

УДК: 619:579.841.11:636.22/.28(477.5)

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЧАСТОТА ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКА ПСЕВДОМОНОЗУ ВІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У СКОТАРСЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ СХІДНИХ ОБЛАСТЕЙ УКРАЇНИ

Гадзевич Д. В., Гадзевич О. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: [olgagadzevych@gmail.com](mailto:olgagadzevych@gmail.com)

Присяжнюк Ю. М.

ДП ДГ "Шевченківське" ІБКЦБ НААН України, Київська обл., Україна

У статті викладені результати бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу від великої рогатої худоби із різною патологією. Патогенну форму *Pseudomonas aeruginosa* від тварин ізолювали в 9,1 % випадків. Виділені ізоляти збудника псевдомонозу були вірулентними для білих мишей, полірезистентними до антибактеріальних препаратів, проявляли високу адгезивну та антагоністичну активність.

**Ключові слова:** збудник псевдомонозу, велика рогата худоба, біологічні властивості, антибіотикорезистентність.

За результатами бактеріологічних досліджень та епізоотологічного моніторингу у 2012–2015 рр. було встановлено, що останнім часом доволі часто з біологічного матеріалу від сільськогосподарських тварин виділяється мікроорганізм роду *Pseudomonas*. За даними літератури збудник псевдомонозу – *Pseudomonas aeruginosa* широко поширений у зовнішньому середовищі, спричиняє захворювання у сільськогосподарських тварин, птиці, лисиць, псцив і риб [1–11]. Поширенню збудника сприяє його висока стійкість до умов зовнішнього середовища та резистентність до антибактеріальних препаратів. Крім того, високий рівень виживання збудника псевдомонозу у природних умовах зумовлює невелика потреба його в поживних речовинах. Незважаючи на те, що зараз псевдомоноз тварин розглядається як окрема нозологічна одиниця, є багато ветеринарних фахівців, які вважають, що синьогнійна паличка (*Pseudomonas aeruginosa*) відноситься до умовно-патогенного мікроорганізму, який лише бере участь в ускладненні інфекційних, запальних та інших патологічних процесах в організмі тварин. У зв'язку з чим не завжди приділяється увага діагностиці та профілактиці саме цього захворювання.

Тому **метою** нашої роботи було проаналізувати частоту виділення від хворих тварин збудника псевдомонозу із визначенням його біологічних властивостей.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили в лабораторії вивчення бактеріальних хвороб рогатої худоби ННЦ «ІЕКВМ» впродовж 2012–2015 рр. Діагностику захворювання в усіх випадках проводили комплексно на підставі епізоотологічних, клініко-анамнестичних, патологоанатомічних і бактеріологічних досліджень. Від тварин для досліджень відбирали біологічний матеріал (паренхіматозні органи, кров, ексудат і змиви із слизових та серозних оболонок органів, вміст кишечника, тощо). Для визначення причетності виділених мікроорганізмів до розвитку інфекційних захворювань враховували особливості їх біологічних властивостей та наявність факторів патогенності (вірулентність, адгезивну та антагоністичну активність, резистентність до антибактеріальних препаратів) загальноприйнятими в мікробіології методами. Ідентифікацію ізольованих культур до виду здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи» (1997). Для вивчення адгезивних ознак бактерій використовували середній показник адгезії (СПА). СПА – середня кількість мікробних клітин, прикріплених на одному еритроциті. Адгезивність є нульовою при СПА від 0 до 1,0, низькою – при СПА від 1,01 до 2,0, середньою – від 2,01 до 4,0, високою – вище 4,0. Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків визначали методом дифузії в агар за допомогою стандартних паперових дисків. Облік визначення чутливості мікрофлори до антибіотиків проводили за результатами підрахування величини діаметру зони затримки росту навколо дисків [2, 3, 6]. Результати досліджень аналізували статистично за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 7.0. Для обробки отриманих даних проводили аналіз з використанням середніх значень (M) та відхилень (m). Оцінку вірогідності різниці між порівнюваними показниками визначали за допомогою t-критерію Стьюдента.

