

УДК:619:616.98:578.828.11:579

ВИДІЛЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ ENTEROCOCCUS З ОРГАНІВ ЗАГИБЛИХ ТЕЛЯТ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Гадзевич Д.В., Горбенко О.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», м. Харків

Ничик С.А., Тарвідс Ю.В.

Харківська державна зооветеринарна академія

Гадзевич О.В.

Кримська науково-дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ»

У роботі наведені результати виділення мікроорганізмів роду *Enterococcus* з органів загиблих телят та вивчення їх біологічних властивостей. Установлено, що провідна роль у виникненні ентерококових інфекцій належить *E. faecalis*. З паренхіматозних органів та крові від загиблих і забитих з діагностичною метою хворих тварин було виділено 42 ізоляти *Enterococcus* spp. З них 31 культура (73,8 %) була ідентифікована як *E. faecalis*, 9 (21,4 %) – як *E. faecium* та 2 (4,8 %) – як *E. durans*. Із усіх виділених культур *E. faecalis* 28 (90,3%) були патогенними для лабораторних тварин. Серед виділених ізолятів *E. faecium* тільки 2 культури були патогенними для лабораторних тварин.

Мікроорганізми роду *Enterococcus* — овальні бактерії розміром 0,6-2,0x0,6-2,5 мкм. В мазках з культур, що були вирощені на рідких середовищах, розташовані парами або короткими ланцюгами. Ці бактерії спор не утворюють, капсул не мають, деякі види органічно рухомі (мають невеликі джгутики). Мікроорганізми роду *Enterococcus* – факультативні анаероби, хемоорганотрофи (метаболізм ферментативний), розщепляють різні вуглеводи з утворенням кислоти без газу, харчові потреби складні, каталаза-негативні.

Ці мікроорганізми дуже поширені в природі, знаходяться в кишечнику хребетних. У людей та тварин вони здатні викликати нагноєння ран, бактеремію та ураження мочостатевої системи [1, 2, 3, 4, 5,10]. Особливо часто ентерококову бактеремію реєструють у новонароджених тварин (до 10 % від числа усіх бактеріальних неонатальних інфекцій) [4, 6,9]. Від 35 % до 50 % випадків ентерококової бактеремії новонароджених закінчується загибеллю тварини.

На цей час спостерігається тенденція до зростання загального числа неонатальних ентерококових інфекцій. Це вчені зв'язують з масивним неупорядкованим застосуванням антибіотиків з широким спектром дії для терапії хворих тварин без врахування чутливості мікроорганізмів до антибактерійних препаратів. Множинно-резистентні штами ентерококів — одна з основних проблем низької ефективності терапії ентерококових інфекцій [1, 2, 7, 9].

Дані щодо етіологічної природи неонатальних ентерококових інфекцій в літературі дуже обмежені. Також мало інформації щодо біологічних властивостей ентерококів.

Мета роботи. Встановити які види ентерококків частіше виділяються від хворих телят. Також вивчати їх біологічні властивості.

Матеріали і методи. Для встановлення епізоотичної ситуації в Україні щодо ентерококових інфекцій телят та виділення мікроорганізмів роду *Enterococcus* провели епізоотологічне обстеження в господарствах різної форми власності, що розташовані в 8 областях країни.

Бактеріологічні дослідження проводили згідно з чинними нормативними документами з використанням загальноприйнятих методик.

З паренхіматозних органів та крові від загиблих і забитих з діагностичною метою хворих тварин було виділено 42 ізоляти *Enterococcus spp.*

Попередню ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали фарбуванням по Граму, тесту на присутність каталази, а також на підставі особливостей росту і морфології колоній на жовчно-ескулиновому агарі. Остаточно виділенні штами ідентифікували за допомогою ідентифікаційних смушок API 20 STREP (BioMérieux) та додаткових тестів з встановлення рухомості, утворення пігменту, редукції телуриту калію тощо.

Вивчення культурально-біохімічних властивостей виділених мікроорганізмів здійснювали з використанням набору поживних середовищ з вуглеводами (лактоза, глюкоза, сахароза, маніт, дульцит) та індикатором Андреде.

