Proteus]. *Zhurnal mikrobiol., epidemiol. i immunobiol. – Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, 6,* 83–86 [in Russian].

4. Kerasheva, S.I., Rahmanova, E.P. & Zvereva, N.M. (1973). Antibioticheskie i ingibiruyuschie svoystva proteev [Antibiotic and inhibitory properties of Proteus]. *Antibiotiki – Antibiotics*, Vol.18, 3, 236–239 [in Russian].

5. Navashin, S.M. & Fomina, I.L. (1982). *Ratsionalnaya antibiotikoterapiya [Rational antibiotictherapy].* Sumi: Meditsina [in Russian].

6. Peres Kuevas, A. (2006). Kompleksnyie lekarstvennyie sredstva pri bakterialnyih infektsiyah [Complex medicines for bacterial infections]. *Veterinariya – Veterinary science, 3, 6–9* [in Russian].

7. Stec'ko, T.I. (2014). Antymikrobna aktyvnist' amoksycylinu vidnosno do zbudnykiv respiratornyh zahvorjuvan' u svynej [Antimicrobial activity relative to amoxicillin agents of respiratory diseases in pigs]. *Biologija tvaryn – Biology of animals*, Vol. 16, 2, 112–118 [in Ukrainian].

8. Vyznachennja chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterial'nyh preparative, [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics]. (2007). *Guidelines 9.9.5-143-2007*. Kiev [in Ukrainian].

9. Birger, M.O. (1982). *Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniya [Handbook of microbiological and virological research methods]* Moskva: Sumi: «Meditsina» [in Russian].

УДК: 619:616.98:579.852.13:636 (477)

ГАЛКА І.В., канд. вет. наук, e-mail: ptica2005@ukr.net
РУДОЙ О.В., канд. вет. наук, e-mail: rudspass@gmail.com
МУЗИКІНА Л.М., e-mail: loramuzykina2005@i.ua
ЧЕХУН А.І., e-mail: 30ohotnik@mail.ru
СИДОРЕНКО Т.В., e-mail: ptica2005@ukr.net
Інститут ветеринарної медицини НААН

ІЗОЛЯЦІЯ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE 3* КЛІНІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ВІД СВИНЕЙ

У статті висвітлена роль Clostridium difficile в патології людей і сільськогосподарських тварин, можливі причини виникнення та шляхи його передачі. Дослідженнями підтверджено циркуляцію цього патогенну в одному господарстві Київської області, який був виділений від клінічно здорових та свиней з ознаками діареї. За морфологічно-культуральними ознаками ізольовано на кров'яному агарі з додаванням цифокситиму, циклосерину і фруктози три ізоляти C. difficile з фекалій тварин. Доведена необхідність проведення постійного моніторингу дифісіліозу та розробки вітчизняних тест-систем.

Ключові слова: *Clostridium difficile, метод індикації, антибактеріальна терапія, токсини.*

Clostridium difficile – грампозитивний анаеробний мікроорганізм, який є основною причиною виникнення кишкової (госпітальної) діареї, коліту чи псевдомембранозного коліту, частіше внаслідок лікування антимікробними препаратами. У людей це, так звана, CDI інфекція, антибіотикоасоційована

діарея (ААД) [1, 2]. Тільки у США, CDI виявляють більш ніж у 500 тис. пацієнтів з яких реєструють до 20 тис. летальних випадків щорічно [3].

На початку XXI століття, почали з'являтися повідомлення з клінічних установ різних країн, щодо епідеміологічних спалахів CDI інфекції, що спровоковані високовірулентними штамами цього патогенну (риботип 27) [4]. Уперше цей штам був виділений у чотирьох країнах Європи (2003 р.), а 2007 р. – у Німеччині. В результаті підвищеної небезпеки та введенню обов'язкової реєстрації тяжко перебігаючих *C. difficile* – асоційованих діарей (СДАД), за два роки Інститутом Роберта Коха було зареєстровано 817 випадків CDI інфекції, з яких 89,7 % визначені як СДАД і 14% – риботип 27. Відмічено, що середній вік хворих складав 74,6 роки, в 441 випадків пацієнтів, *C. difficile* була основною причиною смерті [4–5].

