

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. Паразитозенози як етіологічний фактор змішаних інфекцій.- К., 1995.- 20 с.
4. Определитель бактерий Беррджі [Текст]: под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 1-2.
5. Егоров, Н.С. Микроби антагонисти и биологические методы определения антибиотической активности [Текст]: Н.С. Егоров.- М.: «Высшая школа», 1965.- 211 с. (Егоров, Н.С. Микроби антагонисти 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.

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

За 2006 р. виділено 5 культур *Aeromonas spp.* (15,0 %), 2007 р. – 9 культур (26,5 %), 2008 р. – 14 культур (41,0 %), 2009 р. – 2 культури (5,88 %), 2010 р. – 4 культури (11,76 %). Динаміка виділення культур *Aeromonas spp.* з гідробіонтів та води прісних водойм і морської акваторії протягом 2006-2010 років представлена на рисунку 1.

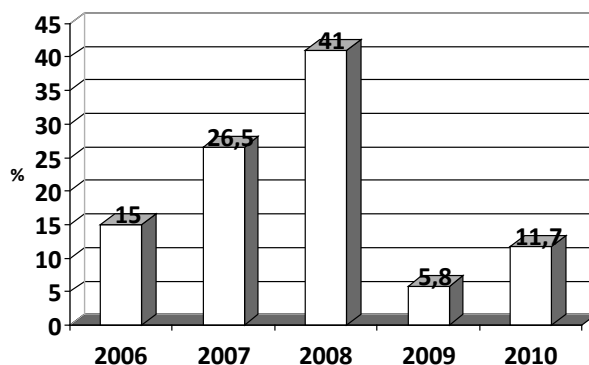


Рис. 1 Динаміка ізоляції культур *Aeromonas spp.* з гідробіонтів та води прісних водойм і морської акваторії протягом 2006-2010 років

Культури *Aeromonas spp.* були виділені при дослідженні внутрішніх органів і м'язової тканини риб, виловлених з неблагополучних ставкових господарств Сімферопольського, Білогірського і Бахчисарайського районів АР Крим, а також з акваторій Азовського та Чорного морів. Кількість виділених культур представлені в таблиці.

Таблиця 1 – Ізоляція культур *Aeromonas spp.* з різних видів гідробіонтів та води прісних водойм і морської акваторії протягом 2006-2010 років

Досліджуваний матеріал	Кількість ізольованих штамів	Рік виділення м/о
морська вода	1	2006
Морська риба	6	2006
	5	2007
	4	2010
	16	
Всього	16	
Прісна вода	3	2007
	2	2008
Прісноводна риба	4	2007
	7	2008
	3	2009
Всього	18	

Аналізуючи дані таблиці, можна зробити висновок, що даний збудник виділявся у 18 випадках з прісноводних видів риб та прісної води, що становило 53 % від загальної кількості виділених культур, з морських гідробіонтів було ізольовано 16 культур, що становило 47 %.

У результаті проведених досліджень в господарстві Бахчисарайського району виділено 2 ізоляти мікроорганізмів, які за морфологічними і біохімічними показниками ідентифіковані як *A. hydrophyla* і *A. salmonicida*.

Сезонна динаміка ізоляції культур аеромонад наведена на рисунку 2.

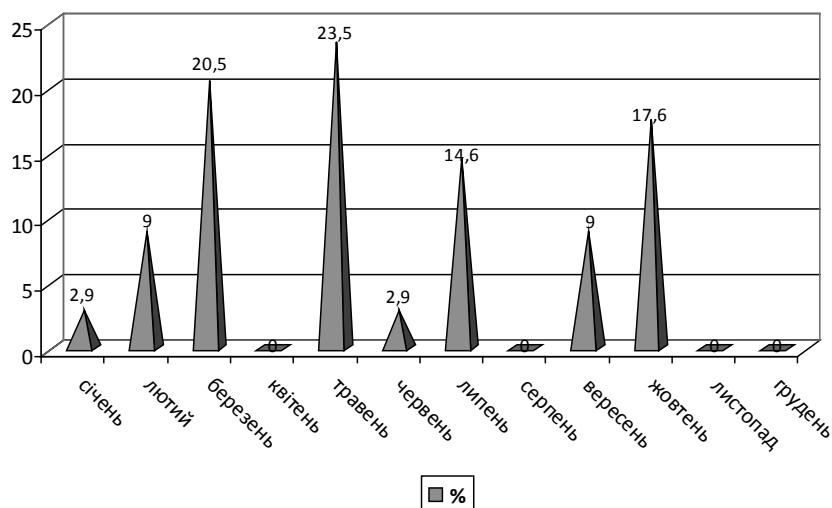


Рис. 2 Сезонна динаміка ізоляції культур аеромонад

На даному рисунку 2 відображено, що виділення культур було максимальним у травні – 23,5 %, березні – 20,5 %, жовтні – 17,6 %, що можливо пов'язане із більш сприятливими температурними умовами. За підсумками проведеної роботи можна зробити наступні висновки.

Висновки. 1. За період роботи виділено 34 культури мікроорганізмів роду *Aeromonas*, які є постійними мешканцями прісних водоймищ і спричиняють захворювання риб, відомі як аеромоноз (краснуха, геморагічна септицемія). Ізоляція *Aeromonas spp.* в морській воді і гідробіонтах може свідчити про екологічне неблагополуччя цих екосистем.

