



УДК 619:616.995

Мікробоносійство личинок *Strongyloides westeri*

В.О. Євстаф'єва¹, І.М. Шендрик², Ю.А. Гугосьян¹
evstva@ukr.net, irashendrik@i.ua, y.gugosyan@gmail.com

¹Полтавська державна аграрна академія,
м. Полтава, вул. Сквороди, 1/3, 36003;

²Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет,
м. Дніпро, вул. Сергія Єфремова, 25, 49600

Асоціації паразитів у тварин різноманітні як в таксономічному відношенні (гельмінти, найпростіші, віруси, бактерії), так і за спричиненою ними патологією. Стронгілоїдеси часто є співчленами паразитоценозів тварин, формуючи зі збудниками інфекцій тісні симбіотичні зв'язки. Проникаючи в організм перкутанно чи аліментарно, личинки гельмінтів інокулюють бактерії та віруси, тим самим ускладнюючи перебіг захворювань.

З метою дослідження ймовірності персистенції мікроорганізмів у тілі личинок *Strongyloides westeri*, проведено посів гомогенізату личинок на живильні середовища. Виділені мікроорганізми різнилися між собою за терміном появи, пігментуванням та культуральними властивостями, формуючи на щільних живильних середовищах колонії S- та R- форми. У бульйоні виявляли помутніння, утворення осаду та плівки на його поверхні. Бактеріологічними дослідженнями гомогенізату личинок *Strongyloides westeri* виділено 7 культур мікроорганізмів, які ідентифіковано як представників родин: *Enterobacteriaceae* (роди *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*); *Micrococcaceae* (роди *Streptococcus*, *Staphylococcus*); *Bacillaceae* (рід *Bacillus*). У пробах гомогенізату личинок усіх дослідних тварин (100%) виявлено бактерії родів: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, у 60% ідентифіковано бактерій роду *Proteus*, у 20% – роду *Streptococcus*, що підтверджує здатність личинок *Strongyloides westeri* бути резервентами бактерій.

Ключові слова: *Strongyloides westeri*, личинки, мікроорганізми, живильні середовища, культивування, паразитоценози.

Микробоносительство личинок *Strongyloides westeri*

В.А. Евстафьева¹, И.Н. Шендрик², Ю.А. Гугосьян¹
evstva@ukr.net, irashendrik@i.ua, y.gugosyan@gmail.com

¹Полтавская государственная аграрная академия,
г. Полтава, ул. Сквороды, 1/3, 36003;

²Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет,
г. Днепр, ул. Сергея Ефремова, 25, 49600

Ассоциации паразитов у животных разнообразны как в таксономическом отношении (гельминты, простейшие, вирусы, бактерии), так и по вызванной ими патологии. Стронгилоидесы часто являются сочленами паразитоценозов животных, формируя с возбудителями инфекций тесные симбиотические связи. Проникая в организм перкутанно или алиментарно, личинки гельминтов инокулируют бактерии и вирусы, тем самым осложняя течение заболеваний.

С целью исследования вероятности персистенции микроорганизмов в теле личинок *Strongyloides westeri*, проведен посев гомогенизата личинок на питательные среды. Выделенные микроорганизмы отличались между собой по срокам появления, пигментообразованию и культуральным свойствам, формируя на плотных питательных средах колонии S- и R-формы. В бульоне выявляли помутнение, образование осадка и пленки на его поверхности. Бактериологическими исследованиями гомогенизата личинок *Strongyloides westeri* выделено 7 культур микроорганизмов, которые идентифицированы как

Citation:

Yevstafieva, V.O., Shendryk, I.N., Gugosyan, Yu.A. (2017). Content of microorganisms larvae *Strongyloides westeri*. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 19(73), 3–6.

представители семейств: Enterobacteriaceae (роды Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Proteus) Micrococcaceae (родов Streptococcus, Staphylococcus) Bacillaceae (род Bacillus). В пробах гомогенизата личинок всех подопытных животных (100%) обнаружены бактерии родов: Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Bacillus, Staphylococcus, у 60% идентифицировано бактерий рода Proteus, в 20% – рода Streptococcus, что подтверждает способность личинок Strongyloides westeri быть резервентами бактерий.

Ключевые слова: Strongyloides westeri, личинки, микроорганизмы, питательные среды, культивирования, паразитоценозы.

