

**Висновки.** 1. Мікроорганізми роду *Proteus* володіють достатньо високою лецитіназною активністю, яка залежить від походження штамів та різко зростає з переходом з Н- до О- форми мікробної дисоціації. Означення цього феномену може бути додатковим тестом для оцінки ступеня вірулентності протеїв.

2. Запропоноване щільне поживне середовище високочутливе та придатне для використання з метою одночасного виявлення лецитіназної активності бактерій та пригнічення їх роїння.

3. Перевагою даного середовища є можливість визначення лецитіназної активності не лише у протеїв, а й у інших видів мікроорганізмів, що здатні роїтись.

#### Список літератури

1. Dennis, E. A. The enzymes. // N. Y. L. - 1983 - 3 ed. - Vol. 16. - p. 307-353.
2. Ocampo J., Afanador N., Vives M.J., Moreno J.C., Leidy C. The antibacterial activity of phospholipase A(2) type IIA is regulated by the cooperative lipid chain melting behavior in *Staphylococcus aureus*. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2010. - Vol. 1798(6). - p. 1021-10288.
3. Aronson, A.I., Bell, C., Fulroth, B. Plasmid-Encoded Regulator of Extracellular Proteases in *Bacillus anthracis*. // *J. Bacteriol.* - 2005. - Vol. 187. - p. 3133-3138.
4. Steffen, E. K., Hentges, D J. Hydrolytic enzymes of anaerobic bacteria isolated from human infections. // *J. Clin. Microbiol.* - 1981. - Vol. 14. - p. 153-156.
5. Temaru, E., Shimura, S., Karasawa, T. *Clostridium tetani* Is a Phospholipase (Lecithinase)-Producing Bacterium. // *J. Clin. Microbiol.* - 2005. - Vol. 43. - p. 2024-2025.
6. Belas, R., Erskine, D., Flaherty, D. *Proteus mirabilis* Detective in Swarmer Cell Differentiation and Multicellular Behavior. // *J. Bacteriol.* - 1991 - Vol.173. - p. 6279-6288.
7. Патент № 23150 (UA) МПК ( 2006): С12N 1/20. Живильне середовище для пригнічування роїння бактерій роду *Proteus*. / Осолодченко Т.П., Кучма І.Ю., Волянський А.Ю. і співавт. (Україна).- № 200613244; Заявл. 14.12.2006; Опубл. 10.05.2007.
8. Нестерова, Г.Н. Биология протея. / Учебное пособие. - Горький: ГГУ. - 1972. - 88 с.

### LECITHINASE ACTIVITY OF SWORMING MICROORGANISMES (ON EXAMPLE GENOUS PROTEUS)

**Bozshko M.G.**

*Institute of microbiology and immunology named after I.I. Mechnikov NAMSU, Kharkiv*

*A research aim was a study of features of *Proteus* pathogeny festering -inflammatory infections and role of the agent in them. Lecithinase activity was shown by 44,44 % cultures of *P.vulgaris* and 91,66 % cultures of *P.mirabilis*. Nutrient medium was developed, highly sensitive and suitable for the simultaneous detection of lecithinase activity and suppression of swarming. The use of this nutrient medium in microbiological practice will allow to promote quality of researches.*

УДК 619:616.9:579:842.11:636.2

### ВИДОВИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ, ХВОРОЇ НА ЕНТЕРИТ

**Гадзевич Д.В., Дунаєв Ю.К., Горбенко О.В., Гадзевич О.В., Вовк С.І.**

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

Бактеріальні інфекційні захворювання (пастерельоз, ешерихіози, стрептококози, сальмонельози та їх асоціації) мають складну етіологічну структуру та завдають тваринництву великих економічних збитків. Особливості виникнення та поширення інфекційних захворювань залежить від біологічних властивостей умовно-патогенної та патогенної мікрофлори, а також резистентності та імунобіологічної реактивності тварин. Мікроорганізми, завдяки своїм генетичним особливостям, можуть швидко набувати стійкість до антимікробних препаратів та активувати фактори патогенності, що сприяє їх широкому розповсюдженню серед сприятливих макроорганізмів та підсилює ризик захворювань.

Отже, на організм тварин впливає комплекс несприятливих факторів, які пригнічують нормальне функціонування основних систем життєдіяльності. З цим пов'язують збільшення частоти виникнення та ускладнення перебігу ентеритів.

