

## **МЕТОДИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ КУЛЬТУР АКТИНОМІЦЕТІВ**

*В зразках, відібраних зі статевих шляхів кобил української верхової породи, виявлені кулясті та паличкоподібні бактерії, гриби та актиноміцети. Дослідили властивості культур актиноміцетів, ідентифікованих як представників родин Streptomycetaceae та Nocardiaceae. В статті представлено оптимальну схему ідентифікації мікроорганізмів даної морфологічної групи.*

### **Постановка проблеми**

В природному середовищі мікроорганізми живуть окремими групами, склад яких є непостійним як в якісному, так і в кількісному відношенні. Вивчення мікробного пейзажу таких груп – одна з найскладніших проблем мікробіології. При здійсненні ідентифікації характеристика ізоляту, виділеного від тварини, практично завжди проводиться за допомогою традиційних методів. Справа в тому, що сучасні методи експрес-діагностики (імуноферментний аналіз або полімеразна ланцюгова реакція) потребують відомих контролів і переважно використовуються для швидкої

ідентифікації збудників хвороб. Використання традиційних методів дозволяє зібрати матеріал, який охоплює широкий спектр властивостей виділеного мікроорганізму. Це і культуральні ознаки накопичувальних та чистих культур, вирощених в різноманітних за складом середовищах, і морфологічні ознаки при проведенні мікроскопії, і фізіологічні ознаки – при дослідженні біохімічних властивостей культури, а крім того, чутливість до певних антибіотиків, склад антигенів тощо.

### **Мета дослідження**

Ідентифікація мікроорганізмів певних груп, виділених зі статевої сфери кобил української верхової породи із застосуванням традиційних методів, на основі яких розроблено оптимальну схему діагностики.

### **Об'єкти і методика досліджень**

Для дослідження використовували кобил української верхової породи, які утримуються в Нагірянській філії “Райз-Агро” Чортківського району Тернопільської області. Змиви з ділянки клітора та шийки матки кобил висівали на агарові поживні середовища різного складу. З колоній факультативно-анаеробних мікроорганізмів, вирощених в чашках Петрі отримували чисті культури на м'ясо-пептонному агарі (МПА) і вивчали протеолітичні, цукролітичні та морфологічні властивості мікроорганізмів.

### **Результати досліджень**

Перелік мікроорганізмів, що заселяють статеві шляхи тварин, має такий вигляд: паличкоподібні анаеробні та факультативно-анаеробні бактерії (лактобактерії, біфідумбактерії, бактероїди, дифтероїди, кластридії, мікобактерії, фузобактерії, протей, ешеріхії, клебсієлли, вейлонелли, пропіононі бактерії, корінебактерії); кулясті бактерії (стафілококи, негемолітичні стрептококи, пептострептококи), звивисті бактерії (вібріони, спірохети) бактерії; мікоплазми; дріжджі роду *Candida*; актиноміцети роду *Streptomyces* [1–4]. У здорових тварин різних видів приблизно 40–50 % від загальної кількості мікробів складають молочнокислі бактерії, до 50 % припадає на непатогенні бацили, бактерії та стафілококи. Сумарна кількість представників інших морфологічних груп складає не більше 2 %.

В наших дослідженнях під час проведення первинних висівів на спеціальних агарових середовищах зі статевих шляхів було виділено 29 культур факультативних анаеробів. Три з них належали до кулястих бактерій, 18 – до паличкоподібних, 2 – до грибів і 6 – до актиноміцетів. При цьому бактерії (72 % культур) виділялись із зовнішніх статевих шляхів тварин та із цервікальних змивів. Ми очікували, що і гриби, і актиноміцети можуть локалізуватись в незначній кількості лише на зовнішніх статевих органах. Тому нас здивувала і кількість цих мікроорганізмів (грибів – 6 %, актиноміцетів – 20 %).

актиноміцетів – 21 %), і те, що всі актиноміцети було виділено тільки зі змивів з шийки матки.

Високий рівень обміненія внутрішньої сфери організму тварин актиноміцетами примусив вирішувати питання ідентифікації цих мікроорганізмів. За даними “Визначника Бергі”, до морфологічної групи актиноміцетів належать представники двох десятків родів (*Thermoactinomyces*, *Thermomonospora*, *Actinobifida*, *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Microellorobospora*, *Microbispora*, *Microspolispora*, *Nocardia*, *Pseudonocardia* тощо). При їх ідентифікації враховують результати мікроскопічних досліджень, культуральні та біохімічні ознаки, окремі параметри культивування (температура, необхідність використання кисню для здійснення метаболічних процесів). За такими ж принципами досліджували властивості 3-х культур актиноміцетів, характерною ознакою яких була максимальна інтенсивність росту на поживних середовищах (табл. 1). Аналіз морфологічних, культуральних та фізіологічних властивостей культур дозволив зробити певні висновки.