Доведено, що не всі штами мають однакове епідеміологічне значення. Так, наприклад, у Великобританії найчастіше виділяють штам риботипу 1 (до 60%). Такий же відсоток відмічали в Японії за обстеження трьох стаціонарних пунктів на великих відстанях один від одного (риботип smz). У Бельгії, Франції та Беніні впродовж 10 років виділяли генетично стабільні штами – серогрупи С . Проте, в той же час, за дослідженнями в Новій Англії, з одного клінічного закладу в пацієнтів було виділено 55 різних штамів, що значно ускладнює проведення епідеміологічного аналізу [6–7].

Інфікування збудником, в основному, відбувається екзогенним шляхом. У навколишнє середовище, *C. difficile* потрапляє з калом хворих тварин (не залежно від вираженості симптомів). Також існує ймовірність ендогенного ураження, за рахунок загибелі нормальної та активізації секундарної мікрофлори.

У людей інфікування частіше відбувається в стаціонарі та вважається переважно нозомікальною інфекцією. У цьому випадку, частота колонізації збудника прямопропорційна строку перебування пацієнтів у медичних закладах.

За даними науковців, у новонароджених дітей *C. difficile* був виділений у 30 %, що відповідало токсину А (90 %). З віком, цей відсоток складав до 9 %, а кількість токсигенних штамів становила 50 %. Незважаючи на це класичний прояв інфекції майже не зустрічається, проте є відомості, що поряд з іншими мікроорганізмами, *C. difficile* може слугувати причиною раптової смерті новонароджених (інфекційно-токсичний шок) [8].

Антибактеріальна терапія відіграє важливу роль у розвитку *C. difficile* – асоційованих діарей (САД). САД частіше пов'язані із застосуванням кліндаміцину, амінопеніциліну, цефалоспорину та фторхінілонів (список високого фактору ризику). Так, італійські вчені повідомили, що кількість фторхінолонорезистентних штамів *C. difficile* зросла з 10% у 1985–2001 рр. до 56 – у 2002–2008 рр. [9–10].

Найбільшу небезпеку розвитку CDI є антимікробні препарати чутливі до анаеробних мікроорганізмів, а також слід враховувати й інші лікарські засоби, що здатні руйнувати мікробіоценоз кишечник.

Словенськими науковцями було виявлено широку популяцію мультирезистентних ізолятів виділених від людей, тварин і продуктів харчування. Ізоляти виділені від тварин були найбільш резистентними до оксациліну, гентаміцину, сульфометазону; від людей – до іміпінему. Найбільш чутливим виявився збудник до моксифлоксацину, еритроміцину, рифампіцину та даптоміцину. Проте є відомості, що у разі експериментального застосування в коней еритроміцину розвивався коліт. Причиною, якого була секундарна мікрофлора, у т. ч. й *C. difficile* [11–13].

Цікаво, що штами, отримані з одного географічного регіону, мають однакову резистентність до різних антибактеріальних препаратів (АБП). Це підтверджує гіпотезу, що *C. difficile* може передаватися від людей до тварин і навпаки.

C. difficile викликає захворювання у тварин з такими самими клінічними ознаками, як і в людей. Зазвичай, тяжкість перебігу, в значній мірі, залежить кількості збудника в шлунково-кишковому каналі та варіює залежно від виду й вікової групи. Хворіють всі види тварин. Найчастіше хворіють новонароджені та молодняк свиней і великої рогатої худоби. Так, в Австралії та Нідерландах, *C. difficile* є однією з основних причин неонатальної діареї в поросят з летальністю понад 16%. Також цього виділено збудника з кишечнику більшості видів тварин і птиці [14–16].

C. difficile поширена на всіх континентах світу. Тільки на австралійських свинокомплексах з 52 відібраних зразків виділено збудника в 67% випадків, з них 87% ізолятів були токсигенними. Дослідники з Великобританії ідентифікували 184 ізоляти *C. difficile* (більше ніж 2 тис. зразків матеріалу. Найбільш часто виділяли з річок – 87%, басейнів – 50%, озер – 46%, морської води – 44%, ґрунту – 21%; рідше з калу собак – 10%, котів – 2%, сільськогосподарських тварин – 1%. Також *C. difficile* була присутня у водопровідній воді – 5,5%, сировині рослинного походження – 2,4%; жилих будинках – 2,2%. У травному каналі риби – збудника не виявлено [17].

