

### Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

the application of this therapy is only in a very clear indication of the presence of these pathogens and the strict regime of application. First of all, it is necessary to thoroughly clean and disinfect premises and equipment for her husband. As a suitable disinfectant shall be dissolved chlorine and peracetic acid for areas in which the husband is a formalin solution (5%) for areas in which animals are kept. For dipping teats as disinfectants in use are based on amphotenzide or peracetic acid. Fine disinfecting solutions used alcohol or paint acridine or quaternary ammonium compounds. With prophylactic standpoint, in the case of territorial threat of nokardija next review herds and affected animals are essential and preventative care of animals that are introduced into the farm.

#### References

1. Boboš, S., Vidić, B.: Mlečna žlezda preživara-morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005. Bättig, U, Wegmann, P, Meyer B., Penseyres J. H.: Nocardia mastitis in cattle. 1. Clinical observations and diagnosis in 7 particular cases.; Schweiz Arch Tierheilkd 132(6):315-22,1990. 2. Deborah, A, Stark and Neil G. Anderson :A case-control study of *Nocardia* mastitis in Ontario dairy herds, Can Vet J. March; 31(3): 197-201. 1990. 3. Brown-Elliot, B. A., J. M. Brown, P. S. Conville, and R. J. Wallace.. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. Based on current molecular taxonomy. Clin. Microbiol. Rev. 19:259-282. 2006. 4. Chun, J., and M. Goodfellow.:A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 45:240-245. 1995. 5. Tarabla, H. D., M. D. Zurbriggen, V. R. Canavesio, C. A. Vitulich, and L. F. Calvino: *Nocardia asteroides* mastitis in a small Argentinian herd. Vet. Rec. 132:303. 1993. 6. Ollis, G. W., M. Schoonderwoerd, and C. Schipper.: An investigation of risk factors for nocardial mastitis in central Alberta dairy herds. Can. Vet. J. 32:227-231.1991. 7. Wendt, K., Bosted, H., Mielke H., Fuchs W.: Euter und Gausaugekrankheiten, Stuttgart 1994

#### НОКАРДИЯ- МАСТИТ

**Бобош С., Радінович М., Пажич М.**

Університет Нови Сад, Сільськогосподарський факультет, Нови Сад, Сербія

У статті розглядаються проблеми щодо етіології, патогенезу, діагностики та профілактики бактеріальної інфекції вим'я – нокардія-мастит. Під *Nocardia* відомий у всьому світі. Бактерії *Nocardia* викликають хвороби у людей і тварин, зокрема у свавців та птиці. У корів вони спричиняють гепатит, ендокардит, пневмонію. *Nocardia* spp. Рідко спричиняють мастит, але в деяких господарствах при певних умовах такі інфекції отримують епізоотичне розповсюдження.

УДК 579.62:57.03.8:15.371

#### ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМУ *PASTEURELLA MULTOCIDA* «СМОЛ» ЗА УМОВИ S-R-ДИСОЦІАЦІЇ

**Виговська Л.М.**

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

При виробництві ветеринарних імунобіологічних засобів (вакцин, сироваток, діагностиків, та інш.) використовують патогенні штами мікроорганізмів. Для більшості вірулентних бактерій характерним є зростання в S-формі. Однією з проблем, що виникає в процесі роботи з виробничими штамами бактерій є дисоціація. Відомо, що в процесі дисоціації бактеріальної культури одночасно відбуваються зміни морфології колоній, біохімічних, антигенних, патогенних властивостей бактерій, їх стійкість до фізичних та хімічних факторів зовнішнього середовища[1, 2].

У зв'язку з тим, метою роботи було вивчення біологічних властивостей штаму *Pasteurella multocida* «Смол», якому властиві спонтанні S-R- дисоціації, за культурально-морфологічними, біохімічними властивостями, ступнем вірулентності, рівнем антибіотикорезистентності

**Матеріали і методи.** Об'єктом дослідження був штам *P. multocida* «Смол». У роботі визначали та порівнювали культурально-морфологічні, біохімічні властивості, вірулентність ( $LD_{100}$ ) та резистентність до антибактеріальних засобів штаму *P. multocida* «Смол» в S та R формі. При вивченні культурально-морфологічних властивостей штамів визначали характер росту на рідких (МПБ) та щільних (МПА) поживних середовищах. Біохімічні властивості штамів вивчали на середовищах Гіса з цукрами[3]. Вірулентність штамів для білих мишей (16-18 гр.) визначали методом титрування і визначення величини  $LD_{100}$ , в розведеннях від 1 до 10 ступенів. Розрахунок величини  $LD_{100}$  проводили за методом Кербера в модифікації Ашмаріна [4] в програмі Excel. Антибіотикорезистентність штамів визначали стандартним дискодифузійним методом. У роботі використовували комерційні диски антибактеріальними препаратами. Математичну обробку результатів досліджень виконували за допомогою методів варіаційної статистики за Лакіним Г.Ф. (1980).

