

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ СЕЛЕКТИВНОГО КОМПОНЕНТУ ЦЕФАЛЕКСИН У ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ КВА ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ КЛІНІЧНИХ ІЗОЛЯТІВ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

Гадзевич Д. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: d5195681@gmail.com

Бордетеліоз є висококонтагіозним інфекційним захворюванням сільськогосподарських та дрібних домашніх тварин, що викликається бактеріями виду *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*). Згідно даних наукової літератури та результатів наших попередніх досліджень бактеріологічний метод лабораторної діагностики бордетеліозу у нашій країні залишається основним діагностичним інструментом. Наші попередні дослідження свідчать, що ефективність проведення бактеріологічних досліджень та виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* з назофарингеального секрету збільшується при застосуванні казеїново-вугільного агару (КВА) із 5 % кров'ю і цефалексином. Метою нашої роботи було визначити як різні концентрації цефалексина в якості селективного компонента будуть впливати на ростову активність середовища КВА для первинного виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* та інтенсивність їх росту. Оптимальним є застосувати селективну добавку цефалексин в живильному середовищі КВА для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* в концентрації 4 мг/мл. Вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100мл був $5,99 \pm 0,34$ млрд, а показник ростової ефективності 599 умовних одиниць. А при застосуванні цефалексина в концентрації 6 мг/100мл вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА був $5,38 \pm 0,44^*$ млрд ($p \leq 0,05$), а показник ростової ефективності — 538 умовних одиниць, що на 10,35 % менше ніж вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100мл. Концентрація цефалексина в живильному середовищі КВА 6 мг/100мл і більше діє інгібуюче на ріст бордетел, тому таку концентрацію в середовище в якості селективної добавки застосовувати не можна. Результати досліджень свідчать, що застосування селективної добавки цефалексин в концентрації 4 мг/мл дозволяє скоротити термін виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* на 2–4 доби за рахунок пригнічення росту сторонньої назофарингеальної мікрофлори й суттєво спростити виділення чистої культури від хворих тварин

Ключові слова: бордетеліоз, *Bordetella bronchiseptica*, бактеріологічний метод, назофарингеальний секрет, трахеобронхіт, цефалексин, селективні компоненти

Бордетеліоз є висококонтагіозним інфекційним захворюванням сільськогосподарських та дрібних домашніх тварин, що викликається бактеріями виду *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*) [1, 2, 3, 4]. У природних умовах *B. bronchiseptica* частіше інфікує собак, котів та свиней. До захворювання сприйнятливі тварини усіх вікових груп, але найвища захворюваність серед собак і котів до року, свиней до 4-місячного віку. Тяжкість захворювання пов'язана з присутністю у *B. bronchiseptica* факторів патогенності: адгезинів (філаментозного гемаглютиніна, пертактину і фімбрій) та токсинів (дерманекротичного, аденілатциклази-гемолізіну та ліпополісахариду) [5, 6]. *B. bronchiseptica* є збудником хронічних і досить часто асимптоматичних інфекцій респіраторного тракту тварин, що дуже ускладнює діагностику, профілактику та лікування захворювання [1, 4, 7].

Згідно даних наукової літератури та результатів наших попередніх досліджень бактеріологічний метод лабораторної діагностики бордетеліозу у нашій країні залишається основним діагностичним інструментом. Він доступний і традиційний для більшості вітчизняних лабораторій і фахівців та у нашій країні залишається «золотим стандартом» лабораторної діагностики бордетеліозу. Дозволяє не тільки остаточно встановити діагноз на бордетеліоз, но також ізолювати чисту культуру *B. bronchiseptic* для постановки біопроби на чутливих

біологічних моделях та встановити чутливість мікроорганізму до антибактеріальних препаратів. Однак бактеріологічний метод лабораторної діагностики бордетеліозу має і недоліки. В першу чергу це складність та тривалість проведення бактеріологічних досліджень. Остаточний результат можна отримати щонайменше через 5-9 діб від початку досліджень. Тривалість та низька ефективність бактеріологічних досліджень обумовлені контамінацією досліджуваного матеріалу іншими мікроорганізмами [1, 2, 7]. Деякі автори рекомендують для пригнічення небажаного росту сторонньої мікрофлори в живильне середовище додавати в якості селективних компонентів пеніцилін, метицилін, стрептоміцин, ністатин, амфотерицин В, спектиноміцин, циклогексिमід, канаміцин, цефалексин та інші [3, 6, 7]. Селективні компоненти інгібують зростання супутньої носоглоткової мікрофлори і не впливають на висівання бордетел.

