

УДК 619: 616. 98: 579

**Куртяк Б. М.**, д. вет. н., **Вантух А. Є.**, к. с.-г. н., **Пундяк Т. О.**, к. вет. н.,  
**Собко Г. В.**, аспірант, **Гудзій Р. І.**, студентка III курсу ФВМ  
Львівський національний університет ветеринарної медицини  
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

### ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЯКИХ МЕТОДІВ ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКІВ ҐРУНТОВИХ ІНФЕКЦІЙ

У поширенні інфекційних хвороб важливе значення належить об'єктам довкілля, які оточують тварин, тобто другій ланці епізоотичного ланцюга (факторам передачі). Відомо, що від хворих тварин виділяється велика кількість мікроорганізмів, які в залежності від шляхів виділення у зовнішнє середовище, контамінують приміщення, засоби догляду за тваринами, ґрунт, воду тощо.

В роботі наведені порівняльні дані про ефективність окремих лабораторних методів, що використовуються з метою виділення з ґрунту збудників трьох споривих інфекцій (*Cl. chauvoei*, *Cl. perfringens* та *Bac. anthracis*).

Для порівняльної оцінки методів підготовки ґрунту для бактеріологічного дослідження з метою виділення наведених вище збудників інфекцій, використовували стерильні і нестерильні зразки ґрунту, поживні середовища – м'ясо – пептонний бульйон і агар, Кітт – Тароці, кров'яний глюкозний м'ясо – пептонний агар та різних концентрацій тест – штами спор у ґрунті (100 тис/г, 10 тис/г, 1 тис/г та 0,1 тис/г).

У першому досліді до 1 г досліджуваного зразка ґрунту додавали 10 см<sup>3</sup> 0,85 % - го розчину натрію хлориду (розведення 1:10), у другому досліді до наважки ґрунту 50 г додавали 50 см<sup>3</sup> дистильованої води (розведення 1:1), у третьому досліді, запропонованого нами, до 10 г ґрунту доливали 50 см<sup>3</sup> дистильованої води (розведення 1:5).

Порівнюючи, отримані нижче, позитивні результати досліджень з метою виділення збудників ґрунтових інфекцій як з нестерильного, так і з стерильного зразків ґрунту на всіх живильних середовищах за вказаної концентрації спор в 1 г, вони становили у першому досліді – 23,3 %, у другому 30 % і у третьому 46,7 %.

**Ключові слова:** спори мікроорганізмів, тест – штами, оцінка ефективності, проби ґрунту, поживні середовища.

УДК 619: 616. 98: 579

**Куртяк Б. М.**, д. вет. н., **Вантух А. Є.** к.с.-х. н., **Пундяк Т. О.**, к. вет. н.,  
**Собко Г. В.**, аспірант, **Гудзій Р. І.**, студентка III курсу ФВМ  
Львовский национальный университет ветеринарной медицины  
и биотехнологий имени С. З. Гжицкого

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ҐРУНТОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

В распространении инфекционных болезней важное значение принадлежит объектам окружающей среды, которые окружают животных, то есть во втором звене эпизоотической цепи (факторами передачи). Известно, что от больных животных выделяется большое количество микроорганизмов, которые в зависимости от путей выделения во внешнюю среду, контаминируют помещения, средства ухода за животными, почву, воду и тому подобное.

В работе приведены сравнительные данные об эффективности отдельных лабораторных методов, используемых с целью выделения из почвы возбудителей трех споривых инфекций (*Cl. chauvoei*, *Cl. perfringens* та *Bac. anthracis*).

Для сравнительной оценки методов подготовки почвы для бактериологического исследования с целью выделения указанных выше возбудителей инфекций, использовали

стерильные и нестерильные образцы почвы, питательные среды – мясо – пептонный бульон и агар, Китт – Тароци, кровяное глюкозный мясо – пептонный агар и различных концентраций тест - штаммы спор в почве (100 тыс/г, 10 тыс /г, 1 тыс /г и 0,1 тыс/г).

В первом опыте до 1 г исследуемого образца почвы добавляли 10 см<sup>3</sup> 0,85 % раствора натрия хлорида (разведение 1:10), во втором опыте до навески почвы 50 г добавляли 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (разведение 1:1), в третьем опыте, предложенного нами, до 10 г почвы доливали 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (разведение 1:5).

