

Леся Передерко

## Мікробіологічний моніторинг патогенної мікробіоти слизових оболонок очей страусів африканських (*Struthio camelus*)

Проведено мікробіологічний моніторинг патогенної мікробіоти слизових оболонок очей страусів африканських (*Struthio camelus*), які утримуються при інтенсивній системі у природних ареалах західних областей України. Для підрахунку загального мікробного числа використовували м'ясо-пептонний агар і бульйон (МПА і МПБ), для виявлення ентеробактерій – середовище Плоскірева і Левіна. Під час моніторингу патогенної мікробіоти кон'юнктиви очей страусів африканських (*Struthio camelus*) виділено від 20 до 50 тис. грам-негативних коків та близько 500 тис. грам-позитивних мікроорганізмів.

**Ключові слова:** *Struthio camelus*, мікробіота, моніторинг, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Постановка наукової проблеми та її значення.** Мікроорганізми є складовим елементом кожного біотопу, де вони формують різні екологічні стосунки у ценозах. Тому важливим є вивчення патогенної мікробіоти, що сформувалася в результаті життєдіяльності інтродукованих видів, де їх розвиток залежить також і від антропогенних факторів. Мікробні ценози підтримують в організмі птахів і нормальні фізіологічні функції, відіграють важливу роль в імунитеті. При зсуві балансу між біоценозами та суттєвими змінами в самому біоценозі з'являються сприятливі умови для розвитку патогенної мікробіоти. При цьому відбувається зростання інфекційних патологій. Саме тоді важливо забезпечити та врівноважити взаємодію між різними екологічними видами.

Мікробіологічний моніторинг синантропних організмів є важливим контролем, який може виявити способи підвищення адаптаційних можливостей страусів африканських та пришвидшити процеси їх акліматизації до помірно-континентального клімату, що у подальшому покращить якість отриманої продукції від цих птахів.

**Аналіз досліджень цієї проблеми.** Бактеріальні інфекції є важливою проблемою при розведенні інтродукованих видів. *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* були виділені у страусів африканських, яких протягом двох місяців утримували у маленьких загонах з недостатнім рівнем вентиляції [3]. Сприятливі умови для росту *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* з'являються і при респіраторних захворюваннях, що часто вражають носові ходи, кон'юнктиву, гортань, повітряні мішки, рідше легені [1]. Саме тоді вказані мікроорганізми можна виділити з кон'юнктиви і синусу у хворих птахів [5; 6].

**Мета** нашого дослідження – моніторинг патогенної мікробіоти кон'юнктиви очей страусів африканських (*Struthio camelus*), які утримуються за інтенсивною системою на території західних областей України для підвищення життєдіяльності птахів в екосистемі. Враховуючи адаптацію біологічних видів до нетипових для них природних умов, основним завданням роботи є встановлення складу патогенної мікробіоти, яка може стати етіологічним фактором у життєдіяльності *Struthio camelus*.

**Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження.** Дослідження виконано на базі науково-дослідної лабораторії молекулярної мікробіології та імунології слизових оболонок в Ужгородському національному університеті.

Здійснено мікробіологічний моніторинг представників патогенної мікробіоти кон'юнктиви очей страусів африканських (*Struthio camelus*) віком три роки. Птахи утримувалися за інтенсивною системою в обмеженому ареалі на території різних природо-ландшафтних зон помірно континентального клімату західних областей України. На території Чернівецької області відібрано три зразки. На території Закарпатської та Тернопільської областей узято по одному зразку для мікробіологічного моніторингу.

Зразки формували згідно із сучасними нормативними вимогами [7]. Висів дослідного матеріалу виконували двома способами: способом нативного висіву з тампона безпосередньо на чашку з відповідним поживним середовищем та висіву виготовлених розведень.

Для забору та транспортування біологічного матеріалу використовували стерильні тампони з транспортним середовищем Amies («Nuova ARTASA», Італія).

Усі зразки висівали на класичні, сучасні (хромогенні) і диференційно-діагностичні поживні середовища. Зокрема, для підрахунку загального мікробного числа використовували м'ясо-пептонний агар і бульйон (МПА і МПБ), для виявлення ентеробактерій – середовище Плоскірева і Левіна.

Як накопичувальні, селективні і диференційно-діагностичні середовища застосовували Ендо, агар Кліглера (Kligler Iron Agar, «HIMEDIA», Індія), ентерококовий і стрептококовий агар, URI Select агар («Biomereux», Франція), жовтково-сольовий агар (ЖСА), кров'яний агар (КА), а також вісмут-сульфіт агар (ВСА), тести на ацетат, цитрат, манітол, лактозу, глюкозу, каталазу і фенілаланін («ФГУН», Росія), OXI і INDOL тести («PLIVA Lachema Diagnostika s.r.o.», Чеська Республіка), серологічні Latex-тести Staph+, Strep+ («Biomereux», Франція) і діагностичні ешеріхіозні сироватки (ООО ПКП «СовЛаб», Росія).