Відомо, що нормальна мікрофлора кишечника виконує важливу роль у життєдіяльності організму хазяїна. За сучасними поглядами, нормальна мікрофлора розглядається, як якісне та кількісне співвідношення популяцій мікроорганізмів, що підтримує біохімічну, метаболічну та імунну рівновагу макроорганізму, і є вкрай необхідною для збереження гомеостазу [2]. Тому метою досліджень було встановити якісне та кількісне співвідношення мікроорганізмів, що перебувають у порожнині кишечника тварин, хворих на ентерит і здорових, а також вивчити особливості біологічних властивостей мікрофлори шлунково-кишкового тракту великої рогатої худоби, хворої на ентерит.

**Матеріали та методи.** Бактеріологічні дослідження проводили впродовж 2010-2011 рр. в лабораторії вивчення бактеріальних хвороб рогатої худоби ННЦ «ІЕКВМ». Для проведення бактеріологічних досліджень відбирали патологічний матеріал від тварин, хворих на ентерит. За результатами лабораторних досліджень вивчали властивості мікроорганізмів, а саме: культурально-морфологічні, тінкторіальні, імунобіологічні та біохімічні. Встановлювали фактори патогенності мікроорганізмів, їх вірулентність. Мікробіологічні дослідження біотипів вивчено у 75 тварин, хворих на ентерити (основна група) та у 75 клінічно здорових тварин (контрольна група), шляхом визначення бактеріологічним методом видового складу та популяційного рівня автохтонних облигатних і факультативних, а також алохтонних представників мікрофлори порожнини товстого кишечника з подальшим встановленням дисбіотичного стану (дисбактеріозу) [1, 2, 5, 6].

**Результати досліджень.** У результаті мікробіологічного моніторингу від телят хворих на ентерит (n=199) було ізольовано 456 культур мікроорганізмів, серед яких: *Enterobacteriaceae* (47 %), *Staphylococcus* (15 %), *Enterococcus* (5 %), *Streptococcus* (13 %), *Bifidobacterium* (5 %), *Lactobacillus* (5 %), *Bacillus* (3 %), *Candida* (2 %), *Pseudomonada* (4 %), *Clostridium* (1 %) (рис. 1).

За результатами вивчення видового складу мікроорганізмів, встановлено, що мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* були найчисленнішими за частотою виділення.

Як зазначено у таблиці 1, від телят найчастіше виділяли кишкову паличку, протеї, клебсієлу, ентеробактер та цитробактер.

За результатами вивчення здатності виділених культур *E. coli* експресувати специфічні адгезивні антигени встановлено, що 65 культур (69 %) були здатні продукувати фімбріальні адгезини типів K99, F41, 987P, K88. Встановлено, що дослідні культури ешерихій мають різний ступінь альфа- та бета-гемолітичної активності – зона гемолізу навколо колоній ешерихій становила від 0,5 до 5 мм.

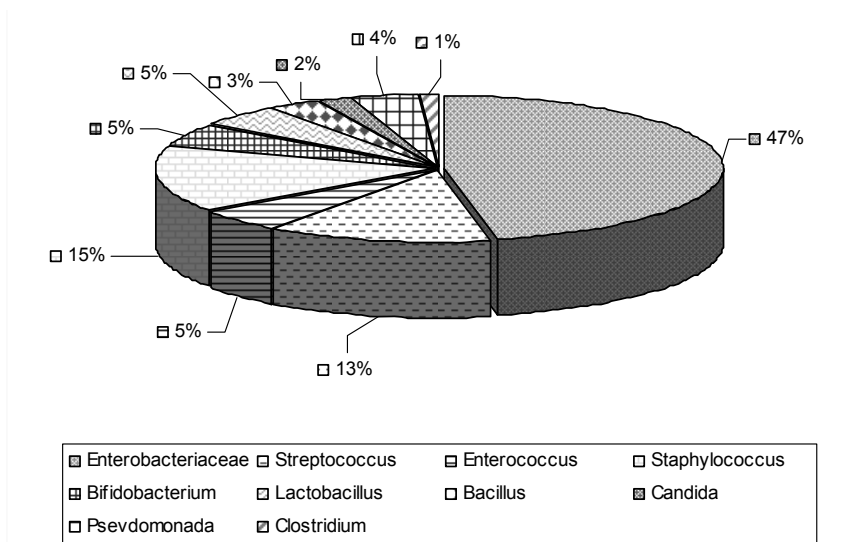


Рис. 1 Співвідношення мікроорганізмів, які виділяли від тварин, хворих на ентерит (%)