**Результати досліджень.** У 2012–2013 рр. вивчали мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту телят, здорових і хворих на ентерит (n=75). Для визначення агресивності мікроорганізмів, що домінували в мікробіоценозах здійснювали вибіркове дослідження їх адгезивної активності.

У видовому складі мікробіоценозу кишечника, клінічно здорових телят у концентраціях що не перевищує  $10^2$  умовно-патогенні мікроорганізми були представлені стафілококами, клебсієлами та цитробактерами, які мали низьку адгезивну активність (середніх показників адгезії від  $(1,0 \pm 0,14)$  до  $(1,7 \pm 0,4)$ ), з кишечника цих тварин не ізолювали мікроорганізми родів *Pseudomonas* spp. Від тварин хворих на ентерит у 75 % випадків ізолювали *Pseudomonas* spp., у цієї категорії тварин саме ці мікроорганізми за частотою виділення були одними з домінантних. Середній показник адгезії *Pseudomonas aeruginosa* був у межах від  $(2,8 \pm 0,13)$  до  $(5,4 \pm 0,13)$ . Крім того, культури *Pseudomonas aeruginosa*, що були ізольовані з шлунково-кишкового тракту, хворих на ентерит тварин володіли високим рівнем антагоністичної активності до облигатної кишкової мікрофлори (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *E. coli* (lac+) та *Enterococcus*), зона затримки росту від 16,0 мм до 22,0 мм.

Вивчаючи зміни мікробіценозу шлунково-кишкового тракту у процесі лікування тварин, було встановлено, що через 7–15 днів після антибіотикотерапії спочатку спостерігається стійке зниження кількості гемолітичної форми кишкової палички, протеїв та стафілококів, тоді, як стійке зниження кількості *Pseudomonas aeruginosa* в кишечнику тварин спостерігалось через 25 днів після курсу антибіотикотерапії.

Була проаналізована література з приводу цього питання та знайдені дані які підтвердили, що при одужанні тварин, спричинених асоціацією диплокока, протеєм, синьогнійною паличкою та стафілококом спочатку зникає кишкова паличка та стафілокок, потім протей, а синьогнійна паличка обумовлює тривалий перебіг хвороби із подальшою хронізацією інфекції. Крім того, Працаковим С. В. було зазначено, що виникненню псевдомонозу сприяє безсистемне та безконтрольне використання антибактеріальних препаратів при лікуванні тварин. Антибактеріальні препарати пригнічують ріст і розмноження облигатної мікрофлори та подавляють їх адгезивні та антогоністичні властивості, *Pseudomonas aeruginosa*, як мікроорганізм, що має високу резистентність до більшості антибактеріальних препаратів, починає швидко розмножуватися, викликаючи в організмі тварин різні патологічні процеси [8, 11, 12].

Результати щодо визначення відсотку ізоляції *Pseudomonas aeruginosa* з біологічного матеріалу від ВРХ у 2014–2015 рр. наведені у таблиці 1.

**Таблиця 1 – Частота ізоляції з біологічного матеріалу від ВРХ *Pseudomonas aeruginosa***

Роки	Вид матеріалу	Кількість тварин від яких були отримані проби для досліджень	Кількість позитивних тварин (%)
2014	паренхіматозні органи від телят із патологією шлунково-кишкових органів	214	15 (7,0)
	паренхіматозні органи від телят із патологією респіраторних органів	247	19 (7,7)
	секрет з молочної залози від корів, хворих на мастити	129	13 (10,1)
	ексудат з піхви від корів, хворих на ендометрити та вагініти	98	11 (11,2)
	від корів що абортували	19	3 (15,8)
	сперма від бугаїв	23	4 (17,4)
2015	паренхіматозні органи від телят із патологією шлунково-кишкових органів	186	18 (9,6)
	паренхіматозні органи від телят із патологією респіраторних органів	154	15 (9,7)
	секрет з молочної залози від корів, хворих на мастити	303	28 (9,2%)
	ексудат з піхви від корів, хворих на ендометрити	287	22 (7,7%)
	від корів що абортували	10	3 (20,0)
	сперма від бугаїв	16	2 (12,5)
Всього		1686	153 (9,1%)