Патогенність виділених мікроорганізмів встановлювали методом зараження лабораторних тварин. Для цього вводили внутрішньочеревно білим мишам та морським свинкам бактеріальні культури досліджуваних штамів у дозах 5×10^8 м.к. Спостереження за тваринами тривали 14 діб. Штами вважали патогенними, якщо впродовж 14 діб реєстрували ознаки захворювання та загибель тварин.

Дослідження з визначення інфекційної активності мікроорганізмів здійснювали титруванням на лабораторних тваринах (морські свинки, білі миші).

Імуногенна активність мікроорганізмів вивчалась на лабораторних тваринах (білі миші, морські свинки, кролі) методом прямого зараження після щеплення цих тварин гомологічними формалінізованими антигенами з виділених штамів, виготовленими у відповідності з методиками, викладеними у нормативній документації на вакцину проти сальмонельозу на основі факторів патогенності (СПС, ТУУ 46.15.561-2001).

Антигенна активність культур мікроорганізмів вивчалась шляхом щеплення тварин виділеними мікроорганізмами після їх інактивації. Для оцінки рівня специфічних антитіл в сироватках крові тварин через 3 тижня після щеплення застосовували серологічні реакції (РА, РДП).

Результати досліджень. Досліджена епізоотична ситуація щодо ентерококових інфекцій телят в 37 господарствах різної форми власності, що розташовані в Харківській, Полтавській, Сумській, Луганській, Дніпропетровській, Київській, Чернігівській та Черкаській областях. Кількість загиблих і забитих з діагностичною метою телят, їх вік та інтенсивність виділення ентерококів і *E. coli* наведені в таблиці.

Як видно за даними таблиці, найбільш інтенсивно виділяли від телят ентерококи в перші дні життя тварин. Також слід відмітити, що найбільш частіше виділяли *E. faecalis*.

Так від телят загиблих або забитих з діагностичною метою в перші 3 доби життя було ізолювано 19 культур *E. faecalis*, 5 ізолятів *E. faecium* та 1 культура *E. durans*.

Від телят 4-7-добового віку загиблих або забитих з діагностичною метою було ізолювано 7 культур *E. faecalis*, 1 ізолят *E. faecium* та 1 – *E. durans*. А від телят 8-14-добового віку було ізолювано 4 культури *E. faecalis* та один ізолят *E. faecium*. Від телят 2-3-тижневого віку була ізолювана тільки 1 культура *E. faecalis*.

Також необхідно відмітити в таблиці, що одночасно з патологічного матеріалу виділяли ентеротоксигенні ізоляти *E. coli*, що були патогенні для лабораторних тварин. Так від телят перших 3 днів життя було ізолювано 27 ентеротоксигенних ізоляти *E. coli*. Від телят 4-7-добового віку було ізолювано 22 культури *E. coli*, а від телят 8-14-добового віку – 17 патогенних культур. Від телят 2-3-тижневого віку було ізолювано 7 патогенних культур *E. coli*. Це підкреслюю, що при проведенні діагностичних та профілактичних заходів необхідно обов'язково враховувати, що ентерококові інфекції часто перебігають одночасно з іншими захворюваннями.

З виділених від телят ентерококів 31 культура (73,8 %) була ідентифікована як *E. faecalis*, 9 (21,4 %) – як *E. faecium* та 2 (4,8 %) – як *E. durans* (рис. 1). Отримані результати повністю співпадають з опублікованими даними закордонних вчених [1, 2, 3, 4, 5], однак не відповідають інформації, наданої російськими фахівцями [7], відповідно яких найбільш часто (в 85–90 %) від хворих виділяється *E. faecium*.

