

## Розділ 2. Епізоотологія та інфекційні хвороби

УДК 619:616.90:579.862:636.2

### Етіологічне значення ентерококів та їх біологічні властивості у розвитку інфекційних захворювань великої рогатої худоби

Гадзевич Д.В., Дунаєв Ю.К., Гадзевич О.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті викладені результати бактеріологічних досліджень патологічного матеріалу від великої рогатої худоби. Показано, що в умовах інтенсивного ведення тваринництва суттєвого значення набуває асоціативний перебіг інфекційних захворювань, у виникненні й ускладненні яких у 37,8 % випадків приймають участь ентерококи. За результатами досліджень охарактеризовано, що отримані епізоотичні культури *Enterococcus faecalis* мають стабільні культурально-морфологічні властивості та високу антигенну та імуногенну активність і можуть бути використанні у виробництві імунобіологічних препаратів.

**Ключові слова:** ентерококи, антибіотикорезистентність, культурально-морфологічні, імуногенні та антигенні властивості.

Тривалий час ентерококи вважали безпечними комменсалами шлунково-кишкового тракту людини та тварин. Кардинальні зміни уявлення щодо ентерококів відбулися в 1980 році, коли був виявлений високий рівень стійкості бактерій роду *Enterococcus* до ампіциліну. Ці події відразу перемістили ентерококи в групу грампозитивних умовно-патогенних мікроорганізмів із множинною стійкістю до антибіотиків, здатних викликати аутоінфекції, а в разі накопичення в довкіллі – приводити до екзогенного інфікування [1, 2, 3]. Таким чином ентерококи є значною постійною загрозою виникнення вогнища інфекції майже у всіх органах і системах організму; характеризуються природною резистентністю до впливу фізико-хімічних факторів й антибактеріальних хіміопрепаратів, а також здатністю до легкого набуття, накопичення й розмноження позахромосомного генетичного матеріалу, що кодує ознаки резистентності до антибіотиків. Це надає ентерококам високу здатність до виживання в стресових умовах навколишнього середовища в місцях їх локалізації та підкреслює зростаюче значення даних мікроорганізмів як етіологічних факторів інфекцій різної локалізації [1, 4, 5].

Враховуючи вищенаведене, вважаємо, що актуальним є визначення етіологічного значення ентерококів у інфекційній патології великої рогатої худоби, отримання епізоотично-актуальних для тваринницьких господарств України культур ентерококів із стабільними культурально-морфологічними, антигенними та імуногенними властивостями та впровадження засобів профілактики захворювань викликаних цими збудниками.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили впродовж 2011–2013 рр. в лабораторії вивчення бактеріальних хвороб рогатої худоби ННЦ «ІЕКВМ». Діагностику захворювання в усіх випадках проводили комплексно на підставі епізоотологічних, клініко-анамнестичних, патологоанатомічних, бактеріологічних і серологічних досліджень. Бактеріологічні та серологічні дослідження проводили загальноприйнятими в мікробіології методами [6, 7, 8]. Для визначення причетності виділених мікроорганізмів до розвитку захворювань, враховували особливості їх біологічних властивостей та наявність факторів патогенності (гемолітичну, лецитиназну, адгезивну та антагоністичну активність, резистентність до антибіотиків, ступень патогенності) загальноприйнятими в мікробіології методами [6, 7, 8]. Для вивчення вірулентних, антигенних та імуногенних властивостей ентерококів використовували лабораторних тварин. LD<sub>50</sub> (летальна доза, що викликає загибель 50 % тварин) і ІмД<sub>50</sub> (імунологічна доза, що викликає захист 50 % тварин) розраховували за методикою Кербера в модифікації Ашмаріна [9]. Антигенну активність вивчали шляхом щеплення тварин виділеними мікроорганізмами після їх інактивації. Для оцінки рівня специфічних антитіл у сироватках крові тварин після щеплення застосовували реакцію аглютинації (РА).

**Результати досліджень.** За результатами проведених досліджень патологічного матеріалу від телят, хворих на пневмоентерити та корів, хворих на ендометрити і мастити, було встановлено, що в умовах інтенсивного ведення тваринництва суттєвого значення набуває асоціативний перебіг інфекцій. У виникненні та ускладненні асоціативних захворювань приймають участь різні умовно-патогенні мікроорганізми, зокрема ентерококи.