Для якісної характеристики ізольованих мікроорганізмів у всіх відібраних зразках здійснювали висів на всі перераховані вище середовища. Для кількісного підрахунку колоній було проведено титрування зразків води по 100 мкл і отримано вісім серійних розведень ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ). Здійснювали висів по 10 мкл із розведень  $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$  на середовища.

Ідентифікацію здійснювали способом використання напівавтоматичних біохімічних тестових систем: API (API 20 NE, API 20 Candida, API 20 AUX), Ентеро 24, Анаеро 23, Канді- та Ентерокок- згідно з інструкціями до їх застосування [8–10]. Для уточненої ідентифікації використовували автоматичні методи (VITEK MALDI) [2; 4].

Моніторинг патогенної мікробіоти слизових оболонок очей *Struthio camelus*, які утримуються на територіях Закарпатської, Чернівецької та Тернопільської областях, наведено на рисунку 1 та у таблиці 1.

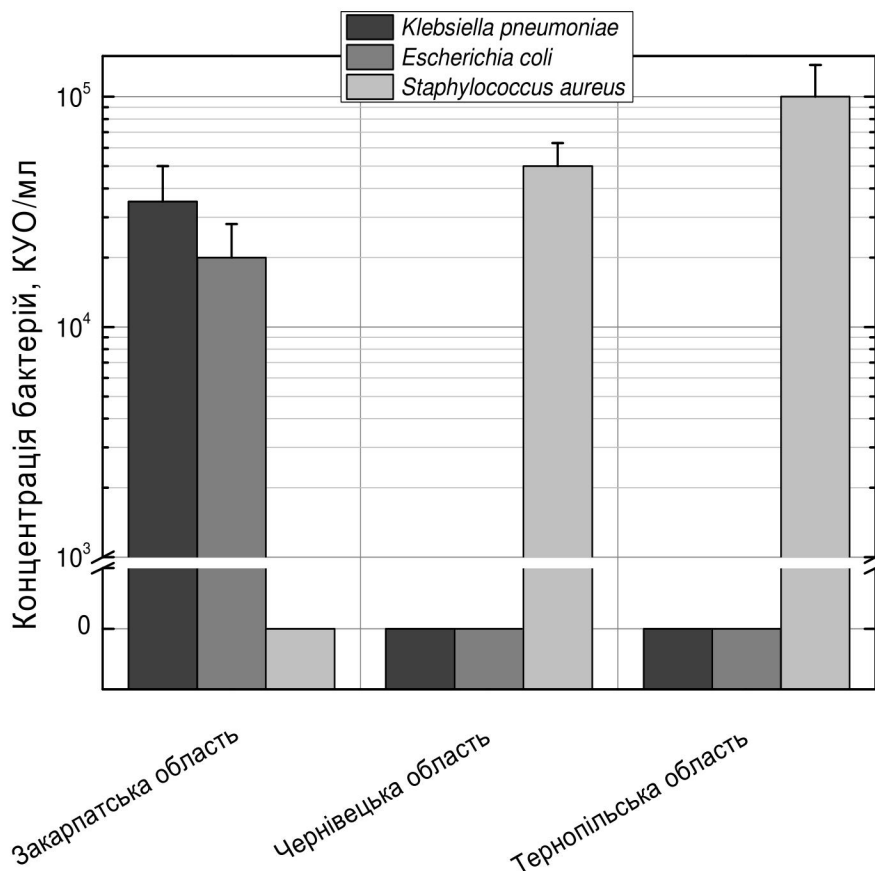


Рис. 1. Домінантні види умовно-патогенних бактерій у кон'юнктиві очей африканських страусів (*Struthio camelus*)

Патогенна мікробіота кон'юнктиви очей *struthio camelus*,  $M \pm m$ ,  $n = 5$

Середовище	Ідентифікація	Бактерія	Кількість КУО/мл
Закарпатська область			
Endo	Рухливість – Цитрат + Ацетат + Манітол + Індол – OXI – Каталаза + Лактоза + H <sub>2</sub> S – URI +	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2·10 <sup>4</sup>
Endo	Рухливість – Цитрат + Ацетат + Манітол + Індол – OXI – Каталаза + Лактоза + H <sub>2</sub> S – URI +	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5·10 <sup>4</sup>
Endo	Рухливість + Цитрат – Ацетат + Манітол + Індол + OXI – Каталаза + Лактоза + H <sub>2</sub> S – URI +	<i>Escherichia coli</i>	2·10 <sup>4</sup>
Чернівецька область			
МПА	КОН + Latex test +	<i>Staphylococcus aureus</i>	5·10 <sup>4</sup>
Тернопільська область			
МПА	КОН + Latex test +	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0·10 <sup>5</sup>

