

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПАТОГЕНІВ, ЩО СПРИЧИНЯЛИ ЕКОНОМІЧНО ЗНАЧИМІ ЗАХВОРЮВАННЯ ТВАРИН У СКОТАРСЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2016 РОЦІ

Гадзевич Д. В., Гадзевич О. В.

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

*У статті наведені результати аналізу епізоотологічних і бактеріологічних досліджень щодо розповсюдження та небезпеки бактеріальних патогенів, які спричиняли у скотарських господарствах України у 2016 р. економічно значимі бактеріологічні захворювання тварин (пневмоентерити, післяпологові ендометрити та мастити). Зазначено, що збудники ешерихіозу (*E. coli*), стрепто-, ентеро- та стафілококових інфекцій та псевдомону (*Pseudomonas aeruginosa*), які ізолювали у скотарських господарствах України, мали виражені фактори патогенності (високу вірулентність, адгезивну активність), полірезистентність до антибактеріальних препаратів.*

Ключові слова: економічно значимі захворювання тварин, збудники стрепто-, ентеро- та стафілококових інфекцій, псевдомоноз, біологічні властивості, антибіотикорезистентність, велика рогата худоба

Головним пріоритетом ветеринарної науки і практики має бути збереження стійкого благополуччя тваринництва щодо інфекційних захворювань, зокрема й економічно значимих. Адже стійке благополуччя у тваринництві має першорядне значення не тільки при забезпеченні стабільної епізоотичної ситуації у тваринницьких господарствах і біологічної безпеки у галузі тваринництва, а також для отримання безпечної продовольчої сировини та якісної продукції тваринництва, для забезпечення стабільно-благополучної санітарно-епідеміологічної ситуації в регіонах і біологічної безпеки у країні в цілому.

Основними причинами небезпеки виникнення бактеріальних економічно значимих захворювань тварин є: широке розповсюдження збудників бактеріальних захворювань у скотарських господарствах України серед сприйнятливих тварин, бактеріоносіїв і зовнішньому середовищі; значна стійкість патогенів, що спричиняють бактеріози, до дії різних несприятливих чинників і здатність тривалий час виживати в зовнішньому середовищі та в організмі тварин; наявність у збудників, що спричиняють захворювання, безліч факторів патогенності (починаючи від природних, генетично обумовлених – багаточарові оболонки, мікрокапсули, мікропіле; здатність до продукування ряду токсинів і ферментів, резистентність до деяких антибактеріальних препаратів; закінчуючи набутими факторами: полірезистентність до ряду антибактеріальних препаратів, здатність переносити несприятливі умови, утворювачі L-форми та біоплівки).

Метою дослідження було провести аналіз розповсюдження та біологічної небезпеки із визначенням факторів вірулентності та антибіотикорезистентності бактеріальних патогенів, що спричиняли пневмоентерити, ендометрити та мастити у тварин у 2016 році.

Матеріали та методи. Дослідження проводили в лабораторії вивчення бактеріальних хвороб рогатої худоби ННЦ «ІЕКВМ» у 2016 році. Для дослідження від хворих тварин (телят і корів) відбирався патологічний матеріал (паренхіматозні органи: легені, нирки, селезінка, печінка та серце; трубчасті кістки; секрет молочної залози, ексудат і зміви з піхви). Матеріал відбирали в 7 господарствах Харківської області, 4 – Донецької області, 6 – Полтавської області, 3 – Черкаської області, 2 – Чернігівської області. Діагностику захворювання в усіх випадках проводили комплексно на підставі епізоотологічних, клініко-анамнестичних, патологоанатомічних і бактеріологічних досліджень [1–10]. 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 [3–7]. Ідентифікацію ізольованих культур до виду здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи» (1997) [9]. 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 [10]. Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків визначали методом дифузії в агарі за допомогою стандартних паперових дисків. Облік визначення чутливості мікрофлори до антибіотиків проводили за результатами підрахування величини діаметру зони затримки росту навколо дисків [3, 7]. Результати досліджень аналізували статистично за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 7.0. Для обробки отриманих даних проводили аналіз з використанням середніх значень (M) і відхилень (m). Оцінку вірогідності різниці між порівнюваними показниками визначали за допомогою t-критерію Стьюдента [11, 12].

