

ОБҐРУНТУВАННЯ СЕЛЕКТИВНОЇ ДОМІШКИ ІЗ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ РЕЧОВИН ДО ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ІЗОЛЯЦІЇ *CAMPYLOBACTER SPP.*

О. І. Касяненко, Т. І. Фотіна, А. В. Березовський

Сумський національний аграрний університет

*У статті наведено результати визначення бактеріцидних концентрацій антибіотиків гентамицину, колистину, рифампіцину, цефалексину та триметоприму по відношенню до культур *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *L. monocitigenes*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *P. multocidae*. Результати експериментальних досліджень дозволили визначити оптимальний склад антимікробних засобів селективної домішки, додавання якої до поживних середовищ для ізоляції *Campylobacter spp.* дозволить уникнути попереджувального росту супутньої мікрофлори та проводити селективну ізоляцію кампілобактерій з харчових продуктів, води і об'єктів зовнішнього середовища. Ефективність застосування запропонованої комбінації антибіотиків в ході селективної ізоляції *Campylobacter spp.* вивчали на основі поживного щільного середовища для культивування кампілобактерій з використанням суміші тест-культур бактерій.*

Загальносвітова тенденція посилення контролю за збудниками зоонозів пов'язана з щорічним збільшенням кількості харчових токсикоінфекцій (сальмонельозу, кампілобактеріозу, лістеріозу тощо) серед населення країн Європи та світу. Щорічні доповіді EFSA (Європейського Агентства з безпеки продуктів харчування) за період 2006-2009 рр. констатують достовірне збільшення кількості випадків виявлення цих патогенів в м'ясі птиці, виробленому в ЄС. Згідно зі статтею 5 Директиви 2003/99/ЄС Європейського Парламенту і Ради Європи від 17 листопада 2003 року встановлені узгоджені програми моніторингу, оцінки ризиків та встановлення вихідних значень щодо зоонозів та зоонозних збудників на рівні держав-членів ЄС. Наукові експерти оперативної групи EFSA ухвалили технічні умови для дослідження стану моніторингу *Campylobacter* серед поголів'я бройлерів та тушок птиці та узгодженої програми з гармонізованого моніторингу сальмонели та *Campylobacter* у м'ясі бройлерів у країнах-членах ЄС.

Складність ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* із харчових продуктів, води, об'єктів зовнішнього середовища та патологічного матеріалу обумовлюється попереджачим ростом на поживних середовищах супутньої мікрофлори. З метою селективної ізоляції кампілобактерій до складу поживних середовищ вносять суміші селективних домішок. При цьому доцільно враховувати рівень резистентності збудників до антибактеріальних препаратів, що широко застосовуються [5-10]. Найбільш поширені збудники бактеріальних інфекцій проявляють множинну опірність до традиційних антимікробних засобів, а через широке розповсюдження антибіотикорезистентності серед мікроорганізмів знижується ефективність лабораторної роботи. Тому актуальним і першочерговим завданням є визначення чутливості ізолятів бактерій до дії антибактеріальних препаратів [1-4].

Для пригнічення попереджувального росту супутньої мікрофлори до поживних середовищ додають селективні агенти (ванкоміцин, цефалексин, налідиксову кислоту, бісептол, рифампіцин, поліміксини М і В, амфотеріцин В, триметоприм, цефсулодин тощо) як окремо, так і в різних поєднаннях. Сафронова Н.В. та ін., (1987) запропонувала з метою селективної ізоляції кампілобактерій додавати до складу поживних середовищ