Сравнивая, полученные ниже, положительные результаты исследований с целью выделения возбудителей грунтовых инфекций, как с нестерильного, так и со стерильного образцов грунта на всех питательных средах при указанной концентрации спор в 1 г, они составляли в первом опыте – 23,3 %, во втором 30 % и в третьем 46,7 %.

**Ключевые слова:** споры микроорганизмов, тест – штаммы, оценка эффективности, пробы почвы, питательные среды.

UDC 619: 616. 98: 579

**Kurtak B. M., Vantuch A. E., Pundiak T. O., Sobko G. V., Gudziy R. I.**

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies  
named after S. Z. Gzhyskyj*

### THE COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF DIFFERENT INDICATION METHODS OF THE SOIL INFECTION MICROORGANISMS

*In the spread of infectious diseases important value belongs to environment that surrounds animals, meaning second link of epizootic chain (transmission factors). It is known that from sick animals, a large amount of microorganisms, which depends on the ways of spreading into environment, link to contamination of facilities, premises for animal care, soil, water and so on.*

*The paper shows comparative data on the performance of specific laboratory methods used to allocate from the soil pathogens three types of spore infections (Cl. Chauvoei, Cl. Perfringens and Bas. Anthracis).*

*For comparative evaluation methods of soil preparation for bacteriological research for the purpose of allocation of the above pathogens, using sterile and non-sterile soil samples, – growth medium – meat – peptone broth and agar, Kitt – Tarotstsi, blood glucose meat – agar and peptone various concentrations of test – strains of spores in the soil (100 thousand / d, 10 thousand / g, 1 thousand / g and 0.1 thousand / g).*

*In the first experiment to 1 g sample of soil was added 10 cm<sup>3</sup> of 0,85 % solution of sodium chloride (dilution 1:10), in the second experiment to soil sample 50 g was added to 50 cm<sup>3</sup> distilled water (dilution 1: 1), the third experiment, proposed by us, to 10 g of soil was added 50 cm<sup>3</sup> distilled water (dilution 1: 5).*

*Comparing received positive results of research to highlight soil pathogens as infections from non-sterile and sterile soil samples from all growth medium at a specified concentration of spores in 1 g, they were in the first experiment – 23,3 %, the second 30 % and 46,7 % in the third.*

**Key words:** *microorganisms spores, test -strains, evaluation, soil samples, growth medium.*

**Вступ.** Вивчення етіології, розкриття її структури багаточисельної патології тварин, встановлення всіх ланок епізоотичного та інфекційного процесів, визначення ефективності дезінфекційних заходів неможливе без мікробіологічних досліджень об'єктів доквілля на наявність патогенних мікроорганізмів. Це також потрібно для встановлення поведінки та долі збудників інфекції у зовнішньому середовищі, шляхів

їх міграції від хворої тварини (першої ланки епізоотичного процесу) до здорової (третьої ланки епізоотичного процесу) [1].

Ефективність бактеріологічних досліджень з метою виділення та ідентифікації збудників ґрунтових інфекцій визначається методом підготовки зразків ґрунту перед їх посівом на живильні середовища.

Мета дослідження. Дати порівняльну характеристику чутливості та ефективності ряду методів підготовки зразків ґрунту, які використовуються для виділення збудників ґрунтових інфекцій.

**Матеріали і методи.** Тест-мікроорганізми. В роботі використано три види мікроорганізмів *Clostridium chauvoei* (Р-2), *Clostridium perfringens* (штам типу А), *Bacillus anthracis* (вакцинний штам 55).

Вихідні суспензії спор. Виготовлення вихідної суспензії спор проводили за методикою Н.О. Вагаді (1977) [2].

Визначення концентрації спор у вихідних суспензіях. Спочатку у вихідних суспензіях спор тест-мікроорганізмів встановлювали концентрацію спор з допомогою стандарту каламутності. Концентрацію живих спор визначали шляхом висіву по 1 см<sup>3</sup> трьох розведень вихідної суспензії із кінцевою концентрацією 10, 50 і 100 спор в 1 см<sup>3</sup> на три чашки із кров'яним глюкозним м'ясо-пептонним агаром (КГМПА) для *Cl. chauvoei* і *Cl. perfringens* і відповідно на МПА для *Bac. anthracis*. Чашки з посівами на КГМПА інкубували в анаеробних умовах при 37°C протягом 48 год., а на МПА – в аеробних умовах при 37°C 48 год. Підраховували кількість отриманих колоній для кожного розведення, множили на кратність розбавлення, визначали середнє арифметичне і на основі цього встановлювали точну концентрацію спор у вихідній суспензії, з якої готували робочі концентрації спор відповідних тест-мікроорганізмів із концентрацією 0,1, 1, 10 і 100 тис. спор в 1 см<sup>3</sup>.

