

## ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98:619:616.11

## Видовий склад циркулюючої мікрофлори та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ТОВ «Квант Систем»

Кісера Я.В.<sup>1</sup> , Божик Л.Я.<sup>1</sup> , Гриневич Н.Є.<sup>2</sup> , Сторчак Ю.Г.<sup>1</sup> <sup>1</sup> Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького<sup>2</sup> Білоцерківський національний аграрний університет

Кісера Я.В., E-mail: kiser53@ukr.net; Божик Л.Я., E-mail: lbozyk31@gmail.com;

Гриневич Н.Є., E-mail: gnatbc@ukr.net; Сторчак Ю.Г., E-mail: juliettus1@gmail.com



Кісера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.Є., Сторчак Ю.Г. Видовий склад циркулюючої мікрофлори та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ТОВ «Квант систем». Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 12–20.

Kisera Ja.V., Bozhyk L.Ja., Grynevych N.Je., Storchak Ju.G. Vydovij sklad cyrkuljuchoj mikroflory ta i'i stijkist' do antibakterial'nyh preparativ v umovah TOV «Kvant system». Naukovyj visnyk veterinary medycyny, 2020. № 1. PP. 12–20.

Рукопис отримано: 11.12.2019р.

Прийнято: 20.01.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-12-20

Нагромадження умовно-патогенних бактерій у водному середовищі може призвести до змін у структурі мікробіоценозу поверхневих покривів, кишкового тракту риб, що в свою чергу зумовлює розвиток патологічних процесів у їхньому організмі, знижує бар'єрні функції тканин, слизу і, як наслідок, може індукувати розвиток бактеріальних інфекцій. Тому, для оцінки стану організму риб потрібно враховувати аналіз епізоотичної ситуації у водоймах (наявність інфекційних та інвазійних хвороб риб, загинів райдужної форелі); стан шкірного покриву, зябер та шлунково-кишкового тракту.

Результати бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, зябер та кишечника засвідчили, що в умовах господарства серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює *E. coli*, *E. coli* із слабоферментативними властивостями, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* чутливі до енрофлоксацину, котримаксазолу, доксаміліну, хлорамфеніколу, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму і цефпірому та проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальтаму. *E. coli* проявила стійкість до амоксициліну і цефпірому та чутливість до енрофлоксацину, окситетрацикліну, котримаксазолу, доксаміліну, хлорамфеніколу, ампіциліну субальтаму, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлоксацину, амоксициліну та ампіциліну субальтаму, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальтаму, а до всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

**Ключові слова:** райдужна форель, мікрофлора, шкіра, зябра, кишечник, антибактеріальні препарати, стійкість, чутливість.

**Постановка проблеми.** В останнє десятиліття підвищилися вимоги до безпечності та якості риби і морепродуктів. Згідно з прийнятими законами України [6, 7] виробник риби несе повну відповідальність за її безпеку та якість.

Розвиток аквакультури залежить від фізіологічного стану організму риб та механізмів їх природної резистентності, здатності організму протистояти впливу патогенних чинників навколишнього середовища, в тому числі збудників інвазійних та інфекційних захворювань,

що зумовлюють пригнічення захисних функцій організму [4].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Використання інтенсивних форм вирощування риби в садках дозволяє перевести риборізнництво на промислову основу. Проте методи інтенсифікації, що застосовують у форелівництві, призводять до погіршення гідрохімічного режиму за рахунок забруднення водного середовища продуктами метаболізму, залишками корму, сприяють активізації зростання чисель-

ності не тільки сапрофітної мікрофлори, а й умовно-патогенної і патогенної. Все це може зумовити розвиток інфекційних хвороб форелі бактеріальної етіології [3, 8, 14].

Збільшення кількості умовно-патогенних бактерій у водному середовищі може призвести до змін у структурі мікробіоценозу поверхневих покривів, кишкового тракту риб, що в свою чергу зумовлює розвиток патологічних процесів у їхньому організмі, знижує бар'єрні функції тканин, слизу [12, 13].