Наші попередні дослідження свідчать, що ефективність проведення бактеріологічних досліджень та виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* з назофарингеального секрету збільшується при застосуванні казеїново-вугільного агару (КВА) із 5 % кров'ю і цефалексином. Застосування цефалексину в якості селективного компонента в поживних середовищах дозволило нам збільшити ефективність та скоротити тривалість бактеріологічних досліджень на 2-4 доби за рахунок пригнічення росту сторонньої назофарингеальної мікрофлори й суттєво спростити виділення чистої культури з назофарингеального секрету хворих тварин. Цефалексин використовували в кількості 4 мг/100мл шляхом внесення в середовища КВА, як рекомендується в методичних вказівках з мікробіологічної діагностики кашлюку та паракашлюку [8]. Однак, в доступній науковій літературі ми не знайшли чіткої інформації, як різні концентрації цефалексину, в якості селективної добавки, впливають на ефективність виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* та інтенсивність їх росту. Тому **метою** нашої роботи було визначити як різні концентрації цефалексину в якості селективного компонента будуть впливати на ростову активність середовища КВА для первинного виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* та інтенсивність їх росту.

Матеріали і методи. Для оцінки ефективності застосування селективної добавки цефалексин в живильному середовищі КВА із 5 % кров'ю для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* проводили якісний тест згідно методики рекомендованої в методичних вказівках з мікробіологічної діагностики кашлюку та паракашлюку [8]. По-перше робили серійні розведення музейних штамів *B. bronchiseptica* та культур клінічних ізолятів *B. bronchiseptica*. У роботі було використано 2 штами *B. bronchiseptica* (№ 16К та № 16-БК), які зберігаються в музеї культур мікроорганізмів ННЦ «ІЕКВМ» та 4 клінічних ізолятів *B. bronchiseptica*, щойно виділених з назофарингеального секрету хворих на бордетеліоз собак. Готували окремий ряд з 8 стерильних пробірок для кожного штаму (ізоляту) *B. bronchiseptica*. Після чого робили по 8 різних розведень суспензії 1-добових культур *B. bronchiseptica*. Густина суспензії культур в 1 пробірці відповідала 5 млрд. мікробних тіл у 1 мл за стандартом мутності. У 2-6 пробірки кожного ряду вносили по 4,5 мл стерильного фізіологічного розчину, у 7-му вносили по 2 мл і в 8-му — по 1 мл фізіологічного розчину.

Для тестування використовували КВА із 5 % кров'ю і цефалексином в концентраціях: 2 мг/100мл, 4 мг/100мл, 6 мг/100мл, 8 мг/100мл та 10 мг/100мл. Цефалексин вносили в середовище КВА методом, як рекомендується в методичних вказівках з мікробіологічної діагностики кашлюку та паракашлюку [8]. Після застигання агару поверхню чашок Петрі з КВА із 5 % кров'ю і цефалексином кожної випробуваної концентрації ділили на 8 секторів: 0,5 мл суспензії з 1 пробірки переносили стерильною піпеткою в 2-у пробірку і цією ж піпеткою наносили 0,1 мл суспензії на сектор 1. Іншою стерильною піпеткою перемішували вміст другої пробірки, переносили із неї 0,5 мл у 3-ю пробірку і 0,1 мл наносили на сектор 2 і т. д. Для кожного розведення застосовували окрему стерильну піпетку, перемішуючи нею вміст пробірки. У 8-му пробірку переносили із 7-ої 1 мл суспензії, також перемішуючи стерильною піпеткою і наносили 0,1 мл на сектор 8. Таким чином проводили серійні розведення усіх штамів та клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* та переносили по 0,1 мл суспензії розведених культур на сектора чашок Петрі з КВА із 5 % кров'ю і цефалексином кожної випробуваної концентрації.