антибактеріальні компоненти (мг/л): поліміксин В – 2, рифампіцин – 10, ристоміцин – 10, амфотеріцин В – 2, фузидин – 2. Матвеева З.Н. в 1989 році запропонувала селективну домішку антибактеріальних препаратів наступного складу (мг/л): поліміксин В – 2, рифампіцин – 10, ристоміцин – 10, амфотеріцин В – 3. (Инструкция по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза, 1989). Голіков разом з співавторами у 1980 році запропонував селективне поживне середовище на основі серцево-мозкового відвару, селективними компонентами її є рифампіцин, що пригнічує ріст граммпозитивних і грамнегативних мікроорганізмів; поліміксин М, активний по відношенню до грамнегативних мікроорганізмів та протигрибковий препарат ністатин. Ці селективні компоненти не пригнічують ріст термофільних кампілобактерій (МІК більше 100 мкг/мл) (Чайка Н.А., Хазенсон Л.Б., Бутцлер Ж.-П. и др).

Bolton F. et з співавт. досліджували селективних способів ізоляції кампілобактерій на середовищі Fennell з амфотеріцином (Bolton F.J., Wareing D.R.A., Skirrow M.B., Hutchinson D.N. Identification and biotyping of campylobacters // Identification Methods in Applied and Environmental Microbiology, Academic Press, London. – 1992. - p. 151–161.).

Goossens H. et al., з співавт. 1989 році до складу селективного живильного середовища SSM включали 30 мкг/мл цефалеперазону і 50 мкг/мл триметоприму (Gonzales V.A. and Abuxarqui, J.J.F. Poultry as Campylobacter jejuni and Campylobacter coli contamination source // Rev. Lat. Amer. Microbiology. - 1989. - Vol. 31. - P. 271–273).

На даний час за кордоном випускаються комерційні селективні домішки, що містять різні за складом та вмістом антибактеріальні речовини: “Oxoid” за складом бацитрацин – 5000 ОД, циклогексимід – 25 мг/л, колістин – 5000 ОД, цефазолін – 7,5 мг/л, новобіоцин 2,5 мг/л; Blaser Wang FD 006: поліміксин В – 1250 ОД, ванкомицин – 5,0 мг/л, триметоприм – 5,0 мг/л, амфотеріцин В – 1,0 мг/л, цефалотин – 7,5 мг/л; Preston: поліміксин В – 5000 ОД, рифампіцин – 10 мг/л, триметоприм – 10 мг/л, циклогексимід – 100 мг/л; Karmali: пируват натрія – 100 мг/г, цефалеперазон – 32 мг/л, ванкомицин – 20 мг/л, циклогексамід – 100 мг/л. Найбільш популярна комбінація по Skirrow: 10 мг/л ванкомицину, 2500 МЕ/л поліміксіну В, 5 мг/л триметоприму (Фотіна Т.І., Березовський А.В., Касяненко О.І., Дворська Ю.Є. Кампілобактеріоз птиці / Монографія – Суми. – 2010. – 140 с.).

Відомі методи селективної ізоляції недостатньо ефективні при виділенні кампілобактерій з харчових продуктів за рахунок того, що більшість селективних домішок чи їх компонентів не випускаються вітчизняною фармакологічною промисловістю, а закордонного виробництва, що обумовлює значні матеріальні затрати на витратні матеріали на проведення досліджень. Крім того, запропоновані селективні домішки недостатньо ефективні за рахунок того, що не враховані дані резистентності циркулюючих збудників до антибактеріальних препаратів.

Метою роботи було визначити склад компонентів антибактеріальних препаратів селективної домішки для поживних середовищ для ізоляції *Campylobacter* spp. шляхом визначення бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів по відношенню до культур мікроорганізмів, які найчастіше проявляють попереджаючий ріст на поживних середовищах і унеможливають виділення *Campylobacter* spp., як наслідок - забезпечити достовірність та ефективність досліджень.

Матеріали і методи. Порядок та метод визначення бактерицидних концентрацій антибіотиків гентаміцину, колістину, рифампіцину, цефалексину та триметоприму, проводили керуючись «Методикою визначення бактериостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом подвійних серійних розведень», (2003), який регламентує основні положення проведення експериментальної роботи та дозволяє забезпечити належну якість досліджень. Дослідні серії антибактеріальних препаратів виготовлені за технологією і на обладнанні науково-контрольної лабораторії ТзОВ «Бровафарма».