Зразки тест-ґрунту. Для роботи взяли темно-підзолистий чорнозем гідроморфного походження із вмістом 12,4 % гумусу, 21,04 % органічної речовини, 66,56 % золи, рН 7,2. Для кожного методу робили наважки масою по 1, 10 і 50 г, поміщали їх у пергаментний папір і стерилізували при 121°C протягом 1 год. з наступною перевіркою на стерильність контрольних зразків шляхом висіву проб стерильного ґрунту на МПБ, МПА і КГМПА. Посіви на МПБ і МПА інкубували в аеробних умовах при 37 °С протягом 24 год., а на КГМПА – в анаеробних при 37 °С протягом 48 год.

Ще одну частину наважок тест-ґрунту по 1, 10 і 50 г використовували нестерилізованими.

До кожної наважки (1, 10 і 50 г) стерильного і нестерильного ґрунту (відповідно до обраного методу) додавали по 1 см<sup>3</sup> робочої суспензії спор із заданою концентрацією (0,1; 1; 10 і 100 тис. спор в 1 см<sup>3</sup>) окремо для кожного тест-мікроорганізму.

Методи виділення спор мікроорганізмів з ґрунту. З метою встановлення ефективності виділення спор мікроорганізмів з ґрунту провели оцінку трьох методів.

Перший метод, запропонований (Н.Г. Іпатенко и соавт.) [3]. До 1 г досліджуваного зразка ґрунту додавали 10 см<sup>3</sup> стерильного 0,85 %-го розчину натрію хлориду, старанно перемішували, вносили у центрифужну пробірку, прогрівали на водяній бані при 75–80 °С протягом 20 хв. і центрифугували при 2500 об/хв. 10 хв. Надосадову рідину зливали, а осад висівали на регенероване середовище Кітт-Тароцці (СКТ) і м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) (по 1 см<sup>3</sup> на пробірку) та КГМПА і МПА (по 0,5 см<sup>3</sup> на одну чашку). Посіви на СКТ, МПБ і МПА інкубували при 37 °С протягом 12–24 год., а на КГМПА – 48 год. Отримані на СКТ і МПБ і МПА культури досліджували фазово-контрастним методом, звичайною світловою мікроскопією (препарати фарбували за Грамом або фарбою ІЕМ) для вивчення морфології та тинкторіальних властивостей; у випадку використання нестерильних зразків ґрунту отримані культури висівали на КГМПА і МПА (по дві чашки) – одну частину чашок інкубували в анаеробних умовах, а другу – в аеробних; ідентифікацію виділених культур проводили

за формою колоній, наявністю та типом гемолізу, тинкторіальними властивостями та морфологічними ознаками.

Другий метод (В.М. Hang'ombe et al., 2000) [4]. До наважки ґрунту масою 50 г додавали 50 см<sup>3</sup> стерильної дистильованої води, старанно перемішували і відстоювали 2 год. 10 см<sup>3</sup> надосадової рідини центрифугували при 3000 об/хв. протягом 10 хв. Надосадову рідину зливали, залишаючи на дні пробірки біля 3 см<sup>3</sup> осаду. По 1 см<sup>3</sup> осаду вносили у пробірки із регенованим СКТ і МПБ, а решту прогрівали на водяній бані при 80 °С протягом 10 хв. і по 0,5 см<sup>3</sup> висівали на КГМПА і МПА (в чашках), втираючи шпателем посівний матеріал по всій поверхні агару; посіви на КГМПА інкубували в анаеробних умовах при 37 °С протягом 48 год., а посіви на МПА – в аеробних умовах при 37 °С 24 год.

Засіяні пробірки із СКТ і МПБ прогрівали на водяній бані при 80° С протягом 10 хв., швидко охолоджували до 37 °С, ставили у термостат і інкубували протягом 12–24 год. Отримані культури ідентифікували, як було описано для першого методу.

