozyk31@gmail.com,
juliettusl@gmail.com

Kisera, Ya.V., Bozhyk, L.Ya., & Storchak, Yu.G. (2018). Circulating microflora and its resistance to antibacterial medications in the conditions of Farm “Pchani-Denkovich” of Zhydachiv district of Lviv region. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(92), 13–17. doi: 10.32718/nvlvet9203

The importance of the influence of microorganisms on the health of humans and animals is beyond doubt. In recent decades, a large amount of data on the interaction of the flora with the elements of the immune system has been accumulated. Therefore, it is important to identify any hazardous factors that must be prevented or neutralized. One of such factors is the circulating flora of the premises, the organism of the animal, its virulence and resistance to antibacterial drugs. Bacteriological studies included bacteriological culture on the nutrient environment, their identification and the study of antibiotics sensitivity. According to the results of bacteriological studies of milk samples, it was found that in 25% of the studied samples *Staphylococcus aureus* cultures were found in different concentrations. In 4 samples, *Proteus vulgaris* was detected. Bacteriological studies of vaginal exudate from the cows after calving have shown that they have *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, mold fungi of the *Aspergillus* spp. The studies of the exudate from the nasal passages and the mouth of the calves found that all the tested samples contained *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae* and *Aspergillus* and *Candida* fungi. The results of calf excrement studies revealed the presence of a number of microorganisms: *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter faecalis* in different percentages. In determining the sensitivity of isolated cultures to antibacterial drugs, it has been established that *Staphylococcus aureus* cultures are sensitive to all antibiotics; *Proteus vulgaris* show resistance to ampicillin, amoxicillin; *Escherichia coli haemolytica* is resistant to ampicillin.

Key words: cattle, milk, vaginal, nasal, mouth, excrement flora, *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, fungi of the genus *Aspergillus* and *Candida*; antibacterial medication; resistance.

Циркулююча мікрофлора та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ФГ “Пчани-Денькович” Жидачівського району Львівської області

Я.В. Кісера, Л.Я. Божик, Ю.Г. Сторчак

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
м. Львів, Україна

Важливість впливу мікроорганізмів на стан здоров'я людини і тварин не викликає сумнівів. В останні десятиліття накопичено велику кількість даних щодо взаємодії мікрофлори з елементами імунної системи. Тому, важливим є виявлення будь-яких небезпечних факторів, яким треба запобігати чи нейтралізувати їх. Одним із таких факторів яким циркулююча мікрофлора приміщень, організму тварини, її вірулентність та резистентність до антибактеріальних препаратів. Бактеріологічні дослідження включали в себе посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища, їх ідентифікацію та вивчення чутливості до антибіотиків. За результатами бактеріологічних досліджень проб молока встановлено, що в 25% досліджуваних пробах виділено культури *Staphylococcus aureus* в різних концентраціях. У 4-х пробах встановлено наявність *Proteus vulgaris*. Бактеріологічні дослідження

ексудату з піхви, відібраного у корів після отелу, засвідчили наявність у них *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, плісневих грибів роду *Aspergillus spp.* Дослідженнями ексудату з носових ходів та зіву у телят встановлено, що у всіх досліджуваних пробах наявні *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae* та гриби родів *Aspergillus* та *Candida*. Результатами досліджень калу телят встановлена наявність низки мікроорганізмів: *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* та *Enterobacter faecalis* у різних відсоткових співвідношеннях. При визначенні чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що культури *Staphylococcus aureus* є чутливими до всіх антибіотиків; *Proteus vulgaris* проявив стійкість до ампіциліну, амоксицикліну; *Escherichia coli haemolytica* резистентна до ампіциліну.

Ключові слова: велика рогата худоба; мікрофлора молока, піхви, слизової носа, зіву і вмісту калу; *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, гриби родів *Aspergillus* та *Candida*; антибактеріальні препарати; стійкість.

Вступ

Факторами, що сприяють виникненню асоціативних захворювань, є застосування інтенсивних технологій, недотримання санітарно-гігієнічних правил утримання та надмірне скупчення тварин. Доведено, що домінуюче значення мають умовно патогенні бактерії в розвитку інфекційної патології тварин, які спричиняють факторні інфекції, що складає 81,4% випадків від усіх захворювань (Peleno, 2012).

