

8. Dumen E. *Cronobacter sakazakii* (*Enterobacter sakazakii*): Only An Infant Problem? / E. Dumen // Kafkas Univ. Vet. Fak. – 2010. – № 16. – P. 171-178.

9. Iversen C. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and description of *Cronobacter sakazakii* comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonicus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies 1. / C. Iversen, A. Lehner, N. Mullane // BMC Evol Biol. – 2007. – № 7. – P. 64.

10. Farber J.M. *Enterobacter sakazakii* / J.M. Farber, S.J. Forsythe // American Society for Microbiol. Press, Washington, D.C., USA, 2008. – 284 p.

11. Microbiological criteria for foodstuff: Commission Regulation (EC) № 2073/2005 of 15 November 2005 / Official Journal of the European Union. – 2005. – 26 p.

Бергилевич А.Н., Ушкалов В.А., Касянчук В.В., Дерябин О.Н., Гришина Е.А. Обнаружение и идентификация бактерий *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) методом полимеразной цепной реакции

В статье представлены результаты исследований, которые впервые проведенные в Украине относительно возможности идентификации бактерий *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) методом полимеразной цепной реакции с использованием гена 16SrRNA. Изоляты бактерий *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) были выделены из сырого молока и объектов молочных ферм Сумской области. Среди выделенных изолятов, было выбрано 25 имеющих характерные морфологические, культуральные и биохимические свойства для проведения ПЦР. После поиска и анализа последовательностей генов с консервативными и переменными участками у бактерий *Cronobacter* spp. (*sakazakii*), были разработаны несколько пар олигонуклеотидных праймеров, специфических различным участкам гена 16SrRNA. При использовании этих праймеров в ПЦР с ДНК выделенных изолятов были получены предварительные положительные результаты с 20 изолятами бактерий *Cronobacter* spp. (*sakazakii*).

Согласно полученным данным, достоверная идентификация *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) в настоящее время возможна только при использовании комплексного подхода, основанного на комбинировании классических методов исследования (микроскопия, культуральные и биохимические характеристики) с молекулярно-генетическими.

Ключевые слова: *Cronobacter* spp. (*sakazakii*), полимеразная цепная реакция (ПЦР), 16SrRNA, олигонуклеотидные праймеры.

Berhilevych O., Ushkalov V., Kasyanchuk V., Deryabin O., Grishina E. Detection and identification of bacteria *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) by polymerase chain reaction

The article presents the results of research, that were conducted for the first time in Ukraine, concerning possibility of identification bacteria *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) by polymerase chain reaction using 16SrRNA gene. Isolates of bacteria *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) were isolated from raw milk and dairy farms objects in Sumy region. Among the isolates, 25 were selected, which had typical morphological, cultural and biochemical properties for PCR. After searching and sequence analysis of genes with conserved and variable regions in bacteria *Cronobacter* spp. (*sakazakii*), there have been several pairs of oligonucleotide primers specific to various portions of the gene 16SrRNA. By using these primers in PCR DNA isolates were obtained preliminary positive results with 20 bacterial isolates *Cronobacter* spp. (*sakazakii*).

According to information received, reliable identification of *Cronobacter* spp. (*sakazakii*) is currently only possible using a comprehensive approach based on a combination of classical methods (microscopy, culture and biochemical characteristics) with molecular genetic methods.

Keywords: *Cronobacter* spp. (*sakazakii*), polymerase chain reaction (PCR), 16SrRNA, oligonucleotide primers.

Дата надходження до редакції: 03.03.2015 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Кассіч В.Ю.

УДК 619.5:6616-085.636.5

**ЧУТЛИВІСТЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ШТАМІВ САМПУЛОВАКТЕР SPP.
ДО ДІЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ**

С.М. Гладченко, аспірант, Сумський національний аграрний університет

У статті викладені результати досліджень чутливості циркулюючих штамів *Sampylobacter* spp., виділених з продуктів забою птиці, обладнання забійних цехів та із продуктів забою ВРХ, до 12 видів антибіотиків різних груп. Досліджувані штами кампілобактерій високочутливі до еритромі-

цину, ципрофлоксацину, цефазоліну, тетрацикліну, гентаміцину і норфлоксацину.

