



# Тваринництво, ветеринарна медицина

УДК 574.3:579.26

© 2015

О.В. Гулай,

кандидат біологічних наук

Інститут агроєкології  
і природокористування  
НААН

## РОЛЬ НИЖЧИХ РАКОПОДІБНИХ ДАРНІА MAGNA В ІСНУВАННІ ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE

**Мета.** Установити здатність нижчих ракоподібних *Daphnia magna* підтримувати існування у водному середовищі патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae* — збудників бешихи. **Методи.** Дафній заражали бактеріями *E. rhusiopathiae* через воду. Упродовж експерименту визначали вміст бактерій в організмі ракоподібних і воді. **Результати.** В експерименті планктонні ракоподібні *D. magna* заражалися бактеріями *E. rhusiopathiae* через воду. Патогенні бактерії виділялися з організму дафній упродовж 20 діб, а з контрольних зразків — 6 діб. **Висновки.** Нижчі ракоподібні *D. magna* здатні тривалий час — 20 діб (термін спостережень) підтримувати існування патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

**Ключові слова:** *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Daphnia magna*, тривалість існування.

Серед низки різноманітних небезпечних інфекційних агентів до особливої групи належать збудники сапронозів, зокрема патогенні бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Здатність *E. rhusiopathiae* тривалий час зберігатися та активно розвиватись у різноманітних об'єктах зовнішнього середовища (ґрунтах, водоймах) створює значні труднощі під час профілактики та ліквідації спалахів захворювань, зумовлених мікроорганізмами цього виду [2, 7–11].

Перебуваючи у складі водних і ґрунтових екосистем, бактерії *E. rhusiopathiae* взаємодіють з різноманітними компонентами цих угруповань — прокаріотами, протистами, вищими рослинами, тваринами. Наслідком цих екологічних взаємовідносин може бути як збереження та розмноження збудника, так і зменшення його чисельності чи навіть знищення [5].

Для вивчення впливу на виживання у водному середовищі бактерій *E. rhusiopathiae*

нами було обрано ракоподібних виду *Daphnia magna* — класичного об'єкта біологічних та екологічних досліджень. Дані літератури свідчать, що *D. magna* тривалий час підтримують існування збудника псевдотуберкульозу (*Yersinia pseudotuberculosis*), а також знищують спори патогенного гриба *Batrachochytrium dendrobatidis* [8].

**Мета досліджень** — установити здатність нижчих ракоподібних *D. magna* підтримувати існування у водному середовищі патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

**Матеріали та методи досліджень.** Лабораторну культуру *D. magna* отримали в Інституті гідробіології НАН України. Ракоподібних утримували у скляних акваріумах об'ємом 5 дм<sup>3</sup> за температури +22...+24°C, як корм використовували культуру водорості хлорели та пекарські дріжджі.

У дослідженнях використано 2 штами бактерій *E. rhusiopathiae* різної вірулентності, одержані

в Інституті ветеринарної медицини НААН (Київ). Найвищий показник вірулентності був властивий штаму 149 —  $LD_{50}$  для білих мишей становив  $1,4 \pm 0,2 \cdot 10^2$  КУО на голову. У досліді також використано авірулентний штам ВР-2 вар. ІВМ, який не призводив до загибелі мишей у дозі зараження понад  $1 \cdot 10^6$  бактерій КУО на мишу.

Культури бактерій *E. rhusiopathiae* вирощували на серцево-мозковому бульйоні (AES Chemunex, Франція) за температури  $(+36,7 \pm 0,3)^\circ\text{C}$  упродовж 48 год.

Облік умісту бактерій проводили за допомогою висіву проб із дослідних і контрольних зразків у розведеннях  $1 \cdot 10^{-1}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$  на поверхню селективного агаризованого середовища Паркера з умістом кристалвіолету та азиду натрію [8]. Після їх культивування за температури  $(+36,7 \pm 0,3)^\circ\text{C}$  упродовж 72 год підраховували кількість колоній, що виростили, і визначали середню кількість колоній утворювальних одиниць (КУО) бактерій на  $1 \text{ см}^3$ .

Дослідні зразки містили культуру дафній, в яку вносили штами бактерій *E. rhusiopathiae*. Контроль — аналогічні за об'ємом акваріуми без ракоподібних з інокульованими штамами бактерій.