**Результати та обговорення.** На щільних середовищах 24-годинна культура *P. multocida* «Смол» в S-формі утворювала однорідні колонії діаметром 2-4 мм (табл. 1); в R-формі – однорідні колонії діаметром 4-6 мм.

Таблиця 1 – Культурально-морфологічні, біохімічні та патогенні властивості штаму *P. multocida* «Смол» ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	Штам <i>Pasteurella multocida</i> «Смол»	
	S-форма	R-форма
<b>Біохімічні властивості</b>		
Глюкоза	+++	++
Сорбіт	++++	++
Маніт	++++	++
Цукроза	++++	++
Ксилоза	-	-
Маноза	-	-
<b>Вірулентність</b>		
$LD_{100}$	$LD_{100} - 0,5 \times 10^1$	-

**Примітка:** + - відповідає розчепленню 25%, ++ - 50%, +++ - 75%, ++++ - 100% середовища Гіса після 24-48 годин культивування штаму; ++ - затримка реакції (96 год); — - негативний результат

Культура *P. multocida* «Смол» в -S та -R формі утилізувала з утворенням кислоти без газу цукри: глюкозу, сорбіт, маніт, цукрозу впродовж 24 годин. Інтенсивність ферментативної активності культури в S-формі становила 3 (глюкоза) – 4 (сорбіт, маніт, цукроза) хрести; в R-формі ферментативні властивості культури проявлялися дуже повільно, рівень ферментації глюкози, сорбіта, маніта і цукрози після 96 годин культивування проявлявся на рівні плюс-мінус.

Вірулентність ( $LD_{100}$ ) культури в S-формі для білих мишей становила  $LD_{100} - 0,5 \times 10^7$ , що відповідає паспортним характеристикам штаму.

При переході в R-форму штам втратив вірулентність: підшкірне введення білим мишам добової культури в дозі  $1 \times 10^9$  мікробних клітин не викликало загибелі піддослідних тварин; в той же час з крові серця заражених R-формою культури *P. multocida* «Смол» тварин виділяли культуру *P. multocida* Смол в R-формі.

Антибіотикорезистентність штаму в S- та R- формі визначали до інгібіторів синтезу клітинної стінки (пеніциліни, цефалоспорицини), інгібіторів синтезу білка (аміноглікозиди, тетрацикліни, левоміцетин, макроліди, лінкозаміди), інгібіторів транскрипції і синтезу нуклеїнових кислот (фторхінолони, рифампіцин), нітрофуранів, азолів які діють на цитоплазматичну мембрану бактеріальної клітини (рис. 1).

У S-формі культура виявилася чутливою (22 мм) до пеніциліну, високочутливою (36 мм) до бензилпеніциліну та слабо чутливою (12 мм) до ампіциліну. В R-формі – не чутлива (0 мм) до пеніциліну, чутливою (26 мм) до бензилпеніциліну та слабо чутливою (14 мм) до ампіциліну.

До цефалоспорицинів в S-формі культура проявляла чутливість (цефазолін, цефалексин, цефаклор – 24-26 мм), високу чутливість – цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефепім – 28-34 мм), була не чутливою до цефуросиму (0 мм). У R-формі – слабо чутлива до цефазоліну, цефалексину (16-17 мм), чутлива до цефаклору, цефотаксиму, цефоперазону, цефтазідіму, цефепіму (22-26 мм), високу чутливість до цефтриаксону, цефуросиму – 30-32 мм).

До аміноглікозидів в S-формі штам був слабочутливим (неоміцин, амікацин – 14-16 мм), чутливим (канаміцин, тобраміцин, сизоміцин, нетилміцин 18-24 мм), та високочутливим (стрептоміцин, тобраміцин 30-36 мм). У R-формі – нечутливим (стрептоміцин – 7 мм), слабочутливим (неоміцин, амікацин – 16 мм, чутливим (канаміцин, гентаміцин, тобраміцин, сизоміцин, нетилміцин – 18-26 мм).

До макролідів у S-формі культура була слабо чутлива (олеандоміцин – 12 мм) та чутлива (еритроміцин, азитроміцин – 20-26 мм). У R-формі культура виявилася нечутливою до еритроміцину та олеандоміцину, спостерігалася зниження рівню чутливості до азитроміцину (15 мм).