2. Аналізуючи динаміку ізоляції культур аеромонад по роках, можна відзначити, що максимальна кількість культур була в 2007-2008 рр. Виділення аеромонад з різних джерел свідчить про те, що проведення бактеріологічного моніторингу морських і прісноводних гідробіонтів є актуальним.

Список літератури

1. О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. Болезни пресноводных рыб./Киев, 2004.-С.73-82.
2. Ихтиопатология. Учебник под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Брауэра /М. «Мир», 2007.- С.3, 132-137, 139, 143.
3. М.Г. Наконечна, Н.Г. Сорокіна та ін. Вивчення впливу інфекційних хвороб прісноводних риб на якість і безпеку рибної продукції / Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник, випуск 85, Харків.- 2005. – С. 811-815.

THE DYNAMICS OF ISOLATION OF PATHOGENS *AEROMONAS* GENUS FROM AQUATIC ORGANISMS AND WATER OF MARINE WATERS AND FRESH WATERS OF CRIMEA

Gurina L. M.

National scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary medicine", Kharkiv

The article contains data of bacteriological monitoring and species composition of microorganisms of genus *Aeromonas* from the main commercial marine and freshwater fish and other aquatic organisms, widely-spread in the fresh waters of Crimea and in the Azov and the Black Seas. Their role in the emergence of infectious diseases of fish has been studied. Samples of marine and fresh water, as well as the bottom deposits have been studied. The results of the seasonal dynamics of *Aeromonas* are presented.

УДК 619:639.3.091:616-076

ДІАГНОСТИКА АЕРОМОНОЗУ РИБ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

Євтушенко А.В., Безкровна Н.В., Герілович А.П., Солодянкін О.С.

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

Важливе епізоотичне значення для аквакультури України мають інфекційні захворювання аеромонадної етіології – аеромоноз та фурункулез, які спричинені представниками родини *Aeromonadoceae* (*Vibrionaceae*), роду *Aeromonas*. Аеромоноз спричиняється патогенними штамми мікроорганізму *Aeromonas hydrophila* та характеризується запаленням шкіри, вогнищевими крововиливами, водяною, куйовдженням луски, екзофтальмією, гідратацією м'язів і внутрішніх органів. Фурункулез характеризується генералізованою септицемією, утворенням локальних ушкоджень (фурункулів, виразок), значними патологічними змінами у внутрішніх органах, швидким і коротким перебігом та супроводжується масовою загибеллю риб. Специфічним збудником фурункулезу є мікроорганізм *Aeromonas salmonicida* [1].

Діагностика захворювань проводиться комплексно, враховуючи епізоотологічні дані, клінічні ознаки, патологоанатомічні зміни, та засновується на результатах лабораторних досліджень. Для підтвердження етіології захворювання необхідно виділити збудника із організму риб, ідентифікувати його за культурально-морфологічними, антигенними та біологічними властивостями, відтворити захворювання в експерименті на рибах з подальшою реізоляцією збудника. Мікроорганізмам роду *Aeromonas* властива фенотипова гетерогенність, тому визначення видової належності виділених ізолятів є достатньо складним процесом. Помилка при постановці діагнозу стає причиною неправильного вибору комплексу лікувально-профілактичних заходів і, як наслідок, призводить до погіршення епізоотичної ситуації. На даний час проблема щодо розробки нових методів експрес-діагностики бактеріальних захворювань риб постає особливо гостро.

Основною перевагою ПЛР є можливість ідентифікації біологічних об'єктів з достовірністю до 99 %, внаслідок видової унікальності нуклеотидних послідовностей. В останні роки, у зв'язку з розвитком технологій секвенування ДНК та біотехнологій отримання рекомбінантної полімерази, ПЛР стала рутинним та широко розповсюдженим методом лабораторних досліджень [2, 3].

Для діагностики інфекцій аеромонадної етіології за допомогою ПЛР як мішень використовують специфічні локуси 16S рибосомної ДНК мікроорганізмів роду *Aeromonas*. Факторами вірулентності мікроорганізмів даного роду є пілі, гемаглютиніни, ліпополісахариди і протеїни зовнішньої мембрани, а також гемолізін, цитотоксин, ентеротоксин, еластаза, ліпаза, ацетілхолінестераза, які продукуються мікроорганізмами. За допомогою молекулярно-генетичних методів усі гени вірулентності *Aeromonas spp.* об'єднані в три групи – гени, що детермінують синтез аеролізін-гемолізінів, гени, які детермінують синтез цитолітичних ентеротоксинів та гени, що детермінують синтез цитотонічних ентеротоксинів. Детекція детермінант вірулентності робить можливим диференціацію саме патогенних ізолятів *Aeromonas spp.* [4-7].

Метою нашої роботи було проведення детекції мікроорганізмів роду *Aeromonas* та диференціація патогенних ізолятів *Aeromonas spp.* на основі молекулярно-генетичних маркерів.

Матеріали і методи. Екстракцію сумарної ДНК з референтних штамів мікроорганізмів роду *Aeromonas* та музейних ізолятів проводили за розробленим нами протоколом із застосуванням розчину гуанідину тіоціонату.

Вибір оптимального протоколу ампліфікації здійснювали шляхом варіювання температури відпалу праймерів в межах (52-62) °С, концентрації іонів магнію, кількості циклів ампліфікації.

Результати ампліфікації візуалізували у 1,5 % агарозному гелі в ультрафіолетовому світлі.

Результати досліджень. У результаті ретельного аналізу значного масиву літературних даних для детекції загальнородової,