

УДК 636.5:619:576.895.1:616.981.459

ФОТІНА Т.І., д-р вет.н., професор, tif_ua@meta.ua

Сумський національний аграрний університет

ПЛИС В.М., канд. вет. н.

Державна установа Інститут зернових культур Національної академії аграрних наук України

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ *PASTEURELLA MULTOCIDA* ВИДІЛЕНОЇ ПРИ ПАСТЕРЕЛЬОЗНО-АСКАРИДІОЗНОМУ МІКСТ ЗАХВОРЮВАННІ ПТИЦІ

В статті наведені дані, щодо вивчення біологічних властивостей *Pasteurella multocida* виділеної при пастерельозно-аскаридіозному мікст захворюванні птиці. Нами було проведено патолого-анатомічний розтин 2300 трупів загиблої птиці. Для виділення пастерели проводили посіви із паренхіматозних органів (серця, печінки, селезінки, жовчного міхура, нирок) і червоного кісткового мозку на проті (МПА, МПБ), збагачені (перевар Хоттінгера, бульйон Хоттінгера, МПА з додаванням 2-3 % глюкози, МПА збагачений 2 % сироватки крові великої рогатої худоби) живильні середовища. Встановлено, що виділена культура *Pasteurella multocida* володіла типовими морфо-тинкторіальними і культуральними властивостями. Ізольована культура *Pasteurella multocida*, на відміну від музейного штаму *Pasteurella multocida* № 19-31, ферментує лактозу. Зареєстровано 74 % пастерел і 26 % аскарідій. За патолого-анатомічного розтину трупів птиці в тонкому кишечнику спостерігали статевозрілі гельмінти *Ascaridia galli* жовто-білого кольору. Зі шкребків кишечника були виявлені яйця *Ascaridia galli*, які в полі зору мікроскопа були овальної форми з гладенькою оболонкою.

Ключові слова: біологічні властивості, бактерія, гельмінт, пастерельозно-аскаридіозне мікст захворювання, птиця.

Вступ. Однією з найпотужніших галузей в тваринництві є птахівництво. У зв'язку з інтенсифікацією птахівництва змінилися умови вирощування птахопоголів'я, зосередження якого на обмеженій території закономірно призвела до виникнення нових взаємин між мікро- і макроорганізмом. У результаті цього виникли змішані захворювання птиці, за яких різко змінилися патогенез, клінічні ознаки, патолого-анатомічні і пато-гістологічні зміни, що утруднило діагностику та диференційну діагностику [1, 2, 3, 4].

Паразитоценоз у вузькому сенсі визначається, як динамічна асоціація мікропопуляцій різних видів симбіонтів, включаючи паразитів, що перебувають у постійній імунно-біологічній взаємодії між собою та організмом господаря як гостальним середовищем. Таке співіснування паразитів призводить до зміни процесів розмноження, вибагливості до культивування мікроорганізмів та поглибленого вивчення біохімічних властивостей [5, 6].

До теперішнього часу залишається актуальним питання щодо розуміння існування бактерій і паразитів, як соціальних співтовариств, які формують багаточисельні асоціації. Присутність різних видів мікроорганізмів у доквілі, організмі птиці обумовлює необхідність і закономірність спільного пошуку, добування та засвоєння поживних речовин живильного середовища [7].

На сьогодні є досить актуальною проблемою птахівництва мікст пастерельозно-аскаридіозне захворювання птиці. Динаміка збільшення числа спалахів мікст пастерельозно-аскаридіозного захворювання серед сприйнятливої птахопоголів'я в останні роки спонукає науковців приділити увагу цьому захворюванню. Широке та безконтрольне застосування антибактерійних засобів на сьогодні здатне викликати зміну біологічних властивостей мікроорганізму виду *Pasteurella multocida* та зростання стійкості цього мікроорганізму до лікувальних засобів [8, 9].

Метою дослідження було вивчити біологічні властивості ізольованого штаму пастерели виду *Pasteurella multocida* за пастерельозно-аскаридіозного мікст захворювання птиці до задепонованого музейного штаму *Pasteurella multocida* № 19-31.