#### Результати досліджень та їх обговорення.

Під час зараження *D. magna* через воду бактеріями *E. rhusiopathiae* вірулентного штаму 149 упродовж перших 2-х діб уміст бактерій знижувався. Починаючи з 3-ї доби експерименту, вміст бактерій у дафніях поступово збільшувався і на 12-ту добу досяг максимуму —  $3,7 \pm 0,4 \cdot 10^6$  КУО/особину, водночас їх концентрація у воді була досить низькою —  $1,4 \pm 0,1 \cdot 10^4$  КУО/см<sup>3</sup>. Надалі кількість *E. rhusiopathiae* у дафніях поступово знижувалась і на 20-ту добу від початку експерименту становила  $7,4 \pm 0,2 \cdot 10^2$  КУО/особину, у воді вміст бактерій —  $8,0 \pm 0,2 \cdot 10^1$  КУО/см<sup>3</sup>. У контрольних зразках концентрація бактерій від початку експерименту різко знижувалась і через 6 діб *E. rhusiopathiae* у воді мікробіологічно не виявляли (рис. 1).

Порівняння кількості дафній свідчить, що за початкової концентрації рачків у зразках 15–20 особин/дм<sup>3</sup>, на кінець експерименту їх уміст у досліді становив 18–26 особин/дм<sup>3</sup>, на контролі — 32–40 особин/дм<sup>3</sup> (частину особин дафній упродовж досліді вилучали для визначення вмісту бактерій).

Унесення у дослідні зразки з рачками *D. magna* культур *E. rhusiopathiae* авірулентного штаму ВР-2 вар. ІВМ спричинило різке зниження вмісту бактерій упродовж перших 5-ти діб. Надалі показник концентрації

*E. rhusiopathiae* у дафніях був досить низьким і тримався з незначними коливаннями на рівні  $5,1 \pm 0,2 \cdot 10^1$  КУО/особину до 8-ї доби, після чого бактерії вже не виділялися (рис. 2). З контрольних зразків бактерії бактеріологічно не виділялися на 3-тю добу від початку експерименту. Виразних відмінностей у щільності культур дафній у зразках наприкінці експерименту нами не виявлено: дослід — 29–37 особин/дм<sup>3</sup>; контроль — 32–40 особин/дм<sup>3</sup>.

Результати проведених досліджень свідчать, що бактерії *E. rhusiopathiae* здатні заражати ракоподібних *D. magna* через воду і зберігатись у них упродовж 20-ти діб. Наростання кількості бактерій в дафніях з 3-ї по 12-ту добу експерименту за низького їх умісту у воді свідчить, що *E. rhusiopathiae* не просто зберігаються в організмі рачків (імовірно шлунково-кишковому тракті), а й активно розмножуються. Виділяючи бактерії у воду, заражені дафнії підтримують їх чисельність у зовнішньому середовищі, оскільки у контрольних зразках (без ракоподібних) уміст *E. rhusiopathiae* досить швидко знижувався.

Вірулентність штаму *E. rhusiopathiae* має велике значення для зараження і строків зберігання бактерій у *D. magna*. Так, бактерії високовірулентного штаму 149 виділялися з організму ракоподібних весь термін спостережень (20 діб), водночас бактерії авірулентного штаму ВР-2 вар. ІВМ виявляли лише впродовж перших 8-ми діб експерименту.

Екологічні взаємовідносини між ракоподібними *D. magna* та бактеріями *E. rhusiopathiae* не обмежуються трофічним зв'язком типу

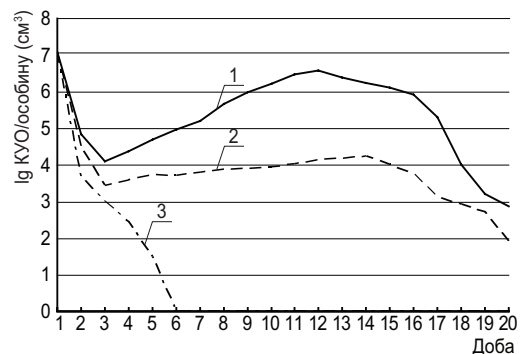
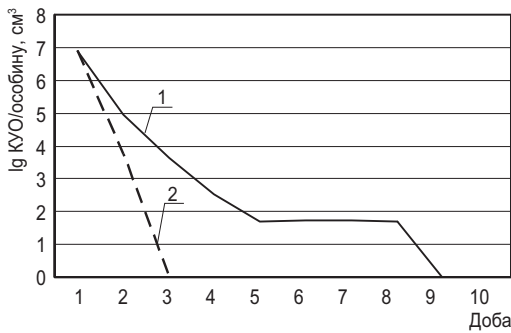


Рис. 1. Динаміка вмісту бактерій *E. rhusiopathiae* вірулентного штаму 149 за взаємодії з ракоподібними *D. magna*: 1 — *E. rhusiopathiae* в дафніях; 2 — *E. rhusiopathiae* у воді (дослід); 3 — *E. rhusiopathiae* у воді (контроль) (для рис. 1 і 2)



**Рис. 2.** Динаміка вмісту бактерій *E. rhusiopathiae* авірулентного штаму ВР-2 вар. ІВМ за взаємодії з ракоподібними *D. magna*

«хижак — жертва». Бактерії з високим рівнем вірулентності здатні тривалий час перебувати і розмножуватись в організмі *D. magna*, що дає змогу зробити висновок про формування між ними трофічного зв'язку типу «паразит — живитель».