В якості тест-культур використовували *E. coli* (серовар O2, штам № 157), отримане з ВДНКІВП (м. Москва), *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* (штам № 478) (ДНКІБШМ, м. Київ) та культури *S. enteritidis*, *L. monocitogenes*, *P. multocidae*, ізольованих попередньо нами із м'яса птиці.

Культури мікроорганізмів вирощували на м'ясо-пептонному агарі (МПА). Із 18-24 годинних культур мікроорганізмів готували завись згідно стандарту оптичного мікробіологічного 5 міжнародних одиниць каламутності (ДНКІБШМ).

Результати й обговорення. На першому етапі роботи приготували основний розчин антибактеріального препарату гентаміцину з концентрацією 1 мг/1мл (1000 мкг/1 мл). Результати визначення бактерицидних концентрацій антибіотика гентаміцин по відношенню до досліджуваних культур мікроорганізмів відображено в табл. 1.

Таблиця 1

Наслідки визначення бактерицидних концентрацій гентаміцину сульфату

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікроорганізмів)					Контроль (культура мікроорганізмів)					
		<i>C. jejuni</i>	<i>L. monocitogenes</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. multocida</i>	МПА	<i>C. jejuni</i> + МПА	<i>L. monocitogenes</i> + МПА	<i>S. enteritidis</i> + МПА	<i>E. coli</i> + МПА	<i>P. multocidae</i> + МПА
1	500	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2	250	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3	125	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
4	62,5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	31,25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	15,625	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7	7,81	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
8	3,91	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
9	1,95	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
10	0,975	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
11	0,487	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
12	0,243	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
13	0,122	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
14	0,061	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Примітка: 1. «-» – ріст колоній бактерій відсутній; 2. «+» – ріст колоній бактерій на поверхні поживного середовища.

Згідно даних табл. 1 бактерицидна концентрація антибіотика гентаміцин сульфат по відношенню до досліджуваних культур складає: *C. jejuni* – 15,625 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 1,95 мкг/мл; *S. enteritidis* – 7,81 мкг/мл; *E. coli* – 3,91 мкг/мл; *P. multocidae* – 15,625 мкг/мл. Найбільшу чутливість до гентаміцину виявляла культура *L. monocitogenes*, при цьому встановлено найменшу бактериостатична концентрація препарату гентаміцину – 1,95 мкг/мл.

Отже, з метою вибіркової селективної дії гентаміцину на *Listeria* spp. до складу селективної домішки рекомендовано вносити 1,95 мкг/мл, ≈ 2 мкг/мл (або 2 мг/л л поживного середовища). Також, з метою селективної ізоляції *Campylobacter* spp. та пригнічення росту культур *L. monocitogenes*; *S. enteritidis*; *E. coli* на селективному поживному середовищі до складу селективної домішки доцільно вносити гентаміцин в дозі 7,813 мкг/мл або 7,813 мг/л л поживного середовища.

Результати визначення бактерицидних концентрацій антибіотика колістин сульфату по відношенню до досліджуваних культур мікроорганізмів відображено в табл. 2. Основний розчин антибіотика колістин сульфату готували з концентрацією 100 мг/30 мл (3,333 мг/1мл) або 3333 мкг/мл.

Таблиця 2

Наслідки визначення бактерицидних концентрацій колістину сульфату

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікроорганізмів)					Контроль (культура мікроорганізмів)					
		<i>C. jejuni</i>	<i>L. monocitogenes</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. multocida</i>	МПА	<i>C. jejuni</i> + МПА	<i>L. monocitogenes</i> + МПА	<i>S. enteritidis</i> + МПА	<i>E. coli</i> + МПА	<i>P. multocida</i> + МПА
1	1666,50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2	833,25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3	416,625	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
4	208,312	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	104,156	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
6	52,078	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7	26,039	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
8	13,019	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
9	6,509	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
10	3,255	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
11	1,627	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
12	0,814	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
13	0,407	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
14	0,203	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Примітка: 1. «-» – ріст колоній бактерій відсутній; 2. «+» – ріст колоній бактерій на поверхні поживного середовища.