Ключові слова: ізоляти, кампілобактерії, диски із антибіотиками, чутливість, кампілобактеріоз.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Ефективність лікування бактеріальних інфекцій у тварин та птиці визначається раціональністю та обґрунтованістю застосування антибіотиків. Вчені-бактеріологи відзначають широке розповсюдження серед мікробної популяції антибіотикорезистентних штамів та множинну опірність більшості збудників бактеріальних інфекцій до традиційних антимікробних засобів. Тому визначення чутливості бактерій до дії антибактеріальних препаратів має важливе значення [1].

Зв'язок з важливими науковими та практичними завданнями. Проведенні дослідження були частиною комплексних наукових досліджень кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки та якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету за тематичним планом науково-дослідної роботи «Розроблення системи контролю харчових токсикоінфекцій, зумовлених кампілобактеріями» № державної реєстрації 0110U006926, а також «Удосконалення ветеринарно-санітарних заходів на об'єктах, підконтрольних ветеринарно-санітарному нагляду» № державної реєстрації 0112U001540.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Кампілобактеріоз (вібріоз) - інфекційна хвороба птиці, що характеризується перебігом у формі ентериту, гепатиту, септицемії та інтоксикації. Хвороба являється зооантропонозом.

Кампілобактерії ідентифіковані в 1913 році вченими Дж. МакФадісом і С. Стокманом. У 1947 році Р. Вінсент встановив зв'язок кампілобактерій із патологією людини. Вони є термофільними бактеріями родини *Spirillaceae*, тонкі, спірально вигнуті, грамнегативні палички, поліморфні, капсул і спор не утворюють. Для оптимального росту необхідні мікроаерофільні умови з газовим складом 5 % O₂, 10 % CO₂ та 85 % N₂, температурою від +37 до +42 °C і рН 7,0 [2].

Через стійкість до низьких температур кампілобактерії здатні тривало зберігатися і розмножуватися на харчових продуктах при низькій концентрації кисню (продукти в герметичній оболонці), чутливі до дії звичайних дезінфектантів. Зберігаються у сні, воді, гної – близько 3 тижнів, а в заморожених тушах тварин – кілька місяців [3].

Основним резервуаром кампілобактерій у природі є кури, індки, дикі птахи, гризуни, а також – велика рогата худоба, вівці, кози і свині. Бройлери можуть бути інфікованими до 90 %, індки до 100 %, качки до 88 %, і при цьому клінічні ознаки відсутні [2].

Джерелом інфекції є перехворіла і хвора птиця, а також латентні бактеріоносії. Інфікування відбувається переважно аліментарним шляхом,

Вісник Сумського національного аграрного університету

через поїлки, годівниці, підстилку, інвентар, інфіковані корма та воду. Важливою ланкою в епізоотичному ланцюзі є інфіковані таргани, мухи, гризуни, дика та синантропна птиця [4].

Кампілобактеріоз надзвичайно поширений серед людей, а особливо дітей, у всіх країнах світу. Кампілобактерії зумовлюють від 5 до 10 % усіх гострих бактеріальних діарейних хвороб. Основним джерелом інфекції для людини є сільсько-господарські та інші домашні тварини, птахи, синантропні та дикі гризуни. Носійство *S. fetus*, *S. jejuni*, особливо часто спостерігається у кролів (11-13 %), кішок (30-45 %) і качок (більше 80 %). Упровадження нових діагностичних методик дало змогу встановити, що мікроорганізми роду *Campylobacter* є однією із основних причин бактеріальних діарей у жителів економічно розвинених країн. У них захворюваність на кампілобактеріоз становить 20-60 випадків на 100 тис. населення. На сьогоднішній день часті випадки захворюваності на кампілобактеріоз реєструються в Україні, США, Фінляндії, Норвегії, Швеції, Данії, Ісландії, Великобританії та ін. [3, 5].

Постановка завдання. Визначити чутливість циркулюючих штамів *Campylobacter* spp. (*S. jejuni*, *S. coli*, виділених із продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів і *S. fetus* – виділеного з продуктів забою ВРХ) до антибактеріальних препаратів диско-дифузійним методом.