Чашки Петрі обережно, кришкою догори (щоб краплі не злилися), ставили у термостат і витримують впродовж 24 годин. Вважали, що випробувана концентрація цефалексину в середовищі не пригнічує ріст бордетел якщо на перших трьох секторах ріст мав вигляд суцільних бляшок, на секторах 4, 5 і 6 виростали близько розташовані колонії, а на секторах 7 і

8 — невелика кількість ізольованих колоній. Якщо немає росту на останніх двох секторах, то вважали випробувана концентрація цефалексину діє інгібуюче та таку концентрацію в середовище застосовувати не можна.

Для оцінки ефективності застосування селективної добавки цефалексин в живильному середовищі КВА із 5 % кров'ю для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* також проводили кількісний тест. З цією метою визначали показник ростової ефективності середовища. Показник ростової ефективності середовища — вихід мікробних клітин з 1 мл живильного середовища (в млрд/мл) та збільшення числа мікроорганізмів відносно засіяної кількості мікробних клітин. Оцінку якості середовища КВА із 5 % кров'ю для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* за показником ростової ефективності проводили шляхом визначення концентрації мікробних клітин у середовищі після відповідної інкубації. В якості тест-об'єктів у роботі було використано 2 штами *B. bronchiseptica* (№ 16К та № 16-БК), які зберігаються в музеї культур мікроорганізмів ННЦ «ІЕКВМ» та 4 клінічних ізолятів *B. bronchiseptica*, щойно виділених з назофарингеального секрету хворих на бордетеліоз собак.

Для щільного середовища КВА із 5 % кров'ю для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* показник ростової ефективності визначали за такою методикою: (18–20)-годинну культуру *B. bronchiseptica* змивали із щільного середовища КВА 0,9 %-м розчином натрію хлориду та завись доводили до 1 млрд/мл за стандартом каламутності. Отриману завись розводили 0,9 % розчином натрію хлориду в 2 рази, що відповідало приблизно 500 млн мікробних клітин в 1 мл, і висівали по 0,1 мл (50 млн м.к.) на пробірки з середовища КВА з цефалексином в концентраціях: 2 мг/100мл, 4 мг/100мл, 6 мг/100мл, 8 мг/100мл, 10 мг/100мл. Середовище КВА вносили в пробірки по 5 мл та скошували таким чином, щоб у нижній частині пробірки не було стовпчика. На кожну випробувану концентрацію цефалексину використовували по 4 пробірки з середовищем КВА.

Через 20 год інкубації за умов культивування 37 °С культуру повністю змивали з поверхні середовища 2,5 мл 0,9 % розчину хлориду натрію, переносили у стандартну пробірку з набору визначення каламутності і додавали такий обсяг 0,9 % розчину натрію хлориду, щоб отримана суспензія відповідала 1 млрд/мл за стандартним зразком каламутності (10⁹ м.к./мл). З врахуванням рівня розведення визначали вихід мікробних клітин (млрд) з 1 мл середовища.

Ростову ефективність середовища КВА з різними концентраціями цефалексину визначали за формулою: $EP = D \times Z/G$,

де EP — показник ростової ефективності; D — об'єм середовища КВА в пробірці (5 мл в нашому випадку); Z — ступінь розведення суспензії культури до вмісту 1 млрд мікробних тіл в мл (10⁹ м.к./мл за стандартом каламутності); G — початкова посівна концентрація мікроорганізмів (в нашому випадку 50 млн м.к в 0,1 мл).

Наприклад: змивали культуру з 5 мл середовища КВА 2,5 мл 0,9% розчину хлориду натрію, тобто на 1 мл середовища КВА припадало 0,5 мл суспензії культури. Для розведення 0,5 мл суспензії культури до вмісту 1 млрд мікробних тіл (10⁹ м.к./мл за стандартом каламутності) пішло 3,5 мл 0,9 % розчину хлориду натрію. Отже, в пробірці міститься 3,5 мл 0,9 % розчину хлориду натрію плюс 0,5 суспензії культури, тобто всього 4,0 мл мікробної суспензії з концентрацією 1 млрд м.к./мл, ступінь розведення становив 8 (4/0,5), а вихід мікробних клітин з 1 мл середовища КВА становив відповідно 8 млрд. Показник ростової ефективності (EP) — 800 умовних одиниць (5 x 8 млрд/50 млн).