Результати досліджень. Аналізуючи результати епізоотичного моніторингу щодо розповсюдження інфекційних захворювань бактеріальної етіології в скотарських господарствах України було встановлено, що в даний час має місце поширення захворювань, збудниками яких є ешерихії, стрептококи, стафілококи, ентерококи, псевдомонади та їх асоціації.

У молодняку продуктивних тварин зазначені збудники спричиняють пневмоентерити, а у дорослих тварин – ураження репродуктивних органів (мастити та ендометрити). У зв'язку з високою вірулентністю збудників та полірезистентністю до антибактеріальних препаратів етіотропна терапія, яку проводили лікарі господарств була малоефективною, що ускладнювало перебіг захворювань та негативно позначалося не тільки на епізоотичній ситуації, а й на економіці господарства. *E. coli* виділяли від хворих на пневмоентерит телят у 31,5 % випадків, від хворих на мастит корів у 27,3 % випадків, від хворих на ендометрит корів у 42 % випадків (рисунок 1).

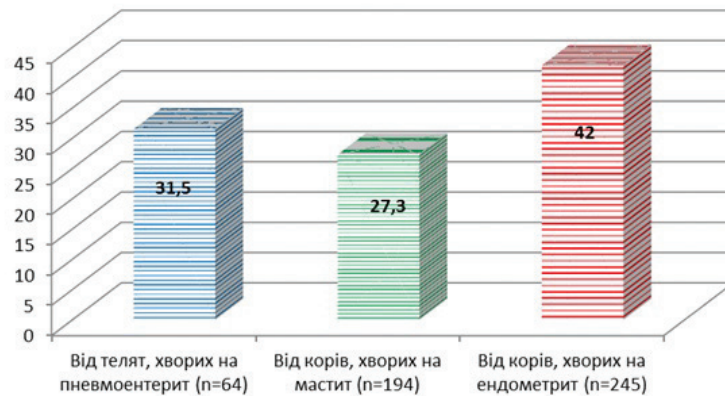


Рис. 1. Частота виділення від ВРХ *E. coli*

Стрептококи, стафілококи та ентерококи виділяли від хворих на пневмоентерит телят у 17,3; 7,2 та 14,6 % випадків відповідно, від хворих на мастит корів у 36,1; 40,2 та 28,9 % випадків відповідно, від хворих на ендометрит корів у 20,0; 6,5 та 23,7 % випадків відповідно (рисунок 2).

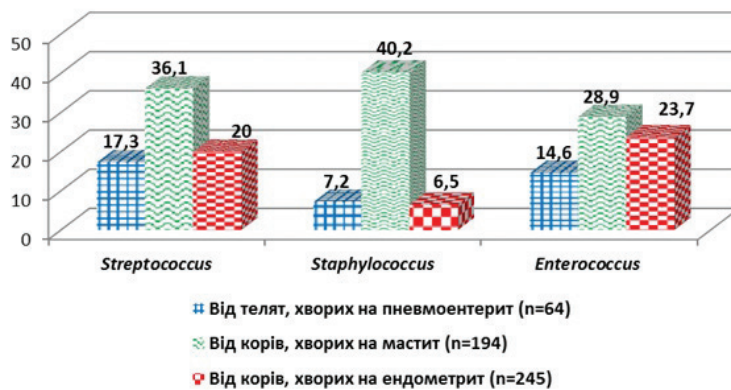


Рис. 2. Частота виділення від ВРХ мікроорганізмів родів *Streptococcus*, *Staphylococcus* та *Enterococcus*

Pseudomonas aeruginosa виділяли від хворих на пневмоентерит телят у 6,4 % випадків, від хворих на мастит корів у 6,7 % випадків, від хворих на ендометрит корів у 10,2 % випадків (рисунок 3).