У таблиці 1 наведені результати бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу від телят і корів, де були враховані тільки ті мікроорганізми, що мали фактори патогенності або були патогенними для лабораторних тварин.

Таблиця 1 – Результати ізоляції з патологічного матеріалу та ентерококів

Назва мікроорганізму	Вид матеріалу	Кількість проб	Кількість позитивних проб (%)
<i>Enterococcus</i>	паренхіматозні органи від телят, хворих на пневмоентерити	286	99 (34,6 %)
	секрет з молочної залози від корів, хворих на мастити	115	43 (37,4 %)
	ексудат з піхви від корів, хворих на ендометрити	126	57 (45,2 %)
Всього ізольовано ентерококів		527	199 (37,8 %)

Таким чином, патогенні види ентерококів виділяли з паренхіматозних органів телят, хворих на пневмоентерити в 34,6 % випадках, із проб молока, хворих на мастити корів у 37,4 %, з піхви корів, хворих на ендометрити в 45,2 % випадках. Наведені дані свідчать про вагому участь ентерококів у розвитку та ускладненні захворювань у тварин. Взагалі мікроорганізми роду *Enterococcus* були виділені в 199 випадках (37,8 %), з них у 86,5 % випадках ізолювали в різних асоціаціях з іншими збудниками інфекційних захворювань.

Етіологічна структура ентерококів, ізольованих від телят, хворих на пневмоентерити, була представлена 3 видами (рис. 1): *E. faecalis* – 73 % (72 культури), *E. faecium* – 19 % (19 культур), *E. durans* – 8 % (8 культур).

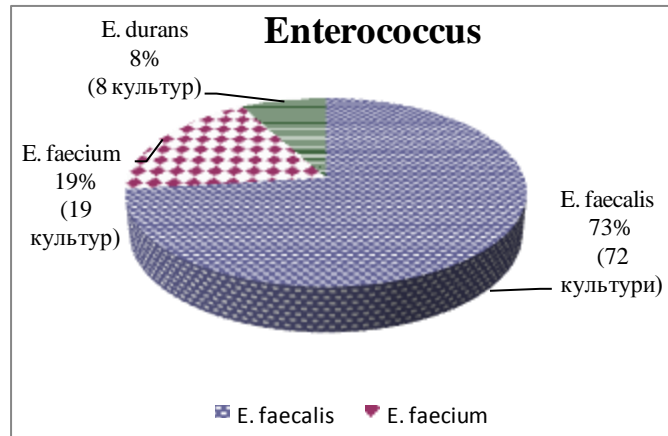


Рис. 1. Видовий склад ентерококів, ізольованих від телят, хворих на шлунково-кишкові та респіраторні захворювання

Етіологічна структура ентерококів, ізольованих з молока хворих на мастит корів, була представлена 2 видами (рис. 2): *E. faecalis* 79 % (34 культури) та *E. faecium* 21 % (9 культур).

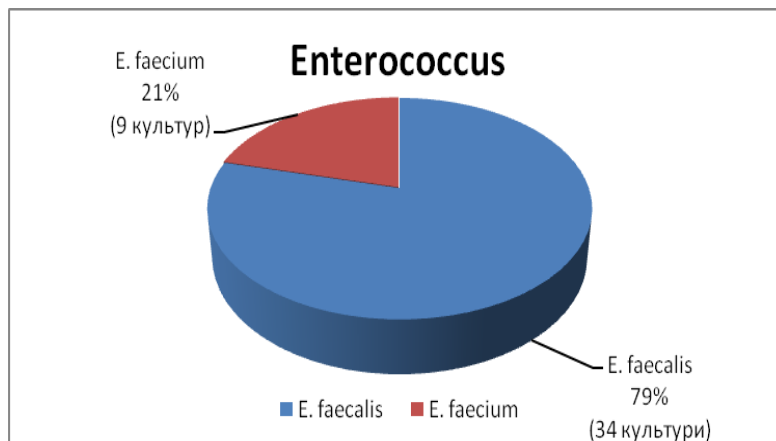


Рис. 2. Видовий склад ентерококів, ізольованих від корів, хворих на мастит

Видовий склад ентерококів, ізольованих від хворих на ендометрит корів, був представлений 3 видами (рис. 3): *E. faecalis* – 42 культури, *E. faecium* – 11 культур, *E. durans* – 4 культури.