Основним фактором вірулентності є клостридіальний токсин: ентеротоксин (типу А) та цитотоксин (типу В). Вірулентні штами виробляють два токсину. Деякі штами також кодують бінарний токсин, який знаходиться в так званому локусі патогенності (Pa Loc), роль яких у патогенезі хвороби до кінця не встановлена.

Обидва токсини володіють цитотоксичними властивостями та проявляють цитопатичний ефект у культурі клітин більш ніж 20 видів клітин і тканин людини. Токсин В *in vitvo* володіє в десятки разів більшою цитотоксичною активністю на колоноцити людини ніж токсин А. У свою чергу, останній має більш високий ступінь руйнації і збільшує проникність моношару ентероцитів, що, в свою чергу полегшує адгезію інших мікроорганізмів і спрямовану дію екзотоксинів. Є думка, що токсин В не може проникнути у не пошкоджений епітелій кишечнику, а штами які виробляють тільки токсин А – не викликають клінічний прояв захворювання. Більшість штамів *C. difficile* продукують або обидва токсину, один або жодного [8, 18].

Лабораторні методи діагностики *C. difficile* не стандартизовані, використовуються, що може привести до путанини, проте у більшості, вони спрямовані на виявлення токсину в дослідному зразку. Для діагностики застосовують цитопатогенний тест на культурі клітин; реакцію нейтралізації токсину на фібробластах; імуноферментний аналіз (токсини), дот-імуноблотінг, полімеразно-ланцюгову реакцію та культуральний методи. Слід відмітити, що тільки в США ринок комерційних тест-систем щорічно сягає 10 млн. доларів [1, 8].

Зазвичай, золотим стандартом лабораторної діагностики є виділення чистої культури збудника. Для ідентифікації використовують селективне середовище, яке містить цифокситим, циклосерин і фруктозу.

Мета. Виділити збудника *C. difficile* з клінічного матеріалу від здорових і хворих свиней з ознаками діареї.

Матеріали і методи. Проби були відібрані з одного господарства Київської області від свиней після акту дефекації, всього 20 проб (10 від клінічно здорових поросят і 10 проб – з ознаками діареї).

Висів проб (в кількості 1 мкл) проводили одночасно на середовищі Вільсон-Блера, Кітта-Тароцці, кров'яному агарі та селективно-диференційному кров'яному агарі з додаванням цифокситиму, циклосерину і фруктози. Культивування проводили в анаеробних умовах за температури + (37) ºС впродовж 48–72 год.

Почорніння й утворення газу на середовища Вільсон-Блера вказувало на наявність *Clostridium spp*. Середовище Кітта-Тароцці після трьох добового культивування прогрівали 5 хв (t = 100ºС) для формування спор, з послідуючим висівом на циклосерин-цифокситим-фруктозного агару (КЦЦФА).

Індикацію типових колоній *C. difficile* проводили за культурально-морфологічними ознаками, специфічним запахом (гною від коней), за мікроскопії фарбованих за Грамом клітин мікроорганізму, а також за здатністю виживати в аеробних умовах.

Для попередньої ідентифікації відбирали чорні колонії вирощені на середовищі Вільсон-Блера з подальшим культивуванням на кров'яному агарі та КЦЦФА. Культивування проводили як анаеробних, так і аеробних умовах для ізоляції факультативних анаеробів.

Результати досліджень та обговорення. У результаті проведених досліджень з 20 проб було ідентифіковано бактеріологічним методом три ізоляти *C. difficile* з типовими ознаками. Дві позитивні проби отримали від поросят з ознаками діареї та одну – від клінічно здорової тварини. Окремо були ідентифіковані *C. perfringens* (60% проб) з чіткою зоною гемолізу на кров'яному агарі, а також *E. coli, St. spp.* та інші мікроорганізми.

За культивовані позитивних проб на КЦЦФ-агарі, *C. difficile* утворювала сіро-білого, матові, шороховаті колонії (Ø 2–4 мм) зі специфічним запахом без зони гемолізу (рис. 1). За мікроскопії, ізоляти *C. difficile* мають вигляд грампозитивних, спороутворюючих паличок (рис. 2).