Таблиця 1. Властивості культур актиноміцетів

Перелік ознак культури	Шифр культури		
	13р	14р	15р
1	2	3	4
Колонія	сухі колонії білого або кремового кольорів	поверхня колонії спочатку гладенька, пізніше на ній утворюється димчастий повітряний міцелій, що легко перетворюється на порошок	сухі, пелюсткоподібні колонії з міцелієм білого або кремового кольорів
Характеристика міцелію та спорангієносіїв	гіфи субстратного міцелію врастають в агар; короткі спорангієносії з однією або декількома спорами	не виділяє пігментів в агар, на повітряному міцелії утворюються ланцюжки з трьох і більше спор	на розгалужених субстратних або повітряних гіфах безсистемно утворюються фрагменти міцелію
Температура росту	25–35 °С	25–35 °С	25–35 °С
Відношення до кисню	аероб, каталаза у високій концентрації	аероб, наявність каталази	аероб, каталаза у високій концентрації
Протеолітичні властивості	гідролізує білки з виділенням аміаку, виділяє індол при розщепленні триптофану	гідролізує білки з виділенням аміаку, виділяє індол при розщепленні триптофану	гідролізує білки з виділенням аміаку, швидко розкладає триптофан

Закінчення табл. 1

1	2	3	4
Цукролітичні властивості	розкладає лактозу і крохмаль	інтенсивно розкладає крохмаль, не розкладає лактозу	не розкладає лактозу, розщеплює крохмаль
Родина та рід актиноміцету	родина Streptomycetaceae, рід Microellobosporia	родина Streptomycetaceae, біла серія роду Streptomyces	родина Nocardiaceae, Рід Nocardia

Таким чином, послідовність ідентифікації актиноміцетів будь-якого роду може мати такий вигляд:

- висів досліджуваного матеріалу на тверді живильні середовища, з яких доцільно використовувати агар з крохмалем, з цитратом натрію, цукровий агар Чапека, картопляний агар;
- вирощування посівів при різних температурах (30 та 45–50 °С). Дозволяє видокремити культури, що належать до термофільних актиноміцетів;
- опис культуральних ознак колоній. Особлива увага звертається на наявність і колір повітряного та субстратного міцелію.
- мікроскопія матеріалу молодих і старих агарових культур (просте фарбування та фарбування за Цилем–Нільсеном). Виявляють розгалужені або короткі гіфи, їх здатність до фрагментації, паличко- чи кокоподібні елементи в старих культурах, форму і розміщення спор, кислотостійкість. Методом “висячої краплі” перевіряється рухливість зооспор;
- визначення протеолітичних властивостей культури. Протеолітичні ферменти мають всі види, желатин розщеплюють тільки окремі роди;
- вирощування у високому стовпчику МПБ та визначення інтенсивності виділення каталази дозволяє віднести мікробну культуру до аеробів чи факультативних анаеробів;
- визначення цукролітичних властивостей культури. Розрізнити окремі види можна при висіві в напіврідкі середовища із сахарозою, манітом, крохмалем, інозитом, саліцином, рафінозою.

## Висновки

Вивчення морфологічних, тинкторіальних та біохімічних властивостей 3-х культур актиноміцетів з максимальною інтенсивністю росту дозволило віднести їх до родини Streptomycetaceae та Nocardiaceae.

## Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження слід зосередити на проведенні ідентифікації всіх видів актиноміцетів, виділених зі статевої системи кобил.

### Література

---

---

1. *Петровская В.Г., Марко О.П.* Микрофлора человека в норме и патологии. – М.: Медицина, 1976 – 231 с.
2. *Чомаев А.М., Колодиев Ч.Б.* Эмбриональные потери у коров // Ветеринария. – 2003. – № 5. – С. 15–16.
3. *Ушкалов В.О., Калашніков В.О., Решетніченко О.П., Бойко І.М.* Препарати для профілактики захворювань репродуктивних органів запального характеру у тварин // Матеріали міжн. конф. “Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції”. – Ч. 2. – Одеса, 2004. – С. 56–59.
4. *Смоленская-Суворова О.О.* Оценка жизнеспособности и основные болезни новорожденных жеребят // Материалы I-ой научно-практ. конф. по болезням лошадей. – М.: КВЦ Сокольники, 2000. – С. 93–98.
5. Краткий определитель бактерий Берги: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Хоулта. – М.: Мир, 1980. – 495 с.