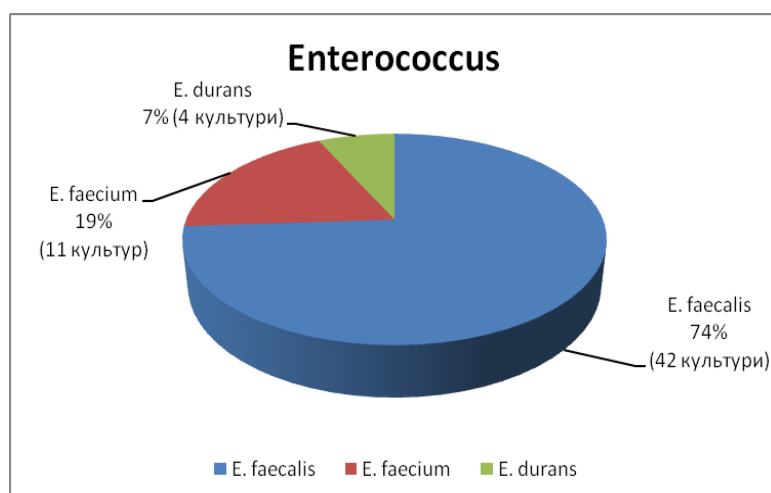


Рис. 3. Видовий склад ентерококів, ізольованих від корів, хворих на ендометрит

За результатами досліджень було встановлено, що провідна роль у виникненні інфекційних захворювань у тварин належить *Enterococcus faecalis*, який має високу антибіотикорезистентність. У кількісному співвідношенні, найбільшу резистентність *Enterococcus faecalis* мав до стрептоміцину (94,4 % резистентних культур), тетрацікліну (86,1 % резистентних культур), цефазоліну (97,2 % резистентних культур), трисульфону (100 % резистентних культур) і норфлораксацину (100 % резистентних культур). Висока антибіотикорезистентність ентерококів ускладнювала лікування та робила етіотропну терапію в більшості випадках малоефективною, що викликало необхідність винаходу альтернативного засобу лікування та профілактики інфекційних захворювань у тварин ентерококової етіології. Тому, для виробництва імунобіологічних препаратів було прийнято рішення відселекціонувати штами *Enterococcus faecalis* із стабільними культурально-морфологічними, антигенними та імуногенними властивостями.

У таблиці 2 наведені основні культурально-морфологічні властивості епізоотичних ізолятів *Enterococcus faecalis*.

Таблиця 2 – Результат вивчення культурально-біохімічних властивостей *Enterococcus faecalis* (n=148)

Найменування тесту	Результат				
	Позитивні		Негативні		
	абс.	%	абс.	%	
Латекс-аглютинація з стрептококовими сироватками	Серологічна група Д		-		
Тип гемолізу	α	99	67	-	-
	β	-	-	-	-
	γ	49	33	-	-
жовчно-ескуліновий тест	148	100	-	-	
здатність рости за температури 45 °С	148	100	-	-	
ріст у присутності 10 % NaCl	148	100	-	-	
ріст у присутності 40 % жовчі	148	100	-	-	
PIR-тест	148	100	-	-	
Редукція метиленового синього в молоці	148	100	-	-	
гідроліз ескуліну	148	100	-	-	
Ферментування з утворенням кислоти	цукрозу	148	100	-	-
	лактозу	148	100	-	-
	соліцин	148	100	-	-
	трегалозу	148	100	-	-
	сорбітол	148	100	-	-
	манітол	148	100	-	-
	мальтозу	148	100	-	-
	глюкозу	148	100	-	-
	рафінозу	-	-	148	100
ксилозу	-	-	148	100	

Для вивчення вірулентних властивостей було відібрано 6 культур *Enterococcus faecalis*, що були патогенними для лабораторних тварин і мали типові, стабільні культурально-морфологічні властивості. Результати досліджень вірулентності 6 ізолятів *E. faecalis* наведені в таблиці 3.