Матеріали і методи досліджень. Робота виконувалася на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни і безпеки та якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини Сумського НАУ. Матеріалом для дослідження були ізольовані штами *S. jejuni* (6 штамів), *S. coli* (4 штами), що попередньо виділені з продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів, *S. Fetus* (4 штами) — виділені із продуктів забою ВРХ.

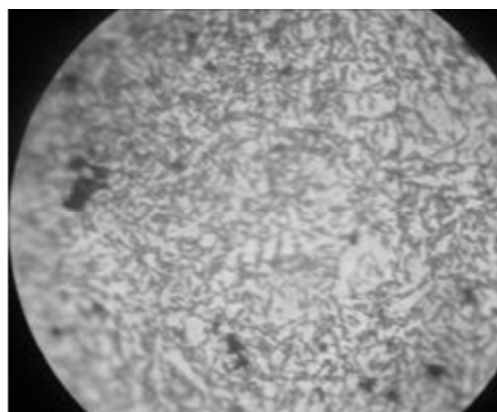


Рис. 1. Морфологія ізолятів *Campylobacter* spp. у мазку, зафарбованим фукцином Пфейфера у розведенні 1:5, (ок. 10, об. 90).

Дослідження проводилися згідно до Методичних вказівок «МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» диско-дифузійним методом із використанням стандартних дисків із антибіотиками [6].

Культури кампілобактерій висівали на щільне живильне середовище для кампілобактерій (ТОВ «Бровафарма», м. Бровари), інкубували у термостаті в мікроаерофільних умовах за температури 42 °С протягом 18-24 годин. Із однодобових культур мікроорганізмів готували завись у концентрації 500 млн. мікроорганізмів в 1 см³ за оптичним стандартом мікробіологічним (ДНКІБШМ, м. Київ).

Отриману суспензію мікроорганізмів у об'ємі 0,3 см³ наносили на поверхню щільного

поживного середовища. За допомогою стерильного пінцету на поверхню середовища наносили стандартні диски з антибіотиками, затири, чашки Петрі помістили у термостат та інкубували протягом 24 годин за температури 37,5 °С. При вимірюванні зон затримки росту орієнтувалися на зону повної затримки видимого росту.

Результати власних досліджень і обговорення. Аналізуючи отриманий результат, слід зазначити, що чутливість досліджуваних штамів *C. jejuni*, *C. coli* та *C. fetus* дуже мінлива (рис. 2-4).

Штами *Campylobacterjejuni* були високочутливі до еритроміцину, ципрофлоксацину і гентаміцину; *Campylobactercoli* – до норфлуксацину і тетрацикліну; *Campylobacterfetus*– до ципрофлоксацину і цефазоліну.