Третій метод, запропонований нами. 10 г ґрунту заливали 50 см<sup>3</sup> стерильної дистильованої води, старанно перемішували і струшували 10 хв. на шутель-апараті. Відстоювали 30 хв. Обережно піпеткою відбирали 10 см<sup>3</sup> надосадової рідини, вносили у центрифужну пробірку і центрифугували при 4000 об/хв. протягом 30 хв. Надосадову рідину обережно зливали (відсмоктували з допомогою піпетки), залишаючи на дні пробірки 3 см<sup>3</sup> осаду; який старанно розмішували стерильною скляною паличкою і вносили по 1 см<sup>3</sup> у пробірки із регенованим СКТ та МПБ. Посіви прогрівали на водяній бані при 80 °С протягом 10 хв., швидко охолоджували до 37 °С, ставили у термостат при 37 °С на 12–14 год. Отримані культури ідентифікували, як було описано для першого методу.

Решту осаду, що залишився у центрифужних пробірках (біля 1 см<sup>3</sup>) прогрівали при 80 °С протягом 10 хв. і висівали по 0,5 см<sup>3</sup> осаду на чашки з КГМПА і МПА; посіви на КГМПА інкубували в анаеробних умовах при 37 °С протягом 48 год., а посіви на МПА – в аеробних умовах впродовж 24 год. Отримані культури ідентифікували, як було описано для першого методу.

**Результати досліджень.** Результати порівняльної оцінки методів підготовки ґрунту для бактеріологічного дослідження з метою виділення збудників ґрунтових інфекцій із стерильних і нестерильних зразків ґрунту представлені відповідно у таблицях 1 і 2.

З даних, представлених у табл. 1 і 2, видно, що за вмісту 100 тис. і 10 тис. спор на 1 г як стерильного, так і нестерильного ґрунту всіма трьома методами вдалося виділити всі тест-мікроорганізми.

У стерильному ґрунті за вмісту 1 тис. спор на 1 г *Bac. anthracis* на МПБ виділено усіма трьома методами, а на МПА – другим і третім методом; *Cl. perfringens* виділено трьома методами на рідкому і твердому живильному середовищах; *Cl. chauvoei* виділено трьома методами на обох видах середовищ за винятком КГМПА (перший метод).

У нестерильному ґрунті за вмісту 1 тис. спор на 1 г *Bac. anthracis* виділено на МПА з допомогою другого і третього методів; *Cl. perfringens* виділено на СКТ і КГМПА (другий і третій методи), а *Cl. chauvoei* – лише на КГМПА з допомогою другого і третього методів.

За вмісту 100 спор у зразках стерильного ґрунту *Bac. anthracis* виділено лише на МПБ (третій метод); *Cl. perfringens* – на СКТ (другий і третій метод); *Cl. chauvoei* – на СКТ (третій метод).

За вмісту 100 спор у зразках нестерильного ґрунту позитивних результатів не отримано.

Таким чином, якщо не брати до уваги досліджень зразків ґрунту із вмістом 100000 і 10000 спор тест-мікроорганізмів в 1 г, за яких у всіх випадках отримано позитивні результати, то сумарна кількість отриманих позитивних результатів усіма

трьома методами на всіх живильних середовищах за концентрації спор 1000 і 100 спор в 1 г ґрунту становитиме 30 (100 %). З допомогою першого методу отримано 7 позитивних результати (23,3 %), другого – 9 (30 %) і третього – 14 (46,7 %).

Обговорення результатів досліджень. Виявлення (індикація, детекція) патогенних мікроорганізмів в об'єктах довкілля – одна із головних задач лабораторій ветеринарної медицини. Без цього не можна вирішити проблему взаємин мікроорганізму, макроорганізму та зовнішнього середовища. Обсіменіння об'єктів довкілля патогенними мікроорганізмами корелює із локалізацією і механізмом виділення їх із організму тварин [1].

Особливу категорію інфекційних хвороб становлять так звані сапронози – інфекції, збудники яких можуть не просто перебувати, але й переживати (розмножуватися, вегетувати) в об'єктах довкілля (ґрунт, вода, корми). В механізмі передачі збудників сапронозних інфекцій ґрунт виступає не просто як випадковий фактор передачі, а як обов'язкова умова, без якої неможливе існування епізоотичного процесу [5, 6].

