

ЩОДО ОСОБЛИВОСТЕЙ ВИДІЛЕННЯ КАМПІЛОБАКТЕРІЙ

*О. Ю. Лапа, аспірант**

*О. М. Якубчак, доктор ветеринарних наук, професор
Національний університет біоресурсів
і природокористування України*

*В. О. Загребельний, кандидат ветеринарних наук, директор
Державний науково-дослідний інститут з лабораторної
діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи
llu706@mail.ru*

*У статті висвітлено методи виділення бактерій роду *Campylobacter*, що базуються на посівах визначених кількостей продуктів харчування, води і об'єктів довкілля на рідкі селективні живильні середовища, що містять антибіотики та аеротолерантні добавки з подальшими пересівами на поверхню твердих селективних середовищ, інкубуванням посівів, виявленням в цих посівах бактерій, здатних утворювати типові колонії на поверхні селективних агарів та наступним виділенням чистої культури. Всі етапи інкубування посівів здійснюють у мікроаерофільних умовах. Ідентифікацію чистих культур проводять за морфологічними, біохімічними та іншими ознаками, що визначають належність видів бактерій до роду *Campylobacter*.*

*Ключові слова: мікробіологічні дослідження, мікроорганізми *Campylobacter*, продукти харчування, об'єкти довкілля, живильні середовища, мікроаерофільні умови*

Нині в світі, зокрема в країнах Європейського Союзу, суттєво посилилася увага до проблем мікробіологічної безпечності продуктів харчування. Особливий контроль здійснюється за сальмонелами, кампілобактеріями та лістеріями [1].

Кампілобактеріоз, поряд із сальмонельозом, є однією з головних причин діареї у людей, що передається через їжу. Значно почастишали випадки ентериту, викликаного *Campylobacter*, які пов'язані із здатністю бактерій поширюватися за допомогою різних видів тварин, таких як дикі, сільськогосподарські та свійські (птахи та ссавці). Оскільки *Campylobacter* є симбіонтом у кишковому тракті домашньої птиці, поява бактерій у харчовому ланцюзі людини відбувається, в основному, від цих тварин. Однак інші продукти, такі як молоко, м'ясний фарш і вода також часто можуть бути джерелами цього патогену. *Campylobacter* виділяється у навколишнє середовище у великих кількостях із безлічі організмів-господарів, в яких бактерії інтенсивно діляться, і, врешті-решт, люди інфікуються через забруднену їжу [6, 7].

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор О. М. Якубчак

© О. Ю. Лапа, О. М. Якубчак, В. О. Загребельний, 2015

Мета досліджень – проаналізувати вітчизняну та іноземну літературу, а також чинні нормативні документи, які регламентують проведення досліджень з питань мікробіологічної безпеки продуктів харчування щодо наявності в них мікроорганізмів роду *Campylobacter*.

Матеріал і методика досліджень. Проаналізовано вітчизняну та іноземну літературу, а також чинні нормативні документи, які регламентують проведення досліджень з питань мікробіологічної безпеки продуктів харчування щодо наявності в них мікроорганізмів роду *Campylobacter*.

Результати досліджень. В Україні реєстрація випадків кампілобактеріозу залишається на низькому рівні й захворюваність становить менше одного випадку на 100 тис. населення. Це пов'язано, насамперед, із недостатнім використанням методів цілеспрямованого виявлення збудника.

Через стійкість до низьких температур кампілобактерії здатні тривало зберігатися й розмножуватися у харчових продуктах навіть за низьких концентрацій кисню (продукти в герметичній упаковці).

Кампілобактерії культивують на агарових середовищах із додаванням 1% гліцерину. Для оптимального росту патогену необхідні мікроаерофільні умови з певним газовим складом (5 % O₂, 10 % CO₂ і 85 % N₂), температура від 37 до 42 °С і рН 7,0.

Для створення оптимального газового середовища використовують газові пакети (наприклад, Anaerogas CampyloPack 3,5 л (HiMedia, Індія) або CampyPakPlus (США)), які поміщають в ексікатор для створення мікроаерофільних умов. За відсутності газових пакетів користуються методом «палаючої свічки». Культивування посівів також здійснюють в анаеробному інкубаторі або СО₂-інкубаторі, в якому підтримується температура 42 °С та відповідне газове середовище.