Таблиця 1 – Видовий склад ентеробактерій, ізольованих від телят, хворих на ентерит

№	Вид ентеробактерій	Кількість виділених ізолятів	
		Абсолютне значення	Відсоток (%)
1	<i>Escherichia coli</i>	93	43
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29	13
3	<i>Proteus vulgaris</i>	34	15
4	<i>Proteus mirabilis</i>	17	8
5	<i>Enterobacter agglomerans</i>	23	11
6	<i>Citrobacter freundii</i>	10	5
7	<i>Salmonella Dublin</i>	4	2
8	<i>Salmonella Enteritidis</i>	2	1
9	<i>Yersinia enterocolitica</i>	4	2
Усього		216	100

Результати вивчення токсигенних властивостей ешерихій з гемолітичною активністю при внутрішньочеревному зараженні білих мишей не прогрітим нативним токсинвміщуючим матеріалом показали, що бульонний фільтрат епізоотичних ізолятів *E. coli* викликав загибель тварин, що свідчило про наявність у дослідному матеріалі ентеротоксинів.

Кількість виділених штамів стафілококів була 15 % від загальної кількості ізольованих бактерій, їх видовий склад представлений 3 видами (табл. 2).

Таблиця 2 – Видовий склад стафілококів, ізольованих від телят, хворих на ентерит

№	Вид стафілококів	Кількість виділених ізолятів	
		Абсолютне значення	Відсоток (%)
1	<i>St. aureus</i>	44	64
2	<i>St. epidermidis</i>	16	23
3	<i>St. intermiditis</i>	9	13
Усього		69	100

Культури *St. aureus*, що були ізольовані від тварин, хворих на ентерит, у 100 % випадках були високовірулентними для білих мишей, мали плазмокоагулазну, лізоцимну, гіалуронідазну та гемолітичну активність, синтезували фібринолізин та гемолізін.

За результатами досліджень біоценозу шлунково-кишкового тракту хворих на ентерит та здорових тварин встановлено, що у тварин, хворих на ентерит, відбувається порушення якісного співвідношення мікрофлори за рахунок збільшення у порожнині товстого кишечника пептококів, пептострептококів, еубактерій, стафілококів та зменшення лактобактерій, біфідобактерій і бактероїдів. Це свідчить про якісний дисбаланс мікрофлори у порожнині товстого кишечника у хворих на ентерит тварин.

Як видно з рисунку 2, мікрофлора порожнини товстого кишечника у клінічно здорових тварин була переважно представлена лактобактеріями, бактероїдами, кишковою паличкою, біфідобактеріями та ентерококами (виділяли у 100 % тварин). У тварин, хворих на ентерит, константними мікроорганізмами були ешерихії, пептококи, пептострептококи, ентерококи та стафілококи. У цієї категорії тварин саме ці мікроорганізми за частотою виділення були домінантними (ізолювали у 100 % тварин). Від тварин, хворих на ентерит, у (25-96)% випадках ізолювали стафілококи, протеї, псевдомонади та дріжджоподібні гриби.

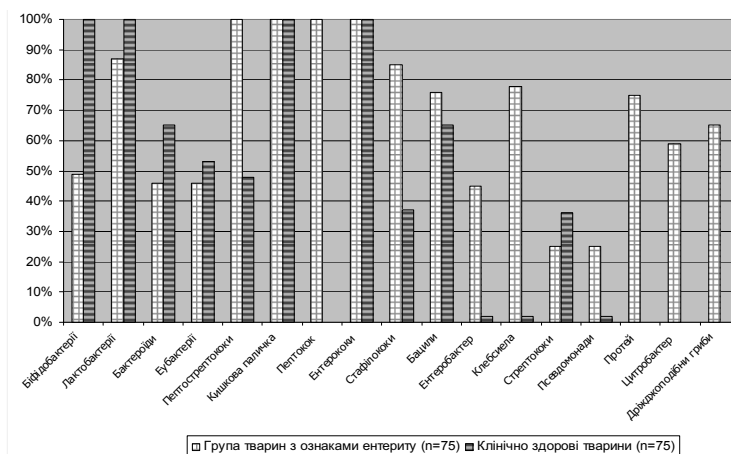


Рис. 2 Склад мікрофлори вмісту порожнини товстого кишечника у тварин, хворих на ентерит та клінічно здорових

З метою поглибленого вивчення мікробіотичного стану вивчали кількісне співвідношення мікроорганізмів у порожнині товстого кишечника (табл. 3).