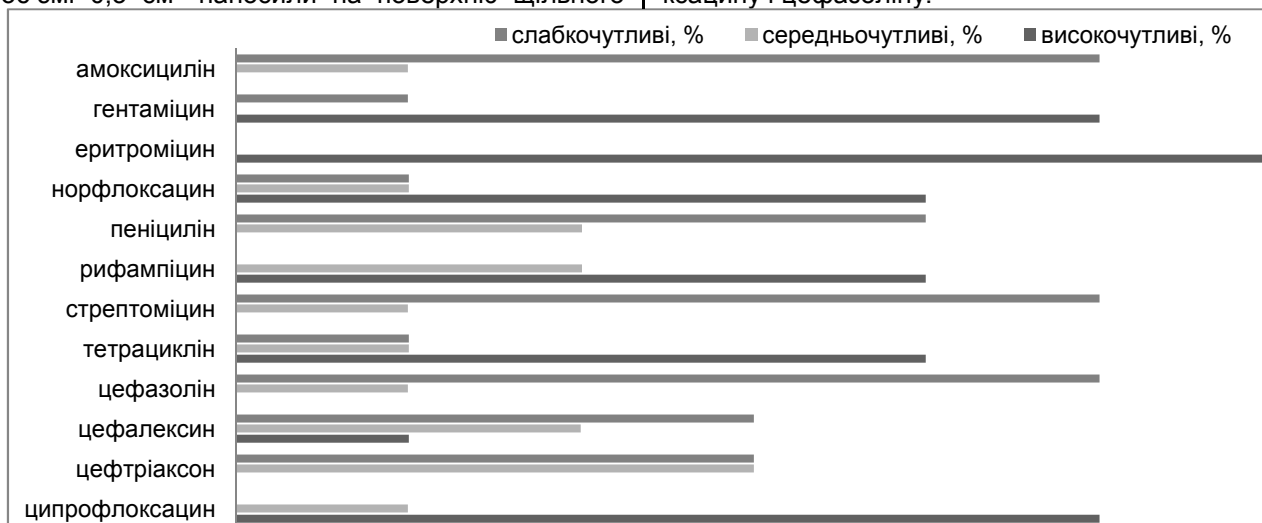


Рис. 2. Чутливість *C. jejuni* до антибіотиків, % від числа досліджених штамів

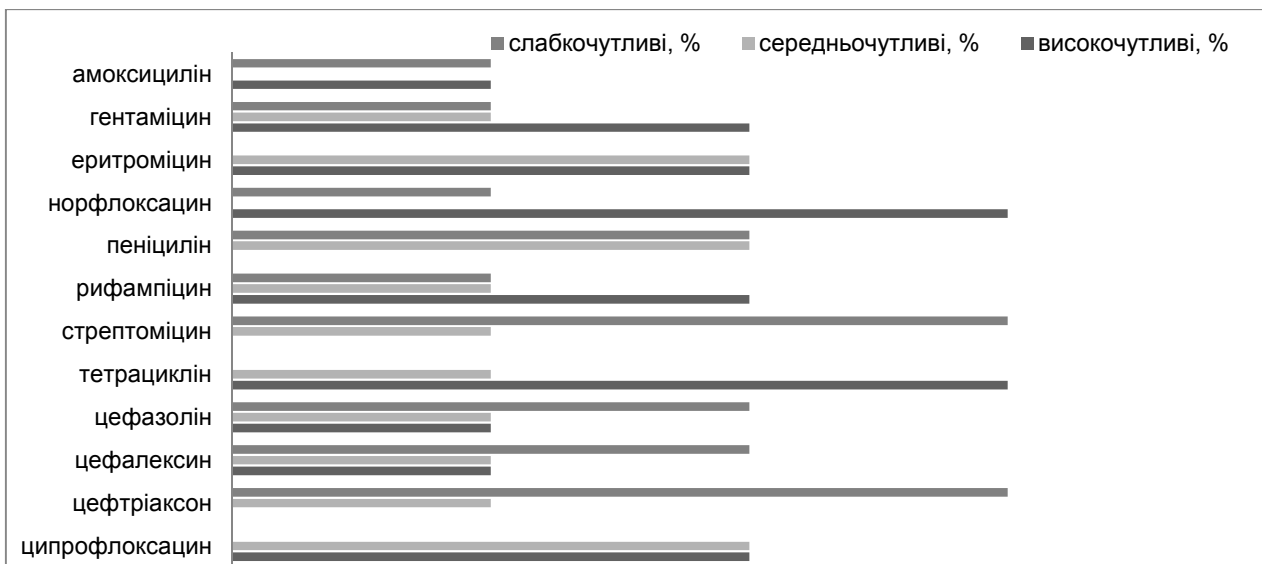


Рис. 3. Чутливість *C. coli* до антибіотиків, % від числа досліджених штамів

Також реєстрували середню чутливість досліджуваних штамів кампілобактерій до антибактеріальних препаратів: *Campylobacterjejuni* – до пеніциліну, цефалексину, цефтріаксону і рифампіци-

ну; *Campylobactercoli* – до еритроміцину, ципрофлоксацину і пеніциліну; *Campylobacterfetus* – до цефтріаксону, еритроміцину і гентаміцину.