**Таблиця 3** – Вірулентність ізолятів *Enterococcus faecalis* (n=6) за методом Кербера в модифікації Ашмаріна

№	Органи, з яких отримали культуру	Реєстраційне позначення культури	Мільйонів мікробних клітин	
			LD <sub>50</sub> КУО	M±m
1	Селезінка теляти, хворого на пневмоентерит	<i>E. faecalis</i> № 1	126	387 ± 83,6
2	Селезінка теляти, хворого на пневмоентерит	<i>E. faecalis</i> № 6	187	
3	Серце теляти, хворого на пневмоентерит	<i>E. faecalis</i> № 11	387	
4	Легені теляти, хворого на пневмоентерит	<i>E. faecalis</i> № 13	453	
5	Рідина з матки корови, хворої на ендометрит	<i>E. faecalis</i> № 14	489	
6	Секрет молочної залози корови, хворої на мастит	<i>E. faecalis</i> № 21	682	

За результатами досліджень встановлено, що за ступенем вірулентності культура *E. faecalis* № 1 була найбільш вірулентною, інфекційна доза, що викликала загибель 50 % тварин становила 126 мільйонів мікробних клітин.

Результати вивчення антигенних і імуногенних властивостей (табл. 4) показали, що всі випробовувані культури *E. faecalis* були імуногенними, створювали специфічний протективний захист у досліді на лабораторних тваринах.

**Таблиця 4** – Результати дослідження імуногенної та антигенної активності *Enterococcus faecalis* (n=3)

Культури, відібрані для досліді	Результати зараження мишей 5LD <sub>50</sub> через 14 діб після їх імунізації	Титр специфічних антитіл в РА	Імуногенні властивості (ID <sub>50</sub> ) млрд. КУО
<i>E. faecalis</i> № 1	100 % тварин вижило	1:512	0,324
<i>E. faecalis</i> № 6	100 % тварин вижило	1:512	0,468
<i>E. faecalis</i> № 13	100 % тварин вижило	1:256	0,403
<b>M±m</b>	<b>100%</b>	<b>1:427±85,3</b>	<b>0,398±0,04</b>

За результатами дослідів було встановлено, що при імунізації інактивованими антигенами *Enterococcus faecalis* у тварин відбувається напрацювання специфічних антитіл у титрах від 1:256 до 1:512 в РА. ID<sub>50</sub> *Enterococcus faecalis* була в межах від 0,324 до 0,468 млрд. КУО.

Відібрані штами *Enterococcus faecalis* мають типові культурально-морфологічні та високі антигенні та імуногенні властивості, тому можуть використовуватися для виготовлення біологічних препаратів.

**Перспективи подальших досліджень.** Одержані результати досліджень являються підставою для розробки та впровадження у виробництва імунобіологічних препаратів для профілактики та лікування ентерококових інфекцій тварин.

**Висновки.** 1. Встановлено, що в умовах інтенсивного ведення тваринництва суттєвого значення набуває асоціативний перебіг інфекційних захворювань, у виникненні й ускладненні яких приймають участь різні умовно-патогенні мікроорганізми, зокрема ентерококи, які ізолювали з патологічного матеріалу в 37,8 % випадків. Провідна роль у виникненні інфекційних захворювань у тварин належить *Enterococcus faecalis* який має високу антибіотикорезистентність.

2. За результатами досліджень були відселекціоновані культури *Enterococcus faecalis* із стабільними культурально-морфологічними, антигенними та імуногенними властивостями, що є перспективними для конструювання імунобіологічних препаратів.

#### Список літератури

1. Белобородов, В.Б. Резистентные грамположительные микроорганизмы: современные возможности и перспективы терапии [Текст] / В.Б. Белобородов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2004. – Т.6. – №1. – С. 88-122
2. Бондаренко, В.М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса. [Текст]: / В.М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1999. – №5. – С. 34-38.
3. Бухарин, О.В. Биология патогенных кокков. [Текст] / О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцев, О.Л. Карташова. – М.: Медицина, 2002. – 234 с.
4. *Вальшев, А.В.* Факторы патогенности энтерококков кишечной микрофлоры человека [Текст] А.В. Вальшев // Жур. Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2012. – №4. – С. 41-43. (20).