Серед численних мікробних популяцій водного середовища та об'єктів аквакультури особливе місце посідають грамнегативні бактерії, до складу яких входять як умовно-патогенні, так і патогенні бактерії – збудники інфекційних захворювань риб. Такі інфекційні захворювання риб як фурункульоз (*Aeromonas salmonicida*), хвороба “червоного рота” лососевих риб (*Yersinia ruckeri*), бактеріальна геморагічна септицимія (*Aeromonas hydrophila*), колумнарна хвороба (*Flavobacterium columnare*), бактеріальна септицимія сома (*Edwardsiella ictaluri*), псевдомоноз *Pseudomonas spp.* та хвороба “холодної води” (BCWD) (*Flavobacterium psychrophila*) широко поширені у всьому світі і призводять до значних економічних збитків в рибному господарстві [10]. Проведення комплексного моніторингу дає можливість виявляти та вчасно попереджувати захворювання риб, запобігати впливу негативних чинників на здоров'я та продуктивність, а також зменшити збитки господарств і підвищити економічні показники господарської діяльності [5, 9].

**Мета роботи** – визначити видовий склад циркулюючої бактеріальної мікрофлори в умовах господарства ТОВ «Квант Систем» та її стійкість до антибактеріальних препаратів. Для досягнення мети були поставлені наступні завдання: провести бактеріологічні дослідження змивів шкірного покриву, зябер та кишечника різних вікових груп райдужної форелі; вивчити морфологічні властивості виділеної мікрофлори та визначити чутливість її до антибактеріальних препаратів.

**Матеріал та методи досліджень.** Дослідження проводили в умовах господарства ТОВ «Квант Систем» у с. Лози Збаразького району Тернопільської області та кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гіжцького.

Для досліджень від особин райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*) масою 2 г (3 міс.), 10 г (5–6 міс.), 80 г (8–10 міс.), 150 г (11–12 міс.), 350 г (13–16 міс.) брали змиви зі шкірного покриву, зябер та кишечника.

Первинні бактеріологічні посіви проводили за загальноприйнятими методиками [2]. Досліджуваний матеріал висівали на середовище Ендо та кров'яний агар. Визначення приналежності до роду ентеробактерій проводили шляхом пересіву виділених колоній штрихом по скошеній частині та уколом у стовпчик середовища Олькеницького (трицукровий агар із сечовиною), принцип дії якого полягає у ферментації вуглеводів та утворенні сірководню. Для подальшої ідентифікації – з використанням середовища Гісса з глюкозою, сахарозою, лактозою, манітом; середовища Сімонса, ацетатного середовища та тесту на рухливість. Ідентифікацію виділених штамів бактерій встановлювали за сукупністю культуральних, морфологічних і біохімічних ознак за Берджі [11]. Для вивчення чутливості до антибіотиків ізоляти висівали на середовище Мюллера-Хілтона.

#### **Результати досліджень та їх обговорення.**

За результатами бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, відібраних від молоді райдужної форелі масою до 2 г виявлено *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* у 100 % проб; в 90 % проб були наявні *E. coli* слабоферментативна та *Staphylococcus spp.* (табл. 1). У молоді масою 10 г встановлено *E. coli* у 100 % проб; *E. coli* із зміненою ферментативною активністю – у 60 % проб; *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* – у 100 % проб. Від риб масою 80 г виділили *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus spp.* у 100 % випадків.

За визначення концентрації мікроорганізмів на шкірному покриві форелі масою 150 г встановили наявність *E. coli* та *Enterobacter spp.* у всіх досліджуваних пробах. Дослідження складу мікрофлори товарної риби масою до 350 г показали, що на шкірному покриві наявні *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Flavobacterium spp.* у 100 % проб.