Складність ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* із харчових продуктів, води та об'єктів довкілля обумовлюється попереджувальним ростом на живильних середовищах супутньої мікрофлори, тому для виділення кампілобактерій розроблені селективні середовища, до складу яких вносять суміші селективних домішок (Campylobacter Selective Supplement IV (Preston), Modified), а останні пригнічують ріст інших ентеропатогенів. Це агарові середовища з додаванням 5–10 % крові барана, кроля чи коня. При цьому доцільно враховувати рівень резистентності збудників до антибактеріальних препаратів, що широко застосовуються [5]. Створено комерційні селективні середовища, зокрема, середовище Скірроу, Бутцлера, Престона тощо. Є також низка збагачувальних і транспортних середовищ (середовище Кері-Блера, Амієса, модифіковане тіогліколеве середовище для кампілобактерій) [2].

Серед збагачувальних середовищ використовують рідкі живильні середовища Болтона та Престона, де культивують дослідні проби у мікроаеробній атмосфері. Через визначений термін (24–48 год.) отримані культури необхідно пересівати на декілька твердих селективних середовищ, які обов'язково мають відрізнятися за своїм складом (наприклад, середовище М 994 та МССD-агар).

Колонії, в яких виявляють типові культури кампілобактерій, пересівають петлею із суспензії бульйону для бруцел на поверхню колумбійсь-

кого кров'яного агару для отримання чистої культури та інкубують за 42 °С впродовж 24–48 год. у мікроаерофільних умовах.

Ідентифікацію кампілобактерій здійснюють у два етапи: 1) для підтвердження належності до роду; 2) визначення виду кампілобактерій.

Виявлення в пересівах на твердому селективному середовищі колоній з типовими для кампілобактерій морфологією (грамнегативні поліморфні, тонкі, спірально зігнуті S-подібні чи у вигляді коми мікроорганізми, мають один-два завитки, окремі бактерії поєднуються в короткі ланцюжки і утворюють V-подібну форму, але з часом культивування відбувається трансформація бактеріальних клітин у кокоподібні форми), рухливістю (активно рухливі завдяки наявності одного чи двох джгутиків зі спіральним «гвинтоподібним» рухом) та культуральними властивостями (добре оконтуровані дрібні колонії округлої форми, майже прозорі з матовим забарвленням, які важко виявити неозброєним оком) дозволяє дати попередню відповідь про наявність бактерій роду *Campylobacter* в досліджуваних пробах на 3–4 добу від початку дослідження.

Для отримання остаточної інформації щодо наявності кампілобактерій проводять тести ідентифікації, які включають в себе підтвердження належності до роду *Campylobacter* і до термотолерантних видів, а саме: здатність до росту за температури 25 °С (мікроаеробні умови) і за 41,5 °С (аеробні умови), збродження каталази, оксидази, чутливості до налідиксової кислоти та цефалозину, здатності до гідролізу натрію гіпурату та індоксила ацетату та здатності продукувати сірководень під час росту на трицукровому агарі з солями феруму [3, 4].

Отже, виділення бактерій *Campylobacter* та їх ідентифікація – складний, як мінімум, чотирьохетапний процес, який супроводжується транспортуванням дослідних проб з наступним селективним збагаченням у бульйоні Болтона, пересівом на тверді селективні середовища, ідентифікацією виду та роду даних мікроорганізмів.

Висновки

1. Кампілобактерії культивують на комерційних агарових середовищах іноземного виробництва, для оптимального росту яких необхідні мікроаерофільні умови з певним складом газового середовища.

2. Для створення оптимальних умов життєдіяльності *Campylobacter* створено низку збагачувальних і транспортних середовищ.

3. Ідентифікацію кампілобактерій здійснюють у два етапи: підтверджують належність до роду *Campylobacter* та визначають вид кампілобактерій, з використанням біохімічних тестів.

Список літератури

1. Касяненко О. І. Удосконалення та розробка засобів діагностики кампілобактеріозу птиці / О. І. Касяненко // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2014. – Т. 16. – № 2 (59). – Ч. 1. – С. 103–110.

2. Леженко Г.О. Кампілобактеріоз у дітей: сучасні уявлення про етіопатогенез, клінічну картину, можливості діагностики, підходи до лікування / Г. О. Леженко, О. В. Усачова, Т. М. Пахольчук, Р. М. Гінзбург // Дитячий лікар. – № 6 (27). – 2013. – С. 33–38.

3. Методы определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 31 с.

4. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp.). Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT) : ДСТУ ISO 10272-1:2007. – [Чинний від 2009-01-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2010. – 13 с. – (Національний стандарт України).