Відповідно до даних табл. 2, бактерицидна концентрація колістин сульфату по відношенню до досліджуваних культур становила: *C. jejuni* – 104,156 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 26,039 мкг/мл; *S. enteritidis* – 208,312 мкг/мл; *E. coli* – 208,312 мкг/мл; *P. vulgaris* – 104,156 мкг/мл.

Найбільш чутливі до даного антибіотика виявилася культура *L. monocitogenes*. Отже, колістин сульфат доцільно включати до складу селективної домішки з метою пригнічення росту *Listeria* spp. на селективних поживних середовищах, а рекомендована концентрація цього антибіотика має бути 26,039 мкг/мл або 26 мг/л л поживного середовища.

Результати визначення бактерицидних концентрацій антибактеріального препарату триметоприму по відношенню до досліджуваних культур мікроорганізмів відображено в табл. 3. Основний розчин антибактеріального засобу триметоприм готували з концентрацією 100 мг/30 мл (3,333 мг/1мл) або 3333 мкг/мл.

Відповідно до даних табл. 3, триметоприм в певних концентраціях пригнічував ріст культур *C. jejuni*, *S. enteritidis* та *E. coli*. Бактерицидна концентрація цього хіміотерапевтичного засобу по відношенню до досліджуваних культур становила: *C. jejuni* – 833,250 мкг/мл; *S. enteritidis* та *E. coli* – 416,625 мкг/мл. Отже, триметоприм доцільно включати до складу селективної домішки з метою пригнічення росту *S. enteritidis* та *E. coli* на селективних поживних середовищах, а оптимальна концентрація цього антибактеріального засобу має бути 416,625 мкг/мл (400 мг/1 л поживного середовища).

Таблиця 3

Наслідки визначення бактерицидних концентрацій триметоприму

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікроорганізмів)					Контроль (культура мікроорганізмів)					
		<i>C. jejuni</i>	<i>L. monocitogenes</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. multocidae</i>	МПА	<i>C. jejuni</i> + МПА	<i>L. monocitogenes</i> + МПА	<i>S. enteritidis</i> + МПА	<i>E. coli</i> + МПА	<i>P. multocidae</i> + МПА
1	1666,50	–	+	–	–	+	–	+	+	+	+	+
2	833,25	–	+	–	–	+	–	+	+	+	+	+
3	416,625	+	+	–	–	+	–	+	+	+	+	+
4	208,312	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
5	104,156	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
6	52,078	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
7	26,039	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
8	13,019	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
9	6,509	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
10	3,255	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
11	1,627	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
12	0,814	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
13	0,407	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
14	0,203	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+

Результати визначення бактерицидних концентрацій антибіотика цефалексин по відношенню до досліджуваних культур мікроорганізмів відображено в табл. 4. Основний розчин антибактеріального препарату цефалексину готували з концентрацією 20 мг/1мл (20000 мкг/1мл).

Відповідно до даних табл. 4 бактерицидна концентрація препарату цефалексин по відношенню до досліджуваних культур складає: *C. jejuni* – 1250 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 2500 мкг/мл; *S. enteritidis* та *E. coli* – 156,25 мкг/мл; *P. vulgaris* – 625 мкг/мл.

Найвищу чутливість до цефалексину проявляли культури *S. enteritidis* та *E. coli*, при цьому мінімальна бактерицидна концентрація даного антибіотика, що пригнічувала ріст культур на поживному середовищі дорівнювала 156,25 мкг/мл.