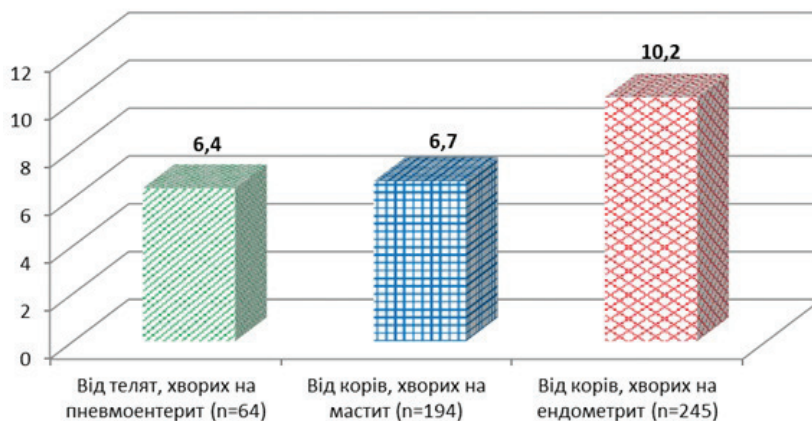


Рис. 3. Частота виділення від ВРХ *Pseudomonas aeruginosa*

Розділ 3. Епізоотологія та інфекційні хвороби

Для оцінки етіологічної значимості мікроорганізмів, виділених із патологічного матеріалу враховували рівень активності мікроорганізмів факторів патогенності.

E. coli (n=156), що були ізольовані від хворих тварин у 76,3% випадків мали гемолітичну активність, у 35,9% (56 культур) – були здатні продукувати фімбріальні адгезини (таблиця 1), зокрема F41 (23,2%) та Att25 (41,1%), інші (35,7%).

Таблиця 1 – Здатність культур ешерихій продукувати адгезини

Тип антигенів адгезії	Кількість культур (n=41)	
	абс.	%
K88	3	5,3
K88ab	2	3,6
K88ac	4	7,2
K88ad	3	5,3
K99	2	3,6
987P	6	10,7
Att25	23	41,1
F41	13	23,2

При вивченні токсигенних властивостей ешерихій встановлено, що 65 виділених культур були здатні до продукції термолабільного ентеротоксину. Крім того, епізоотичні культури *E. coli* з вираженими факторами патогенності проявляли високу стійкість до антибактеріальних препаратів цефалоспоринового ряду, аміноглікозидів, β-лактамів, фторхінолонів, тетрациклінів і макролідів. *E. coli* найбільшу резистентність проявляли до Окситетрацикліну – 87%, Тилозину – 82%, Амоксициліну – 64% та Стрептоміцину – 59% (рисунок 4).

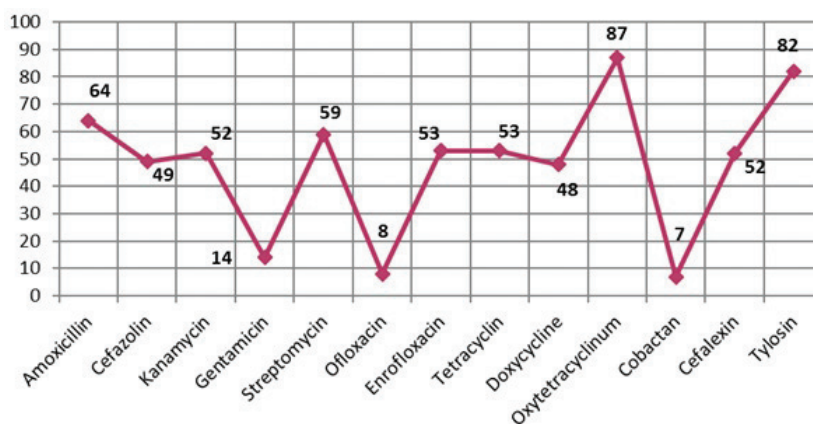


Рис. 4. Відсоток резистентності до антибактеріальних препаратів *E. coli*, що спричиняли мастити та ендометрити у скотарських господарствах

За результатами вивчення антибіотикочутливості стрептококів встановлено, що епізоотичні культури мали найбільшу резистентність до Енрофлоксацину, Стрептоміцину, Гентаміцину, Тетрацикліну, Тилозину та Колістіну. У кількісному співвідношенні, найменшу резистентність культури мали до Кобактану та Цефазоліну (рисунок 5).

Аналізуючи результати епізоотичного моніторингу минулих років можна зробити висновок, що відсоток ізоляції *E. coli* із адгезинами Att25 у 2016 році значно зріс, а відсоток ізоляції збудників сальмонельозу навпаки знизився (рисунок 6).

