

БАКТЕРІОЛОГІЧНА РЕАКТИВАЦІЯ ЗАКОНСЕРВОВАНОЇ КУЛЬТУРИ *PASTEURELLA MULTOCIDA* ШТАМ SA-18

Бібен І.А., Сюсюк В.

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

bibenvet@ukr.net

Актуальність. Прокаріоти *Pasteurella multocida* відносяться до мультивалентних збудників бактеріальних інфектопатологій і індукують системні ураження ссавців і птиці у вигляді респіраторного або ентерального синдромів та їх комбінацію - пневмоентерити у молодняка, а септичні антигенні варіанти пастерел викликають швидкоплинні септичні процеси у тварин з летальністю до 80-90 %. Пастерели підрозділяються за антигенними властивостями капсульного антигену на підвиди – *subspecies* і в залежності від підвидової приналежності опосередковують відповідні патологічні процеси.

P. multocida штам SA-18 за капсульним антигеном А класифікується як *subspecies gallicida* і був ізольований рутинними бактеріологічними методами з патматеріалу від загиблої тварини з ознаками септичного процесу і пневмоентериту. Після дослідження біологічних властивостей і встановлення видової приналежності штам був патентований за стандартною процедурою і депонований в музеї живих культур кафедри.

Пастерели швидкорослі аеробні прокаріоти невибагливі до поживних середовищ. Їх експоненціальна фаза розвитку коротка, не перевищує 7-8 год і переходить у плато на графіку – стаціонарну фазу, яка продовжується не більш 12-14 год і далі відбувається зниження концентрації ж.м.к. (живих мікробних клітин) до критично низьких величин 3-4 lg/cm³, вегетоспроможність яких залежить від строків їх переживання в середовищі зберігання. Діапазон переживання коливається від 3-4 тижнів до 4-7 місяців.

Реактивація, тобто відродження культур пастерел після їх довготривалого зберігання в штучних умовах поживних середовищ є відповідальним і складним процесом, тому що строки переживання збудника є дуже варіабельними і не прогнозованими, а сам процес відновлення біологічних властивостей і методологія цього процесу маловивченими.

Мета роботи: провести процедуру реактивації законсервованого штаму пастерел і відновити базисні біологічні властивості збудника.

Матеріали і методи. Бактеріологічні маніпуляції з реактивації і відновлення біологічних властивостей законсервованого штаму пастерел виконували в навчально-науковій лабораторії і віварії кафедри інфекційних хвороб тварин факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Культуральну реактивацію проводили висівом дослідних прокаріот на елективне рідке поживне середовище МПБ на основі перевару Хоттінгеру (ОПХ) і термостатували за 37-38 °С впродовж 72 год в аеробних умовах. Бактеріологічну чистоту і типовість реактивованих пастерел визначали при світловій мікроскопії мазків пофарбованих за Грамом і Романовським-Гімза. Біохімічні властивості сканували за посівом на диференціально-діагностичні середовища. Біологічне дослідження проводили на білих мишах живою масою тіла 18-20,0 г при підшкірному інфікуванні добовою культурою прокаріот.

Результати дослідження. За культивування *P. multocida subspecies gallicida* серовару А штам SA-18 в МПБ на ОПХ в першу добу з явилось незначне рівномірне помутніння, так звана каламутність бульйону – «опалесценція». При легкому струшуванні пробірок з бульйонною культурою на темному фоні можна було помітити феномен «муарові хвилі». При подальшому культивуванні каламутність поживного середовища зростала. Через 3-5 діб МПБ ставав прозорим, а на дно пробірки випав слизовий осад з клітин пастерел в стадії відмирання, який при струшуванні формував «косу». В препаратах-мазках пофарбованих за

Грамом спостерігали дуже маленькі червоні коковидні бактерії, розташовані безладними скупченнями, а при фарбуванні за Романовським-Гімза – біполярні кокобактерії.

На МПА реактивовані пастерели в першу добу культивування формували дуже маленькі, прозорі, гладенькі з рівними краями колонії в S-формі, які нагадують крапельки роси. За косого освітлення колоній, під кутом 30° спостерігати феномен «флуоресценції». На 3-5 добу колонії збільшувались і ставали сірувато-білими.

На кров'яних поживних середовищах або з додаванням її лізату, пастерели гемоліз не викликали і давали добрий ріст бактеріального газону в M-формі. Додавання сироватки крові також покращувало поживні властивості середовища при реактивації штаму.

За експоненціальної стадії росту пастерелам був притаманний особливий специфічний запах, відсутній у загиблих культур в стадії відмирання прокаріот.

Вивчення біохімічних властивостей реактивованої культури пастерел проводили за загальноприйнятими методиками на диференціально-діагностичних середовищах і тест-об'єктах. Реактивована культура *P. multocida subspecies gallicida* серовару A штам SA-18 зброджувала с виділенням кислоти без газу глюкозу, сахарозу, декстрозу, фруктозу, галактозу, манніт, ксилозу, а головне *сорбіт* и *дульцит* (что характерно саме для серовару A); – не ферментувала мальтозу і трегалозу; була каталаза- и оксидазапозитивна; – молоко не сгортало; – желатин не розріджувала; – виділяла сірководень і індол; – не володіла уреазою активністю; – відновлювала нітрати до нітритів; – продукувала орнитіндекарбоксілазу; – реакції з метиловим червоним і Фогеса-Проскауера були негативні; – не було потреби в NAD и X-факторах росту; – на агаре Макконки не зростала і гемолізу не визивала.

В біопробі на білих мишах штам проявив високу вірулентність вже після першого пасажу на поживних середовищах. Добова бульонна культура з концентрацією пастерел $1-3 \times 10^9$ ж.м.к./см³ за бакстандартом каламутності при підшкірному інфікуванні в дозі 1см³ вбивала статевозрілих білих мишей в діапазоні 36-72 год з клінічною картиною септичного процесу. На секції реєстрували множинні геморагії у внутрішніх органах і дегенеративно-запальні процеси в печінці, збільшення селезінки, схуднення не було. Основною клінічною ознакою інфекційного процесу було глибоке пригнічення, адинамія, відмова від корму і загибель.

З крові перев'язаного серця, відібраного в стадії агонії, при посіві в МПБ на ОПХ реізолювали вихідну культуру пастерел з типовими видовими властивостями.

Висновки.

1. Процедура реактивації законсервованого штаму *P. multocida subspecies gallicida* серовару A штам SA-18 після 6-ти місяців зберігання в ПЖА за 4-6 ° С при пересіві в МПБ на ОПХ і проведенні через організм білих мишей була успішною з повним відновленням базисних біологічних властивостей.

2. Реактивована культура пастерел відновила основні базисні біологічні властивості вже після першого пасажу на елективні поживні середовища і після біопроби на білих мишах була реізольована на поживні середовища з вихідним рівнем вірулентності для тварин.