Content of microorganisms larvae *Strongyloides westeri*

V.O. Yevstafieva¹, I.N. Shendryk², Yu.A. Gugosyan¹
evstva@ukr.net, irashendrik@i.ua, y.gugosyan@gmail.com

¹Poltava State Agrarian Academy,
Poltava, Skovorody Str. 1/3, 36003;

²Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University,
Dnipro, Serhii Efremov Str., 25, 49600

The associations of parasites in animals are diverse both in taxonomic respect (helminthes, protozoa, viruses, bacteria) and due to pathology caused by them. Strongyloides are often associated with parasitocenosis of animals, forming close symbiotic links with pathogens of infections. Penetrating into the body percutaneous or alimentary, larvae of helminthes inoculate bacteria and viruses, thereby complicating the course of diseases.

In order to study the probability of persistence of microorganisms in the body of Strongyloides westeri larvae, larva homogenate was sown to nutrient media. Isolated microorganisms differed in terms of appearance, pigmentation and cultural properties, forming on colonies of S- and R-forms on dense nutrient media. In the broth, turbidity was detected, the formation of a precipitate and a film on its surface. Bacteriological studies of Strongyloides westeri homogenate larvae identified 7 cultures of microorganisms that were identified as representatives of the families: Enterobacteriaceae (genera Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Proteus) Micrococcaceae (genus Streptococcus, Staphylococcus) Bacillaceae (genus Bacillus). In the homogenate samples of larvae of all experimental animals (100%), bacteria of genera were found: Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Bacillus, Staphylococcus, 60% identified bacteria of the genus Proteus, 20% of the genus Streptococcus. The conducted studies established the parasitocenotic connections of Strongyloides westeri larvae and the microorganisms of seven different genera belonging to three families. The results of the studies confirm the ability of nematode larvae of the species Strongyloides westeri to be bacterial reservoirs. Helminthes is one of the probable ways of getting microorganisms into the body of a receptive host.

Key words: Strongyloides westeri, larvae, microorganisms, nutrient media, cultivation, parasitocenosis.

Вступ

У патогенезі інвазійних хвороб важливу роль відіграють паразитоценотичні зв'язки їх збудників. Інокуляторна дія гельмінтів, персистенція бактерій та вірусів у їх тілі і передача наступним поколінням є небезпечним фактором у виникненні і розвитку асоціативних захворювань заразної етіології. Імунодепресивний вплив паразитів призводить до послаблення реактивності та загальної резистентності макроорганізму, посилюючи патогенну дію бактерій та вірусів (Erhan et al., 1995; Gajrabekov and Jerzharova, 2010; Pelen'o et al., 2011; Razikov and Karimkulov, 2011; Shendryk, 2011). Відомо, що паразитування параскарисів, сприяє більш тяжкому перебігу миту коней, міграція личинок *Strongylus edentatus* – сальмонельозу та колибактеріозу у лошат. Встановлено симбіотичні зв'язки бактерій групи *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Proteus* із збудниками *Parascaris equorum* та *Ascaris suum* (Ponomarev et al., 2007; Gajrabekov and Jerzharova, 2010).

Особливості біології стронгілоїдесів, за наявності вільноіснуючих генерацій та їх тривале існування у об'єктах навколишнього середовища, сприяють появі паразитоценотичних зв'язків (Shendryk, 2011; Viney and Lok, 2015). Філярієподібні личинки цих гельмінтів, проникаючи в організм тварин аліментарно або перкутанно, інокують патогенну мікрофлору,

спричинюють розвиток екзем, дерматитів, а мігруючи з кров'ю до внутрішніх органів є причиною виникнення ентеритів, бронхопневмоній та плевритів (Thamsborg et al., 2007; Viney and Lok, 2015).

Мікробіологи Wilson і Tompson, ще в 1964 році експериментально встановили, що гельмінти виду *Strongyloides stercoralis*, містять у своєму тілі бактерій стафілококів, стрептококів, ешерихій, підтвердивши їх патогенність на лабораторних тваринах (Erhan et al., 2007). Однак асоціації гельмінтів та мікроорганізмів, як співчленів паразитоценозів, надзвичайно різноманітні й на нашу думку, недостатньо вивчені. Тому визначення можливості мікробоносійства стронгілоїдесів та їх ролі у розвитку інфекційного процесу в тварин є актуальним.

Мета роботи полягала у визначенні складу мікроорганізмів, які персистують у личинках *Strongyloides westeri*.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в умовах наукової лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавської державної аграрної академії та навчально-дослідної лабораторії кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету. Матеріалом досліджень слугували личинки

рабдито- та філярієподібні личинки стронгілоїдесів ($n = 500 \pm 21,5$ екз. лич.), отримані шляхом культивування та виділення їх із фекалій коней ($n = 5$), спонтанно уражених збудником стронгілоїдозу. Культивування личинок проводили за загальноприйнятим методом П.А. Величкіна (1967), їх виділення – методом Бермана (1917), ідентифікували з урахуванням морфологічних ознак характерних для рабдитат (Viney and Lok, 2015).