У групі лінкозамідів в S-формі штам проявляв чутливість до лінкоміцину, (19 мм), був нечутливим до кліндаміцину (0 мм). У R-формі до лінкоміцину штам був нечутливим (0 мм), навколо диску з кліндоміцином спостерігалася зо на інгібіції росту культури діаметром 10 мм.

До тетрациклінів у S-формі штам виявився чутливим (тетрациклін, доксициклін – 18-20 мм), R-формі – слабо чутливим (відповідно 18-20 мм).

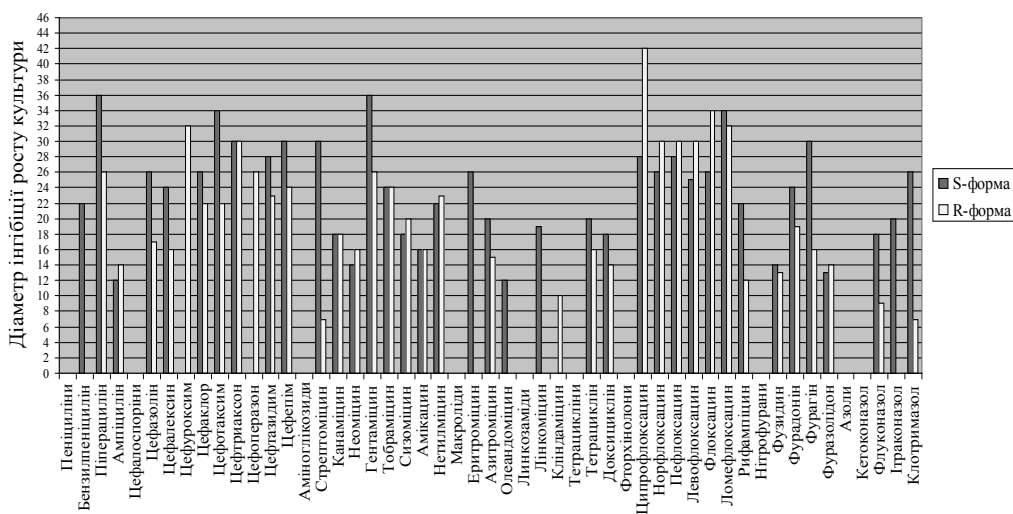
У групі фторхінолонів штам проявляв у S-формі чутливість до цiproфлорксацину, норфлорксацину, пефлорксацину, левофлорксацину (25-28 мм), був високочутливим до ломефлорксацину (34 мм); у R-формі спостерігалася підвищення рівню чутливості штаму до цiproфлорксацину, норфлорксацину, пефлорксацину, левофлорксацину (30-40 мм) та незначне зниження її до ломефлорксацину (32 мм).

Чутливість до рифампіцину штаму в R-формі знизилася майже вдвічі (відповідно 22 та 10 мм).

До антибіотиків нітрофуранової групи чутливість штаму в S-формі проявлялася наступним чином: штам був слабо чутливим до фузидіну та фуразолідону (13-14 мм), чутливим до фурадоніну (24 мм), високочутливим до фурагіну (30 мм). У R-формі спостерігалася зниження різного ступеня рівню чутливості штаму до фузидіну, фурадоніну та фурагіну, незначне підвищення рівню чутливості до фуразолідону.

Чутливість до рифампіцину штаму в R-формі знизилася майже вдвічі (відповідно 22 та 10 мм).

*Pasteurella multocida* Смол



Диски з антибіотиками

Рис. 1 Антибіотикорезистентність штаму в S- та R- формі

### Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

До антибіотиків нітрофуранової групи чутливість штаму в S-формі проявлялася наступним чином: штам був слабо чутливим до фузі діну та фуразолідону (13-14 мм), чутливим до фурадоніну (24 мм), високочутливим до фурагіну (30 мм). У R-формі спостерігалось зниження різного ступеня рівню чутливості штаму до фузидину, фурадоніну та фурагіну, незначне підвищення рівню чутливості до фуразолідону.

У групі азолів штам проявляв чутливість у S-формі до флуконазолу, ітраконазолу, клотримазолу (18-26 мм), був нечутливим до кетоконазолу. У R-формі штам виявився нечутливим до антибіотиків зазначеної групи (флуконазол – 9 мм).