Отже, з метою селективної ізоляції *Campylobacter* spp. та пригнічення росту культур *S. enteritidis* та *E. coli* на поживному середовищі до складу селективної домішки доцільно вносити цефалексин в дозі 156,25 мкг/мл (156 мг/1 л поживного середовища).

Таблиця 4

Наслідки визначення бактерицидних концентрацій цефалексину

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікрорганізмів)					Контроль (культура мікрорганізмів)					
		C. jejuni	L. monocitogenes	S. enteritidis	E. coli	P. multocidae	МПА	C. jejuni + МПА	L. monocitogenes + МПА	S. enteritidis + МПА	E. coli + МПА	P. multocidae + МПА
1	10000	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2	5000	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3	2500	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
4	1250	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	625	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	312,5	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
7	156,25	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
8	78,125	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
9	39,062	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
10	19,531	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
11	9,765	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
12	4,882	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
13	2,441	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
14	1,220	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Результати визначення бактерицидних концентрацій антибіотика рифампіцин по відношенню до досліджуваних культур мікроорганізмів відображено в табл. 5.

Таблиця 5

Наслідки визначення бактерицидних концентрацій рифампіцину

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікрорганізмів)					Контроль (культура мікрорганізмів)					
		C. jejuni	L. monocitogenes	S. enteritidis	E. coli	P. multocidae	МПА	C. jejuni + МПА	L. monocitogenes + МПА	S. enteritidis + МПА	E. coli + МПА	P. multocidae + МПА
1	500	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
2	250	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
3	125	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
4	62,5	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
5	31,25	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
6	15,625	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7	7,81	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
8	3,91	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
9	1,95	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
10	0,975	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
11	0,487	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
12	0,243	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
13	0,122	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
14	0,061	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Основний розчин антибіотика рифампіцин готували з концентрацією 1 мг/1мл (1000 мкг/1мл). Відповідно до показників табл. 5, даний антибіотик в певних концентраціях пригнічував ріст культур *E. coli* та *P. multocidae*. Бактеріостатична концентрація препарату складала: *E. coli* – 250 мкг/мл, *P. multocidae* – 250 мкг/мл.

Включення до складу селективної домішки антибіотика колістин сульфату забезпечує пригнічення попереджуючого росту культур *Listeria spp.* на поверхні поживного середовища (табл. 2). Але, відповідно до даних табл. 1, даний результат досягається внесенням до селективного поживного середовища антибіотика гентаміцин сульфату, бактерицидна концентрація якого до культур *Listeria spp.* в 13 раз менша і складає 2 мг/л. Крім того, згідно зі статтею 5 Директиви 2003/99/ЄС Європейського Парламенту і Ради Європи від 17 листопада 2003 року держави-члени ЄС проводять тестування ізолятів *Campylobacter spp.* на антимікробні препарати, до переліку яких залучено гентаміцин (Gentamicin).

Включення до складу селективної домішки хіміотерапевтичного засобу триметоприм забезпечує пригнічення попереджуючого росту культур *S. enteritidis* та *E. coli* і дозволяє на поживному середовищі проявити ростові властивості культур *Campylobacter spp.* (табл. 3). Але, відповідно до даних табл. 4 очікуваний результат досягається, внесенням до селективного поживного середовища антибіотика цефалексин сульфату в концентрації 156 мг/л, що в 2,6 менше за бактерицидну концентрацію триметоприму (416 мг/л).

Отже, враховуючи результати експериментальних досліджень та економічну доцільність, до проєктованого поживного середовища для селективної ізоляції *Campylobacter spp.*, з числа досліджених антимікробних речовин доцільно додавати лише три антибіотики в наступних концентраціях:

- 1) для пригнічення росту *L. monocitogenes* – гентаміцин в концентрації 2 мг/л;
- 2) для пригнічення росту *S. enteritidis* та *E. coli* – цефалексин в концентрації 156 мг/л;
- 3) для пригнічення росту *P. multocidae* – рифампіцин в концентрації 250 мг/л.