У природних умовах нижчі ракоподібні здатні відфільтрувати з середовища *E. rhusiopathiae*. Клітини бактерій, які мають низький рівень вірулентності, ймовірно перетравлюються, а вірулентні знаходять сприятливе середовище для існування і переходять до мешкання в організмі *D. magna*. За взаємодії з *D. magna* у гетерогенній популяції *E. rhusiopathiae* перевагу можуть одержувати вірулентні бактерії, що зрештою призведе до збільшення питомої ваги таких клітин у загальній масі та збільшення показника вірулентності усєї популяції.

Отже, планктонні ракоподібні, зокрема *D. magna*, можуть відігравати важливу роль в існуванні патогенних бактерій *E. rhusiopathiae* в умовах прісних водоем. Одержані дані потрібно враховувати під час розробки і здійснення заходів з профілактики та боротьби із захворюваннями на бешиху сільськогосподарських тварин, а також під час санації водоем від патогенних бактерій *E. rhusiopathiae*.

## Висновки

Патогенні бактерії *E. rhusiopathiae* здатні заражати ракоподібних *D. magna* через воду і зберігатись у них упродовж 20 діб (термін спостереження). Рівень вірулентності бактерій *E. rhusiopathiae* має велике значення для зараження і строків зберігання бактерій у *D. magna*. В організмі

заражених дафній бактерії *E. rhusiopathiae* розмножуються і виділяються в зовнішнє середовище, в результаті чого підтримується їх концентрація у воді. За взаємодії з ракоподібними *D. magna* в популяції *E. rhusiopathiae* може підтримуватись високий рівень вірулентності.

## Бібліографія

1. Біологічна активність шкірних виділень риб родини Percidae по відношенню до бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*/О.В. Гулай, О.М. Жукорський, В.В. Гулай, Н.П. Ткачук//Рибогосподарська наука України. — 2015. — № 2. — С. 61–68.
2. Борисович Ю.Ф. Инфекционные болезни животных: Справочник/Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кириллов; под. ред. Д.Ф. Осидзе. — М.: Агропромиздат, 1987. — 288 с.
3. Гулай О.В. Роль рибоїдних птахів роду *Podiceps* в екології бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*/О.В. Гулай, О.М. Жукорський//Рибогосподарська наука України. — 2015. — № 1. — С. 26–33.
4. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб/И.Н. Остроумова. — СПб.: Изд-во ФГБНУ «ГосНИОРХ», 2012. — 564 с.
5. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий/В.Ю. Литвин, А.Л. Гинцбург, В.И. Пушкарева и др. — М.: Фармарус-Принт, 1998. — 255 с.
6. Vuck J. Predation by zooplankton on *Batrachochytrium*

*dendrobatidis*: biological control of the deadly amphibian chytrid fungus?/J. Buck, L. Truong, A. Blaustein//Biodiversity and Conservation. — 2011. — № 20. — P. 3549–3553.

7. Cussler K. 100 years of erysipelas prophylaxis: significance and reduction of animal experiments/K. Cussler, E. Barks//ALTEX. — 2001. — V. 18, № 1. — P. 29–33.

8. Packer R.A. The use of sodium azide and crystal violet in a selective medium for streptococci and *Erysipelothrix rhusiopathiae*/R.A. Packer//J. Bacteriol. — 1943. — V. 46, № 4. — P. 343–349.

9. Seroprevalence evolution of selected pathogens in Iberian wild boar/M. Boadella, J.F. Ruiz-Fons, J. Vicente et al.//Emerg Dis. — 2012. — 59 (5). — P. 395–404.

10. Wang Q. *Erysipelothrix rhusiopathiae*/Q. Wang, B.J. Chang, T.V. Riley//J. of Veterinary Microbiology. — 2010. — № 140. — P. 405–417.

11. Wood R.L. Handbook of Zoonoses/R.L. Wood, G.W. Beran//*Erysipelothrix* infections. — New York: CRC Press, 1994. — P. 83–91.

Надійшла 24.07.2015.