Відсутністю експрес-методів оцінки циркуляції збудників ґрунтових інфекцій в зовнішньому середовищі пояснюється невивченість їх епізоотологічних особливостей. Залишаються не розробленими методичні підходи до вивчення епізоотичного процесу при сапронозних інфекціях. І, як наслідок, ланки епізоотичного ланцюга при клостридіозах розглядаються за загальними методиками, розробленими для вивчення переважно гострозаразних інфекцій (И. А. Бакулов, 1972; С. И. Джупина, 1974) [7, 8]. Тому, до цього часу поза увагою дослідників залишились питання взаємодії хвороботворного мікроорганізму, організму тварини та факторів зовнішнього середовища (И. В. Давыдовский, 1962; Петленко В. П. и др., 1978; В. И. Пыцкий, 2001) [9, 10, 11]. Невивченими залишаються питання епідеміології та епізоотології клостридіозів, зокрема, потенційних господарів і шляхів циркуляції збудника в ґрунтових і водних середовищах та природної вогнищевості сапронозних інфекцій (В. Ю. Литвин и др., 2002) [12]. Це в повній мірі відноситься до сибірки, емфізематозного карбункулу та ентеротоксемії.

Це і було підставою для вибору як тестових згаданих вище мікроорганізмів.

Аналізуючи результати проведених досліджень, відзначаємо, що найефективнішим виявився третій метод, запропонований нами. З його допомогою анаеробні і аеробні спороутворюючі мікроорганізми виділено як на рідких, так і твердих живильних середовищах. При цьому отримано 14 позитивних результатів, що становить 46,7 % від всіх позитивних випадків. Другим за ефективністю виявився метод, запропонований В.М. Hang'ombe et al., (2000), з допомогою якого отримано 30 % позитивних результатів.

На нашу думку, маса зразка, взятого для дослідження, головним чином, визначає ефективність методу. Так, маса зразка в 1 г, очевидно, є недостатньою, щоб в ній виявити наявні у ній спори тест-мікроорганізму.

Нами встановлено, що не менш важливу роль в підготовці зразків для дослідження відіграє маса розбавника (у нашому випадку дистильована вода). Так, у першому випадку співвідношення між масою зразка і розбавником становить 1:10, в другому випадку – 1:1, і в третьому випадку 1:5. Виходячи з цього, найбільш оптимальним співвідношенням є останнє, тобто 1:5. Очевидно, за вищого розведення, навіть за умови осадження центрифугуванням, частина спор зависає і не потрапляє в живильне середовище. При другому методі маса розбавника є недостатньою, щоб перевести в стан суспензії наявні у ґрунті спори, особливо це помітно, коли розбавляти чорноземні ґрунти з високим вмістом органічної речовини або гумусу.

Таблиця 1. Оцінка чутливості різних методів підготовки зразків ґрунту з метою виділення збудників ґрунтових інфекцій (дослід із стерильними зразками ґрунту).

Метод	Результати виділення тест-штаму із ґрунту з умістом спор:																							
	100 тис/г						10 тис/г						1 тис/г						0,1 тис/г					
	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	
1-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Bac. anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	(-)	
2-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	0	
	<i>Bac. anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	0	
3-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	0	
	<i>Bac. anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	0	0	

Таблиця 2. Оцінка чутливості різних методів підготовки зразків ґрунту з метою виділення збудників ґрунтових інфекцій (дослід із нестерильними зразками ґрунту).

Метод	Результати виділення тест-штаму із ґрунту з умістом спор:																							
	100 тис/г						10 тис/г						1 тис/г						0,1 тис/г					
	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	СКТ	МПВ	МПА	СКТ	КГ	МПА	
1-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Bac. Anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
2-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Bac. Anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
3-к	<i>Cl. chauvoei</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Cl. perfringens</i>	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	
	<i>Bac. Anthracis</i>	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0	0	0	

Умовні позначення: МПВ і МПА – м'ясо-пептонний бульйон і агар; СКТ – середовище Китт-Тарощі; КГ/МПА – кров'яний глюкозний м'ясо-пептонний агар; + – виділено культуру тест-штаму; 0 – культури тест-штаму не виділено; (-) – дослідження не проводили.