Матеріали і методи. Були проведені дослідження культур пастерели виду *Pasteurella multocida* виділених за мікст пастерельозно-аскаридіозного захворювання птиці в порівнянні з музейним штамом *Pasteurella multocida* № 19-31. Проведено патолого-анатомічний розтин 2300 трупів загиблої птиці, різних видів та вікових груп. Дослідженню піддавалася сільськогосподарська птиця (кури, індики, гуси, качки), річного віку та молодняк (курчата, індичата, гусенята, каченята) 30-денного віку, дикі перелітні (дикі качки) дорослі, синантропні (голуби і голуб'ята) і декоративні птахи (хвилясті папуги та молодняк хвилястих папуг) відповідно віку сільськогосподарської птиці. З метою виділення збудника пастерельозу (холери) птиці проводили посіви із паренхіматозних органів (серця, печінки, селезінки, жовчного міхура, нирок) і червоного кісткового мозку на прості (МПА, МПБ), збагачені (перевар Хоттінгера, бульйон Хоттінгера, МПА з додаванням 2-3 % глюкози, МПА збагачений 2 % сироватки крові великої рогатої худоби) та диференційно-діагностичні (перевар Хоттінгера, Ендо, ВСА) живильні середовища, придбаних у фірмі РЕГІОН, м. Дніпро, країна-виробників: Україна, Індія. Бактеріологічні дослідження проводили загальноприйнятими в мікробіології методами за А.С. Лабинская «Микробиология с техникой микробиологических исследований», визначник бактерій «Берджи». Патогенні властивості культур пастерели визначали шляхом постановки біологічної проби на лабораторній птиці, якій вводили добову бульйонну культуру в дозі відповідно виду, внутрішньоочередово за загальноприйнятими методиками. Фарбування культур пастерели проводили за Грамом. Гельмінтологічні дослідження проводили за методом неповного гельмінтологічного розтину за К.І. Скрябіним [10].

Результати досліджень та їх обговорення. Виділені культури пастерели виду *Pasteurella multocida* володіли типовими морфо-тинкторіальними і культуральними властивостями. За культивування в термостаті при температурі 37 °С і рН 7,2 на м'ясопептонному бульйоні спостерігали ріст у вигляді рівномірного помутніння, в подальшому відбувалося просвітління живильного середовища з утворенням на дні пробірки слизового осаду, який при струшуванні підіймався у вигляді кіски. На м'ясопептонному агарі росли S-форми, які являли собою дрібні, прозорі, росинчаті, округлої форми колонії випуклої форми з гладенькими краями. Виділена пастерела за мікст пастерельозно-аскаридіозного захворювання в складі асоціації в полі зору мікроскопа являла собою нерухомі, короткі, грамнегативні, овоїдні палички, мала оболонку і капсулу. Біохімічні властивості виділеної культури пастерели в порівнянні з за депонованим музейним штамом *Pasteurella multocida* наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Біохімічні властивості *Pasteurella multocida*

Показники	Виділена культура <i>Pasteurella multocida</i>	Задепонований штам <i>Pasteurella multocida</i> № 19-31
Ферментація без утворення газу глюкози	+	+
Ферментація без утворення газу сахарози	+	+
Ферментація глюкози	+	
Ферментація маніту	+	
Ферментація сорбіту	-	-
Не ферментують лактозу	+	-
Не ферментують дульцит	-	-
Утворюють індол	+	+
Не виділяють сірководень	-	-
Молоко не пептонізують	-	-
Желатину не розріджують	-	-
На живильних середовищах з жовчу не ростуть	-	-