Таким чином, у 2014 та 2015 роках вірулентні культури *Pseudomonas aeruginosa* виділяли з паренхіматозних органів телят із патологією шлунково-кишкових органів у 7,0 % та 9,6% випадків, з паренхіматозних органів телят із патологією респіраторних органів у 7,7 % та 9,7 % випадків, із проб молока, хворих на мастити корів у 10,1 % та 9,2 % випадків, з піхви корів, хворих на ендометрити в 11,2 % та 7,7 % випадків, від корів, що абортували в 15,8 % та 20,0 % випадків, із сперми бугаїв у 17,4 % та 12,5 % випадків відповідно. Взагалі було піддано дослідженню 1686 тварин, з них позитивних 153 (9,1 %). Збудник псевдомонозу виділяли з патологічного матеріалу, як у чистому виді, так і в асоціаціях з іншими патогенами. Слід зазначити, що в асоціаціях *Pseudomonas aeruginosa* виділялася набагато частіше у 66,7–94,1 %.

Були проведені дослідження з визначення антибіотикочутливості *Pseudomonas aeruginosa*, виділених від хворих тварин до антибактеріальних препаратів різних фармакологічних груп. Проаналізувавши отримані результати було встановлено, що 61,4 % епізоотичних культур *Pseudomonas aeruginosa* є полірезистентними та проявляють одночасну резистентність більш ніж 6 різних антибіотиків.

Епізоотичні культури *Pseudomonas aeruginosa* були високорезистентними до препаратів пеніцилінового (90,8±2,5 % резистентних ізолятів) і тетрациклінового ряду (87,7±2,0 % резистентних ізолятів).

Резистентність до препаратів цефалоспоринового ряду становила (65,3±7,2), до макролідів – (51,6±15,0) %, до фторхінолонів – (48,1±7,8 %), до аміноглікозидів – (31,7±3,5) %.

Таким чином, епізоотичні культури *Pseudomonas aeruginosa*, що ізолювали від тварин мали виражені фактори патогенності (високу адгезивну та антагоністичну активність, вірулентність та полірезистентність до антибактеріальних препаратів). Висока антибіотикорезистентність *Pseudomonas aeruginosa* ускладнює лікування і робить етіотропну терапію в більшості випадків малоефективною, що викликає необхідність винаходу альтернативного засобу лікування та профілактики цього захворювання.

**Висновки.** 1. Збудник псевдомонозу ізолювали з патологічного матеріалу від великої рогатої худоби в 9,1 % випадків.

2. За результатами бактеріологічних досліджень було встановлено, що ізоляти *Pseudomonas aeruginosa*, які виділяли від хворих тварин із різною патологією були вірулентними для білих мишей, проявляли високу адгезивну та антагоністичну активність та полірезистентність до антибактеріальних препаратів.

**Перспективи подальших досліджень.** Епізоотичні культури *Pseudomonas aeruginosa* у кількості 10 ізолятів були залишені в музеї штамів лабораторії для більш детального вивчення їх біологічних властивостей і встановлення можливостей їх використання у виробництві імунобіологічних препаратів, зокрема асоційованих і полівалентних вакцин.