Таблиця 3 – Кількісний склад мікробіоценозу товстого кишечника телят, клінічно здорових та хворих на ентерит

Мікроорганізми	Група тварин з ознаками ентериту (n=30)	Клінічно здорові тварини (n=30)
<b>I. Анаеробні бактерії</b>		
Біфідобактерії	0 - 4,2×10 <sup>6</sup>	3,8×10 <sup>7</sup> -5,9×10 <sup>8</sup>
Лактобактерії	0 - 2,8×10 <sup>7</sup>	5,8×10 <sup>7</sup> -7,5×10 <sup>8</sup>
Бактероїди	2,8×10 <sup>10</sup> - 2,2×10 <sup>11</sup>	2,6×10 <sup>8</sup> -2,8×10 <sup>9</sup>
Еубактерії	6,6×10 <sup>7</sup> - 5,8×10 <sup>8</sup>	2,0×10 <sup>2</sup> -16,8×10 <sup>2</sup>
Пептококи	2,2×10 <sup>5</sup> - 5,6×10 <sup>6</sup>	-
Пептострептококи	2,6×10 <sup>2</sup> - 8,4×10 <sup>4</sup>	2,6×10 <sup>1</sup> - 8,4×10 <sup>2</sup>
Бактерії роду <i>Clostridium</i>	6,4×10 <sup>6</sup> - 5,9×10 <sup>7</sup>	4,8×10 <sup>4</sup> - 6,4×10 <sup>5</sup>
<b>II. Аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми</b>		
<i>Escherichia</i>	8,4×10 <sup>7</sup> - 8,4×10 <sup>9</sup>	2,7×10 <sup>7</sup> - 1,4×10 <sup>8</sup>
<i>Escherichia coli</i> , яка ферментує лактозу	0-2,0×10 <sup>3</sup>	5,5×10 <sup>7</sup> - 1,4×10 <sup>8</sup>
<i>Escherichia coli</i> , яка не ферментує лактозу	2,0×10 <sup>4</sup> - 8,6×10 <sup>4</sup>	0 - 8,8×10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i> , яка володіє гемолітичною активністю	2,6×10 <sup>7</sup> - 7×10 <sup>9</sup>	-
<i>Proteus</i>	2,8×10 <sup>4</sup> - 2,2×10 <sup>6</sup>	-
<i>Streptococcus</i>	1×10 <sup>2</sup> - 2,2×10 <sup>3</sup>	0 - 1×10 <sup>3</sup>
<i>Citrobacter</i>	1,2×10 <sup>4</sup> - 4,2×10 <sup>5</sup>	0 - 1,2×10 <sup>2</sup>
<i>Enterococcus</i>	2,2×10 <sup>6</sup> - 8,8×10 <sup>6</sup>	2,6×10 <sup>4</sup> - 8,8×10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus</i>	2,2×10 <sup>3</sup> - 8,4×10 <sup>3</sup>	8,4×10 <sup>2</sup> - 6,4×10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,4×10 <sup>5</sup> - 8,2×10 <sup>8</sup>	0 - 1,3×10 <sup>2</sup>
<i>Enterobacter</i>	6,4×10 <sup>4</sup> - 8,4×10 <sup>5</sup>	0 - 1,4×10 <sup>4</sup>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,0×10 <sup>6</sup> - 3,2×10 <sup>8</sup>	0 - 2×10 <sup>2</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,2×10 <sup>3</sup> - 8,6×10 <sup>4</sup>	-
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	2,2×10 <sup>6</sup> - 8,8×10 <sup>6</sup>	0 - 2,0×10 <sup>5</sup>

Примітки: 1) n – кількість проб для бактеріологічних досліджень; 2) – мікроорганізми не ізолювали.

