

## Original researches

## Species composition of microorganisms isolated from biomaterials of sick calves and cows

O. Y. Ayshpur\*, I. Yu. Mushtuk\*, N. O. Sheremet\*, V. V. Gumeniuk\*, O. M. Yermolenko\*, M. M. Derev'yanko\*, V. V. Hlebeniuk\*\*

\*Institute of Veterinary Medicine of NAAS, Kyiv, Ukraine

\*\*Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 06 December 2021

Revised: 17 December 2021

Accepted: 30 December 2021

Institute of Veterinary Medicine the National  
Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,  
Donetska Str. 30, Kyiv, 03151, Ukraine

Tel.: +38-044-245-77-62

E-mail: olenaayshpur@gmail.com

Dnipro State Agrarian and Economic  
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,  
49600, Ukraine

Tel.: +38-056-268-54-36

E-mail: hlebeniuk.v.v@dsau.dp.ua

Cite this article: Ayshpur, O. Y., Mushtuk, I. Yu., Sheremet, N. O., Gumeniuk, V. V., Yermolenko, O. M., Derev'yanko, M. M., & Hlebeniuk, V. V. (2021). Species composition of microorganisms isolated from biomaterials of sick calves and cows. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(4), 182–185. doi: 10.32819/2021.94027

**Abstract.** Bacteriosis of cattle, the main cause of which is opportunistic microflora, cause significant damage to the livestock industry. Therefore, the study of the etiological structure of bacteriosis in cattle is relevant. During 2018, 2020–2021, 824 biomaterials' samples of from 97 livestock farms in different regions of Ukraine were studied, including milk samples from patients with mastitis and vaginal lavages during cow endometritis, nasal mucus from calves with respiratory syndrome, feces from animals with diarrhea, exudate during inflammatory processes of the extremities. During bacteriological studies of biomaterials, 35 types of microorganisms were isolated. It should be noted that from 23.7% to 24.2% of *Escherichia coli* isolates were isolated; bacteria of the genus *Proteus* – from 10.8% to 16.7%. The important role of staphylococci in the occurrence of cattle bacteriosis has been proved, they have been isolated from 21.43% to 28.75%, while the proportion of *Staphylococcus aureus* isolation increased up to 21.6%. In the course of the biomaterials studies, up to 16.3% of enterococci were identified. According to our long-term research, simultaneous or sequential infection of animals with two or more pathogens has been established. Over the last year of observations (2021) the same trend was revealed towards an increase in the cases of two or more pathogens detection from one animals' biomaterial with bacteriosis. If one is isolated in 31.11% of samples, while two – in 39.68%, three – in 18.41%.

**Keywords:** bacteria; isolate; pathogen; sample; etiological structure; cattle

## Видовий склад мікроорганізмів, ізольованих із біоматеріалів від хворих телят і корів

O. Є. Айшпур\*, І. Ю. Муштук\*, Н. О. Шеремет\*, В. В. Гуменюк\*, О. М. Єрмоленко\*, М. М. Дерев'янок\*, В. В. Глебенюк\*\*

\* Інститут ветеринарної медицини НААН, Київ, Україна

\*\*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

**Анотація.** Бактеріози великої рогатої худоби, основною причиною яких є умовно-патогенна мікрофлора, наносять значні збитки галузі скотарству. Тому вивчення етіологічної структури бактеріозів великої рогатої худоби є актуальним. Упродовж 2018, 2020–2021 років досліджено 824 зразка біоматеріалів із 97 скотарських ферм різних регіонів України, в тому числі проби молока від хворих на мастити та вагінальні змиви за ендометритів корів, носовий слиз за респіраторного синдрому у телят, фекалії від тварин з діареєю, ексудат при запальних процесах кінцівок. За бактеріологічних досліджень біоматеріалів ізольовано 35 видів мікроорганізмів. Слід відмітити, що було виділено від 23,7% до 24,2% ізолятів *Escherichia coli*; бактерій роду *Proteus* – від 10,8% до 16,7%. Доведено вагому роль стафілококів у виникненні бактеріозів великої рогатої худоби, їх ізольовано від 21,43% до 28,75%, при цьому збільшується частка ізольовання *Staphylococcus aureus* – до 21,6%. Впродовж проведених досліджень біоматеріалів було ідентифіковано до 16,3% ентерококів. За нашими багаторічними дослідженнями встановлено одночасне або послідовне зараження тварин двома або більше збудниками. За останній рік спостережень (2021) виявлена така ж тенденція до збільшення випадків виявлення двох та більше збудників із одного біоматеріалу від хворих на бактеріози тварин. Якщо один ізольований у 31,11% зразків, тоді як два – у 39,68%, три – у 18,41%.