У одному господарстві Харківської області *E. coli* із фімбріальними адгезинами Att25 ізолювали від телят у монокультурі. У господарстві було зареєстровано тяжкий та масовий перебіг захворювання телят, який проявлявся розвитком пневмоентеритів. За результатом бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу від 5-ти телят монокультуру *E. coli* (Att25) ізолювали з серця, селезінки, печінки, нирок, лімфатичних вузлів, трубчастої кістки та крові. При вивченні біологічних властивостей епізоотичної культури було встановлено, що вона вірулентна для білих мишей, володіє типовими для *E. coli* культурально-морфологічними та біохімічними властивостями, має адгезивні (Att25), гемолітичні та ентеротоксигенні властивості. Чутливість культур (зона затримки росту в мм) до Офлоксацину становила (від 17 мм до 19 мм), Канаміцину – (від 12 мм до 14 мм), Енрофлоксацину – 0, Амоксициліну – 0, Цефалексину – 0, Цефазоліну – 0, Тетрацикліну – 0, Доксцикліну – 0, Гентаміцину – 10, Стрептоміцину – 0, Тилозину – 0, Еритроміцину – 0, Лінкоміцину – 0, Тіамуліну – 0.

З патологічного матеріалу від телят було виділено 14 епізоотичних культур роду *Salmonella* (рисунок 7).

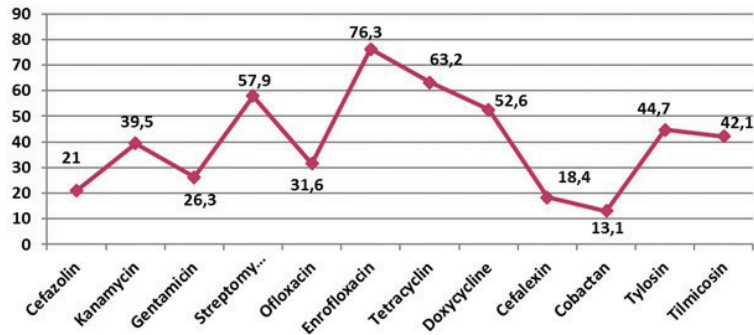


Рис. 5. Відсоток резистентності до антибактеріальних препаратів стрептококів, ізольованих від хворих тварин

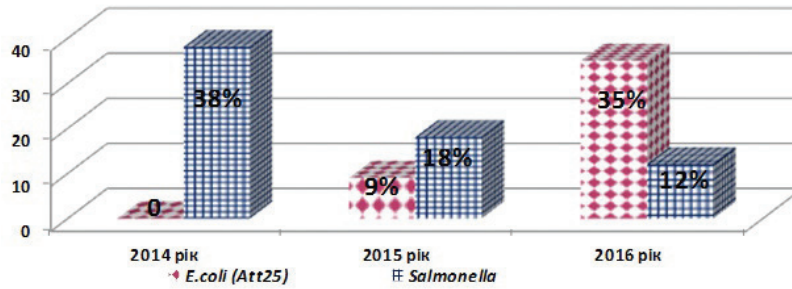


Рис. 6. Відсоток ізоляції збудників *E. coli* із фімбріальними адгезанами Att25 та збудників сальмонельозу (2014–2016 рр.)

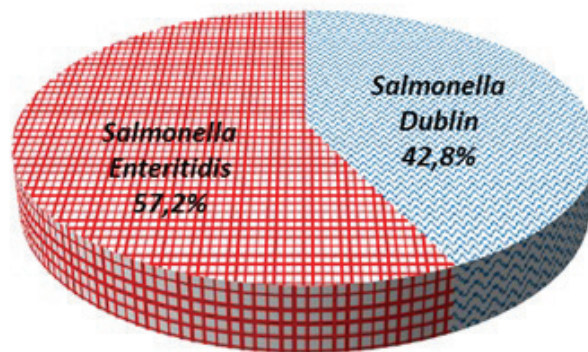


Рис. 7. Видовий склад мікроорганізмів роду *Salmonella*, що були виділені від телят

У 100 % випадках, ізольовані епізоотичні культури роду *Salmonella* були високорезистентними до препаратів цефалоспоринового ряду (від 21,4 % до 42,8 % резистентних культур), аміноглікозидів (від 14,3 % до 28,6 % резистентних культур), β-лактамів (21,4 % резистентних культур), фторхінолонів (від 14,3 % до 21,4 % резистентних культур).