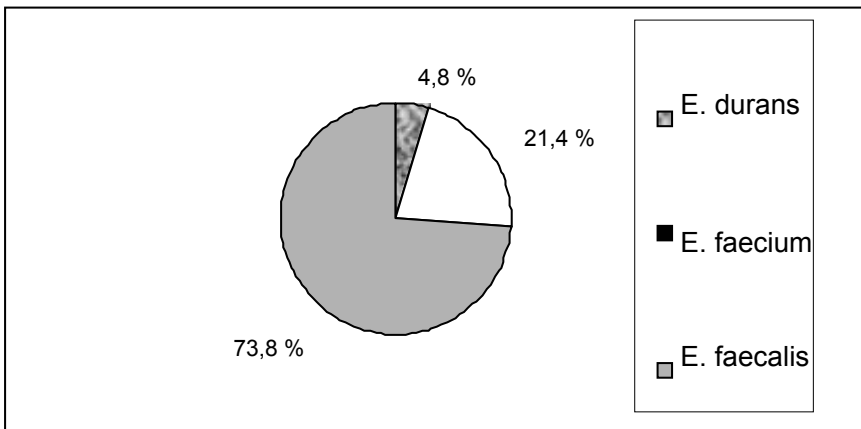


Рис. 1. Видовий склад ентерококів, виділених від телят, %

Як видно на (рис. 2), із усіх виділених культур *E. faecalis* 28 (90,3%) були патогенними для лабораторних тварин. Серед виділених ізолятів *E. faecium* тільки 2 культури були патогенними для лабораторних тварин (рис. 3).

Тобто провідна роль у розвитку ентерококових інфекцій належить *E. faecalis*.

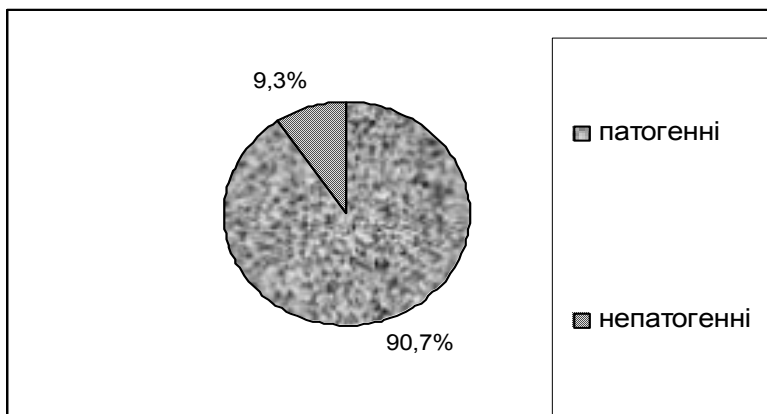


Рис. 2. Співвідношення патогенних та не патогенних ізолятів *E. faecalis*, виділених від телят, %

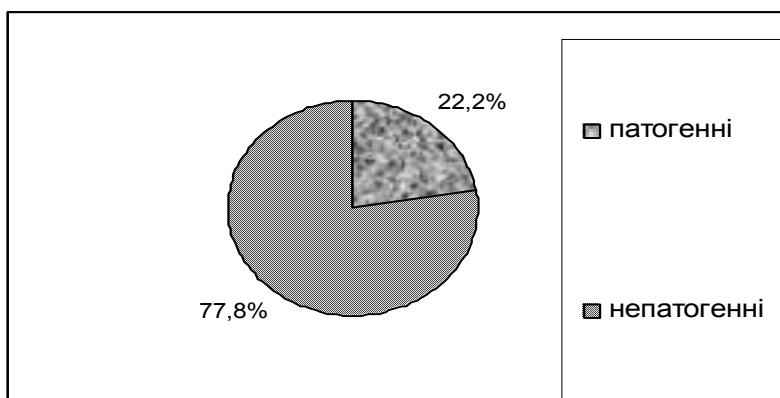


Рис. 3. Співвідношення патогенних та не патогенних ізолятів *E. faecium*, виділених від телят, %

При вивченні культурально-морфологічні та біологічних властивостей встановлено, що усі виділені ентерококи добро росли на простих поживних середовищах та на середовищах з рН 9,6, концентрацією NaCl 6,5 % і жовчі 40%. В мазках з щільних поживних середовищ розташовувалися у вигляді коротких ланцюгів з 2-3 коків, на рідких середовищах як правило у виді довгих ланцюгів. З виділених 42 штамів лише 8 відновлювали нітрат та 6 ізолятів зброджували лактозу. При культивуванні усіх культур *E. durans* на кров'яному агарі спостерігали слабкий альфа-гемоліз еритроцитів у виді зеленуватої знебарвленої зони, *E. faecium* - бета-гемоліз у виді повного знебарвлення за рахунок повного лізису еритроцитів. Вісімнадцять культур *E. faecalis* (58%) проявляли альфа-гемолітичні властивості, 13 (42%) – бета-гемолітичні властивості.