З точки зору безпеки харчових продуктів *E. coli* є небезпечним чинником, що впливає на їхню якість (Bean and Griffin, 1990; Mead et al., 1999; Bryan, 2001). Штами *E. coli* викликають різні захворювання у людини та тварин. Гемолітична *E. coli* може призвести до геморагічного коліту, гемолітичного уремичного синдрому та тромботичної тромбоцитопенічної хвороби. В організмі здорової великої рогатої худоби *Escherichia coli* може знаходитися у допустимій концентрації до 10^7 КУО, *Escherichia coli haemolytica* в організмі тварин у нормі не повинно бути (Dorn, 1993; Boyce et al., 1995).

З метою збереженості молодняку тварин, підвищення опірності імунної системи організму необхідно проводити дослідження циркулюючої в умовах господарств мікрофлори. Визначення видового складу циркулюючої мікрофлори, її вірулентності та стійкості до антибактеріальних препаратів є важливим фактором біологічного захисту (Holovko, 2009; Kiser et al., 2017).

Мета і завдання досліджень: в умовах ФГ “Пчани-Денькович” с. Пчани Жидачівського району Львівської області дослідити видовий склад циркулюючої бактеріальної мікрофлори та її резистентність до антибактеріальних препаратів. Для досягнення даної мети були поставлені такі завдання: провести бактеріологічні дослідження змивів з носа, зіву, калу, відібраних від телят; молока та ексудату із матки корів після отелу; вивчити морфологічні властивості бактеріальної мікрофлори та визначити чутливість до антибіотиків.

Матеріал та методи досліджень

Дослідження проводились у ФГ “Пчани-Денькович” Жидачівського району Львівської області, в умовах кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біоте-

хнологій імені С.З. Гжицького. Для дослідження корів після отелу відбирали молоко та ексудат з піхви, від телят 2-тижневого віку – змиви з носа, зіву та калу. У дослідках було задіяно 20 корів та 20 телят симентальської породи.

Бактеріологічні дослідження проводились за методикою Висоцького А.Є. із співавторами, які включали посів досліджуваного матеріалу на живильні середовища, висів отриманих культур на диференціальні середовища з метою визначення їхніх морфологічних властивостей, вивчення їхньої чутливості до антибіотиків (Vysockij and Baranovskaja, 2002; Guardabassi, 2008; Levkivska et al., 2017). Для вивчення антибіотикочутливості ізоляти висівали на середовище АГВ та використовували диски з антибактеріальними препаратами.

Результати та їх обговорення

Результати бактеріологічних досліджень молока (табл.1) показали наявність умовно-патогенної та патогенної мікрофлори у пробах, відібраних від корів господарства. Так, у 45% досліджуваних проб виявлено *Escherichia coli*, концентрація якої була в межах 10^2 – 10^5 . В 20% досліджуваних пробах виділено культури *Staphylococcus aureus* концентрацією 10^2 та 5% – 10^3 відповідно. У 4-х пробах встановлено наявність *Proteus vulgaris*. У двох пробах були виділені *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus haemolyticus* та *Enterococcus faecalis*.

При дослідженні матеріалу, відібраного з піхви корів після отелу (табл. 2) встановили наявність у них *Escherichia coli* в 5-ти досліджуваних пробах, *Streptococcus haemolyticus* – в 3-х пробах, *Staphylococcus epidermidis* – в 6-ти пробах, *Enterobacter cloacae* – в 4-х досліджуваних пробах. За результатами дослідження встановлено наявність *Escherichia coli haemolytica*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, плісневих грибів роду *Aspergillus spp.*, яких в нормі не повинно бути.

Бактеріологічні дослідження ексудату з носових ходів та зіву в телят (табл. 3) показали наявність *E. coli* у 55% проб. У 4-х пробах виявили гриби роду *Aspergillus spp.* та *Candida*. В 5-ти пробах виявили *Staphylococcus epidermidis* та *Enterococcus spp.* *Klebsiella pneumoniae* була зафіксована у 3-х досліджуваних пробах.