Серед виділених ізолятів з природно-ландшафтної зони Закарпатської області найвищий ступінь мікробної контамінації становили великі слизисті групи мікроорганізмів з нерівними краями і блискучою поверхнею колонії грам-негативних коків *Klebsiella pneumoniae*. Виділені у двох інших зразках *Escherichia coli* та *Klebsiella pneumoniae* становлять однакову частку колонієутворювальних одиниць. Групи грам-негативних коків *Escherichia coli* представляли невеликі слизисті колонії з рівними краями і блискучою гладкою поверхнею. У процесі мікробіологічного моніторингу у двох інших ареалах дослідження виділено тільки ізоляти *Staphylococcus aureus* – грам-позитивні коки, які наростали у вигляді дрібних сіро-жовтих колоній округлої форми з блискучою поверхнею.

**Висновки та перспективи подальшого дослідження.** Патогенна мікробіота слизових оболонок очей страусів африканських (*Struthio camelus*) представлена грам-негативними коками *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia coli* і грам-позитивними мікроорганізмами *Staphylococcus aureus*.

Перспективами подальших досліджень може стати моніторинг патогенної мікробіоти носових ходів *Struthio camelus*, які перебувають на природних ареалах помірно континентального клімату західних областей України.

#### Джерела та література

- Huchzermeyer F. W. The ostrich / F. W. Huchzermeyer // Cambridge University Press. UK. – 1999. – P. 293–320.
- O'Hara C. M. Evaluation of the Vitek 2 ID-GNB Assay for Identification of Members of the Family Enterobacteriaceae and Other Nonenteric Gram-Negative Bacilli and Comparison with the Vitek GNI+ / C. M. O'Hara, J. M. Miller // Card. J Clin Microbiol. – 2003. – May. – 41 (5). – P. 2096–2101.
- Sahinduran S. Isolation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from ostriches with conjunctivitis and respiratory disease / S. Sahinduran ; Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Akdeniz University, Burdur-Turkey // Revue Méd. Vét. – 2004. – 155, 3. – P. 167–169.
- Strupat K. 2,5-Dihydroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption-ionization mass spectrometry / K. Strupat, M. Karas, F. Hillenkamp // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. – 1991. – 72 (111). – P. 89–102.
- Virulence properties of *Escherichia coli* isolated from ostriches with respiratory disease / T. Knobl, M. Vaccaro, A. M. Moreno et al. // Vet. Microbiol. – 2001. – № 83. – P. 71–80.
- Woolcock P. R. Isolation of avian influenza virus (H10N7) from an emu (*Dromaius novaehollandiae*) with conjunctivitis and respiratory disease / P. R. Woolcock, H. L. Shivaprasad, M. De Rosa // Avian Dis. – 2000. – № 44. – P. 737–744.
- Заболотько В. М. Бактеріологія і вірусологія : зб. нормат. док. / В. М. Заболотько. – К. : Медінформ, 2008. – Ч. 1, 2. – С. 43–190, 154–157.
- Мікробіологічні інструкції для Anaerostest 23 MIKRO-LA-TEST® [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <https://www.erbalachema.com/en/product-support/instructions/microbiology-instructions/>
- Мікробіологічні інструкції для Enterotest 24 MIKRO-LA-TEST® [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <https://www.erbalachema.com/en/product-support/instructions/microbiology-instructions/>
- Мікробіологічні інструкції для Strepto 16 MIKRO-LA-TEST® [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <https://www.erbalachema.com/en/product-support/instructions/microbiology-instructions/>

**Передерко Леся.** Мікробіологічний моніторинг патогенної мікробіоти слизових оболонок очей страусів африканських (*Struthio camelus*). Проведен мікробіологічний моніторинг патогенної мікробіоти слизових оболонок очей страусів африканських (*Struthio camelus*), що перебувають при інтенсивній системі в естественних ареалах західних областей України, з метою покращення адаптаційних можливостей синантропних видів в природних факторах помірно континентального клімату. Посев досліджуваного матеріала