5. Шуришева Ж. Н. Методические проблемы изучения загрязненности пищевых продуктов бактериями рода *Campylobacter* / Ж. Н. Шурышева // Материалы пленума научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздрава и соцразвития Российской Федерации. – М., 2004. – С. 54–55.

6. Jones K. *Campylobacters* in water, sewage and the environment / K. Jones // *J Appl Microbiol.* – № 90. – 2001 – P. 68–79.

7. Skirrow M. B. *Campylobacter jejuni*. En: Skirrow Mb., Blaser Mj., Smith Pd., Ravdin Ji., Greenberg Hb., Guerrant Ri. / M. B. Skirrow // *Infections of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press. – New York. – 1995. – 825–248.

ОТНОСИТЕЛЬНО ОСОБЕННОСТЕЙ ВЫДЕЛЕНИЯ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ

Е. Ю. Лапа, О. Н. Якубчак, В. А. Загребельный

*В статье освещены методы выделения бактерий рода *Campylobacter*, основанные на посевах определенных количеств продуктов питания, воды и объектов окружающей среды на жидкие селективные питательные среды, содержащие антибиотики и аэротолерантные добавки со следующими пересевами на поверхность твердых селективных сред, инкубацией посевов, выявлением в этих посевах бактерий, способных образовывать типичные колонии *Campylobacter* на поверхности селективных агаров и последующим выделением чистой культуры. Все этапы инкубации посевов осуществляют в микроаэрофильных условиях. Идентификацию чистых культур проводят по морфологическим, биохимическим и другим признакам, определяющим принадлежность бактерий к роду *Campylobacter*.*

Ключевые слова: микробиологические исследования, микроорганизмы *Campylobacter*, продукты питания, объекты окружающей среды, селективные среды, микроаэрофильные условия

REGARDING THE DETAILS OF THE DETECTING OF CAMPYLOBACTER

O. Lapa, O. Iakubchak, V. Zagrebelny

*The article describes a method for isolation of bacteria of the genus *Campylobacter*, based on the seeds of certain quantities of food, water and the objects of the environment on liquid selective culture medium containing antibiotics and aerotolerant supplements with the following crops on the surface of a solid selective media, incubation of cultures, identifying in these crops of bacteria that can form typical colonies on surface selective agar and*

followed by isolation of pure culture. All stages of incubation of cultures is carried out in screening conditions. Identification of pure cultures is carried out by morphological, biochemical and other characteristics that determine the identity of the species of bacteria of the genus Campylobacter.

Key words: *microbiological research, microorganisms Campylobacter, food, the objects of the environment, selective media, microaerophilic conditions*

УДК 636.2.09:616.99 – 093

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КЛАСИЧНИХ МЕТОДІВ ТА ЕКСПРЕС-МЕТОДУ DIFF-QUIK ФАРБУВАННЯ МАЗКІВ КРОВІ ЗА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ БАБЕЗІОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

В. В. Лець, аспірант*

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

М. П. Прус, доктор ветеринарних наук, професор

Національний університет біоресурсів

і природокористування України

perin_vika@ukr.net

Проведено порівняльний аналіз традиційних методів фарбування мазків крові для дослідження на бабезіоз великої рогатої худоби та альтернативного експрес-методу фарбування мазків Diff-Quik за допомогою набору Лейкоциф®200. Отримані результати свідчать про те, що експрес-метод за лабораторної діагностики бабезіозу великої рогатої худоби є специфічним, ефективним і дозволяє отримувати якісно пофарбовані мазки за короткий час. Обґрунтовано необхідність впровадження експрес-методу в лабораторну практику паразитологічних відділів Державних лабораторій ветеринарної медицини України.

Ключові слова: бабезіоз, методи фарбування, експрес-метод Diff-Quik

Бабезіоз великої рогатої худоби – це паразитарне захворювання, що викликається одноклітинними організмами бабезіями, які паразитують переважно в еритроцитах, але можуть зустрічатися у цитоплазмі клітин ретикуло-ендотеліальної системи та тимчасово перебувати у плазмі крові [2, 4, 5].

За життя тварин вирішальними у підтвердженні діагнозу на бабезіоз великої рогатої худоби є лабораторні дослідження, які включають у себе серологічні, молекулярно-генетичні методи та мікроскопію пофарбованих мазків крові [1, 5].

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор М. П. Прус

© В. В. Лець, М. П. Прус, 2015