

УДК 619:579.62.57.083.13.636.13

ВПЛИВ МІКРООРГАНІЗМІВ РІЗНИХ МОРФОЛОГІЧНИХ ГРУП НА СТАТЕВУ СИСТЕМУ КОБИЛ

Галатюк О.Є., Солодка Л.О., Качуровський О.О., Кондратюк Ю.О.
Житомирський національний агроєкологічний університет, м. Житомир

Отримання здорового молодняка є одним із основних завдань галузі конярства, успішний розвиток якої залежить від рівня забезпечення ветеринарного благополуччя, щодо заразних хвороб. На стан резистентності тварин впливає якість кормів, що згодуються, і від неї залежать певні зрушення в мікробіоценозах статевої системи. Дизбіози статевої системи у кобил та причини їх виникнення є малодослідженим питанням, як в Україні, так і в світі. Певну роль у виникненні дізбіозів відіграють герпесвіруси 1-го та 4-го типів, що зумовлюють генітальну форму ринопневмонії, при якій активізуються і умовно-патогенні мікроорганізми [1, 2]. Тому відомості про стан мікробних асоціацій статевої системи тварин, впливу на них різноманітних шкідливих чинників є питанням актуальним і необхідним для практики.

Одним із таких шкідливих чинників можуть бути токсичні речовини мікроскопічних грибів, які в невеликих кількостях постійно надходять з кормами. Під час збирання врожаю їх спори та часточки міцелію будуть потрапляти на грубі та зернові корми, зберігатись на них, і, повільно розвиватись під час зберігання, виділяти токсичні метаболіти, які будуть призводити до депресії імунної та репродуктивної систем. Зернові корми широко застосовуються в конярстві, і тому проблема хронічних мікотоксикозів є актуальною для даної галузі тваринництва.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були компоненти раціону коней (зразки соломи) та змиви із статевої системи кобил різного віку, що утримуються в одному із кінних заводів України. Метою роботи було проведення мікологічних досліджень корму і бактеріологічних досліджень змивів, ізоляція із посівів мікробів-контамінантів та вивчення їх біологічних властивостей.

Зразки соломи розкладали на агар Чапека з кислотністю 4,5 та 5,5. При 25 °С впродовж 7 днів, в первинних поверхневих висівах виростали накопичувальні культури екзо- та ендогенних мікроскопічних грибів, з яких виділяли чисті культури та проводили мікроскопічне дослідження останніх.

Накопичувальні культури бактерій із змивів зовнішніх статевих органів виділяли методом глибинного висіву на диференційно-діагностичних та загальних агарових середовищах з рН 7,0-7,2 (агар Ендо, м'ясо-пептонний агар – МПА). Чисті культури бактерій отримували після пересіву матеріалу індивідуальних колоній штрихом на МПА, агар Ендо або вісмут-сульфітний агар [3]. Грампозитивні та грамнегативні бактерії диференціювали фарбуванням за Грамом та експрес-методом з використанням 3 %-го КОН [4]. Чисті культури бактерій досліджували на чутливість до антибіотиків на агарі Гівенталю-Ведьміної (АГВ) за стандартною методикою [5]. Виявлені морфологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки виділених культур аналізували за допомогою матеріалів бактеріологічних або мікологічних визначників [6, 7].

Результати досліджень. Первинна оцінка якості корму за допомогою органолептичного аналізу не виявила характерних ознак, що супроводжують розвиток грибів на грубих кормах (потемніння і побуріння стебел, утворення на них чорного, білого або сіруватого нальоту). Тому за забарвленням, запахом, зовнішнім виглядом досліджувані зразки можна було вважати соломою без ознак дефектності. Але після інкубації на агарі Чапека навкруги соломин відмічався бурхливий ріст мікроскопічних грибів різних родів, а отримані колонії – за специфічними культуральними ознаками (колір, вигляд поверхні, характер росту країв, опис зворотного боку) належали представникам трьох грибних родів.