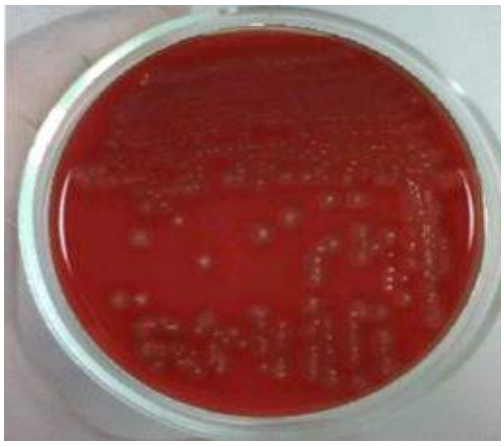

Рис. 1. Ріст *C. difficile* КЦЦФ-агарі (48 год).

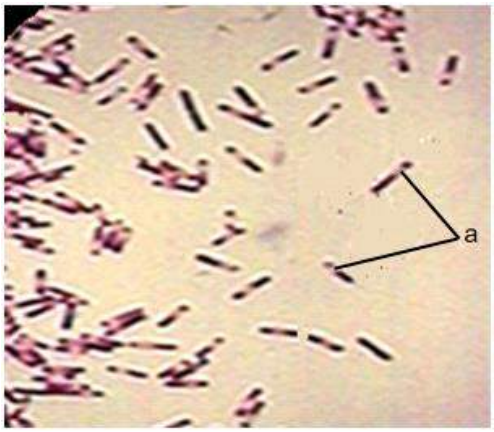

Рис. 2. Мікроскопія культур *C. difficile:* а) – спори збудника (фарбув. за Грамом, × 100).

В ультрафіолетовому світлі колонії мали зелену флюоресценцію, яка поступово втрачалась.

Звичайно, культуральний метод виділення збудника без визначення його токсигенних властивостей не може бути використаний в якості самостійного методу діагностики хвороби. Враховуючи те, що можлива наявність нетоксигенних штамів у шлунково-кишковому каналі, які не викликають клінічну форму хвороби.

Відомо, що *C. difficile* складає нормальну мікрофлору шлунково-кишкового каналі, частіше вони колонізують товстий відділ кишечнику, рідше тонкий. Кількість збудника у відсотковому відношенні в здорової людини не перевищує 0,01 %, але цей показник різко збільшується (до 15–40 %) у разі застосування антибіотиків.

Причиною розвитку *C. difficile* – асоційованих діарей можуть бути *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* тип А, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, гриби роду *candida* та інші мікроорганізми, з клінічним проявом від легких діарей до тяжкого ентероколіту.

Останні дослідження показали високу ступінь спорідненості між людськими штамами збудника та виділених ізолятів від тварин і продуктів тваринництва. Тому не можна виключати можливість міжвидової передачі між людиною та тваринами [19].

Особливу увагу привертає той факт, що *C. difficile* виділяли з продуктів тваринництва (м’яса) [8]. Це дає підстави щодо можливості причин виникнення екзогенного захворювання через контаміновані продукти харчування. Проте на сьогодні до кінця не відома роль збудника у виникненні діареї. Також мало досліджений зв’язок між організмом людини й тварини, зовнішнім середовищем і продуктами харчування та резервуар інфекції.

Враховуючи стійкість спор збудника в навколишньому середовищі та природну резистентність до більшості антибіотиків, можна припустити, що збудник має убіквітарне розповсюдження в зовнішньому середовищі, що створює ризики виникнення цієї зооантропонозної токсико-інфекції.

Відомості, щодо виділення *C. difficile* від тварин в Україні майже відсутні та не відомий зв'язок антибіотикотерапії у тварин з розвитком діарей. Нашими дослідженнями підтверджено виділення збудника *C. difficile* від клінічно здорових та свиней з ознаками діареї. Ці дослідження, проведені вперше. У подальшому планується охопити різні види тварин з визначенням токсигенності ізолятів. На нашу думку, тільки постійні моніторингові дослідження біоматеріалу від тварин, зразків продуктів харчування та об'єктів навколишнього середовища, дадуть змогу визначити ступінь небезпеки, джерела і шляхи передачі збудника на території Україні.

Висновки та перспективи подальших досліджень. З одного господарства Київської області у фекаліях від свиней виділено три ізоляти *C. difficile*, що становить 15% усіх досліджених тварин.

Перспективним напрямом є розширення досліджень та визначення токсигенності ізолятів, що дозволить встановити кінцевий діагноз і дати оцінку епідеміологічної ситуації в Україні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections / J. Freeman, M.P. Bauer, S.D. Baines et al. // Clin. Microbiol. Reviews. – 2010. – Vol. 23. – P. 529–549.