**Ключові слова:** бактерії; ізолят; збудник; зразок; етіологічна структура; велика рогата худоба

### Вступ

Метою сучасного розвитку скотарства є отримання продукції високої якості із найменшими втратами в процесі виробництва. Це досягається, в тому числі, і за умови більш інтенсивного використання тварин, укрупнення стад, що веде до збільшення загрози виникнення хвороб, які ускладнюються інфекційними агентами (Pysarenko et al., 2014; Glebenjuk & Telizhenko, 2015).

Інфекційні хвороби тварин бактеріальної етіології такі, як хвороби молочної залози (мастити), ендометрити корів, респіраторні та шлунково-кишкові захворювання телят, наносять значні збитки галузі скотарству, що призводить до проблем у переробній промисловості, вибракування цінних тварин та зниження ефективності виробництва продуктів скотарства.

Основною причиною запальних процесів є умовно-патогенна мікрофлора (стрептококи, стафілококи, ешеріхії, синьо-гній-

на паличка, протей, ентерококи та інші), які підсилюють свої патогенні властивості на фоні зниження природної резистентності організму, зокрема, корів у післяродовий період (Lytvyn et al., 2002; Fairbrother & Gyles, 2012; Glebenyuk et al., 2018). Тому вивчення етіологічної структури бактеріозів великої рогатої худоби є актуальним.

Метою нашої роботи було встановлення видового складу мікроорганізмів, виділених із біоматеріалів хворих телят та корів у господарствах України.

### Матеріал та методи досліджень

Дослідження проводили в лабораторії бактеріальних хвороб тварин Інституту ветеринарної медицини НААН, а також усюкарських господарствах України.

Матеріалом для дослідження слугували біоматеріали від хворих тварин різновікових груп.

Бактеріологічні дослідження проводили згідно з загаль-

ноприйнятими методиками. За дослідження біохімічних властивостей, крім висіву на строкатий ряд, використовували тест-системи АРІ для ідентифікації мікроорганізмів (виробництво Франція).

Упродовж 2018, 2020–2021 років досліджено 824 зразка біоматеріалів із 97 скотарських ферм різних регіонів України, в тому числі проби молока від хворих на мастити та вагінальні змиви за ендометритів корів, носовий слиз за респіраторного синдрому у телят, фекалії від тварин з діареєю, ексудат при запальних процесах кінцівок. Ідентифікація мікроорганізмів проведено за загальноприйнятими в мікробіології методиками з дотриманням норм біоетики та біобезпеки.

### Результати

За бактеріологічних досліджень біоматеріалів від хворих телят та корів ізолювано 35 видів мікроорганізмів, потенційних збудників інфекційних, так званих факторних, хвороб (таблиця).

Таблиця – Видовий склад мікроорганізмів ізолюваних із біоматеріалів від хворих телят і корів

№ п/п	Вид мікроорганізму	Кількість (%) ізолятів, виділених за роками		
		2018 (n = 532)	2020 (n = 240)	2021 (n = 482)
1	<i>Escherichia coli</i>	23,87	24,2	23,7
2	<i>Proteus mirabilis</i>	13,53	10,0	8,7
3	<i>Proteus vulgaris</i>	2,07	0,4	1,7
4	<i>Proteus spp.</i>	1,13	0,4	0,4
5	<i>Proteus morgani</i>	–	–	1,7
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	10,90	18,75	21,6
7	<i>Staphylococcus spp.</i>	10,53	10,0	0,4
8	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–	–	3,9
9	<i>Streptococcus agalactiae</i>	9,96	1,25	2,5
10	<i>Streptococcus spp.</i>	6,58	0,8	–
11	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,13	–	–
12	<i>Streptococcus uberis</i>	–	–	0,6
13	<i>Candida spp.</i>	4,14	2,5	0,8
14	<i>Enterococcus spp.</i>	3,76	6,7	3,3
15	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,56	9,6	12,6
16	<i>Pseudomonas spp.</i>	3,01	3,75	–
17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,63	2,5	1,7
18	<i>Clostridium perfringens</i>	0,38	–	–
19	<i>Clostridium ramosum</i>	0,19	–	–
20	<i>Klebsiella spp.</i>	0,38	–	1,7
21	<i>Micrococcus spp.</i>	1,13	3,8	–
22	<i>Micrococcus luteus</i>	1,13	0,4	1,7
23	<i>Clostridium spp.</i>	1,13	0,4	0,8
24	<i>Corynebacterium spp.</i>	0,56	2,1	2,3
25	<i>Enterobacter spp.</i>	0,56	–	–
26	<i>Mycoplasma spp.</i>	0,38	–	–
27	<i>Citrobacter spp.</i>	–	–	0,2
28	<i>Parvimonas micra</i>	–	–	0,4
29	<i>Bacillus spp.</i>	–	–	0,6
30	<i>Yersinia spp.</i>	–	–	0,2
31	<i>Salmonella spp.</i>	0,19	–	–
32	<i>Bordetella spp.</i>	0,19	0,4	–
33	<i>Morganella morgani</i>	–	0,4	–
34	<i>Bacillus cereus</i>	–	1,25	1,0
35	<i>Serratia marcescens</i>	–	0,4	–



Рис. 1. Ріст бактерій групи *Enterobacteriaceae* із зразків молока від хворих на мастити корів (середовище Ендо)



Рис. 2. Ріст бактерій *Staphylococcus aureus* із зразків молока від хворих на мастити корів (середовище – сольовий агар з манітою)

Слід відмітити, що було виділено від 23,7 до 24,2% ізолятів *E. coli*; а за досліджень молока від хворих на мастити корів ізолювано до 49% від усіх інших видів мікроорганізмів (рис. 1). Це свідчить про вагомий роль цього збудника у інфекційному процесі та важливість його контролю.

При цьому ізолювано високий відсоток протей – від 10,8 до 16,7%, що свідчать про їх важливу етіологічну роль за виникнення різних запальних та гнійних процесів в організмі тварин.

Впродовж проведених досліджень біоматеріалів було ідентифіковано до 16,3% ентерококів. Частка ванкоміцинорезистентних штамів склала від 34,6 до 59,3%. Циркуляція таких штамів у природі небезпечна як для тварин, так і для людини.

В результаті досліджень встановлено значну вагу стафілококів у виникненні бактеріозів великої рогатої худоби, їх ізолювано від 21,43 до 28,75%, при цьому збільшується частка ізолювання *Staphylococcus aureus* – до 21,6%. За захворювання на мастити корів відсоток виділених ізолятів *Staphylococcus aureus* (рис. 2) склало до 19,0%.

Багаторічними дослідженнями встановлено одночасне або послідовне зараження тварин двома або більше збудниками. Своєчасне їх ідентифікація за різних асоціацій мікроорганізмів допомагає правильно поставити діагноз та провести раціональну антибіотикотерапію та профілактику бактеріозів великої рогатої худоби.

За останній рік спостережень (2021) виявлено тенденцію до збільшення випадків виявлення двох та більше збудників із од-

ного біоматеріалу від хворих на бактеріози тварин. Якщо один збудник ізолюваний у 31,11% зразків, тоді як два – у 39,68%, три – у 18,41% відповідно (рис. 4).

Отже, асоційований перебіг інфекції за участю декількох збудників ускладнює вибір антибіотикотерапії та ставить питання про альтернативні види контролю інфекцій.

#### Обговорення

Результати проведених досліджень доводять важливу етіологічну роль ешеріхій у виникненні бактеріозів тварин. Крім того, нами встановлено високий ступінь резистентності *E. coli* до протимікробних препаратів, що призводить до пошуків альтернативної стратегії лікування та представляє загрозу для здоров'я людини через потенційну можливість передачі резистентності збудників через харчовий ланцюг.

Бактерії роду *Proteus* утворюють асоціації з патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, збільшуючи їх негативну дію на макроорганізм. Це підтверджує висновок про те, що протей впливає на зростання токсичних властивостей інших збудників інфекційного процесу, знижує активність фагоцитозу, інгібує дію антибіотиків та підвищує стійкість до них асоційованих мікроорганізмів. Необхідно відзначити, що паличка протей в асоціації з іншими патогенними збудниками спричиняє ускладнення хвороботворного процесу та важкий його перебіг (Gumenyuk, 2020).

Ентерококи є консорбентами кишечника людини та тва-

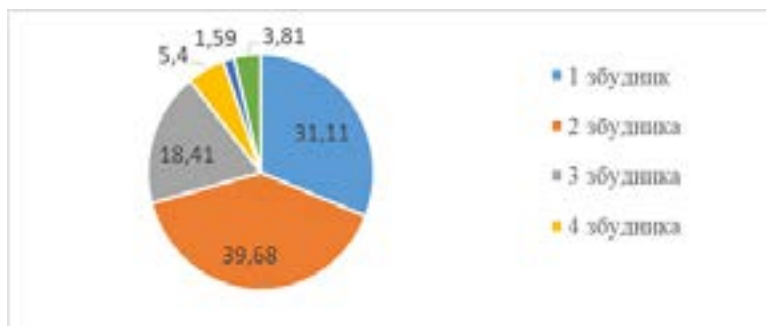


Рис. 3. Кількість мікроорганізмів (%), виділених із одного біоматеріалу від хворих на бактеріози телят та корів у 2021 році.

рин. Основними симбіонтами мікрофлори кишечника, є два види ентерококів: *E. faecalis* та *E. faecium*, а їх патогенні штами здатні викликати цілий перелік інфекцій, який з кожним роком збільшується, про що свідчать результати наших досліджень. Особливістю ентерококів є високий рівень їх антибіотикорезистентності. Інфекції, спричинені вірулентними штамами ентерококів резистентними до ванкоміцину характеризуються високим рівнем захворюваності та смертності (Perin et al. 2014; Gousia et al., 2015; Ajshpur et al., 2021).

Нашими попередніми дослідженнями підтверджено, що велика рогата худоба може бути резервуаром стійкого до метициліну (MRSA) та інших антибіотиків штамів та ізолятів *Staphylococcus aureus* (Cuny et al., 2009). У зв'язку з цим зростає занепокоєння у сфері громадського здоров'я, що стимулює дослідження MRSA та явища антибіотикорезистентності стафілококів у тварин у багатьох країнах, в тому числі на Україні (Broens et al., 2011).

### Висновки

За бактеріологічних досліджень біоматеріалів від хворих на бактеріоз телят та корів ізолювано 35 видів мікроорганізмів. Встановлено одночасне або послідовне зараження тварин двома або більше збудниками. Своєчасна їх ідентифікація за різних асоціацій мікроорганізмів допомагає правильно поставити діагноз та провести раціональну антибіотикотерапію та профілактику бактеріозів великої рогатої худоби.

### References

- Ajshpur, O. Ye., Mushtuk, I. Yu., Sheremet, N. O., Berezovchuk, S. M., Gumenyuk, V. V., Yermolenko, O. M., & Derev'yanko, M. M. (2021). Vyvchennya antybiotykohezystentnosti enterokokiv. Vankomicynorezystentni shtamy enterokokiv [Study of antibiotic resistance of enterococci. Vancomycin-resistant strains of enterococci]. *Veterynarna Biotekhnolohiia*, 39, 9–17 (in Ukrainian).
- Broens, E. M., Graat, E. A. M., Van Der Wolf, P. J., Van De Giessen, A. W., & De Jong, M. C. M. (2011). Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 102(1), 41–49.
- Cuny, C., Nathaus, R., Layer, F., Strommenger, B., Altmann, D., & Witte, W. (2009). Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PLoS ONE*, 4(8), e6800.
- Fairbrother, J. M., & Gyles, C. L. (2012). Colibacillosis. In: *Diseases of swine*. Zimmerman J. J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W. (Editors). Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 10th edition, Chapter 53, 723–749.
- Glebenjuk, V. V., & Telizhenko, K. V. (2015). Species belonging to mycobacteria isolated from animals in the Dnipropetrovsk region. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 3(1), 61–64.
- Glebenyuk, V. V., Borovik, I. V., Kuchuk, T. V., & Litvinenko, O. O. (2018). Etiological structure of bacteriosis of animals in the Dnipropetrovsk region for 2014–2016. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(83), 260–263.
- Gousia, P., Economou, V., Bozidis, P., & Papadopoulou, C. (2015). Vancomycin-resistance phenotypes, vancomycin-resistance genes, and resistance to antibiotics of enterococci isolated from food of animal origin. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(3), 214–220.
- Gumenyuk, V. V. (2020). Vyvchennya antybiotykohezystentnosti klinichnykh shtamiv bakterii rodu proteus za bakterioziv vrkh [Study of antibiotic resistance of clinical strains of bacteria of the genus *Proteus* in cattle bacteriosis]. *Aktualni Problemy Veterynarnoyi Biotekhnologiyi ta Infekciynoyi Patologiyi Tvaryn: materialy naukovo-praktychnoyi konferenciyyi molodyx vchenykh*, Kyiv (in Ukrainian).
- Lytvyn, V. P., Olijnyk, L. V., Korniyenko, L. Ye., & Yarchuk, B. M. (2002). Faktorni khvoroby sil's'kogospodars'kyx tvaryn [Factor diseases of farm animals]. Kyiv (in Ukrainian).
- Perin, L. M., Miranda R. O., Todorov, S. D., Franco, B. D., & Nero, L. A. (2014). Virulence, antibiotic resistance and biogenic amines of bacteriocinogenic lactococci and enterococci isolated from goat milk. *International Journal of Food Microbiology*, 185(18), 121–126.
- Pysarenko, V. F., Kovalenko, A. M., & Suvorova, V. N. (2014). Razrabotka preparata dlya profilaktiki i lecheniya krupnogo rogatogo skota pri razvitii infektsionnogo paltsevogo dermatita [Development of a drug for the prevention and treatment of cattle in the development of infectious finger dermatitis]. *Vesnik Kurskoy Gosudarstvennoy Selskohozyaystvennoy Akademii*, 6, 79–80 (in Russian).