Примітка: «+» реакція позитивна; «-» реакція негативна

Виділена культура пастерели виду *Pasteurella multocida*, на відміну від задепонованого музейного штаму *Pasteurella multocida* № 19-31, ферментує лактозу. За мікст захворювання зареєстровано 74 % пастерел і 26 % аскаридій.. Ізольована культура містить антиген *Pasteurella multocida* і належить до серологічної групи А по капсульному антигену. За патолого-анатомічного розтину трупів загиблої птиці в тонкому відділі кишечника спостерігали статевозрілі гельмінти *Ascaridia galli* жовто-білого кольору, з потовщеннями з обох кінців, кутикула поперечно покреслена. При мікроскопії ротовий отвір гельмінта оточений трьома губами на вільному краї яких є зубчики, кожна губа має дві зубоподібні пластинки. Зі шкребків кишечника були виявлені яйця *Ascaridia galli*, які в полі зору мікроскопа були овальної форми з гладенькою оболонкою. При визначенні патогенності виділеної культури пастерели виду *Pasteurella multocida* проводили постановку біологічної проби на птиці, якій вводили внутрішньом'язево добову бульйонну культуру в розведеннях і дозах наведених в таблиці 2. Патогенність вивчали на птиці різного виду (кури, індики, гуси, качки, голуби, папуги) 90 -120 добового віку.

Таблиця 2

Патогенність виділеної пастерели виду *Pasteurella multocida* за пастерельозно-аскаридіозного мікст захворювання птиці, n=10

Вид птиці	Розведення	Доза зараження, см ³	Відсоток загибелі, %
Кури віком 120 діб	10 ⁻⁸	0,5	90
Індики віком 110 діб	10 ⁻⁸	1,0	90
Гуси віком 120 діб	10 ⁻⁸	0,5	80
Качки віком 110 діб	10 ⁻⁸	0,5	90
Голуби віком 120 діб	10 ⁻⁸	0,3	80
Папуги віком 90 діб	10 ⁻⁸	0,1	80

Через 24 години після інфікування спостерігали загибель птиці від 80 до 90 % з виникненням сепсису.

Вивчення біологічних властивостей *Pasteurella multocida* свідчить про те, що серотип А володіє високими патогенними властивостями для птиці різних видів і певними особливостями патогенетичної дії на птахопоголів'ї, воно є специфічним і прогнозованим. Культуральні властивості епізоотичного штаму *Pasteurella multocida* є стабільними і характерними за культивування та пересівах.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. При розтині загиблої птиці ізольована патогенна культура *Pasteurella multocida*, зі шкребків кишечника яйця аскаридій, з просвіту кишечника статевозрілі паразити. Доведено співвідношення 74,0 % пастерел і 26 0% аскаридій.

2. Встановлено, що виділена культура *Pasteurella multocida*, на відміну від музейного штаму *Pasteurella multocida* № 19-31, ферментує лактозу. Культуральні властивості епізоотичного штаму є стабільними.

3. Патогенні властивості виділеної культури *Pasteurella multocida* досить високі, через 24 години після інфікування спостерігали загибель птиці від 80 до 90 % з виникненням ознак сепсису.

Перспективи подальших досліджень. Буде визначено чутливість ізольованих збудників до лікарських засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовський А.В. Хвороби птиці: підручник / В.В. Герман, Т.І. Фотіна, Г.Ф. Фотіна - Київ, 2012. — С. 7 — 122.
2. Герман В.В., Довідник про хвороби птахів: навчальний посібник /Б.Т. Стегній, П.І Вербіцький — Харків, 2002. — С. 10 - 65.
3. Плис В.М. Бактеріальні хвороби птиці: навчальний посібник / В. М. Плис., Т. І. Фотіна. Г.А. Фотіна, Т.В. Колбасіна, Л.С. Короленко — -Дніпро, 2017. — С. 187 - 216.
4. Богач М. В. Інвазійні хвороби свійської птиці: навчальний посібник / М. В. Богач, А. В. Березовський, І. Л. Тараненко. — К.: Ветінформ, 2007. — 224 с.
5. Плис В.М., Змішаний пастерельоз та аскаридіозний захворювання птиці: монографія - Дніпро, 2017. — С. 5 —38.
6. Стегній Б. Т. Методичні вказівки для діагностики, профілактики та контролю пастерельозу (холери) птиці. Дніпропетровськ, 2009. — С. 4 — 39.
7. Плис В.М., Фотіна Т.І. Епізоотологічний моніторинг, клінічні ознаки та патологічні зміни пастерельозу (Холера) асоціацій птахівництва з певними інфекційними та паразитарними захворюваннями. Бюлетень Сумського національного аграрного університету. 2014, № 6 (35), С. 114—122.
8. Шендрік Л.І., Шендрік Х.М. Паразитарні хвороби: діагностика, профілактика, лікування: навчальний посібник / Л.І. Шендрік, Х.М. Шендрік — Дніпропетровськ 2011, С. 84 — 86.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *PASTEURELLA MULTOCIDA* ВЫДЕЛЕНИЙ ПРИ ПАСТЕРЕЛЬОЗНО-АСКАРИДИОЗНОМУ МИКСТ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПТИЦЫ / Фотина Т. И., Плис В. М.