Результати досліджень. Як свідчать дані таблиці 1, оптимальним є застосувати селективну добавку цефалексин в живильному середовищі КВА із 5 % кров'ю для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* в концентрації 4 мг/мл. Концентрація цефалексину в живильному середовищі КВА 6 мг/100мл і більше діє інгібуюче на ріст бордетел, тому таку концентрацію в середовище в якості селективної добавки застосовувати не можна.

За результатами кількісного тесту оцінки ефективності застосування селективної добавки цефалексин в живильному середовищі КВА також встановлено, що оптимальним є застосувати селективну добавку цефалексин в живильному середовищі КВА для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* в концентрації 4 мг/мл. Не встановлено статистично вірогідної різниці виходу мікробних клітин штамів (ізолятів) *B. bronchiseptica* із середовища КВА з цефалексином в концентрації 4 мг/100мл порівняно з виходом мікробних клітин із середовища КВА без цефалексину (контроль).

Таблиця 1 — Якісний тест визначення ефективності застосування селективної добавки цефалексин в живильному середовищі КВА

Позначення штаму (ізоляту) <i>B. bronchiseptica</i>	Випробувана концентрація цефалексину, мг/100 мл	Характер росту бордетел на чашках Петрі, що поділені на 8 секторів								
		Сектор № 1	Сектор № 2	Сектор № 3	Сектор № 4	Сектор № 5	Сектор № 6	Сектор № 7	Сектор № 8	
№ 16К	2							+		
	4	+++			++					
	6							+	-	
	8	+++	+		-					
	10	++	+	-						
№ 16-БК	2				++			+		
	4	+++								
	6				++	+	-			
	8	+++	+		-					
	10	++	+	-						
Ізолят № 1	2				++			+		
	4	+++								
	6	+++		++		+	-			
	8	+++	+		-					
	10	+			-					
Ізолят № 2	2				++			+		
	4	+++								
	6	+++		++		+	-			
	8	+++	+		-					
	10	++	+		-					
Ізолят № 3	2				++			+		
	4	+++								
	6	+++		++		+	-			
	8	+++	+		-					
	10	++	+		-					
Ізолят № 4	2				++			+		
	4	+++								
	6	+++		++		+	-			
	8	+++	+		-					
	10	++	+		-					

Примітки: «-» — немає росту, «+» — ріст у вигляді невеликої кількості ізольованих колоній, «++» — ріст у вигляді близько розташованих ізольованих колоній, «+++» — ріст у вигляді суцільних бляшок.

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

Так, вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100мл був $5,99 \pm 0,34$ млрд, а показник ростової ефективності 599 умовних одиниць. А при застосуванні цефалексина в концентрації 6 мг/100мл вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА був $5,37 \pm 0,44$ млрд ($p \leq 0,05$), а показник ростової ефективності — 537 умовних одиниць, що на 10,35 % менше ніж вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100м.

Згідно з даними таблиці 2, видно, що цефалексин в концентрації 10мг/100мл дуже сильно пригнічує ріст мікробних клітин. При застосуванні цефалексина в концентрації 10 мг/100мл вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА був $2,56 \pm 0,33$ млрд ($p \leq 0,001$), а показник ростової ефективності — 256 умовних одиниць, що на 57,26 % менше ніж вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К із середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100м.

Таблиця 2 — Кількісний тест оцінки ефективності застосування селективної добавки цефалексин в живильному середовищі КВА