Pseudomonas aeruginosa (n=38), які ізолювали від тварин, мали виражені фактори патогенності (високу адгезивну та антагоністичну активність, вірулентність та полірезистентність до антибактеріальних препаратів). Середній показник адгезії у виділених культур *Pseudomonas aeruginosa* був від (2,8±0,13) кл/ер. до (5,8±0,13) кл/ер. (середнє значення (4,8±0,2) кл/ер.). Епізоотичні культури *Pseudomonas aeruginosa* були високорезистентними до препаратів пеніцилінового ряду (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) %. Проаналізувавши отримані результати було встановлено, що 61,4 % епізоотичних культур *Pseudomonas aeruginosa* є полірезистентними, та проявляють одночасну резистентність більш ніж до 6 різних антибіотиків. Висока антибіотикорезистентність *Pseudomonas aeruginosa* ускладнювало лікування, етіотропна терапія була малоефективна, що викликало необхідність винаходу альтернативного засобу лікування та профілактики цього захворювання.

Було виявлено одне господарство, в якому впродовж року захворювання тварин спричиняли патогенні форми *Pseudomonas aeruginosa*. Виділені культури мали виражені фактори патогенності та високу резистентність до антибактеріальних препаратів. Зафіксовані випадки зараження телят від хворих корів. Лікування тварин було малоефективним. Одна високовірулентна культура *Pseudomonas aeruginosa*, була залишена в музеї лабораторії, яку в перспективі планується використати при розробці нових біопрепаратів. Були вивчені фактори патогенності виділеної культури (таблиця 2).

Таблиця 2 – Фактори патогенності виділеної культури *Pseudomonas aeruginosa*

№ з/п	Найменування тестів	Результат
1	Вегетація за температури 41°C	+
2	Пігмент піоціанін	+
3	Утворення слизу	+
4	Середній показник адгезії	5,8 кл/ер.
5	Вірулентні LD ₅₀ , мільйонів мікробних тіл	111,6
6	Чутливість до антибактеріальних препаратів:	Зона затримки росту, мм
	Амоксицилін	0
	Цефалексин	0
	Цефазолін	0
	Тетрациклін	0
	Окситетрациклін	0
	Доксициклін	0
	Гентаміцин	12
	Спектроміцин	0
	Енрофлоксацин	0
	Тилозин	0
	Тілмікозин	0
	Спираміцин	0
	Лінкоміцин	0
	Тіамулін	0
	Фторфенікол	0
	Сульфадимезин з Триметопримом	0
Цефтіфур	15	
Колестін	12	

Перспектива подальших досліджень. Отже, за результатами досліджень були отримані епізоотично-актуальні культури: *E. coli* із адгезинами F41 – 1 та *E. coli* із адгезинами Att25 – 1, *S. Enteritidis* – 1, *P. aeruginosa* – 1, які планується у перспективі використати у розробці нових біопрепаратів.

Висновки. 1. У хворих на ендометрит корів домінували мікроорганізми роду *Escherichia*, які були виділені в 42,0 % випадках, *Enterococcus* – 23,7 % та *Streptococcus* – 20,0 %. У хворих на мастит корів домінували мікроорганізми роду *Staphylococcus*, які були виділені у 40,2 % випадках, *Streptococcus* – 36,1 %, *Enterococcus* – 28,9 % та *Escherichia* – 27,3 %. Від хворих на пневмоентерит телят *E coli* виділяли у 31,5 % випадках, стрептококи, стафілококи та ентерококи виділяли в 17,3 %, 7,2 % та 14,6 % випадків відповідно.

2. Культури *E. coli*, що були ізольовані від хворих тварин, мали гемолітичну активність (76,3 %), були здатні продукувати фімбріальні адгезини (35,9 %), зокрема F41 (23,2 %) та Att25 (41,1 %), середній показник адгезії становив (4,6±0,3) кл/ер. Проявляли резистентність до Тіамуліну (91 %), Лінкоміцину (86 %), Окситетрацикліну (87 %), Тилозину (82 %), Амоксициліну (64 %) та Стрептоміцину (59 %).