Для отримання чистої культури личинок *S. papillosus*, одержаних у результаті культивування стронгілоїдесів, поміщали у пробірку та центрифугували рідину протягом 1 хв. за 1500 об./хв. У подальшому відбирали осад, який містив личинок та перенесли у стерильну пробірку, додаючи фізіологічний розчин. Процедуру повторювали до отримання чистої культури личинок від кожної тварини окремо.

Гомогенізатор, отриманий шляхом розтирання культури личинок у фарфоровій ступці, у об'ємі 0,5 мл висівали на живильні середовища МПБ та МПА. Індикацію та ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали методами загальної мікробіології (Skybickuj et al., 2012), з використанням середовищ: МПА, МПБ, кров'яного МПА, ксилосо-лізінового дезоксіхлоратного агару (XLD агар), вісмут-сульфітного агару, середовищ Ендо, Левіна, Плоскірева. З отриманих культур готували мазки, фарбували за Грамом, за Міхіним і досліджували під мікроскопом з врахуванням тинкторіальних властивостей та морфологічних особливостей мікроорганізмів. Видову та родову приналежність збудників інфекцій визначали згідно визначника бактерій Берджі (1997) за сукупністю базисних характеристик (Hoult et al., 1997).

Результати та їх обговорення

За результатами бактеріологічних досліджень гомогенізатору личинок *Strongyloides westeri* було виділено 7 культур мікроорганізмів, які ідентифіковано як представників родини *Enterobacteriaceae*, родів *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*; родини *Micrococcaceae* – родів *Streptococcus*, *Staphylococcus*; родини *Bacillaceae* – роду *Bacillus*.

У пробах гомогенізатору личинок усіх дослідних тварин (100%) виявлено бактерії родів: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*. Рідше – 60%, у личинок *Strongyloides westeri*, ідентифіковано бактерій роду *Proteus* і тільки у 20% – бактерій роду *Streptococcus*.

Виділені мікроорганізми різнилися між собою за терміном появи, пігментоутворенням та культуральними властивостями, формуючи на щільних живильних середовищах колонії S- та R- форми. У бульйоні виявляли помутніння, утворення осаду та плівки на його поверхні.

Ріст культур мікроорганізмів, які належать до роду *Enterobacter* на МПА характеризувався появою великих ослизнених, сірих колоній S-форми. На МПБ відмічали помутніння середовища, утворення плівки та осаду, а за мікроскопії виявляли короткі, грамнегативні прямі, рухливі палички із заокругленими кінцями, розміром $0,46 \times 1,55$ мкм.

При диференціації ентеробактерій ідентифіковані ешерихії, а саме *Escherichia coli*, що на середовищі Ендо формували середнього розміру, округлі колонії з характерним металевим блиском, за посіву на XLD агар – великі, плоскі, жовті колонії. При мікроскопії виділеної культури у мазках виявляли розташовані поодинокі або попарно палички із заокругленими кінцями (довжиною 2–5 мкм), які за Грамом зафарбовувались негативно.

Культура мікроорганізмів роду *Klebsiella* на МПА характеризувалася формуванням сферичних слизових сірувато-білих колоній, у МПБ – появою плівки та рівномірного помутніння з тягучим слизом, на середовищі Ендо – утворенням великих, випуклих, слизових колоній малинового кольору, на XLD агарі – слизоподібні жовті колонії. У мазках виявляли грамнегативні, нерухливі прямі палички з капсулою, довжиною 0,7–6 мкм, розташовані попарно або у вигляді невеликих ланцюжків.

Культура бацил на МПА характеризувалася появою росту у вигляді сірувато-білих колоній R-форми, на МПБ – помутнінням та утворенням поверхневої рихлої плівки, гемолітичної активності на кров'яному агарі не виявляли. За мікроскопії мазків фарбованих за Грамом, виявляли фіолетового кольору прямі палички з обрубленими кінцями розміром $2,9\text{--}3,3 \times 0,6\text{--}0,7$ мкм з ендоспорами.

Ріст бактерій роду *Proteus* на МПА характеризувався суцільним ростом, на середовищі Плоскірева – прозорих великих ізольованих колоній, на вісмут-сульфітному агарі через 48 годин мікроорганізми формували колонії брудно-коричневого кольору. За мікроскопії виявляли прямі нерухливі, грамнегативні палички довжиною до 3 мкм.

Під час дослідження культуральних властивостей стафілококів констатували, що на МПБ культура спричинює інтенсивне помутніння з великою кількістю осаду, на МПА утворює непрозорі випуклі колонії з рівними краями, при цьому появу пігменту не виявляли, а за посіву на кров'яний агар гемоліз не спричинювали. Морфологічно ідентифікували грамнегативні мікробні клітини кулястої форми, які в мазках розміщалися попарно. Рухливості, утворення спор та капсул не виявляли, сукупність таких ознак характерна для виду *Staph. saprophiticus*.