Позначення штаму (ізоляту) <i>B. bronchiseptica</i>	Випробувана концентрація цефалексина	Вихід мікробних клітин з 1 мл середовища КВА, млрд	Показник ростової ефективності, умовних одиниць
№ 16К	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	$6,46 \pm 0,25$	646
	2 мг/100 мл	$6,18 \pm 0,31$	618
	4 мг/100 мл	$5,99 \pm 0,34$	599
	6 мг/100 мл	$5,37 \pm 0,44^*$	537
	8 мг/100 мл	$4,68 \pm 0,21^{**}$	468
	10 мг/100 мл	$2,56 \pm 0,33^{***}$	256
№ 16-БК	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	$6,21 \pm 0,23$	621
	2 мг/100 мл	$5,99 \pm 0,28$	599
	4 мг/100 мл	$5,78 \pm 0,29$	578
	6 мг/100 мл	$5,20 \pm 0,15^*$	520
	8 мг/100 мл	$4,47 \pm 0,50^{**}$	447
	10 мг/100 мл	$2,88 \pm 0,48^{***}$	288
Ізолят 1	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	5,9;6,02;5,21;5,63 $5,94 \pm 0,12$	594
	2 мг/100 мл	575;590;602;555 $5,81 \pm 0,11$	581
	4 мг/100 мл	575;590;533;5 $5,49 \pm 0,21$	549
	6 мг/100 мл	4,6;560;480;5,2 $5,05 \pm 0,22^*$	505
	8 мг/100 мл	460,500,480,530 $4,93 \pm 0,14^{**}$	493
	10 мг/100 мл	224,260,238,298 $2,55 \pm 0,16^{***}$	255

Продовження табл. 2

Позначення штаму (ізоляту) <i>B. bronchiseptica</i>	Випробувана концентрація цефалексина	Вихід мікробних клітин з 1 мл середовища КВА, млрд	Показник ростової ефективності, умовних одиниць
Ізолят 2	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	5,08 ± 0,11	508
	2 мг/100 мл	4,91 ± 0,96	491
	4 мг/100 мл	4,78 ± 0,09	478
	6 мг/100 мл	4,41 ± 0,75**	441
	8 мг/100 мл	3,96 ± 0,14***	396
	10 мг/100 мл	1,96 ± 0,11***	196
Ізолят 3	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	4,72 ± 0,19	472
	2 мг/100 мл	4,50 ± 0,18	450
	4 мг/100 мл	4,36 ± 0,19	436
	6 мг/100 мл	4,05 ± 0,27*	405
	8 мг/100 мл	3,6 ± 0,23**	360
	10 мг/100 мл	1,96 ± 0,11***	196
Ізолят 4	Середовище КВА без цефалексина (контроль)	5,92 ± 0,66	592
	2 мг/100 мл	5,83 ± 0,26	583
	4 мг/100 мл	5,54 ± 0,19	554
	6 мг/100 мл	5,4 ± 0,14*	540
	8 мг/100 мл	5,08 ± 0,16**	508
	10 мг/100 мл	2,27 ± 0,15***	227

Примітки: вірогідна різниця виходу мікробних клітин з 1 мл середовища КВА порівняно з виходом мікробних клітин з 1 мл середовища КВА без цефалексина (контроль), * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Висновки. Оптимальним є застосувати селективну добавку цефалексин в живильному середовищі КВА для виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* в концентрації 4 мг/мл. Вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100мл був $5,99 \pm 0,34$ млрд, а показник ростової ефективності 599 умовних одиниць. А при застосуванні цефалексина в концентрації 6 мг/100мл вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з 1 мл середовища КВА був $5,38 \pm 0,44^*$ млрд ($p \leq 0,05$), а показник ростової ефективності — 538 умовних одиниць, що на 10,35 % менше ніж вихід мікробних клітин штаму *B. bronchiseptica* № 16К з середовища КВА при застосуванні цефалексина в концентрації 4 мг/100м. Концентрація цефалексина в живильному середовищі КВА 6 мг/100мл і більше діє інгібуюче на ріст бордетел, тому таку концентрацію в середовище в якості селективної добавки застосовувати не можна.

Перспективи подальших досліджень. Результати досліджень свідчать, що застосування селективної добавки цефалексин в концентрації 4 мг/мл дозволяє скоротити термін виділення клінічних ізолятів *B. bronchiseptica* на 2–4 доби за рахунок пригнічення росту сторонньої назофарингеальної мікрофлори й суттєво спростити виділення чистої культури від хворих тварин. На нашу думку, з метою вдосконалення рецептури поживних середовищ та оптимізації застосування селективно-діагностичних середовищ для ідентифікації мікроорганізмів необхідно продовжити пошук селективних добавок, які не впливають негативно на ріст бордетел та здатні

ефективно пригнічувати ріст і (або) прояв типових властивостей супутньої мікрофлори. Це дозволить суттєво скоротити час виділення та ідентифікації клінічних ізолятів *B. bronchiseptica*.