При дослідженні стерильних зразків ґрунту більш ефективними виявилися рідкі живильні середовища, в той час як при дослідженні зразків нестерильного ґрунту маємо дещо іншу картину – більш ефективним для виділення мікроорганізмів виявилися висіви на тверді живильні середовища. Очевидно, що в рідких живильних середовищах одночасно йде розмноження й іншої ґрунтової спорової мікрофлори, яка за кінетикою поділу є більш активною і тому випереджає ріст і розмноження тест-мікроорганізмів (за винятком *Cl. perfringens*), не даючи можливості виявити їх.

Тому використання на етапі індикації первинного виділення культур особливо на рідких живильних середовищах таких специфічних методів як імуофлуоресценція, імуоферментний метод або полімеразно-ланцюгова реакція дасть змогу більш ефективно детектувати та ідентифікувати збудників спорових інфекцій, а запропонований нами метод підготовки проб ґрунту перевести в експрес-метод індикації збудників ґрунтових інфекцій.

#### **Висновки та перспективи подальших досліджень.**

1. Найефективнішим методом виділення збудників спорових інфекцій із ґрунту є метод, запропонований нами, який передбачає співвідношення маси досліджуваного зразка ґрунту до маси розбавника (стерильна дистильована вода, фізрозчин) 1:5 і масу досліджуваного зразка ґрунту не менше 10 г.

2. Запропонований нами метод підготовки проб ґрунту буде використаний нами в подальших дослідках з метою виділення спор збудників спорових інфекцій, що повинно послужити глибшому вивченню їх екології та особливостей епізоотичного процесу.

#### **Література**

1. Методические рекомендации по обнаружению патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды / П. И. Прутулин, Н. В. Привалова, Т. П. Калмыкова, А. П. Опарина / М.: ВАСХН, ВНИИЭВ, 1984. – 40 с.

2. Bagadi N. O. Production and counting of spores of *Clostridium chauvoei* / N. O. Bagadi // *App. Environ. Microbiol.* – 1977. – Vol.33. – P.1287–1288.

3. Почва – основной резервуар возбудителя сибирской язвы / [Ипатенко Н. Г., Гушин В. Н., Щенев А. И., Ревазов А. А., Гутиев А. В., Саленко Л. С., Абдурашитов Т. А., Шморгун Б. И.]. // *Ветеринария.* – 1991. – №12. – С.23–26.

4. Hang'ombe V. M., Isogai E., Lungu J., Mubita C., Nambota A., Kirisava R., Kimura K., Isogai H. Detection and characterization of *Clostridium* species in soil of Zambia. // *Comp. Immunology, Microbiology and Infection diseases.* – 2000. – Vol. 23. – P. 277–284.

5. Терских В. И. Сaproнозы (о болезнях людей и животных, вызываемых микробами, способными размножаться вне организма во внешней среде, являющейся для них местом обитания) / В. И. Терских. // *ЖМЭИ.* – 1958. – №8. – С.118–119.

6. Сомов Г. П. Еще раз о сапронозах / Г. П. Сомов // *ЖМЭИ.* – 1985. – №5. – С.98–104.

7. Руководство по общей эпизоотологии / Р. М. Алехин, И. А. Бакулов, В. А. Ведерников и др.; Под ред. И. А. Бакулова и А. Д. Третьякова. – М.: Колос, 1979. – 424 с.

8. Джупина С. И. К теории эпизоотического процесса / С. И. Джупина // *Актуальные вопросы общей эпизоотологии / Труды Всесоюз. конфер. по общей эпизоотологии.* – М., 1974. – С. 74–85.

9. Давыдовский И. В. Проблема причинности в медицине (этиология) / И. В. Давыдовский. – М.: медицина, 1962. – 175 с.

10. Петленко В. П. Детерминизм и теория причинности в патологии / В. П. Петленко, А. И. Струков, О. К. Хмельницкий. – М.: Медицина, 1978. – 260 с.

11. Пыцкий В. И. Причины и условия возникновения заболеваний (этиология) / В. И. Пыцкий. – М.: Триада-Х, 2001. – 64 с.

12. Литвин В. Ю. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. / [В. Ю. Литвин, А. Л. Гинцбург, В. Н. Пушкарева, Ю.М. Романова, Б.В.Боев]. – М.: Фармарус– Принт, 2002. – 256 с.