У тварин, хворих на ентерит, реєстрували:

- зменшення кількості біфідобактерій від 4,2×10<sup>6</sup> до повного зникнення їх (у клінічно здорових тварин – 3,8×10<sup>7</sup>-5,9×10<sup>8</sup>), лактобактерії від 2,8×10<sup>7</sup> до повного зникнення їх (у клінічно здорових тварин – 5,8×10<sup>7</sup>-7,5×10<sup>8</sup>);
- збільшення кількості бактероїдів до 2,2×10<sup>11</sup> (у клінічно здорових від 2,6×10<sup>8</sup> до 2,8×10<sup>9</sup>), еубактерій до 5,8×10<sup>8</sup> (у клінічно здорових від 2,0×10<sup>2</sup> до 16,8×10<sup>2</sup>);
- появу *Escherichia coli* з гемолітичною активністю, пептококів, протеїв та псевдомонад.

Таким чином, результат дослідження вмісту кишечника телят, хворих на ентерит, свідчить, що всі тварини мали порушення у складі мікрофлори. А порівняння складу мікробіотів, хворих із нормоценозом біотопів клінічно здорових тварин, свідчить про наявність дисбіозу як за якісними, так і за кількісними показниками. Дисбіотичні зміни проявлялись у наявності патогенних бактерій, гемолізуючих штамів мікроорганізмів та у збільшенні їх кількості. Тому лікування тварин, хворих на ентерит, повинно бути комплексним, з обов'язковою корекцією міжмікробних взаємовідносин.

**Висновки:** 1. За результатами мікробіологічного моніторингу було ізольовано 456 культур мікроорганізмів та встановлено, що в скотарських господарствах України в етіології ентеритів беруть участь представники родини *Enterobacteriaceae* (47 %), мікроорганізми роду *Staphylococcus* (15 %), *Enterococcus* (5 %) та *Streptococcus* (13 %).

2. За результатами досліджень вмісту кишечника тварин, хворих на ентерит, встановлено, що всі тварини мали порушення в якісному і кількісному складі мікрофлори. У клінічно здорових тварин мікрофлора переважно була представлена аутохтонними облигатними біфідобактеріями, лактобактеріями, бактероїдами, кишковою паличкою та ентерококами (ізолювали у 100 % тварин). У тварин, хворих на ентерит, константними мікроорганізмами були гемолітичні ешерихії, пептококи та пептострептококи. У цієї категорії тварин саме ці мікроорганізми за частотою виділення були домінуючими (ізолювали у 100 % випадках). Також від тварин, хворих на ентерит, у (25-96) % випадках ізолювали стафілококи, псевдомонади та дріжджоподібні гриби.

3. У тварин, хворих на ентерит, реєстрували збільшення кількості бактероїдів (до  $2,2 \times 10^{11}$ ) і еубактерій (до  $5,8 \times 10^8$ ) на фоні значного зменшення кількості біфідобактерій (від  $4,2 \times 10^6$  до повного їх зникнення), лактобактерій (від  $2,8 \times 10^7$  до повного їх зникнення) та появою таких бактерій, як *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* та *E. coli* з гемолітичною активністю та слабкими ферментативними властивостями, які не реєстрували у шлунково-кишковому тракті клінічно здорових тварин.

#### Список літератури

1. Покровський, В.И. Медицинская микробиология / В.И. Покровский, О.К. Подеев. – М.: ГОЭТАР, Медицина. – 1999. – 120с.
2. Мишурнова, Н. В. Современное представление о роли нормальной микрофлоры пищеварительного тракта. [Текст]: Н.В Мишурнова., Ф.С. Киржаев // Ветеринария. - 1993. - №6. - С. 30-33.
3. Прискока, В. А., Достоевський, П. П., Борзяк, А. Т. Паразитоценози як етіологічний фактор змішаних інфекцій.- К., 1995.- 20 с.
4. Определитель бактерий Беррдж [Текст]: под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 1-2.
5. Егоров, Н.С. Микроби антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности [Текст]: Н.С. Егоров.- М.: «Высшая школа», 1965.- 211 с. (Егоров, Н.С. Микроби антагонисты та біологічні методи визначення антибіотичної активності [Текст]: Н.С. Егоров.- М.: «Вища школа», 1965.- 211 с.
6. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований [Текст]: А.С. Лабинская // М. «Медицина» - 1978. - 394 с.