В статье приведены данные, по изучению биологических свойств Pasteurella multocida выделенной при пастерельозно-аскаридиозному микст заболеванию птицы. Нами было проведено патолого-анатомическое вскрытие 2300 трупов погибшей птицы. Для выделения пастереллы проводили посевы с паренхиматозных органов (сердца, печени, селезенки, желчного пузыря, почек) и красного костного мозга на простые (МПА, МПБ), обогащенные (перевар Хоттингера, бульон Хоттингера, МПА с добавлением 2-3 % глюкозы, МПА обогащенный 2 % сыворотки крови крупного рогатого скота) питательные среды. Установлено, что выделенная культура Pasteurella multocida владела типичными морфо-тинкториальными и культуральными свойствами. Изолированная культура Pasteurella multocida, в отличие от музейного штамма Pasteurella multocida № 19-31, ферментируется лактозу. Зарегистрировано 74 % пастерел и 26 % аскарид. При патологоанатомическом вскрытии трупов птицы в тонком кишечнике наблюдали половозрелые гельминты Ascaridia galli желто-белого цвета. Из скребков кишечника были обнаружены яйца Ascaridia galli, которые в поле зрения микроскопа были овальной формы с гладкой оболочкой.

Ключевые слова: биологические свойства, бактерия, гельминт, пастереллезно-аскаридиозное микст заболевание, птица.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF PASTEURELLA MULTOCIDA ISOLATED AT THE MIXED PASTEURELLOSIS AND ASCARIDOSIS DISEASES OF POULTRY / Fotina T. I., Plys V. M.

Introduction. *The article presents data on the study of the biological properties of Pasteurella multocida isolated during pasteurello-ascariasis poultry disease.*

The goal of the work. *We conducted a pathological-anatomical the cut-off of 2,300 corpses of the dead bird. To isolate Pasteurella conducted sowings of parenchymal organs (heart, liver, spleen, gallbladder, kidney) and red bone marrow on simple (MPA, MPB) enriched (Hottinger's broth, Hottinger broth, MPA with 2-3 % glucose added, MPA enriched with 2 % of blood serum of cattle) culture medium.*

Materials and methods of research. *Pathogenic properties of a dedicated culture of pasteurels determined by setting a biological sample on laboratory of poultry which was administered daily broth culture in a dose according to the species, intraperitoneally, smears stained by Gram. Helminthological studies of*

scabies and intestinal contents were performed according to generally accepted methods. The isolated culture *Pasteurella multocida* possessed typical morpho-tincorial and cultural properties. The isolated *Pasteurella multocida* culture, unlike the *Pasteurella multocida* mushroom strain № 19-31, fermentes lactose. 74 % pasteurals and 26 % of ascarids are registered. Percentage ratio of pathogens persisted for 15 passages. In the pathologically-anatomical section of the carcasses of the birds in the small intestine, mature, yellow-white *Ascaridia galli* worms were observed. From the scrapers of the intestine, eggs of *Ascaridia galli* were found, which in the field of view of the microscope were oval with a smooth shell. Pathogenic properties of a dedicated culture of pasteurals were determined by producing a biological test according to generally accepted methods. 24 hours after infection observed the death of poultry from 89,7 to 90 % with the emergence of sepsis.