Родову ідентифікацію проводили на основі інформації про культуральні та морфологічні властивості мікроорганізмів виділених чистих культур. При виконанні мікроскопічних досліджень вивчали форму конідіє- або спорангіоносців, форму і спосіб розміщення спор в препаратах в порівнянні із стандартними зразками, наведеними у визначниках.

Значна кількість виділених в накопичувальній культурі колоній мала інтенсивну пігментацію червоно-рожевого кольору, характерну для грибів роду *Fusarium*. Після сумісного аналізу ознак виділених ізолятів було встановлено, що досліджувані грубі корми в рівній мірі контаміновані грибами родів *Fusarium* та *Ulocladium*, і менше – представниками роду *Mucor*.

Серед виділених культур найбільш небезпечними для тварин є фузарії, і через це в даному господарстві до організму кобил репродуктивного віку постійно потрапляє широкий спектр фунгітоксинів. Причинами масового обсіменіння досліджуваних зразків соломи є і природні зміни гідротермічних режимів в період вегетації рослин, і зміни технологій вирощування рослин, запроваджені останнім часом на Україні [8]. Взагалі, в посівах, вирощених згідно інтенсивних технологій, домінують такі хвороби як фузаріоз та септоріоз колоса, сітчаста плямистість тощо. Ретроспективний аналіз даних щодо поширення грибів в ґрунтах, на культурних рослинах та насінні, проведений спеціалістами-агроєкологами, свідчить про загальне погіршення фітопатологічної ситуації в країнах колишнього СРСР (тенденції до змін видового складу збудників грибних хвороб рослин, зрушення в фузаріозних комплексах, які зазвичай інфікують насіння). Якщо 10-15 років тому фузаріозна гниль на посівах зернових зустрічалась в одиничних випадках, то зараз вона спостерігається все частіше, а з уражених ґрунтів або рослин виділяються фузарії, що належать до 11-17 видів (десятки різновидів), а інфікованість рослин ними у зернових коливається в межах 25-100 %.

Зрозуміло, що при згодовуванні кобилам соломи вволю до їх організмів хронічно надходили мікотоксини, які здатні негативно впливати на їх імунітет та репродуктивні функції. Крім того, в господарстві циркулює збудник ринопневмонії, і розвиток генітальної форми даної хвороби також не дає можливості отримати здоровий молодняк. Щеплення тварин конєгосподарств вакциною СВ/69, як відомо, дає позитивний ефект, і за рахунок елімінації вірусу всі вакциновані кобили повинні успішно запліднюватись. Але і за таких умов на зазначеному конезаводі спостерігаються масові «перегули». Тому ми і вирішили дослідити стан мікробіоценозу статевої системи кобил, що мали певні проблеми з репродукцією.

В первинних висівах із змивів, відібраних у 5-ти кобил різного віку, через 2-3 доби інкубації на середовищі загального призначення (МПА) практично у всіх зразках спостерігається інтенсивний ріст мікроорганізмів. Це не дивно, тому що МПА має універсальний набір поживних речовин, що сприяє розвитку майже всіх бактерій-гетеротрофів. Це і призводить до утворення великої кількості поверхневих колоній аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів. Але на агарі Ендо – середовищі для ентеробактерій – різниця в обсіменінні статевих шляхів різних кобил стала добре помітною. У трьох кобил на вищезазначеному середовищі виростали одиничні колонії, а у двох інших (молода та статевозріла з перегулами) бурхливий розвиток бактеріальних колоній може бути описаний як ++++. Для подальших досліджень ми вибрали 3 колонії грамнегативних бактерій, що мали індивідуальні культуральні ознаки та певну інтенсивність росту. Виділення чистих культур проводилось шляхом пересіву відповідної колонії «штрихом» на МПА (табл. 1).