Ефектність такої комбінації антибактеріальних засобів в ході селективної ізоляції *Campylobacter spp.* вивчали на основі поживного щільного середовища для культивування кампілобактерій (ТУ У 4.4.-14332579-056:2010) з використанням суміші тест-культур бактерій (табл. 6).

В якості тест-культур кампілобактерій використовували штами *C. jejuni spp. jejuni* № 70.2Т, *C. coli* № 43447, *C. lari* № 729, *C. fetus spp. fetus* № 30, *C. sputorum spp. bubulus* № 53103, отриманих нами в ФГУ «ВГНКИ», м. Москва.

В якості тест-культур супутньої мікрофлори використовували ізоляти, попередньо виділені нами із м'яса птиці.

Вихідні концентрації кампілобактерій і супутньої мікрофлори готували з концентрацією мікробних клітин 1×10^9 в 1 мл фізіологічного розчину, в подальшому проводили послідовне десятикратне розведення заданої концентрації ($1 \times 10^1 - 1 \times 10^9$).

Суспензії кампілобактерій і супутньої мікрофлори кожного розведення в об'ємі по 0,1 мл висівали на поверхню поживного щільного середовища для культивування кампілобактерій з селективною та без селективної домішки.

Посіви інкубували при температурі 37 °C в мікроаерофільних умовах. Облік результатів посівів на живильних середовищах проводили щодоби протягом 12 діб (табл. 6).

Таблиця 6

**Результати дослідження селективних властивостей
поживного щільного середовища для культивування кампілобактерій**

Суміш культур (штамів) мікроорганізмів	Час реєстрації росту культур бактерій після посіву, доба									
	ПС	поживне середовище з селективною домішкою								
		посівна доза, мко/мл								
		10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T +		–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T + S. enteritidis	–/1	–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T + E. coli	–/1	–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T + P. Multocidae	–/1	–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T + St. aureus	–/1	–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. jejuni spp. jejuni № 70.2T + Pr.vulgaris	–/1	–/–	6/–	5/–	4/–	3/–	3/–	2/–	1/–	–/–
C. coli № 43447 + L. monocitogenes	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. coli № 43447 + S. enteritidis	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. coli № 43447 + E. coli	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. coli № 43447 + P. multocidae	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. coli № 43447 + St. aureus	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. coli № 43447 + Pr.vulgaris	–/1	–/–	6/–	6/–	5/–	4/–	3/–	2/–	1/–	1/–
C. lari № 729 + L. monocitogenes	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. lari № 729 + S. enteritidis	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. lari № 729 + E. coli	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. lari № 729 + P. multocidae	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. lari № 729 + St. aureus	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. lari № 729 + Pr.vulgaris	–/1	–/–	–/–	9/–	8/–	7/–	5/–	4/–	2/–	2/–
C. fetus spp. fetus № 30 + L. monocitogenes	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. fetus spp. fetus № 30 + S. enteritidis	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. fetus spp. fetus № 30 + E. coli	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. fetus spp. fetus № 30 + P. multocidae	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. fetus spp. fetus № 30 + St. aureus	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. fetus spp. fetus № 30 + Pr.vulgaris	–/1	–/–	–/–	12/–	11/–	10/–	9/–	8/–	7/–	7/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + L. monocitogenes	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + S. enteritidis	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + E. coli	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + P. multocidae	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + St. aureus	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–
C. sputorum spp. bubulus № 53103 + Pr.vulgaris	–/1	12/–	9/–	9/–	8/–	7/–	5/–	3/–	2/–	2/–

Примітка: (1, 2, 3) – доба, на яку реєстрували ріст культур мікроорганізмів; (–) – відсутність культур мікроорганізмів, ПС – середовище поживне щільне для культивування кампілобактерій.

Відповідно до результатів табл. 6 на середовищі поживному щільному для культивування кампілобактерій (без додавання рекомендованої комбінації антибактеріальних засобів) культури супутньої мікрофлори проявляли попереджуючий ріст щодо *Campylobacter* spp. Так як ріст культур супутньої мікрофлори: лістерій, сальмонел, ешерихій, пастерел, стафілокока і протей – реєстрували через добу культивування.

На поживному середовищі з експериментальною селективною домішкою продовж 1-12 діб після посіву і культивування реєстрували ріст лише культур кампілобактерій, ознак росту супутньої мікрофлори виявлено не було. Слід зазначити, що час реєстрації ознак росту кампілобактерій залежав від концентрації бактерій в посівній дозі. Мінімальна доза кампілобактерій, що забезпечувала ріст культур на поверхні селективного поживного щільного середовища для культивування кампілобактерій складала: *C. jejuni* spp. *jejuni* № 70.2T та *C. coli* № 43447 – 1×10^2 мко/мл; *C. lari* № 729 та *C. fetus* spp. *fetus* № 30 – 1×10^3 мко/мл; *C. sputorum* spp. *bubulus* № 53103 – 10 мко/мл.

ВИСНОВКИ

1. Бактеріостатична концентрація антибіотика гентаміцин сульфату складає: *C. jejuni* – 15,625 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 1,95 мкг/мл; *S. enteritidis* – 7,81 мкг/мг; *E. coli* – 3,91 мкг/мл; *P. multocidae* – 15,625 мкг/мл.

2. Бактеріостатична концентрація антибіотика колістин сульфату складає: *C. jejuni* – 104,156 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 26,039 мкг/мл; *S. enteritidis* – 208,312 мкг/мл; *E. coli* – 208,312 мкг/мл; *P. multocidae* – 104,156 мкг/мл.

3. Бактеріостатична концентрація хіміотерапевтичного засобу триметоприм складає: *C. jejuni* – 833,250 мкг/мл; *S. enteritidis* та *E. coli* – 416,625 мкг/мл.

4. Бактеріостатична концентрація антибіотика цефалексин складає: *C. jejuni* – 1250 мкг/мл; *L. monocitogenes* – 2500 мкг/мл; *S. enteritidis* та *E. coli* – 156,25 мкг/мл; *P. multocidae* – 625 мкг/мл.

5. Бактеріостатична концентрація антибіотика рифампіцин по відношенню до культур *E. coli* та *P. multocidae* складає 250 мкг/мл.

6. З метою селективної ізоляції *Campylobacter* spp. до складу поживного середовища достатньо включати комбінацію з трьох антибіотиків за наступним складом: гентаміцин сульфат – 2 мг/л для пригнічення росту *L. monocitogenes*; цефалексин 156 мг/л для пригнічення росту *S. enteritidis* та *E. coli* та рифампіцин 250 мг/л для пригнічення росту *P. multocidae*.

Перспективи подальших досліджень. Реалізація задуму проведення селективної ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* дозволить організувати моніторинг ступеня поширення даних мікроорганізмів серед поголів'я птиці та продукції птахівництва.

DETERMINATION OF COMPOSITION OF SELECTIVE ADDITION TO NOURISHING ENVIRONMENTS FOR ISOLATION OF CAMPYLOBACTER SPP.

O.I. Kasjanenko, T.I. Fotina, A.V. Berezovskiy

Sumy National Agrarian University

S U M M A R Y

In the article presents results of determination of bactericidal concentrations of antibiotics of gentamicin, kolistin sulfate, trimethoprim, rifampicina, cefalexin in relation to the cultures of

Campylobacter jejuni subsp. jejuni, L. monocitigenes, S. enteritidis, E. coli, P. multocidae. The results of experimental researches allowed to define оптимальный composition of chemotherapeutic facilities of selective addition adding of which to the nourishing environments for the isolation of Campylobacter spp. will allow to avoid warning growth of concomitant microflora and conduct the selective isolation of кампилобактерий from food products, water and external environment.

Efficiency of application of the offered combination of anti-infectives during the selective isolation of Campylobacter spp. studied on the basis of nourishing dense environment for cultivation of Campylobacter spp. with the use of mixture of test-cultures of bacteria.

ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА СЕЛЕКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИТАТЕЛЬНЫМ СРЕДАМ ДЛЯ ИЗОЛЯЦИИ CAMPYLOBACTER SPP.

О.И. Касьяненко Т.И. Фотина, А.В. Березовский.

Сумский национальный аграрный университет

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены результаты определения бактерицидных концентраций антибиотиков гентамицина, колistinа, рифампицина, цефалексина и триметоприма по отношению к культурам Campylobacter jejuni subsp. jejuni, L. monocitigenes, S. enteritidis, E. coli, P. multocidae. Результаты исследований позволили определить оптимальный состав рецепта селективной добавки, приобщение которой к питательным средам для изоляции Campylobacter spp. позволит избежать предупреждающего роста сопутствующей микрофлоры и проводить селективную изоляцию кампилобактерий из пищевых продуктов, воды и объектов внешней среды.

Эффективность применения предложенной комбинации антибиотиков в ходе селективной изоляции Campylobacter spp. изучали на основе питательной плотной среды для культивирования кампилобактерий с использованием смеси тест-культур бактерий.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Бикорюков А. А. Характеристика микрофлоры, выделенной от больной и павшей птицы в условиях бройлерной птицефабрики / А. А. Бикорюков // Сб. науч. тр. СпбВИ: Морфология, физиология и патология у животных. — СПб, 1993. — № 120. — С. 21–25.
2. Борисенкова А. Н. Спектр микрофлоры, выделяемой от птиц, в хозяйствах различного технологического направления / А. Н. Борисенкова, Р. Н. Коровин, Т. Н. Рождественская и др. // РацВетИнформ. — 2003. — № 10. — С. 3–6.
3. Габисония Т. Обсеменение кампилобактериями мяса птицы и яиц / Т. Габисония, М. Лоладзе, К. Дидебулидзе // Птицеводство — 2010. — № 3. — С. 33–35.
4. Гритчина А. В. Микробиологический мониторинг кампилобактеров в бактериологической лаборатории клинической инфекционной больницы : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология» / А.В. Гритчина. — Липецк. 2006. — 27 с.
5. Ленченко Е. М. Сравнительная оценка методов контроля производства и выделения патогенных бактерий из мяса птицы / Е. М. Ленченко, О. В. Карабанова, О. В. Корнелаев [та ін.] // Ефективне птахівництво. — 2009. — № 4 (52). — С. 24–28.
6. Методика визначення бактеріостатичної та бактеріцидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень / Державний науково-

контрольний інститут ветеринарних препаратів а кормових добавок; редкол.: М. В. Косенко [та ін.]. — Київ, 2003. — 6 с.

7. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине. Справочное пособие / [А. Н. Головкин, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник и др.]. — Харьков: НТМТ, 2007. — 512 с.

8. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp). Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT): ДСТУ ISO 10272-1:2007. — [Чинний від 2006-08-03]. — К.: Держспоживстандарт України, 2007. — 28 с. — (Національний стандарт України).

9. Чайка Н. А. Кампилобактериоз / Н. А. Чайка, Л. Б. Хазенсон, Ж. А. Бутулер. — М.: Медицина, 1988. — 389 с.

10. Шурышева Ж. Н. Методические проблемы изучения загрязненности пищевых продуктов бактериями рода *Campylobacter* / Ж. Н. Шурышева // Материалы пленума научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздрава и соотвразития Российской Федерации. — Москва, 2004. — С. 54–55.

11. Food & Drug Administration «Isolation of *Campylobacter* Species from Food and Water» Bacteriological Analytical Manual Online. — <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/ban.7.html>.

Рецензент — доктор ветеринарних наук, член-кореспондент НААН М. С. Мандигра, ІЕ НААН.