5. Турко, И.Б. Пути распространения стрептококковой и стафилококковой микрофлоры при мастите. [Текст]: / И.Б. Турко, В.И. Семанюк, Р.А. Пеленьо, А.В. Куляба // Научный вестник Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологии имени С.З. Гжицкого, 2010, – Том 12, – № 2 (44), –Часть 1, – С. 321-224.
6. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований [Текст]: А.С. Лабинская // М. «Медицина» – 1978. – 394 с.
7. Микробиологические и вирусологические исследования в ветеринарной медицине. Справочное пособие / А.Н. Головкин, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрипник, Б.Т. Стегний [и др.] Под ред. А.Н. Головкин. – Х. «НТМГ», 2007. – 512 с.
8. *Определитель бактерий Бердж* [Текст]: под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 1-2.
9. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. Государственное изд-во Медицинской литературы. – Л., 1962. – 177 с.

### ETIOLOGICAL SIGNIFICANCE ENTEROCOCCI AND THEIR BIOLOGICAL PROPERTIES IN THE DEVELOPMENT OF INFECTIOUS DISEASES OF CATTLE

Gadzevych D.V., Dunayev J.K., Gadzevych O.V.

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

*The article is devoted to the results of bacteriological tests of pathological material from cattle. It is shown that in the conditions of intensive livestock enterococci in 37.8 % of cases are associate members of infectious diseases. The results of the research described that the selected epizootic culture Enterococcus faecalis have a stable kulturalno-morphological properties and high antigenic and immunogenic activity and can be used in the manufacture of immunobiological preparations.*

Materials and methods. Research was carried out during 2011-2013 in the laboratory of studying bacterial diseases of cattle NSC "IECVM". Diagnosis in all cases conducted comprehensively on the basis of epidemiological, clinical and anamnestic, pathological, bacteriological and serological 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 (hemolytic, lecithinase, adgezivna and antagonistic activity, resistance to antibiotics, degree of pathogenicity) generally accepted in Microbiology methods [6, 7, 8].

The research results. The results of bacteriological researches it is established, that in infectious pathology in cattle participate Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium and Enterococcus durans. It is determined that the epizootic culture Enterococcus faecalis have high resistance to antibiotics. For the manufacture of immunobiological preparations were selected culture Enterococcus faecalis have stable cultural, morphological, antigenic and immunogenic properties.

**Keywordc:** enterococci, resistance to antibiotics, immunobiological and antagonistic activity.

УДК 619:579.887.111: 636.5

### МОНІТОРИНГ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ДИКОЇ ПТИЦІ ПІВДНЯ УКРАЇНИ

Глєбова К.В., Бобровицька І.А., Майборода О.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: katerinaglebova25@gmail.com

*Проведено моніторингові дослідження в місцях відпочинку та годівлі дикої птиці на території Півдня України. Встановлено, що дика водоплавна перелітна птиця є природним резервуаром збудників сальмонельозу, які є потенційно небезпечними не тільки для сільськогосподарської птиці, але і для людини. Сальмонели, ізольовані з природних осередків, стійкі до антибактерійних препаратів групи макролідів, пеніцилінів, тетрациклінів. Найбільша чутливість ізольованих культур сальмонел була виявлена до препаратів групи фторхінолонів, колістіну, флорфеніколу, гентаміцину. Своєчасний і систематичний моніторинг у місцях гніздування дикої перелітної птиці є необхідним для прогнозування епізоотичної ситуації щодо бактеріальних хвороб птиці на території України.*

**Ключові слова:** епізоотологічний моніторинг, сальмонельоз, дика перелітна птиця, бактеріальні хвороби птиці

У структурі спалахів інфекційних захворювань людини одне з провідних місць займають сальмонельози. В останні роки спостереження захворюваність людей на сальмонельоз в Україні становить до 11,8 % (за даними Національної доповіді про стан техногенної та природної безпеки в Україні в 2013 р.). Загальновідомо, що найчастіше збудник сальмонельозної інфекції потрапляє «з лану до столу» з продукцією птахівництва та скотарства. Незважаючи на існуючі попереджувальні заходи у птахівництві, щорічно в Україні реєструються випадки захворювання птиці яєчних і м'ясних кросів на сальмонельоз. Більшість сальмонел є патогенними як для тварин і птиці, так і для людини, але в епідеміологічному відношенні найбільше значення для людини мають лише кілька з них: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Panama*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Aagona*, *S. Derby*, *S. London* та деякі інші спричиняють 85–91 % випадків сальмонельозів. При цьому, на частку перших двох припадає 75 % всіх ізолятів, що виділяються в даний час від хворих людей [1, 5, 6]. Природним резервуаром збудників