Під час дослідження складу мікрофлори зябер райдужної форелі виявлено в пробах відібраних від молоді масою 2 г *E. coli* та *Enterobacter spp.* у 100 % проб та *Staphylococcus spp.* у 20 % досліджуваних проб; у риб масою до 10 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну, *Klebsiella pneumoniae* – у всіх пробах та наявність *Staphylococcus spp.* у 90 % досліджуваних проб; у молоді масою 80 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну та *Enterobacter spp.* – у всіх пробах; у риб масою 150 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну, *Enterobacter spp.* та *Citrobacter spp.* – у 100 % проб; у всіх досліджуваних пробах відібраних від товарної риби масою 350 г виявляли *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну та *Enterobacter spp.* (табл. 2).

Таблиця 1 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів шкіри райдужної форелі, КУО, n = 5

| №<br>п/п         | <i>E. coli</i>  | <i>E. coli</i><br>(слабо-ферм.) | <i>Enterobacter</i><br><i>spp.</i> | <i>Staphylococcus spp.</i> | <i>Flavibacteriu spp.</i> | <i>Klebsiella</i><br><i>pneumoniae</i> |
|------------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------------------|
| Риба масою 2 г   |                 |                                 |                                    |                            |                           |                                        |
| 1                | 10 <sup>3</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>2</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 2                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>3</sup>                        |
| 3                | 10 <sup>3</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>2</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>1</sup>                    | 10 <sup>2</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 5                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | 10 <sup>2</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| Риба масою 10 г  |                 |                                 |                                    |                            |                           |                                        |
| 1                | 10 <sup>3</sup> | 10 <sup>1</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 2                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>1</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>3</sup>                        |
| 5                | 10 <sup>2</sup> | 10 <sup>1</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| Риба масою 80 г  |                 |                                 |                                    |                            |                           |                                        |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                         | 10 <sup>3</sup>                        |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                         | 10 <sup>2</sup>                        |
| Риба масою 150 г |                 |                                 |                                    |                            |                           |                                        |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | -                         | -                                      |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | -                         | -                                      |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | -                         | -                                      |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | -                         | -                                      |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                         | -                                      |
| Риба масою 350 г |                 |                                 |                                    |                            |                           |                                        |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>           | -                                      |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>           | -                                      |
| 3                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>           | -                                      |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>3</sup>           | -                                      |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>           | -                                      |

Під час дослідження змивів із кишечника райдужної форелі у пробах відібраних від молоді до 2 г виявлено *E. coli*, *E. coli* із слабоферментативними властивостями, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.* у 100 % досліджуваних проб та *Staphylococcus spp.* у 60 % проб; у риб масою до 10 г – *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* – у всіх досліджуваних пробах (табл. 3).

У всіх пробах змивів із кишечника відібраних від риб масою 80 та 150 г виділили *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae*.

Дослідження складу мікрофлори товарної риби масою до 350 г показали, що у кишечника наявні *E. coli*, *E. coli* слабоферментативна, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* у 100 % досліджуваних проб.

Проведені культуральні та біохімічні дослідження з метою ідентифікації збудників показали наявність збудників із різними ферментативними властивостями. Зокрема, виділено на середовищі Ендо округлі, гладкі колонії ешерихій, з рівними краями. Лактозопозитивні

бактерії на живильному середовищі росли у вигляді червоних колоній, з металевим блиском.

Під час проведення ідентифікації мікроорганізмів за біохімічними властивостями встановлено наявність *E. coli* (рис. 1), які ферментативно активні та рухливі. У них добре виражені цукролітичні властивості: розщеплюють глюкозу, лактозу, маніт, сахарозу до кислоти і газу, не використовують цитрат натрію в середовищі Сімонса (без змін) та утилізують ацетат натрію. Під час проведення посіву на середовище Олькеницького спостерігали зміну забарвлення всього середовища з червоного на жовте, що свідчить про ферментацію збудником цукрів, а також виділення CO<sub>2</sub>.