Results of research and discussion. From dead birds isolated pathogenic culture of *Pasteurella multocida*, from scrubs of the intestines of ascarid eggs, from the lumen of the intestines are mature parasites. 74 % pasteurals and 26 % of ascarids are registered. Percentage ratio of pathogens persisted for 15 passages. The isolated culture *Pasteurella multocida*, in contrast to the *Pasteurella multocida* museum № 19-31, fermentes lactose. The cultural properties of the epizootic strain are stable. Pathogenic properties of the isolated culture *Pasteurella multocida* fairly high, were observed 24 hours after infection poultry deaths from 80 to 90 % with the occurrence of sepsis.

Conclusions and prospects for further research:

1. Consequently, the pathogenic culture of *Pasteurella multocida*, from the intestine scarcity of the ascarid eggs, is isolated from the dead bird, and from the lumen of the intestines are mature parasites. 74% pasterals and 26% of ascarids are registered. Percentage ratio of pathogens persisted for 15 passages.

2. It has been established that *Pasteurella multocida*, in contrast to the *Pasteurella multocida* museums strain number 19-31, fermentes lactose. The cultural properties of the epizootic strain are stable.

3. The pathogenic properties of the isolated culture of *Pasteurella multocida* were quite high, after 24 hours after infection, the death of poultry was observed from 80 to 90% with the onset of sepsis.

Keywords: biological properties, bacterium, helminthes, the mixed pasteurellosis and ascaridosis diseases, poultry.

REFERENCES

1. Berezovskiy, A.V, Herman, V.V, Fotina ,T.I., Fotina, H.A. (2012). Khvoroby ptytsi [Diseases of poultry]. *Pidruchnyk*. Kyiv: TOV "DIA" – Textbook. Kyiv: "DIA" Ltd. [in Ukrainian].
2. Herman, V.V., Stehniy, B.T., Verbitskiy, P.I. (2012). Dovidnyk pro khvoroby ptakhiv [Handbook of Bird Disease]. *Kharkiv: Folio – Kharkiv: Folio, 10 – 65 [inUkraine]*.
3. Plys, V.M., Fotina, T.I., Fotina, H.A., Kolbasina, T.V., Korolenko, L. S. (2017). Bakterialni khvorobi ptytsi [Bacterial disease of poultry]. *Dnipro: Zhorfond – Dnipro: Zhorfond, 187 – 216 [inUkraine]*.
4. Bogach, M.V., Berezovskij, A.V. & Taranenko, I.L. (2007). Invazijni hvorobi svijskoї ptici. [Invasive Poultry Diseases], *Vetinform, 224 [in Ukrainian]*.
5. Plys, V.M., (2017). Zmishany ypastereloz ta askarydioznyy zakhvoryuvannya ptytsi [Mixed Pasteurleosis and Ascaridosis of poultry Disease.]. *Dnipro: Zhorfond – Dnipro: Zhorfond, 5 – 38 [in Ukrainian]*.
6. Stehniy, B. T. [et al.]. (2009). Metodychni vkazivky dlya diahnostryky, profilaktyky ta kontrolyu pasterelozu (kholery) ptytsi [Guidelines for the diagnosis, prevention and control of pasteurellosis (Cholera) poultry]. *Dnipropetrovsk – Dnipropetrovsk, 4-39 [in Ukrainian]*.
7. Plys, V.M., Fotina, T.I. (2014). Epizootolohichnyy monitorynh, klinichni oznaky ta patolohichni zminy pasterelozu (Kholera) asotsiatsiy ptakhivnytstva z pevnymy infektsiynymy ta parazytarnymy zakhvoryuvannyamy [Epizootological monitoring, clinical signs and pathological changes of pasteurellosis (Cholera) associations of poultry with certain infectious and parasitic diseases]. *Byuletyn Sumskoho natsional'noho ahrarnoho universytetu – Bulletin of the Sumy National Agrarian University, 6 (35), 114-122 [in Ukrainian]*.
8. Shendryk, L.I., Shendryk, H.M. (2011). Tvaryna Parazytarni khvoroby: diahnostryka, profilaktyka, likuvannya [Animal Parasitic disease: diagnosis, prevention, treatment]. *Navchalniy posibnyk: Dnipropetrovsk: Svidler A. L. – Tutorial. Dnipropetrovsk: A. Svidler, A. L.84 – 86 [in Ukrainian]*.