Таблиця — Кількість загиблих і забитих з діагностичною метою телят, їх вік та інтенсивність виділення ентерококів і *E. coli*

№ п/п	Вік тварини	Кількість тварин, від яких досліджували патологічний матеріал, голів	Кількість забитих з діагностичною метою тварин, від яких досліджували патологічний матеріал, голів	Виділення з патологічного матеріалу мікроорганізмів роду <i>Enterococcus</i> , культур			Виділення з патологічного матеріалу ентерококсигенних <i>E. coli</i> , культур
				<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	
1	1-3-добового віку	37	21	19	5	1	27
2	4-7-добового віку	28	11	7	3	1	22
3	8-14-добового віку	16	5	4	1	-	17
4	2-3-тижневого віку	12	4	1	-	-	7

Висновок. За результатами досліджень встановлено, що провідна роль у виникненні ентерококових інфекцій належить *E. faecalis*. З паренхіматозних органів та крові від загиблих і забитих з діагностичною метою хворих тварин було виділено 42 ізоляти *Enterococcus spp.* З них 31 культура (73,8 %) була ідентифікована як *E. faecalis*, 9 (21,4 %) - як *E. faecium* та 2 (4,8 %) – як *E. durans*. Із усіх виділених культур *E. faecalis* 28 (90,3%) були патогенними для лабораторних тварин. Серед виділених ізолятів *E. faecium* тільки 2 культури були патогенними для лабораторних тварин.

Список літератури

1. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia [Text] / M. Iregui [et al] // Chest. – 2002. № 122. – P. 262–268. 2. Kollef, M. Appropriate empiric antimicrobial therapy of nosocomial pneumonia: the role of the carbapenems. [Text] / M. Kollef. // Respir. Care. – 2004. – № 49 (12). – P. 1530–1541. 3. Risk factors for acquiring ampicillin-resistant enterococci and clinical outcomes at a Canadian tertiary-care hospital. [Text] / McCarthy [et al] // J. Clin. Microbiol. – 1994. – № 11. – P. 2671–2676. 4. Vancomycin-resistant enterococci colonising the intestinal tracts of hospitalised patients. [Text] / B. Gordts [et al] // J. Inf. Dis. – 1995. – № 11. – P. 2842–2846. 5. Jordens, J.Z. Faecal carriage and nosocomial spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. [Text] / J.Z. Jordens, J. Bates, D.T. Griffiths // J. Antimicrob. Chemother. – 1994. – № 34. – P. 515–528. 6. Clinical and molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in pediatric teaching hospital [Text] / C. Christie [et al] // J. Pediatr. – 1994. – № 125. – P. 392–399. 7. Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. [Text] / S. Cosgrove [et al] // Arch. Intern. Med. – 2002. – № 162 (1). – P. 185–190. 8. Коротяев, А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. Учебник. [Текст] / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. – СПб.: Спец. литература, 1998. – 592 с. 9. Медицинская микробиология [Текст] / гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Покровский, О.К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 1200 с. 10. Фробишер М. Основы микробиологии [Текст] / М. Фробишер. – М.: Мир, 1965. – 678 с.

THE RESULTS OF ENTEROCOCCUS MICROORGANISMS RETRIEVAL FROM ORGANS OF DIED CALVES AND STUDY OF THEIR BIOLOGICAL FEATURES

Gadzevich D.V., Gorbenko A.V.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary
Medicine», Kharkiv

Nychik S. A., Tarvids Y.V.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

Gadzevich O.V.

Crimean Scientific and Research Station of NSC «IECVM»

Results of Enterococcus microorganism's retrieval from organs of died calves and studies of their biological features are given in the work. It was discovered that Enterococcus faecalis has the main role in enterococcus infections. 42 isolates of Enterococcus spp. have been taken from parenchymal organs and blood of died and butchered with diagnostic purpose sick animals. 31 cultures (73,8 %) from them was identified as Enterococcus faecalis, 9 (21,4 %) as Enterococcus faecium and 2 (4,8 %) as Enterococcus durans. From all identified cultures Enterococcus faecalis 28 (90,3 %) were pathogen for laboratory animals. Among the chosen isolates of Enterococcus faecium only 2 cultures were pathogen for laboratory animals.