выполняли путем нативного высева с тампона непосредственно на чашку с соответствующей питательной средой и высева изготовленных разведений. Все пробы высевали на классические, современные (хромогенные) и дифференциально-диагностические питательные среды. Для подсчета общего микробного числа использовали мясо-пептонный агар и бульон (МПА и МПБ), для выявления энтеробактерий – среду Плоскирева и среду Левина. Как накопительные, селективных и дифференциально-диагностические среды применяли Эндо, агар Клиглера, энтерококковый и стрептококковый агар, URI Select агар, желтково-солевой агар (ЖСА), кровяной агар (КА), а также висмут-сульфит агар (BSA), тесты на ацетат, цитрат, маннитол, лактозу, глюкозу, каталазу и фенилаланин, ОХИ и ИНДОЛ тесты, серологические Latex-тесты Staph +, Strep + и диагностические ешерихиозные сыворотки. Идентификацию осуществляли путем использования полуавтоматических биохимических тестовых систем: АРЕ, Энтеро 24, Анаэро 23, Канди- и энтерококки. В ходе мониторинга патогенной микробиоты конъюнктивы глаз страусов африканских (*Struthio camelus*) выделены от 20 до 50 тыс. грамотрицательных кокков и около 500 тыс. грамм-положительных микроорганизмов. Среди выделенных изолятов с природно-ландшафтной зоны Закарпатской области наиболее высокую степень микробной контаминации составляли крупные слизистые группы микроорганизмов с неровными краями и блестящей поверхностью колонии грамм-отрицательных кокков *Klebsiella pneumoniae*. Выделенные в двух других образцах *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* составляют одинаковую долю колониеобразующих единиц. Группы грамм-отрицательных кокков *Escherichia coli* представляли небольшие слизистые колонии с ровными краями и блестящей гладкой поверхностью. При проведении микробиологического мониторинга в двух других ареалах исследования выделены только изоляты *Staphylococcus aureus* – грамм-положительные кокки, которые нарастали в виде мелких серо-желтых колоний округлой формы с блестящей поверхностью.

**Ключевые слова:** *Struthio camelus*, микробиота, мониторинг, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Perederko Lesya. Microbiological Monitoring of Pathogenic Microbiota of Mucous Membranes of Eyes of African Ostriches (*Struthio camelus*).** To improve the adaptive quality of synanthrope species to environmental factors temperate continental climate of Western Ukraine was monitoring a pathogenic microbiota of eye conjunctiva of African ostrich (*Struthio camelus*). The study was conducted at the Research Laboratory of Molecular Microbiology and Immunology of the mucous membranes in the Uzhgorod National University. Sowing research material was performed by seeding directly on the dish with the appropriate nutrient environment and seeding diluted. All samples were seeded on classical modern (chromogenic) and differential diagnostic culture environment. Meat peptonnyu agar and broth (MPA and MPB) were using to calculate the total microbial count, environments Ploskirjev and Levin – for detection of Enterobacteriaceae. Environments Endo, agar Klihlera, enterococ and streptococ agars, URI Select agar, egg-salt agar (ESA), blood agar (BA) and bismuth-sulfite agar (BSA); tests for acetate, citrate, mannitol, lactose, glucose, catalase and phenylalanine, OXI and INDOL tests, serological tests Latex- Staph+, Strep+ esherihiozni and diagnostic serum were used as storage, selective and differential diagnostic. Biochemical semiautomatic test systems: API, Enter 24, Anaero 23, Kandy and Enterococ were used for identification. During the monitoring of pathogenic microbiota of mucous membranes of eyes of *Struthio camelus* were isolated from 20 to 50 thousand Gram-negative cocci and about 500 thousand gram-positive microorganisms. Among isolates in natural landscape zone of Carpathian region the highest degree of microbial contamination were large groups of microorganisms mucous with jagged edges and shiny surface of Gram-negative cocci colony of *Klebsiella pneumoniae*. In other two samples *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were allocated which make up the same proportion of colony forming units. Groups of Gram-negative cocci of *Escherichia coli* were small slimy colonies with smooth edges and a shiny smooth surface. Microbiological monitoring in the other two habitats was allocated only isolates of *Staphylococcus aureus* – gram-positive cocci, which grew as a small gray-yellow colonies round shape with a shiny surface.

**Key words:** *Struthio camelus*, microbiota, monitoring, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Стаття надійшла до редколегії  
09.04.2014 р.

УДК 595.771:447.8:591.9

Катерина Сухомлін

### Характеристика видового різноманіття преімагінальних фаз мошок (Diptera, Simuliidae) у водотоках підзони мішаних лісів Європи

У мішаних лісах Європи зареєстровано 65 видів мошок з 16 родів. Для оцінки видового різноманіття сумуїд використано індекси видового багатства (індекс Маргалефа, Шеннона, Пієлу, Симпсона). Кількісне

© Сухомлін К., 2014