2. Kachrimanidou M. *Clostridium difficile* infection: A comprehensive review / M. Kachrimanidou, N. Malisiovas // Critical Reviews in Microbiology. – 2012. – Vol. 37. – P. 178–187.

3. RKI: Erster Nachweis von Clostridium difficile, Ribotyp 027 in Deutschland – Erreger mit hoher Virulenz // Epid.Bull. – 2007. – Vol. 41. – 386.

4. RKI: Clostridium-difficile-Infektionen: Übermittlungen gemäß IfSG von 01/2008 bis 12/2009 // Epid. Bull. – 2010. – Vol. 10. – 87–89.

5. Recurrent Clostridium difficile disease: epidemiology and clinical characteristics / L.V. McFarland, C.M. Surawicz, M. Rubin et al. // Infect Control Hosp Epidemiol. – 1999. – Vol. 20. – P. 43–50.

6. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID) / K. A. Davies, C. M. Longshaw, G. L. Davis et al. // Lancet Infect Dis. – 2014. – Vol. 14. – P. 1208-19.

7. Лобзин Ю. В. Проблема инфекции в современнойклинической медицине / Ю. В. Лобзин , В В. М.олжанин, С. М. Захаренко // Врач. – 2004. – № 2. – С. 5–9.

8. *Clostridium difficile* isolates resistant to fluoroquinolones in Italy: emergence of PCR ribotype 018 / P. Spigaglia, F. Barbanti, A. M. Dionisi et al. // J Clin Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 2892–2896.

9. Huang H. Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile* / H. Huang, A. Weintraub, H. Fang, C. E. Nord // Int J Antimicrob Agents. – 2009. – Vol. 34. – P. 516–522.

10. Diversity of *Clostridium difficile* in pigs and other animals in Slovenia / J. Avbersek [et al.] // *Anaerobe*. – 2009. – Vol. 15. – P. 252–255.

11. Baverud V. Clostridium difficile infections in animals with special reference to the horse. A review / V. Baverud // Vet. Q. – 2002. – Vol. 24. – P. 203–219.

12. Fry P. R. Antimicrobial resistance, toxinotype, and genotypic profiling of *Clostridium difficile* isolates of swine origin / P. R. Fry, S. Thakur, M. Abley, W. Gebreyes // J Clin Microbiol. – 2012. – Vol. 50. – P. 2366–2372.

13. Prevalence of PCR ribotypes among *Clostridium difficile* isolates from pigs, calves, and other species / K. Keel, J. S. Brazier, K. W. Post et al. // J Clin Microbiol. – 2007. – Vol. 45. – P. 1963–1964.

14. The expression of *Clostridium perfringens* consensus beta2 toxin is associated with bovine enterotoxaemia syndrome / M. Lebrun, P. Filee, B. Mousset et al. // Vet. Microbiol. – 2007. – Vol. 120. – P. 151–157.

15. A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis / M. C. Hammitt, D. M. Bueschel, M. K. Keel et al. // Vet Microbiol. – 2008. – Vol. 127. – P. 343–352.

16. Al Saif N. The distribution of Clostridium difficile in the environment of South Wales./ N. Al Saif, J.S. Brazier // J Med Microbiol. – 1996. – Vol. 45(2). – P. 133-7.

17. Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile* / Borriello S. P. [et al.] // Infect Immun. – 1992. – Vol. 60(10). – P. 4192-9.

18. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile* / S. Stubbs, M. Rupnik, M. Gilbert et al. // FEMS Microbiol. Lett. – 2000. – Vol. 186. – P. 307–312.

19. *Clostridium difficile* in Dutch animals: their presence, characteristics and similarities with human isolates / M. G. J. Koene, D. Mevius, J. A. Wagenaar et al. // Clin Microbiol Infect. – 2012. – Vol. 18. – P. 778–784.

ИЗОЛЯЦИЯ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* С КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ СВИНЕЙ / Галка И. В., Рудой А. В., Музыкина Л. Н., Чехун А. И., Сидоренко Т. В.

В статье показана роль Clostridium difficile в патологии людей и животных, возможные причины возникновения и пути его передачи возбудителя. Исследованиями подтверждена циркуляция возбудителя в одном хозяйстве Киевской области, выделенных от клинически здоровых и свиней с признаками диареи. За морфолого-культуральных характеристик изолировано на кровяном агаре с содержанием цифокситима, циклосерина и фруктозы три изолята C. difficile из фекалий свиней. Доказано значение и необходимость постоянного мониторинга инфекций вызванной этим возбудителем на территории Украины с разработкой отечественных тест-систем.