Для культури клітин стрептококів характерним був інтенсивний ріст на МПА у вигляді сірувато-білих ослизнених колоній S-форми, на МПБ відмічали легке помутніння з просвітленням і утворенням осаду у вигляді пластівців, на кров'яному агарі – із зоною β -гемолізу. У мазках у вигляді коротких ланцюжків, що розміщені поодинокі, клітини стиснуті з полюсів, з капсулою, діаметром 0,5–1 мкм, грамнегативні, спор не утворюють, нерухливі, отримані особливості характерні для виду *Streptococcus equi*.

Виходячи із даних проведених досліджень констатували паразитоценотичні зв'язки личинок *Strongyloides westeri* та мікроорганізмів семи різних родів, що належать до трьох родин.

Отже, отримані дані підтверджують здатність личинок нематод виду *Strongyloides westeri* бути резервними бактерій. Гельмінти є одним із ймовірних

шляхів потрапляння мікроорганізмів до сприйнятливо-го організму та формування ценотичних зв'язків асоціації збудників інфекційної та інвазійної етіології.

Висновки

Бактеріологічними дослідженнями гомогенізату личинок *S. westeri* ідентифіковано мікроорганізмів родів: *Enterobacter*, *Escherichia* (вид *Escherichia coli*), *Klebsiella*, *Proteus*, *Streptococcus* (вид *Streptococcus equi*), *Staphylococcus* (вид *Staph. saprophiticus*), *Bacillus* та доведено здатність їх до персистування.

2. Найчастіше у пробах гомогенізату личинок виявлено бактерії родів: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*.

Перспективи подальших досліджень. З урахуванням отриманих даних планується вивчення перебігу інфекційного процесу на фоні стонгілоїдозної інвазії коней.

Бібліографічні посилання

- Gajrabekov, R.H., Jerzhapova, Je.S. (2010). Rol' parazitocenzov v infekcionno-invazionnoj patologii. Refleksija. 4–6, 9–11 (in Russian).
- Erhan, D.K. Panasjuk, D.I., Panasjuk, S.D., Jatusevich, A.I. (1995). Gel'minty i prostejshie – rezervuarne hozjaeva i vzbuditeli giperparazitarnyh sochetannyh infekcionnyh i invazionnyh. Kishinev (in Russian).
- Hoult, Dzh., Kriga, N., Snita, P., Stejli, Dzh., Uill'jamsa, S. (1997). Opredelitel' bakterij Berdzh. M.: Mir (in Russian).
- Pelen'o, R.A., Stibel', V.V., Ushkalov, V.O. (2011). Mikrobogel'mintocenz travnogo kanalu jak gal'mivnij chinnik rozvitku svinarstva. Naukovij visnik LNUVMBT imeni S.Z. Gzhic'kogo.13, 4(50), 520–525 (in Ukrainian).
- Ponomarev, N.M., Rjabceva, E.V., Baryshnikov, P.I. (2007). Vidovoj sostav i mikrobonositel'stvo loshadej v Kemerovskoj oblasti. Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Sel'skohozjajstvennye zhivotnye. 2, 21–22 (in Russian).
- Razikov, Sh., Karimkulov, A. (2011). Rol' strongiljatozov ovec v infekcionnoj patologii. Kishovarz (Zemledelec). 1, 47–50 (in Russian).
- Skybic'kyj, V.G., Vlasenko, V.V., Kozlovs'ka, G.V., Ibatullina, F.Zh., Tashuta, S.G., Mel'nyk, M.V. (2012). Veterynarna mikrobiologija. Kyi'v. «Bio-Test-Laboratorija» (in Ukrainian).
- Shendryk, I.M. (2011). Osoblyvosti perebigu infekcionogo procesu tuberkul'ozu na foni nematodoznoi' invazii' v eksperymenti. Visnyk Dnipropetrovs'kogo derzhavnogo agrarnogo universytetu. 2, 107–109 (in Ukrainian).
- Thamsborg, S.M., Ketzis, J., Horii, Y., Matthews, J.B. (2007). Strongyloides spp. Infections of veterinary importance. ... Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 101(11), 1163–1165.
- Viney, M.E., Lok, J.B. (2015). The biology of Strongyloides spp. WormBook The C. elegans Research Community. 16, 17.
- Viney, M.E., Lok, J.B. (2015). Strongyloides spp. WormBook The C. elegans Research Community, May, 15.

Стаття надійшла до редакції 20.02.2017