#### Список літератури

1. Балко, А.Б. Оптимизация условий индукции бактериоцинов *Pseudomonas aeruginosa* [Текст] / А.Б. Балко, В.В. Видасов, Л.В. Авдеева // Микробиол. журн. — 2013. — Т. 75, № 1. — С. 58-64.
2. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине [Текст] : справ. пособ. / А. Н. Головки [и др.] ; под ред. А. Н. Головки. — Харьков : НТМТ, 2007. — 512 с.
3. Микробиологический мониторинг и эпидемиологический анализ антибиотикорезистентности микроорганизмов с использованием компьютерной программы WHONET [Текст] : метод. реком. / Л. П. Зуева [и др.]. — СПб., 2005. — 72 с.
4. Некоторые биологические свойства изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных в хозяйствах Краснодарского края / С. В. Пруцаков и др. // Ветеринария Кубани. 2010. - № 3. - С. 51-54.
5. Определитель бактерий Берджи: девятое издание в 2 т. / [под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Скита и др.; перевод с англ. под ред. акаем. РАН Г.А. Заварзина]. — М.: Мир, 1994. — Т.2. — 430 с.
6. Патологічна анатомія тварин [Текст] / П. П. Урбанович [та ін.] ; за ред. П. П. Урбановича та М. К. Потоцького. — К. : Ветінформ, 2008. — 896 с.
7. Пруцаков, С. В. Вопросы эпизоотологии псевдомоноза сельскохозяйственных животных [Текст] / С.В. Пруцаков, И.А. Болоцкий, В.И. Семенов, А.К. Васильев // Ветеринария Кубани. — 2010. — №2, — С. 19-20.
8. Пруцаков, С. В. Псевдомоноз продуктивных животных в регионе северного Кавказа [Текст]: автореф. дис. доктора вет. наук: 06.02.02 / Пруцаков Сергей Владимирович. Кубанский государственный аграрный университет — Краснодар, 2011 — 37 с.
9. Псевдомоноз сельскохозяйственных животных в Краснодарском крае / А. К. Васильев и др. // Ветеринария. — 2008. — № 12. — С. 20–23.
10. Becks, V. Lorenzoni Nancy M. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a neonatal intensive care unit: A possible link to contaminated hand lotion. // American Journal of Infection Control 1995, — Volume 23, — Issue 6, — P. 396-398.
11. Goossens, H. Susceptibility of multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: results from the European MYSTIC study group / H. Goossens [Text] // Clin Microbiol Infect. — 2003. — Vol. 9. — P. 980–983.

### PROPERTIES BIOLOGICAL AND ALLOCATION PATHOGEN PSEUDOMONAS OFF CATTLE IN EASTERN REGIONS UKRAINE

**Gadzevych D. V., Gadzevych O. V.**

*National Science Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine*

**Prysyazhnyuk Yu. M.**

*SE EF «Shevchenkivske» IBKITSB NAAS of Ukraine, Kyiv region, Ukraine*

*The article presents the results of bacteriological research biological material of large horned livestock of different pathologies. Pathogenic form of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from animals in 9.1% of cases. The selected isolates were virulent pathogen pseudomonozu white mice multiresistant to antibiotics, showed high adhesive and antagonistic activity*

*Materials and methods. Research was carried in the laboratory of studying bacterial diseases of cattle NSC «IECVМ». Diagnosis in all cases conducted comprehensively on the basis of epidemiological, clinical and anamnestic, pathological and bacteriological studies. Bacteriological and serological studies were common in Microbiology methods. To determine the involvement of the isolated microorganisms to the development of disease, took into account the peculiarities of their biological properties and the presence of the pathogenic factors (adhezivna and antagonistic activity, resistance to antibiotics, degree of pathogenicity) generally accepted in Microbiology methods [2, 3, 6].*

*The research results. Epizootic culture *Pseudomonas aeruginosa*, which was isolated from animals have strong pathogenicity factors (high adhesive and antagonistic activity of virulence and antimicrobial polyresistance). 61.4% of epizootic cultures of *Pseudomonas aeruginosa* is multidrug-resistant, and exhibit simultaneous resistance over 6 different antibiotics. Epizootic culture *Pseudomonas aeruginosa* were highly resistant to penicillin drugs row (90,8±2,5% of resistant isolates) and tetracycline (87,7±2,0% of resistant isolates). Resistance to cephalosporin drugs was — (65,3±7,2) %, to macrolides — (51,6±15,0)%, fluoroquinolone — (48,1±7,8%), to aminoglycosides — (31,7±3,5)%.*

**Keywords:** *pathogen pseudomonas, cattle, biological properties, antibiotic resistance*