Список літератури

1. Ellis J. A. How well do vaccines for *Bordetella bronchiseptica* work in dogs? A critical review of the literature 1977–2014. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 2015. Vol. 204, No 1. P. 5–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.02.006>.
2. Moore J. E., Rendall J. C., Millar B. C. A doggy tale: Risk of zoonotic infection with *Bordetella bronchiseptica* for cystic fibrosis (CF) patients from live licenced bacterial veterinary vaccines for cats and dogs. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2022. Vol. 47, No 2. P. 139–145. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpt.13492>.
3. Kameyama H., Fujimoto Y., Tomioka Y., Yamamoto S., Suyama H., Inoue H., Takahashi E., Ono E. Pathogenicity of *Bordetella bronchiseptica* isolated from apparently healthy rabbits in guinea pig, rat, and mouse. *The Journal of veterinary medical science*. 2022. Vol. 84, No 4, P. 574–581. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0494>.
4. Миланко А. Я., Холодило Е. В., Душкін Д. В. Роль *Bordetella bronchiseptica* в діагностиці коклюшеподібних захворювань. *Матеріали IV съезда паразитологов Украины*. Харьков, 1995. С. 14.
5. Міланко О. Я., Душкін Д. В. Властивості культур *Bordetella bronchiseptica* виділених від собак. *Матеріали наукової конференції Сумського СГ*. Суми, 1996. С. 47–49.
6. Миланко А. Я., Герілович П. П., Душкін Д. В. Бордетеллезная инфекция собак. *Материалы научной конференции Харьковского зооветеринарного института*. Харьков, 1995. С. 34–35;
7. Методичні вказівки з мікробіологічної діагностики кашлюку та паракашлюку : затверджено Наказом МОЗ України № 169 від 15.04.2005 р.

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF USING A SELECTIVE CEPHALEXIN COMPONENT IN A CCA NUTRIENT MEDIUM FOR THE DETECTION OF CLINICAL ISOLATES OF *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

Gadzevich D. V.

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

*Bordetellosis is a highly contagious infectious disease of farm and small domestic animals caused by bacteria of the species *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*). According to the scientific literature and the results of our previous studies, the bacteriological method of laboratory diagnosis of bordetellosis remains the main diagnostic tool. Our preliminary studies show that the efficiency of bacteriological studies and isolation of clinical isolates of *B. bronchiseptica* from nasopharyngeal secretions is increased when using charcoal-casein agar (CCA) with 5% blood and cephalixin. Our work aimed to determine how different concentrations of cephalixin as a selective component would affect the growth activity of the CCA medium for the primary isolation of clinical *B. bronchiseptica* isolates and their growth intensity. It has been established that it is optimal to freeze the selective additive cephalixin in the medium of the CCA for the detection of clinical isolates of *B. bronchiseptica* at a concentration of 4 mg/ml. The yield of microbial cells to *B. bronchiseptica* strain No 16K from 1 ml of CCA core with the addition of cephalixin at a concentration of 4 mg/100 ml is 5.99 ± 0.34 billion. And when cephalixin is administered at a concentration of 6 mg/100 ml, the yield of microbial cells to the *B. bronchiseptica* strain No. 16K per 1 ml of the core is 5.38 ± 0.44 billion ($p \leq 0.05$). There is a 10.35 % lower yield of microbial cells in the *B. bronchiseptica* strain No 16K from the CCA middle when cephalixin is added at a concentration of 4 mg/100 m. The concentration of cephalixin in the body center of CCA is 6 mg/100 ml or more and is inhibitory to the growth of *B. bronchiseptica*, therefore such a concentration in the body in the form of a selective additive cannot be used. The study results show that the use of a selective cephalixin supplement at a concentration of 4 mg/ml can reduce the time for isolation of clinical isolates of *B. bronchiseptica* by 2-4 days due to inhibition of the growth of extraneous nasopharyngeal microflora and significantly simplify the isolation of pure culture from sick animals*

Keywords: *Bordetella bronchiseptica*, bacteriological method, nasopharyngeal secretion, tracheobronchitis, cephalixin, selective components