Ключевые слова: *Clostridium difficile, метод индикации, антибактериальная терапия, токсины.*

***CLOSTRIDIUM DIFFICILE* ISOLATION FROM CLINICAL MATERIAL OF PIGS /** Halka I. V., Rudoi O. V., Muzykina L. M., Chekhun A. I., Sidorenko T. V.

Introduction. *Clostridium difficile – gram-positive anaerobic microorganism that in major cases causes of intestinal (hospital) diarrhea, colitis or pseudomembranous colitis. In humans infection caused by C. difficile is called CDI.*

The major danger of CDI infection development cause antimicrobials agents that are sensitive to anaerobic microorganism sand also it is important to consider other drugs capable of destroying intestine microbiocenosis.

C. difficile causes disease in mammals with the same clinical symptoms in humans. Different types of animals are susceptible to the disease, especially young animals. C. difficile is the causative agent in newborn piglets and can be related to enteritis in calves.

The main virulence factors are C. difficile toxin: enterotoxin (type A) and cytotoxin (type B). Virulent strains produce two toxins, and some strains also encode binary toxin (Pa Loc), the role of which is not fully studied in the pathogenesis of the disease.

The goal of the work. *To isolate C. difficile pathogen from clinical material of healthy and sick pigs with signs of diarrhea.*

Materials and methods. *20 samples from pigs after the act of defecation were collected from one farm of Kyiv oblast.*

Cultivation was carried out under anaerobic conditions in Wilson-Blair, Kitty-Tarotstsi media, blood agar and selective-differential blood agar with Cefoxitin, Cycloserine and fructose.

Identification of C. difficile cultures was carried out by cultural-morphological characteristics and microscopy of microorganism cells after Gram staining and by their ability to survive under aerobic conditions.

Results of the study and discussion. *As a result of investigations, we identified three isolates of C. difficile with typical characteristics by bacteriological method. Two positive samples were from pigs with symptoms of diarrhea and one from clinically healthy animal. In addition, we identified C. perfringens (60 % of samples) with a clear zone of hemolysis on blood agar and E. coli, St.spp. and other microorganisms as well.*

Recent studies have shown a high degree of affinity between human pathogen strains and strains isolated from animals and animal products. Given the stability of the pathogen, we can assume that it has worldwide distribution in the environment that creates risks of this zoonosis toxic infection.

Data on the isolation of C. difficile from animals in Ukraine is almost absent and there is no known connection of antibiotic therapy with diarrhea in animals. We believe that the only continuous monitoring of biological material from animals, samples of food products and of the environment, will make possible determine the level of threat, sources and ways of transmission of this pathogen in Ukraine.

Conclusions and prospects for further research. *In the faeces of pigs three isolates of C. difficile were identified (15% of animals).*

Perspective direction is defined toxigenicity of isolates, which determine the final diagnosis, and to assess the epidemiological situation in Ukraine.

Keywords: *Clostridium difficile, bacteria display, antibiotic therapy, toxins.*

REFERENCES

1. Freeman, J., Bauer, M.P., Baines, S.D., Corver, J., Fawley, W.N., Goorhuis, B., et al. (2010). The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin. Microbiol. Reviews, 3, 529–549.*

2. Kachrimanidou, M., & Malisiovas, N. (2012). *Clostridium difficile* infection: A comprehensive review. *Critical Reviews in Microbiology, 37, 178–187.*

3. RKI: Erster Nachweis von Clostridium difficile, Ribotyp 027 in Deutschland – Erreger mit hoher Virulenz. (2007). *Epid.Bull., 41, 386.*

4. RKI: Clostridium-difficile-Infektionen: Übermittlungen gemäß IfSG von 01/2008 bis 12/2009. (2010). *Epid. Bull., 10, 87-89.*

5. McFarland, L.V., Surawicz, C.M., Rubin, M., Fekety, R., Elmer, G.W., & Greenberg, R.N. (1999). Recurrent Clostridium difficile disease: epidemiology and clinical characteristics. *Infect Control Hosp Epidemiol., 20, 43-50.*

6. Davies, K.A., Longshaw, C.M., Davis, G.L. et al. (2014). Under diagnosis of Clostridium difficile across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis, 14,* 1208-19.