#### **References**

Pritulin. P. I., Privalova, N. V., Kalmvukova, T. P., Oparina, A. P. (1984). Metodicheskie rekomendatsii po obnaruzheniyu patogennyih mikroorganizmov v ob'ektah veshney sredyi / М.: VASHN, VNIIEV, 40. (in Russian).

- Bagadi, H. O. (1977). Production and counting of spores of *Clostridium chauvoei* / H. O. Bagadi // *App. Environ. Microbiol.* 33, 1287–1288.
- Ipatenko, N. G., Guschin, V. N., Schenev, A. I., Revazov, A. A., Gutiev, A. V., Salenko, L. S., Abdurashitov, T. A., Shmorgun, B. I. (1991). Pochva – osnovnoy rezervuar vozbuditelya sibirskoy yazvyi / *Veterinariya.* 12, 23–26. (in Russian).
- Hang'ombe, B. M., Isogai, E., Lungu, J., Mubita, C., Nambota, A., Kirisava, R., Kimura, K., Isogai, H. (2000). Detection and characterization of *Clostridium* species in soil of Zambia. // *Comp. Immunology, Microbiology and Infection diseases.* 23, 277–284.
- Terskih, V. I. (1958). Sapronozyi (o boleznyah lyudey i zhivotnyih, vyizyivaemyih mikrobami, sposobnymi razmnozhat'sya vne organizma vo vneshney srede, yavlyayusheysya dlya nih mestom obitaniya) / *ZhMEI.* 8, 118–119. (in Russian).
- Somov, G. P. (1985). Yosche raz o sapronozah / *ZhMEI.* 5, 98–104. (in Russian).
- Alehin, R. M. (1979). Rukovodstvo po obschey epizootologii / R. M. Alehin, I. A. Bakulov, V. A. Vedernikov i dr.; Pod red. I. A. Bakulova i A. D. Tretyakova. – M.: Kolos, 424. (in Russian).
- Dzhupina, S. I. (1974). K teorii epizooticheskogo protsessa / Aktualnyie voprosyi obschey epizootologii / *Trudyi Vsesoyuz. konfer. po obschey epizootologii.* – M., 74–85. (in Russian).
- Davyidovskiy, I. V. (1962). Problema prichinnosti v meditsine (etiologiya) / M.: meditsina, 175. (in Russian).
- Petlenko, V. P., Strukov, A. I., Hmel'nikskiy, O. K. (1978). Determinizm i teoriya prichinnosti v patologii / M.: Meditsina, 260. (in Russian).
- Pyitskiy, V. I. (2001). Prichinyi i usloviya vozniknoveniya zabolevaniy (etiologiya) / M.: Triada–H, 64 s. (in Russian).
- Litvin, V. Yu., Gintsburg, A. L., Pushkareva, V. N., Romanova, Yu. M., Boev, B. V. (2002). Epidemiologicheskie aspektyi ekologii bakteriy / M.: Farmarus–Print, 256 s. (in Russian).

Стаття надійшла до редакції 30.04.2016

УДК 619:639.3:577.115

**Лобойко Ю. В.**, к. с.–г. н., доцент, **Крушельницька О. В.**, к. вет. н., асистент ©  
*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

### **ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ ОДНОРІЧОК КОРОПА ЗА ЛЕРНЕОЗНОЇ ІНВАЗІЇ**

У статті наведено дані про вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, гідроперекисів, малонового діальдегіду) та активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази) в тканинах органів коропа за інвазії ектопаразитами *Lernaea cyprinacea*.

Матеріалом для дослідження вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів були однорічки любінського лускатого коропа, спонтанно інвазовані ектопаразитами *Lernaea cyprinacea*. Для цього було сформовано чотири групи риб (контрольна та три дослідні) по 6 особин у кожній, масою тіла  $38,0 \pm 4,8$  г, за ураження *Lernaea cyprinacea*. Перша група риб – контроль, друга – з інтенсивністю інвазії до 0,08 лерней на 2 м. т., третя – з інтенсивністю 0,11–0,26 лерней на 2 м. т. і четверта – більше 0,26 лерней на 2 м. т.

Отримані результати свідчать про значні зміни вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у тканинах коропа за ураження лернеозом.

Встановлено, що у досліджуваних тканинах гепатопанкресу, скелетних м'язів та зябер інвазованих ектопаразитами однорічок коропа вірогідно зростав вміст дієнових кон'югатів, гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду та знижувалася активність антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази.