

МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ТА БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕПІЗООТИЧНОГО ШТАМУ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ТА ЙОГО ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

Скупейко К.А., учениця Дніпропетровського територіального відділення
МАН України, м. Дніпро, Україна

Мороховець В.О., здобувач вищої освіти другого (магістерського)
рівня освіти 1 курсу ОПП «Ветеринарна медицина»
(термін навчання 4,10 роки)

Юрчук О.Г., здобувач вищої освіти другого (магістерського) рівня освіти 2
курсу ОПП «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»
(термін навчання 5,10 роки)

Писарєва В.В., здобувачка вищої освіти другого (магістерського)
рівня освіти 3 курсу ОПП «Ветеринарна медицина» (термін навчання 4,10
роки)

Наукові керівники: Білан М.В., канд. вет. наук, доцент;

Усєєва Н.Г., старший викладач

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
м. Дніпро, Україна

Актуальність. *Pseudomonas aeruginosa* – синьогнійна паличка, патогенна для рослин, тварин та людини. Резистентна до більшості антибіотиків, невибаглива до умов існування. Здатна заражати макроорганізми, без змоги лікування. Вважається дуже небезпечною. Має вплив на економічний та соціальний стани, тому потребує ретельного дослідження та методів лікування [1].

Зараз у ветеринарії залишається актуальним питання антибіотикорезистентності. Це проблема сучасності. Антибіотикорезистентні організми здатні бути мультирезистентними і тоді їх взагалі неможливо знищити антибіотиками. Мультирезистентні – здатні набувати стійкості до багатьох антибіотиків. *Pseudomonas aeruginosa* є саме такою, тому і вважається надзвичайно небезпечною для живих організмів [2]

Зараз науковці та вчені світу розробляють препарати для боротьби з антибіотикорезистентними мікроорганізмами і, в тому числі, синьогнійною паличкою. Повідомляється про природні сполуки, які здатні знищувати цю бактерію, наприклад, складові шкірки гранату звичайного (*Punica granatum*), широкого розповсюдження також набули бактеріофаги [3, 4].

Мета. Вивчити морфологічні ознаки та біохімічні властивості епізootичного штаму *Pseudomonas aeruginosa* та встановити його чутливість до антибактеріальних препаратів.

Матеріали і методи. Дослідження проводили в науковій лабораторії кафедри інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Під час виконання роботи застосовували наступні методи: бактеріоскопічний, бактеріологічний та статистичний.

Виділення культури проводили з внутрішніх органів курки. Посівний матеріал переносили у пробірки зі стерильним МПА. Ідентифікацію та диференціацію виділених мікроорганізмів проводили шляхом культивування на звичайних та спеціальних живильних середовищах (МПА, МПБ, кров'яний МПА, середовища Гісса та молоко, ін.). Вивчення морфологічних ознак, тинкторіальних, культуральних і біохімічних властивостей здійснювали відповідно до загальноприйнятих у мікробіологічній практиці методикам. З одержаних культур готували мазки, фарбували за Грамом і досліджували під мікроскопом. Мікроскопіювання проводили за допомогою світлового мікроскопа. Видову належність визначали за сукупністю характеристик згідно визначника бактерій Берджі (1997).

Чутливість культури *Pseudomonas aeruginosa* до антибіотиків визначали методом дифузії в агар (метод дисків). У чашки Петрі з Мюллер-Хінтон агаром вносили 1 см^3 ($5 \times 10^8 \text{ см}^3$ за ступенем мутності суспензії на цифровому денситометрі Dilushaker III) змиву однодобової мікробної культури досліджуваного мікроорганізму. Стерильним пінцетом розкладали стандартні, просочені антибіотиками диски. Оцінку результатів проводили з врахуванням наявності або відсутності зони затримки росту, розміру зони навколо диску з антибіотиком, виміряли діаметр за допомогою лінійки. Подібно до дисків із класичними антибіотиками, проводили дослідження впливу соматичного екстракту отриманого з личинок анізакід (Юрченко М.О., 2022), на *Pseudomonas aeruginosa*. Для цього використовували стерильні та просочені соматичним екстрактом диски з фільтрувального паперу. Вміст білка в соматичному екстракті, яким насичували фільтрувальний папір становив 5 г/л.

Статистичну обробку даних проводили з використанням спеціалізованої комп'ютерної програми Microsoft Excel розраховуючи середнє \pm стандартне відхилення ($x \pm SD$).

Результати. Після посіву та культивування пробірок з суспензією патологічного матеріалу курки у термостаті, нашу увагу привернули пробірки з пігментоутворенням у товщі середовища, яке було синьо-зеленого кольору. Як нам відомо для бактерій роду *Pseudomonas* характерно синтез водорозчинного пігменту – піоціаніну.

На МПА формувалися складчасті колонії, які нагадували «квітку маргаритки», а на МПБ виявляли плівку сірувато-сріблястого кольору. У термостаті відчувався запах «суничного мила». На 5 %-вому кров'яному агарі відмічали зони гемолізу. Тест на оксидазу виявився позитивним.

У полі зору мікроскопу пофарбованих за Грамом мазків виявляли короткі та середні рухливі грамнегативні бактерії, які розташовувалися поодинокі або парами у вигляді коротких ланцюжків. Бактерії спори не утворювали.

На середовищах Гісса мікроби даного виду мали слабкі ферментативні властивості: окислювали лише глюкозу. Проте розріджували молоко, продукували каталазу.

У результаті проведених нами досліджень, виділену культуру ідентифіковано як *Pseudomonas aeruginosa*.

Нами встановлено, що виділений епізоотичний штам *Pseudomonas aeruginosa* був не чутливим до трьох антибактеріальних препаратів: пеніциліну, еритроміцину, левоміцетину. Також мав слабку чутливість до семи видів антибіотиків, які ми використали для дослідження. Зони затримки росту були від $6,8 \pm 0,24$ до $14,3 \pm 0,94$ мм. Найбільшими зонами затримки росту виявлено до енрофлораксацину та стрептоміцину ($14,3 \pm 0,94$ мм та $14,0 \pm 0,82$ мм).

Перевіривши дію соматичного екстракту, виділеного з *анізакид*, також встановили слабку чутливість *Pseudomonas aeruginosa*. Зони затримки росту навколо паперових дисків з екстрактом були діаметром в середньому $9,0 \pm 0,82$. Соматичний екстракт за дією проявив себе подібно до поліміксину.

Висновки.

1. У полі зору мікроскопу пофарбованих за Грамом мазків ізоляту виявляли короткі та середні без споріві рухливі грамнегативні бактерії, які розташовувалися поодинокі або парами у вигляді коротких ланцюжків. На МПА формувалися колонії характерні для *Pseudomonas aeruginosa*: складчасті, які нагадували «квітку маргаритки» та відмічено синтез водорозчинного пігменту – піоціаніну та ароматоутворюючих речовин – відчувався запах «сунічного мила», на МПБ виявляли плівку сірувато-сріблястого кольору. Культура синтезувала гемолізін, оксидазу та каталазу, розщеплювала лише глюкозу та розріджувала молоко.

2. Виділений епізоотичний штам *Pseudomonas aeruginosa* був не чутливим до пеніциліну, еритроміцину, левоміцетину. Антибактеріальні препарати: доксициклін, амоксицилін, неоміцин, тетрациклін, поліміксин стрептоміцин та енрофлораксацин володіли лише бактеріостатичною дією (зони затримки росту культури від $6,8 \pm 0,24$ до $14,3 \pm 0,94$ мм).

3. Встановлено, що соматичний екстракт виділений з личинок родини Anisakidae, проявляв лише бактеріостатичну дію проти *Pseudomonas aeruginosa*. Зони затримки росту навколо паперових дисків з екстрактом були діаметром в середньому $9,0 \pm 0,82$ мм, подібно до поліміксину.

Список використаних джерел.

1. Воронкова О. С. (2012). Перспективи використання діагностичних та лікувальних препаратів бактеріофагів у медицині. Вісник Дніпропетровського університету. Серія : Біологія. Медицина. Вип.3(2). С.20–25. Режим доступу:[http://nbuv.gov.ua/UJRN/vdubm_2012_3\(2\)_6](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vdubm_2012_3(2)_6).
2. Романюк Л. Б., Кравець Н. Я., Клименко С. І., Копча В. С., Дронова О. Й. (2019). Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: актуальність, умови виникнення. Тернопіль: 4(98) Інфекційні хвороби, DOI 10.11603/1681-2727.2019.4.10965
3. Фотіна Т. І., Ващик Є. В., Щербина Р. О. (2018). Проблема антибіотикорезистентності синьогнійної палички та пошук ефективних засобів боротьби. Ветеринарна біотехнологія. Вип. 32(2). С. 577–584. [https://doi.org/10.31073/vet_biotech32\(2\)-70](https://doi.org/10.31073/vet_biotech32(2)-70)
4. Zazharskyi, V. V., Davydenko, P. O., Kulishenko, O. M., Borovik, I. V., & Brygadyrenko, V. V. (2019). Antimicrobial activity of 50 plant extracts. Biosystems Diversity, 27(2), 163–169. doi:10.15421/011922