7. Lobzyn Yu.,V., Volzhanyn, V.M., & Zakharenko, S.M. (2004). *Problema ynfektsyy v sovremennoy klynycheskoy medytsyne* [*The infection problem in modern clinical medicine*]. *Vrach – Doctor, 2,* 5-9 [in Russian].

8. Spigaglia, P., Barbanti, F., Dionisi, A. M., Mastrantonio, P. (2010). *Clostridium difficile* isolates resistant to fluoroquinolones in Italy: emergence of PCR ribotype 018. *J Clin Microbiol., 48, 2892–2896.*

9. Huang, H., Weintraub, A., Fang, H., Nord, C. E. (2009). Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile. Int J Antimicrob Agents 34, 516–522.*

10. Avbersek, J., Janezic, S., Pate, M., Rupnik, M., Zidaric, V., Logar, K., et al. (2009). Diversity of *Clostridium difficile* in pigs and other animals in Slovenia. *Anaerobe, 15, 252-255.*

11. Baverud, V. (2002). *Clostridium difficile* infections in animals with special reference to the horse. A review. *Vet. Q., 24,* 203-219.

12. Fry, P.R., Thakur, S., Abley, M., & Gebreyes, W.A. (2012). Antimicrobial resistance, toxinotype, and genotypic profiling of *Clostridium difficile* isolates of swine origin. *J Clin Microbiol., 50, 2366-2372.*

13. Keel, K., Brazier, J. S., Post, K. W., Weese, S., Songer, J. G. (2007). Prevalence of PCR ribotypes among *Clostridium difficile* isolates from pigs, calves, and other species. *J Clin Microbiol, 45, 1963-1964.*

14. Lebrun, M., Filee, P., Mousset, B., Desmecht, D., Galleni, M., Mainil, J.G., et al. (2007). The expression of *Clostridium perfringens* consensus beta2 toxin is associated with bovine enterotoxaemia syndrome. *Vet. Microbiol., 120,* 151-157.

15. Hammitt M.C., Bueschel D.M., Keel M. K., Glock R.D., Cuneo P., DeYoung D. W., et al. (2008). A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis. *Vet Microbiol., 127, 343-352.*

16. Al Saif, N., & Brazier, J.S. (1996). The distribution of *Clostridium difficile* in the environment of South Wales. *J Med Microbiol., 45(2), 133-7.*

17. Borriello, S.P, Wren, B.W, Hyde, S., Seddon, S.V., Sibbons, P., Krishna, M.M., et al. (1992). Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun.*, *60 (10), 4192-9.*

18. Stubbs, S., Rupnik, M., Gilbert, M., Brazier, J., Duerden, B., & Popoff, M. (2000). Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile. EMS Microbiol. Lett., 186, 307-312.*

19. Koene, M.G.J., Mevius, D., Wagenaar, J. A., Harmanus, C., Hensgens, M.P.M., Meetsma, A.M., et al. (2012). *Clostridium difficile* in Dutch animals: their presence, characteristics and similarities with human isolates*. Clin Microbiol Infect., 18, 778-784.*

УДК 619:614.31:615.33:637.54

ГАРКАВЕНКО Т.О., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: bac@vetlabresearch.gov.ua
АЗИРКІНА І.М., e-mail: microb_antib@ukr.net
КИЇВСЬКА Г.В., канд. вет. наук, e-mail: vcheny.secretar@gmail.com
Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ В ПРОДУКЦІЇ ПТАХІВНИЦТВА

В статті наведено аналіз вітчизняних та європейських мікробіологічних скринінг-методів щодо визначення залишкових кількостей антимікробних препаратів. Проведений порівняльний аналіз критеріїв та етапів досліджень щодо визначення залишкових кількостей антимікробних препаратів європейськими скринінг-методами, а також згідно вітчизняних ДСТУ, які найближчим часом будуть впроваджені в лабораторну практику.

Визначено місце мікробіологічного методу «NAT-screening», який дозволяє досліджувати велику кількість проб, вимагає мінімальну кількість часу та розхідних матеріалів і забезпечує ідентифікацію залишкових кількостей антимікробних препаратів до групи.

Ключові слова: *антимікробні препарати, мікробіологічні скринінг-методи, м'ясо птиці, яйця, NAT-screening, тест-культура мікроорганізму.*