Таблиця 1

Концентрація мікроорганізмів, виділених з молока, КУО, n = 20

№ з/п	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus haemolyticus</i>
1	10 ⁵	-	10 ³	-	-	-
2	-	+	10 ²	-	10 ⁴	-
3	-	10 ²	-	-	10 ²	10 ⁴
4	-	10 ²	10 ²	10 ²	-	-
5	-	10 ⁵	-	10 ²	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	10 ²	-	-	-	-
9	-	10 ²	-	-	-	-
10	-	10 ⁵	10 ²	-	-	-
11	-	+	-	-	-	-
12	-	10 ⁵	-	-	-	10 ³
13	-	-	-	-	-	-
14	-	10 ²	-	10 ²	-	-
15	-	10 ²	-	-	-	-
16	10 ⁵	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	-	+	10 ²	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-
20	-	+	-	10 ²	-	-

Таблиця 2

Виділена мікрофлора з піхви корів після отелу, КУО, n = 20

№ п/п	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli haemolitica</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Streptococcus haemolyticus</i>
1	-	10 ²	+	-	-	-	-	10 ²
2	10 ⁴	-	-	-	-	10 ²	-	-
3	10 ³	10 ²	-	-	-	-	-	-
4	-	+	-	10 ³	-	-	-	-
5	-	-	-	10 ³	+	-	+	-
6	-	-	+	-	-	-	-	-
7	-	10 ²	-	-	-	-	-	-
8	-	+	-	-	-	-	-	-
9	10 ³	+	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	10 ²	+	-
11	10 ³	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	10 ²
13	-	-	-	10 ³	+	-	-	-
14	-	10 ²	-	-	-	-	-	-
15	-	+	-	-	-	10 ²	-	-
16	-	10 ²	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	10 ³
18	10 ²	-	-	-	-	-	-	-
19	10 ³	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	10 ³	-	-	+	-

Таблиця 3

Концентрація мікроорганізмів, виділених з носа і зіву телят, КУО, n = 20

№ з/п	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Candida</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1	10 ²	10 ²	+	-	-	-
2	-	+	-	10 ⁴	+	-
3	10 ²	+	-	-	-	-
4	-	+	-	-	-	-
5	-	10 ²	-	10 ²	-	-
6	-	-	-	-	-	10 ²
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	10 ⁴	-	-
9	-	-	+	-	-	-
10	-	10 ²	-	-	-	-

11	-	-	-	-	-	-	10 ²
12	10 ²	+	+	-	-	+	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	+	-	-	-	+	-
15	-	-	-	-	-	+	-
16	-	+	-	10 ²	-	-	-
17	-	-	+	-	-	-	-
18	10 ²	10 ²	-	-	-	-	-
19	-	-	-	10 ³	-	-	-
20	10 ²	+	-	-	-	-	10 ²

При дослідженні мікрофлори, виділеної із калу у телят (табл. 4), встановлено наявність *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* та *Enterobacter faecalis* у 20% досліджуваних проб. *Escherichia coli* наявна у всіх пробах, проте у 15% з них була на межі

граничної допустимої концентрації. У 5-ти пробах встановлено наявність *Escherichia coli haemolytica*. У 3-х пробах виявлено *Staphylococcus aureus* та *Proteus vulgaris*.

Таблиця 4

Концентрація мікроорганізмів виділених із калу у телят, КУО, n = 20

№ з/п	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli haemolytica</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter faecalis</i>
1	10 ²	+	10 ⁶	10 ³	-	-	-
2	-	-	10 ⁶	-	-	-	-
3	-	-	10 ⁴	10 ²	10 ²	-	-
4	-	-	10 ⁷	-	-	-	-
5	-	-	10 ⁵	-	-	10 ²	10 ⁴
6	10 ²	-	10 ⁶	-	-	-	-
7	-	-	10 ⁴	-	-	-	10 ²
8	-	-	10 ⁷	-	-	-	-
9	10 ²	-	10 ⁵	-	-	-	-
10	-	+	10 ⁶	10 ²	-	-	-
11	-	-	10 ⁴	-	-	-	-
12	-	-	10 ⁴	-	-	10 ²	10 ³
13	-	+	10 ⁴	10 ²	-	-	-
14	-	-	10 ⁶	-	-	-	-
15	-	-	10 ⁴	-	10 ²	-	-
16	-	-	10 ⁴	-	10 ²	-	-
17	-	-	10 ⁴	-	-	10 ³	-
18	10 ²	-	10 ⁶	-	-	-	-
19	-	-	10 ⁴	-	-	10 ³	-
20	-	-	10 ⁷	10 ²	-	-	10 ⁴

При визначенні чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів (табл. 5) встановлено, що *Staphylococcus aureus* чутливий до всіх антибіотиків; *Proteus vulgaris* виявив стійкість до ампіциліну, амоксицикліну та чутливість до цефотоксиму, цефтрі-

аксону, цефтазидиму, гентаміцину, іміпінему, цефенілу, цефоперазону, амікацину; *Escherichia coli haemolytica* резистентна до ампіциліну. До всіх інших досліджуваних антимікробних препаратів виявила чутливість.

Таблиця 5

Чутливість виділених культур до антибактеріальних препаратів

Назва антибактеріального препарату	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli haemolytica</i>
Ампіцилін	Ч	Р	Р
Амоксициклін	Ч	Р	Ч
Цефотоксим	Ч	Ч	Ч
Цефтріаксон	Ч	Ч	Ч
Цефтазидим	Ч	Ч	Ч
Гентаміцин	Ч	Ч	Ч
Іміпінем	Ч	Ч	Ч
Цефенім	Ч	Ч	Ч
Цефоперазон	Ч	Ч	Ч
Амікацин	Ч	Ч	Ч

*Примітка: Ч – чутливі до антибактеріального препарату; Р – резистентні (стійкі) до антибактеріального препарату

Отже, результати досліджень засвідчили, що в умовах господарства серед великої рогатої худоби циркулює така мікрофлора: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Klebsiella pneumoniae*, плісеневі гриби роду *Aspergillus* та дріжджові гриби роду *Candida*. Встановлено, що досліджувані культури чутливі до більшості досліджуваних антибіотибактеріальних препаратів, що свідчить про відсутність резистентності до антибіотиків через неконтрольоване їх використання.

Висновки

1. Бактеріологічним дослідженнями молока та ексудату з піхви, відібраних від корів після отелу, встановлена наявність *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Escherichia coli* та *Proteus vulgaris*.

2. Зі змивів з носа та зіву, відібраних від телят, виділено *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae* та гриби родів *Aspergillus* та *Candida*.

3. У пробах калу телят виявлено *Escherichia coli*, *Escherichia coli haemolytica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* та *Enterobacter faecalis*.

4. Досліджувані культури мікроорганізмів є чутливими до більшості антибіотиків.

Перспективи подальших досліджень полягають у подальшому ретельному моніторингу циркулюючої мікрофлори з метою розробки рекомендацій щодо профілактики захворювань великої рогатої худоби в умовах ФГ “Пчани-Денькович” Жидачівського району Львівської області.

References

Pelenc, R.A. (2012). Epizootologichnyi monitorynh khvorob svynei v Ukraini. *Veterynarna biotekhnologiya*, 21, 330–335 (in Ukrainian).

- Bean, N.H., & Griffin, P.M.G. (1990). Foodborne disease outbreaks in the US 1973–1987: Pathogens, vehicles, and trends. *J. Food Prot.* 53(9), 804–817. doi: 10.4315/0362-028X-53.9.804.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCraig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., & Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 5(5), 607–625. doi: 10.3201/eid0505.990502.
- Bryan, F.L. (2001). Reflections on a career in public health: Evolving foodborne pathogens, environmental health, and food safety programs. *J. Environ. Health*, 65(5), 14–24. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12491850>.
- Dorn, C.R. (1993). Review of food borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in the western United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203(11), 1583–1587. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8288484>.
- Boyce, T.G., Swerdlow, D.L., & Griffin, P.M. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 333, 364–368. doi: 10.1056/NEJM199508103330608.
- Holovko, A.M. (2009). Biologichna ta henetychna bezpeka Ukrainy Mizhvid. nauk. temat. zbirnyk. “*Veterynarna medytsyna*”. Kharkiv, 92, 10–13 (in Ukrainian).
- Vysockij, A.Je., & Baranovskaja, Z.N. (2002). *Spravochnik po bakteriologicheskim metodam izyskanij v veterinarii*. Izdatel'stvo Ministerstva sel'skogo hozjajstva Respubliki Belarus' (in Russian).
- Levkivska, N.D., Kurtiak, B.M., Levkivskyi, D.M., Padovskyi, A.I., Gutyj, B.V., & Semaniuk, V.I. (2017). *Laboratorna diahnozyka infektsiinykh khvorob tvaryn bakterialnoi etiologii*. Lviv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Guardabassi, L. (2008). *Guide to Antimicrobial Use in Animals*. Blackwell Publishing. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781444302639>.
- Kisera, Y.V., Storchak, Y.G., & Bozhyk, L.Y. (2017). Vydovyi sklad tsyrkuliuiuchoi mikroflory ta yii stiikist do antybakterialnykh preparativ v umovakh PAF “Berezhnytsia” Zhydachivskoho raionu Lvivskoi oblasti. *Nauk. visnyk LNUVMB im. S.Z. Hzhyskoho*, 19(78), 172–176. doi: 10.15421/nvlvet7835 (in Ukrainian).