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Таблиця 1 – Характеристика ізолятів бактерій, виділених на агарових середовищах

Шифр	Культуральні ознаки на агарі Ендо	Інтенс. росту	Характер росту «штриха» на МПА
K1p	Розмір 1-5 мм, рожева, кругла, блискуча, непрозора, плоска, нерівні краї	+++	Ріст інтенсивний, штрих сіро-білий, непрозорий, консистенція слизувата, поверхня матова, з незначною зернистістю, краї неправильної форми, не випуклі
K1ж	Розмір 1-4 мм, жовта, округла, гладенька, випукла у центрі, блиск незначний	++	Ріст інтенсивний, штрих жовтуватий, непрозорий, консистенція слизувата, поверхня блискуча, трохи зерниста, краї неправильної форми
K4p	Розмір 1-2 мм, кругла, біло-рожева, непрозора, дуже блискуча, гладенька, поверхня в центрі трохи випукла, краї рівні	++	Ріст інтенсивний, штрих сіро-білий, непрозорий, консистенція слизувата, поверхня блискуча; центр з незначною зернистістю, краї пелюстко-подібні підвищені

Для перевірки антибіотикочутливості мікробів в зразках ми користувались препаратами, що діють на різні ланки метаболізму ізолятів. Так, ванкоміцин пригнічує синтез пептидоглікану клітинних стінок, канаміцин, стрептоміцин та гентаміцин – утворюють аномальні білки під час їх синтезу в рибосомі, лінкоміцин – гальмує роботу транспортних РНК. Аналізи результатів висівів, проведені за методом паперових дисків представлені в табл. 2, 3 (в заголовках таблиць вказані діаметри зон припинення росту, характерні для стійких та чутливих культур згідно даних довідників). З таблиці 2 видно, що мікробна асоціація тварини № 2 (в досліді виявлена мінімальна кількість ентеробактерій в статевій системі) чутлива до всіх випробуваних антибіотиків. У тварин, статеві системи яких контаміновані ентеробактеріями, спектр дієвих препаратів звужується. У молодій тварині (№ 1) їх три – ванкоміцин, канаміцин та гентаміцин, у дорослій з перегулами (№ 4) – тільки один, гентаміцин.

Таблиця 2 – Ефективність дії антибіотиків на мікроорганізми змішаних культур

№ тварини	Середні значення діаметру зони затримки росту змішаної культури, мм				
	ванкоміцин (9-12 мм)	канаміцин (14-19 мм)	гентаміцин (15-16 мм)	стрептоміцин (16-20 мм)	лінкоміцин (19-24 мм)
1	19,6	24	35,3	0	13,3
2	25	26	30,6	22	21
4	9,6	6,3	22,6	8,6	5,6

Таблиця 3 – Ефективність дії антибіотиків на мікроорганізми чистих культур

Шифр культури	Середні значення діаметру зони затримки росту чистих культур, мм		
	ванкоміцин (9-12 мм)	стрептоміцин (16-20 мм)	гентаміцин (15-16 мм)
K1 p	8	8,3	21,6
K1 ж	13	7,3	24
K4 p	10	9,6	22,3

Значну розбіжність в антибіотикорезистентності демонструють і чисті культури (табл. 3). Ізоляти з високою інтенсивністю розвитку нечутливі до певних препаратів, але і для них оптимальним антибіотиком з цидною дією, придатним для обмеження надмірного розвитку ентеробактерій, був гентаміцин. Саме тому для профілактики зазначених патологій в господарстві впродовж місяця застосовували препарати Біомін П.Е.П та Мікофікс Плюс з розрахунку 2,5 кг на 1 т вівса, а в схему лікування ендометритів включили гентаміцин, що сприяло покращенню фізіологічного стану кобил та їх успішному заплідненню.

Висновки. 1. Певні компоненти раціону коней (солома пшениці, вирощена за інтенсивними технологіями) контамінована небезпечними токсинотворювачами – грибами роду *Fusarium*, що свідчить про можливість кумулятивної дії мікотоксинів на репродуктивну систему кобил і вказує на доцільність введення до раціонів пробіотиків та сорбційних препаратів Біомін П.Е.П та Мікофікс Плюс.