3. *Pseudomonas aeruginosa*, які були ізольовані від тварин у 100 % випадків мали виражені фактори патогенності (високу адгезивну та антагоністичну активність, вірулентність та полірезистентність до антибактеріальних препаратів). Середній показник адгезії у виділених культур *Pseudomonas aeruginosa* був від (2,8±0,13) кл/ер. до (5,8±0,13) кл/ер.

Епізоотичні культури *Pseudomonas aeruginosa* були високорезистентними до препаратів пеніцилінового ряду ($90,8 \pm 2,5$) % резистентних ізолятів і тетрациклінового ряду ($87,7 \pm 2,0$) % резистентних ізолятів. Резистентність до препаратів цефалоспоринового ряду становила – ($65,3 \pm 7,2$) %, до макролідів – ($51,6 \pm 15,0$) %, до фторхінолонів – ($48,1 \pm 7,8$) %, до аміноглікозидів – ($31,7 \pm 3,5$) %.

4. *Salmonella* були високорезистентними до препаратів цефалоспоринового ряду (від 21,4 % до 42,8 % резистентних культур), аміноглікозидів (від 14,3 % до 28,6 % резистентних культур), β -лактамів (21,4 % резистентних культур) і фторхінолонів (від 14,3 % до 21,4 % резистентних культур).

Список літератури

1. Правила відбору зразків патологічного матеріалу, крові, кормів, води та пересилання їх для лабораторного дослідження [Текст] : затв. Головою Держ. деп. вет. медицини МСГП України, № 15-14/111 від 15.04.1997 р.
2. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики [Текст] : справ. / И. П. Кондрахин [и др.] ; под ред. В. Н. Сайтаниди. — М. : Колос, 2004. — 520 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. Джупина, С. И. Методы эпизоотологических исследований [Текст] : метод. реком. / С. И. Джупина, А. А. Колосов. — Новосибирск : СО РАСХН, 1991. — 60 с.
5. Салимов, В. А. Атлас. Патологоанатомическая и дифференциальная диагностика эшерихиозов, сальмонеллезов, пастереллезов, анаэробных энтеротоксимий, кандидамикоза, их ассоциаций и осложнений у молодняка сельскохозяйственных животных [Текст] / В. А. Салимов. — М. : Колос, 2001. — 76 с.
6. 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.
7. Методичні рекомендації щодо мікробіологічної діагностики стрептококозів тварин [Текст] : затв. Наук.-метод. радою Держ. вет. та фітосан. служби України (протокол № 1 від 21.12.2012 р.) / А. І. Завгородній, Д. В. Гадзевич, С. О. Гужвинська, О. В. Гадзевич. — Х., 2013. — 26 с.
8. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования [Текст] / Под ред. М.О. Биргера, 3-е изд. — М.: Медицина, 1982. — 464 с.
9. Определитель бактерий Берджи [Текст]: под ред. Дж. Хоулта [и др.]. — М.: Мир, 1997. — Т. 1-2.
10. Брилис, В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов [Текст]: В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер и др. // Лабораторное дело. — 1986. — №4. — С. 210-212.
11. Ашмарин, И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях / Государственное изд-во Медицинской литературы. Л., 1962. — 177 с.
12. Закс, Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976 - 598 с.

DISTRIBUTION AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIAL PATHOGENS CAUSING ECONOMICALLY IMPORTANT DISEASES OF ANIMALS IN CATTLE FARMS IN UKRAINE IN 2016

Gadzevych D. V., Gadzevych O. V.

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

Materials and methods. Research was carried 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, adhezivna and antagonistic activity, resistance to antibiotics, degree of pathogenicity) generally accepted in Microbiology methods [1–12].

The research results. Analyzing the results of monitoring of epizootic spread of infectious diseases of bacterial etiology in cattle farms in Ukraine, it was found that currently there is a spread of diseases, pathogens which are *Escherichia*, *streptococcus*, *staphylococcus*, *enterococcus*, *pseudomonas* and their associations. In young farm animals specified pathogens causing *pneumointerity* and in adult animals - damage reproductive organs (*mastitis* and *endometritis*). Due to the high virulence of pathogens and resistance to antibiotics treatment was ineffective, which hampered the progress of disease and a negative impact not only on the epizootic situation, but also on the economy sector.

Keywords: economically important diseases of animals, pathogens strepto-, entero- and staphylococcus infections, pseudomonosis, biological properties, antibiotic resistance, cattle