**Висновки.** Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено:

– у процесі S-R- дисоціації культури *P. multocida* «Смол» одночасно відбулися наступні зміни біологічних властивостей: морфологія колоній відповідала R-формі; ферментативна активність культури знизилася до мінімального рівня; високовірулентна культура повністю втратила вірулентність та патогенні властивості, спостерігалися зміни чутливості культури до антибактеріальних засобів;

– зміни чутливості культури до антибактеріальних засобів були неоднозначними:

- у більшості випадків спостерігалось її зниження різною мірою ступеню;
- у окремих випадках чутливість культури R-формі підвищувалася;
- до антибіотиків фторхинолонового ряду чутливість культури в R-формі підвищилася;
- до окремих антибіотиків проявлялася нечутливість штаму в S-формі та чутливість в R-формі.

**Перспективи подальших досліджень:** У системі підтримання виробничих штамів мікроорганізмів необхідними є умови, що забезпечують зберігання штамів в стабільній S-формі та запобігають виникненню дисоціацій.

Подальші дослідження механізму зміни біологічних властивостей бактеріальних клітин в процесі S-R-дисоціації необхідно проводити на молекулярно-генетичному рівні.

#### Список літератури

1. Борисов, Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – С. 131-150. 2. Вплив факторів зовнішнього середовища на виживання збудника пастерельозу / Т.І. Тарасюк, Л.К. Волинець, В.І. Москалюк [та ін.] // Вісник Сумського Державного аграрного університету. – 1999. – Вип. 4. – С. 181-182. 3. Кисленко, В.Н. Практикум по ветеринарній микробиології та іммунології. – М.: Колос. – 2005. 4. Ашмарин, И.П., Воробьев, А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медгиз, 1962. – 15 с.

#### STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF STRAIN *PASTEURELLA MULTOCIDA* «SMOL» WITH THE SR-DISSOCIATION

*Vygovska L.M.*

*State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains, Kyiv*

*The article presents the results of the study of biological properties of strains of Pasteurella multocida «SMOL», pathogenic for rabbits from a collection of SSCIBS. Comparative characteristics of cultural-morphological, biochemical, pathogenic properties and resistance to antibacterial drugs in culture-S and-R form are presented in the article.*

УДК 619:579.843.95:579.221.23

#### КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАСТЕРЕЛЛ

*Гадзевич Д.В., Горбенко А.В., Гадзевич О.В.,*

*Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков*

*Тарвидс Ю.В.*

*Харьковская государственная зооветеринарная академия*

Пастереллез (*Pasteurellosis*) – контагиозное инфекционное заболевание, характеризующееся явлениями септицемии и восполительно-геморрагическими процессами во внутренних органах, на серозных и слизистых оболочках. Лабораторная диагностика основывается на выделении культуры возбудителя и изучении его свойств [1].

К пастереллезу восприимчивы все виды домашних и диких млекопитающих животных и птиц. Болеет пастереллезом и человек. Среди кур и кроликов болезнь обычно проявляется эпизоотией. У других видов животных тоже нередки эпизоотические вспышки болезни [1, 2, 3]. Чаще возбудителем инфекции является *Pasteurella multocida* – небольшая, грамотрицательная, неподвижная и не образующая спор бактерия, располагающаяся изолированно, парами и реже – в виде цепочек. Величина и форма микроба варьируют в зависимости от происхождения штамма. Пастереллы являются факультативными аэробами, хорошо растущими на обычных питательных средах при 37 °С. Возбудитель пастереллеза имеет феномен диссоциации, т.е. разъединение популяции бактерий и возникновения S- и R-форм. Между этими формами существует переходная M-форма, эти формы легко выявляются при культивировании пастерелл на твердых питательных средах [1].

Согласно литературным данным пастереллы являются микроорганизмами малоактивными в ферментативном отношении, кроме того, многие авторы отмечают, что биохимические свойства у них не стабильны [2, 4]. Поэтому целью проведенных исследований было сравнить биохимическую активность пастерелл различных серологических групп, а также S- и R-форм бактерий.

**Материалы и методы.** Пастереллы выделяли из патологического материала (крови, печени, легких, селезенки, почек, лимфоузлов и костного мозга), отобранного от сельскохозяйственных животных принадлежащих хозяйствам разных форм собственности. Для посева использовали простые и дифференциально-диагностические питательные среды. Родовую и видовую принадлежность микроорганизмов устанавливали по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам [1]. В процессе работы было выделено из патологического материала 30 изолятов пастерелл. Патогенность выделенных культур микроорганизмов определяли биологической пробой на белых мышах, которых заражали внутрибрюшинно по 0,2 см<sup>3</sup> суточной бульонной культурой пастерелл. Из патологического материала от павших мышей делали высевы на питательные среды, и при изоляции пастерелл биопробу считали положительной.

**Результаты исследований.** Были изучены морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства изолированных пастерелл. Результаты исследований показали, что все выделенные изоляты способны расти на простых