2. В статевих шляхах окремих кобил (незалежно від віку) у великій кількості наявні ізоляти бактерій – представники родини *Enterobacteriaceae*, розвиток яких призводить до певних змін складу мікробіоценозів статевих шляхів у досліджених тварин.

3. Оптимальним препаратом бактерицидної дії для тварин з мікробною контамінацією статевих шляхів є гентаміцин, який, при лікуванні ендометритів у кобил, доцільно використовувати в комплексі з іншими препаратами.

Список літератури

- Галатюк, О.Є. Профілактика та лікування заразних хвороб кобил / О.Є. Галатюк. – Житомир: Рута – 2009. – С. 87-106.
- Galatyuk, O., Kanyovskiy, A. Prophylaxis of equine rhinopneumonia // Proceeding 10-th international congress of world equine veterinary association, (28 January – 1 February, 2008, Moscow, Russia). М., 2008 – Р.437-439.
- Методы общей бактериологии / [Ф. Герхард, М. Мюррей, Р. Костилоу и др]; под ред. Ф. Герхарда; пер. с англ. С. Ф. Барбашова, Г.И.Бурды. – М.: «Мир», 1984 – Т.2. – С. 5-100.
- Цитология микроорганизмов. Методичні рекомендації до спец практикуму «Цитология микроорганизмов» / [Сергійчик М. Г., Радченко О. С., Степура Л. Г., Фурзікова Т. М.]. – К: Фітоцентр. – 2000. – 48 с.
- Посохова, К.А. Мікробіологічні та фармакологічні основи раціонального застосування антибіотиків: посіб. [для студ. викл. вищ. навч. зал.] / К.А. Посохова, С.І. Климнюк. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 131 с.
- Кириленко Т.С. Атлас родів ґрунтових грибів / Т.С. Кириленко. – К.: Наукова думка, 1977. – 127 с.
- Определитель бактерий Берджи. Справочное издание [Дж.Хоулт, Н. Криг, П.Снит и др.]; под ред. Дж. Хоулта: в 2 т. – М.: «Мир», 1999.
- Буга, С.Ф., Радына, А.А., Артемова, О.В., Жуковский, А.Г., Ильюк, А.Г. Проблемы защиты зерновых культур от болезней в условиях Беларуси // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції [«Інтегрований захист рослин на початку 21 століття»] / УААН, Ін-т захисту рослин – К.: Видавництво «Колодів», 2004. – С. 325-331.

INFLUENCE OF MICROORGANISMS OF DIFFERENT MORPHOLOGICAL GROUPS ON REPRODUCTIVE SYSTEM OF MARES

Galatyuk O.Ye., Solodka L.O., Kachurovsky O.O., Kondratyuk Yu O.
Zhitomir State Agroecological University, Zhitomir

Results of studies of individual components of the diet of horses (straw) and swabs from the genital system of mares of reproductive age, characteristics of microorganism, isolated from the samples are presented in the article.

УДК 597.21.5:579.843(262.54)

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГАЛОФИЛЬНЫХ ВИБРИОНОВ АКВАТОРИИ АЗОВСКОГО И ЧЕРНОГО МОРЕЙ, СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ИХ ВЫДЕЛЕНИЯ

Гурина Л.М.¹

Крымская опытная станция ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»,
г. Симферополь

Акватории Черного и Азовского морей в последние десятилетия стали все больше привлекать внимание специалистов рыбной отрасли. Становится все более актуальной проблема изучения их эпизоотического и эпидемиологического состояния и возможность загрязнения.

Впервые в 2009 г. сотрудниками ВНИРО в северо-восточной части Черного моря проведены санитарно-микробиологические исследования мидий. При этом были идентифицированы культуры штаммов рода *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Proteus*. В них присутствовали бактерии группы кишечной палочки (БГКП) – *Escherichia coli* и *Salmonella* sp. [1].

В 2006-2010 гг. специалисты Крымской опытной станции ННЦ «ИЭКВМ» совместно с государственным учреждением «Украинская противочумная станция» МОЗ Украины проводили бактериологический мониторинг по выделению галофильных вибрионов.

В результате проведенного мониторинга из морских рыб, моллюсков, ракообразных, морской воды выделены микроорганизмы, идентифицированные как *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. metschnikovii*, *V. cholerae non 01* [2, 3, 4].

Результаты исследований говорят о том, что на сегодняшний день этот вопрос остается актуальным, т.к. выделенные микроорганизмы опасны не только для обитателей морей, но и являются причиной многих токсикоинфекций человека.

Целью исследований является определение видовой состава галофильных вибрионов акватории Азовского и Черного морей и выявление сезонной динамики их выделения.

Методы и материалы. Из разных квадратов акваторий Черного и Азовского морей, с целью эпизоотологического мониторинга по заразным болезням гидробионтов, провели исследование 107 образцов (2802 экз.) 13 видов морских рыб, пяти образцов (240 экз.) двух видов моллюсков, двух образцов (200 экз.) одного вида ракообразных, а также 36 проб морской воды и одного образца донных отложений.

В качестве материала для исследования были использованы следующие виды рыб: ставрида, бычок, кефаль, килька черноморская, глосса, журавка, пиленгас, хамса, тюлька, барабулька, сельдь, скумбрия, атерина, а также моллюски (мидии, рапаны) и ракообразные (креветки).

Диагностику бактериальных заболеваний проводили согласно общепринятых в микробиологии методов по схеме исследования галофильных микроорганизмов рода *Vibrio*, которые разработаны нами в 2008 г. «Методичні рекомендації щодо лабораторної діагностики захворювань гідробіонтів, спричинених умовно-патогенними галофільними вібраціями».

Результаты исследований. Для проведения мониторинга по определению видовой состава патогенных галофильных вибрионов в 2006-2010 гг. отбирали образцы гидробионтов и пробы воды из мест вылова.

В результате исследований образцов гидробионтов из акваторий Азовского и Черного морей выделены микроорганизмы семи видов. Изучен видовой состав и определены основные серотипы галофильных вибрионов. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Видовой состав и количество культур представителей рода *Vibrio*, выделенных в 2006-2010 гг. из гидробионтов и воды

Вид микроорганизмов	Год исследований					Всего:		
	2006	2007	2008	2009	2010	культур м/о	%	
<i>V. fluvialis</i>	-	4	-	-	1	5	3,9	
<i>V. alginolyticus</i>	4	8	25	1	2	40	31,2	
<i>V. anguillarum</i>	5	1	9	1	-	16	12,5	
<i>V. parahaemolyticus</i>	31	16	2	9	3	61	47,7	
<i>V. vulnificus</i>	-	3	-	-	-	3	2,3	
<i>V. cholerae non 01</i>	-	-	2	-	-	2	1,6	
<i>V. metschnikovii</i>	-	-	-	1	-	1	0,8	
Всего:	культур м/о	40	32	38	12	6	128	100
	%	31,2	25,0	29,7	9,4	4,7	100	-

Как видно из данных таблицы 1, за период с 2006 г. до 2010 г. выделено 128 культур микроорганизмов рода *Vibrio*. Максимальное количество культур выделено в 2006 г. – 40, что составило 31,25 % от общего количества выделенных культур, а минимальное в 2010 г. – 6 (4,68 %). В видовом соотношении чаще всего выделяли *V. parahaemolyticus* (61 культура), а реже всего – *V. metschnikovii* (1 культура). Изолят *V. metschnikovii* был выделен из черноморской кильки, выловленной в Каламитском заливе Черного моря в районе г. Евпатория.

¹Научный руководитель Ковалев В.Л., д. вет. н., проф.