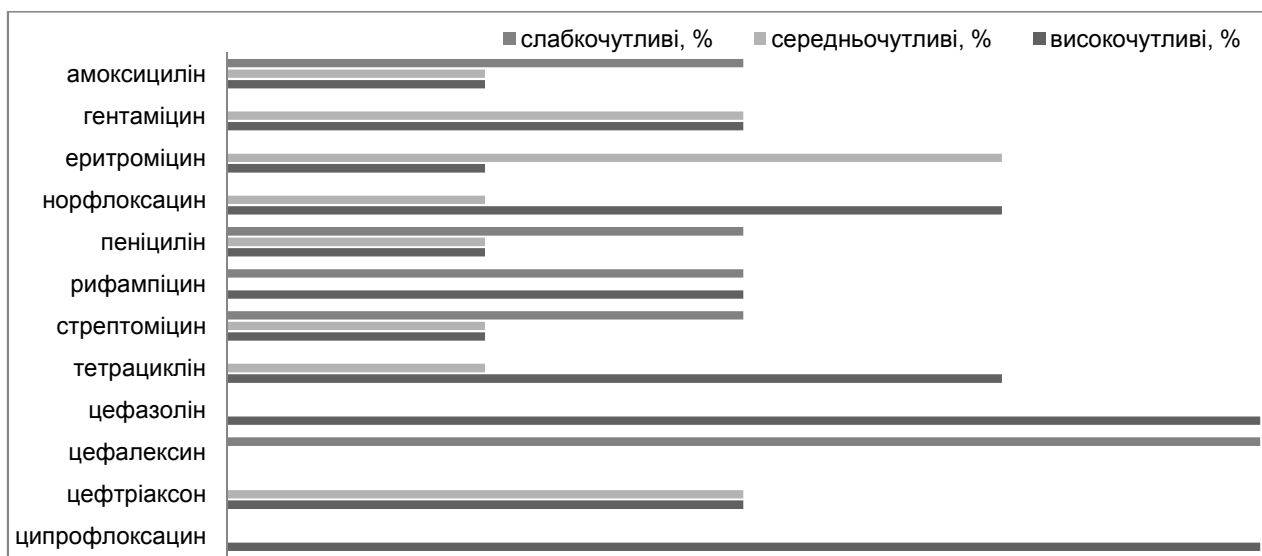


Рис. 4. Чутливість *C. fetus* до антибіотиків, % від числа досліджених штамів

Ізольовані штами *Campylobacter jejuni* були слабкочутливі до цефазоліну, стрептоміцину та амоксициліну; *Campylobacter coli* – до амоксициліну, цефтріаксону і стрептоміцину; *Campylobacter fetus* – до пеніциліну, цефалексину, стрептоміци-

ну, амоксициліну та рифампіцину.

Результати визначення чутливості збудників кампілобактеріозу до антибіотиків наведені у таблицях 1-3.

Таблиця 1

Чутливість *C. jejuni*, виділених із продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів, до антибіотиків (n=6)

Антибіотик	Вміст препарату в диску, мкг	Кількість штамів <i>C. jejuni</i> , %		
		слабкочутливі (≤11 мм)	середньочутливі (12-17 мм)	високочутливі (≥19 мм)
амоксацилін (амо)	10	83,4	16,6	0
гентаміцин (ген)	10	16,6	0	83,4
еритроміцин (ери)	15	0	0	100
норфлораксацин (нор)	10	16,7	16,7	66,6
пеніцилін (пен)	6	66,6	33,4	0
рифампіцин (риф)	5	0	33,4	66,6
стрептоміцин (стр)	10	83,4	16,6	0
тетрациклін (тет)	30	16,7	16,7	66,6
цефазолін (цфз)	30	83,4	16,6	0
цефалексин (цфл)	30	50	33,3	16,7
цефтріаксон (цфа)	30	50	50	0
ципрофлораксацин (цип)	5	0	16,6	83,4

Таблиця 2

Чутливість *C. coli*, виділених із продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів, до антибіотиків (n=4)

Антибіотик	Вміст препарату в диску, мкг	Кількість штамів <i>C. coli</i> , %		
		слабкочутливі (≤11 мм)	середньочутливі (12-17 мм)	високочутливі (≥19 мм)
амоксацилін (амо)	10	75	0	25
гентаміцин (ген)	10	25	25	50
еритроміцин (ери)	15	0	50	50
норфлораксацин (нор)	10	25	0	75
пеніцилін (пен)	6	50	50	0
рифампіцин (риф)	5	25	25	50
стрептоміцин (стр)	10	75	25	0
тетрациклін (тет)	30	0	25	75
цефазолін (цфз)	30	50	25	25
цефалексин (цфл)	30	50	25	25
цефтріаксон (цфа)	30	75	25	0
ципрофлораксацин (цип)	5	0	50	50