### THE SPECIES COMPOSITION OF MICROFLORA OF THE GASTROINTESTINAL TRACT OF CATTLE, DISEASED WITH ENTERITIS

*Gadzevych D.V, Dunayev Yu.K., Gorbenko A.V., Gadzevych O.V., Vovk S.I.*

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkiv*

*The results of bacteriological studies of pathological material from calves diseased with enteritis are presented in the paper. Comparison of the micro biocenosis of sick animals with biotope normocenosis of clinically healthy animals, indicates dysbacteriosis both in qualitative and in quantitative terms. Dysbiotic changes were manifested in the presence of pathogenic bacteria, hemolyzing strains of microorganisms and in increasing of their number.*

УДК (619: 616.9): 639.3.091

### ДИНАМІКА ІЗОЛЯЦІЇ ЗБУДНИКІВ РОДУ *AEROMONAS* ІЗ ГІДРОБІОНТІВ ТА ВОДИ МОРСЬКОЇ АКВАТОРІЇ ТА ПРІСНИХ ВОДОЙМ АР КРИМ

*Гуріна Л.М.*

*Кримська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Сімферополь*

Дослідження останніх років показали, що серед інфекційних захворювань прісноводних риб важливу роль відіграють вірусні, а не бактерійні хвороби. Проте, не можна забувати про можливість секундарної бактерійної інфекції ускладнювати перебіг основного захворювання [1].

Аеромоноз (краснуха коропів, геморагічна септицемія, інфекційна черевна водянка, люблінська хвороба) – небезпечне захворювання коропових риб. Зустрічається практично у всіх видів прісноводних і морських риб. Аеромоноз характеризується запаленням шкіри, осередковими крововиливами, водянкою, куйовдженням луски, екзофтальмією, гідратацією м'язової тканини і всіх внутрішніх органів. Реєструють у водоймах Західної та Східної Європи, Північної і Південної Америки, Ірані, Індії та інших країнах.

Збудники аеромонозу – *Aeromonas hydrophila*, *A. cavia*, *A. media*, *A. sobria* та ін. є звичайними мешканцями прісних і солонуватих вод. Це грамнегативні бактерії з одним джгутиком (за винятком *A. salmonicida*) спор і капсул не утворюють. Вони діляться на три групи: високовірулентні (облігатні) – такі, що викликають захворювання при будь-якому стані риб; штами з індукованою вірулентністю, що викликають захворювання під впливом погіршення стану середовища або при погіршенні фізіологічного стану риб, і авірулентні форми [2].

Захворювання, що спричиняються аеромонадами, реєструють повсюдно, частіше в теплі сезони року у водах з високим вмістом органічних речовин і за наявності різних стресових дій. Інкубаційний період триває 2-3 доби, перебігає гостро, підгостро та хронічно. До хвороби сприйнятливі короп, сазан та їх гібриди, карась, окунь, рослиноідні, лососеві та інші види у віці від цьоголіток до старшого віку.

У результаті досліджень хворої і здорової риби за бактеріологічними показниками і при оцінці якості і безпеки рибної продукції необхідно визначати наявність в м'ясі риби не лише МАФМ (мезофільно – аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів) і БГКП (групи колі – подібних бактерій), але і бактерій роду *Aeromonas* і *Pseudomonas*, які є умовно- патогенними, і за певних умов можуть бути небезпечними для людей [3].

Метою роботи є проведення бактеріологічного моніторингу щодо аеромонозу основних промислових і прісноводних риб та інших гідробіонтів, а також води в місцях вилову гідробіонтів.

**Матеріали і методи.** Робота проводилась на КДС ННЦ «ІЕКВМ», а також на базі державної установи «Українська протичумна станція» МОЗ України.

В якості науково-дослідного матеріалу були використані зразки 16 видів основних промислових риб: піленгас, камса, скумбрія, тюлька, кільки, бичок, ставрида, атерина, барабулька, оселедець, кефаль, короп, товстолобик білий, окунь, карась, білий амур, зразки молюсків (мідії, рапани), проби морської і прісної води відкритих водоймищ, донні відкладення.

Діагностика захворювань бактерійної етіології виконувалася згідно із загальноприйнятими в мікробіології методами.

**Результати дослідження.** За період 2006-2010 років лабораторією іхтіопатології і ветсанекспертизи морських риб і безхребетних ННЦ «ІЕКВМ» із зразків основних промислових видів риб, молюсків, морської і прісної води, донних відкладень всього ізолювано 162 культури мікроорганізмів, в т.ч. 34 культури *Aeromonas spp.*, що склало 21,0 % від загальної кількості виділених культур.