Чутливість *S. fetus*, виділених із продуктів забою ВРХ, до антибіотиків (n=4)

Антибіотик	Вміст препарату в диску, мкг	Кількість штамів <i>S. fetus</i> , %		
		слабкочутливі(≤11 мм)	середньочутливі(12-17 мм)	Високочутливі(≥19 мм)
амоксацилін (амо)	10	50	25	25
гентаміцин (ген)	10	0	50	50
еритроміцин (ери)	15	0	75	25
норфлоксацин (нор)	10	0	25	75
пеніцилін (пен)	6	50	25	25
рифампіцин (риф)	5	50	0	50
стрептоміцин (стр)	10	50	25	25
тетрациклін (тет)	30	0	25	75
цефазолін (цфз)	30	0	0	100
цефалексин (цфл)	30	100	0	0
цефтріаксон (цфа)	30	0	50	50
ципрофлоксацин (цип)	5	0	0	100

Висновки. 1. Циркулюючі штами *Campylobacter jejuni* виділені із продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів високочутливі до еритроміцину (100 %), ципрофлоксацину і гентаміцину (83,4 %).

2. Циркулюючі штами *Campylobacter coli* виділені із продуктів забою птиці та обладнання забійних цехів високочутливі до таких антибіотиків як, тетрациклін і норфлоксацин (75 %).

3. Циркулюючі штами *Campylobacter fetus*

виділені із продуктів забою ВРХ високочутливі до цефазоліну і ципрофлоксацину (100 %), тетрацикліну і норфлоксацину (75 %).

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується розробка теоретичного і практичного обґрунтування системи лікування та профілактики кампілобактеріозу в господарствах, а також розробка заходів мінімізації обмінення кампілобактеріями продуктів забою птиці.

Список використаної літератури:

1. Авдеева А.В. Проблема резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / А.В. Авдеева // Лабораторная диагностика. – 1998. – № 3 (5). – С. 35-38.
2. Березовський А.В. Хвороби птиці. Навч. посібник / А.В. Березовський, В.В. Герман, Т.І. Фотіна, Г.А. Фотіна. – К.: ТОВ «ДІА», 2012. – С. 171-172.
3. Леженко Г.О. Кампілобактеріоз у дітей: сучасні уявлення про етіопатогенез, клінічну картину, можливості діагностики, підходи до лікуванню / Г.О. Леженко, О.В. Усачова, Т.М. Пахольчук, Є.А. Сіліна, Р.М. Гінзбург // Дитячий лікар. – 2013. – № 6 (27). – С. 33-38.
4. Тараненко Л.А. Кампилобактериоз и чувствительность *Campylobacter* к антибиотикам / Л.А. Тараненко // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – № 11. – С. 862-867.
5. Avrain L. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers / L. Avrain, F. Humbert, R. L'Hospitalier, P. Sanders // Brit. Poultry Science. – 2001. – Vol. 42, № 3. – P. 32.
6. МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки.

Гладченко С.М. Чувствительность циркулирующих штаммов *Campylobacter spp.* к действию антибактериальных препаратов

В статье изложены результаты исследований чувствительности циркулирующих штаммов *Campylobacter spp.*, выделенных из продуктов убоя птицы, оборудования убойных цехов и из продуктов убоя КРС, до 12 видов антибиотиков разных групп. Исследуемые штаммы кампилобактерий высокочувствительны к эритромицину, ципрофлоксацину, цефазолину, тетрациклину, гентамицину и норфлоксацину.

Ключевые слова: изоляты, кампилобактерии, диски с антибиотиками, чувствительность, кампилобактериоз.

Hladchenko S.M. The sensitivity of circulating strains *Campylobacter spp.* to antibacterial drugs

The article presents the results of sensitivity studies of circulating strains of *Campylobacter spp.* isolated from products of poultry slaughtering equipment of slaughterhouses and slaughter products of cattle, up to 12 types of antibiotics of different groups. Studied strains of campylobacteria highly sensitive to erythromycin, ciprofloxacin, cefazolin, tetracycline, gentamicin and norfloxacin.

Keywords: isolates, campylobacteria, drives with antibiotics, sensitivity, campylobacteriosis.

Дата надходження до редакції: 16.03.2015 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський В.А.