*E. coli* із слабоферментативними властивостями, на середовищі Ендо проростали у вигляді рожевих або безбарвних колоній з червонуватим центром (рис. 2). За визначення біохімічних властивостей колоній встановлено, що вони не розщеплювали глюкозу та сахарозу, проте мали здатність ферментувати маніт

Таблиця 2 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів зябер райдужної форелі, КУО, n = 5

| № п/п            | <i>E. coli</i>  | <i>E. coli</i><br>(слабо-ферм.) | <i>Enterobacter</i><br><i>spp.</i> | <i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> | <i>Citrobacter</i> <i>spp.</i> | <i>Klebsiella</i><br><i>pneumoniae</i> |
|------------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|
| Риба масою 2 г   |                 |                                 |                                    |                                   |                                |                                        |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>                   | -                              | -                                      |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | -                               | 10 <sup>3</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| Риба масою 10 г  |                 |                                 |                                    |                                   |                                |                                        |
| 1                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                                  | 10 <sup>1</sup>                   | -                              | 10 <sup>3</sup>                        |
| 2                | 10 <sup>3</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                                  | 10 <sup>1</sup>                   | -                              | 10 <sup>3</sup>                        |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                                  | 10 <sup>1</sup>                   | -                              | 10 <sup>2</sup>                        |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                                  | 10 <sup>1</sup>                   | -                              | 10 <sup>3</sup>                        |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                                  | -                                 | -                              | 10 <sup>3</sup>                        |
| Риба масою 80 г  |                 |                                 |                                    |                                   |                                |                                        |
| 1                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>3</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>3</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 5                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>3</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| Риба масою 150 г |                 |                                 |                                    |                                   |                                |                                        |
| 1                | 10 <sup>3</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                                 | 10 <sup>2</sup>                | -                                      |
| 2                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>3</sup>                 | 10 <sup>4</sup>                    | -                                 | 10 <sup>2</sup>                | -                                      |
| 3                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>4</sup>                    | -                                 | 10 <sup>2</sup>                | -                                      |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | 10 <sup>2</sup>                | -                                      |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>                    | -                                 | 10 <sup>2</sup>                | -                                      |
| Риба масою 350 г |                 |                                 |                                    |                                   |                                |                                        |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>4</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>4</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>3</sup>                    | -                                 | -                              | -                                      |

Рис. 1. *E. Coli*.

1. Рухливість. 2. Глюкоза. 3. Сахароза. 4. Лактоза. 5. Маніт.  
6. Середовище Сімонса. 7. Ацетатне середовище. 8. Середовище Олькеницького.

Рис. 2. *E. coli* слабоферментативна.

та лактозу до кислоти і газу, не використовували цитрат натрію в середовищі Сімонса та утилізували ацетат натрію. Під час проведення посіву на середовище Олькеницького спостерігали зміну забарвлення всього середовища з червоного на жовте, а також виділення газу.

Цей різновид кишкової палички прямої небезпеки для організму риб зазвичай не становить. Вона займає місце повноцінної *E. coli*, не виконуючи при цьому властивих повноцінних *E. coli* корисних функцій. В результаті організм недоотримує необхідні йому вітаміни,

Таблиця 3 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів кишечника райдужної форелі, КУО, n = 5

| № п/п            | <i>E. coli</i>  | <i>E. coli</i><br>(слабо-ферм.) | <i>Enterococcus spp.</i> | <i>Enterobacter</i><br><i>spp.</i> | <i>Staphylococcus spp.</i> | <i>Klebsiella</i><br><i>pneumonia</i> |
|------------------|-----------------|---------------------------------|--------------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| Риба масою 2 г   |                 |                                 |                          |                                    |                            |                                       |
| 1                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>          | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                                     |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>          | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                                     |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>          | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                                     |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>          | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | -                                     |
| 5                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | 10 <sup>2</sup>          | 10 <sup>2</sup>                    | 10 <sup>1</sup>            | -                                     |
| Риба масою 10 г  |                 |                                 |                          |                                    |                            |                                       |
| 1                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 2                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 3                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 5                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| Риба масою 80 г  |                 |                                 |                          |                                    |                            |                                       |
| 1                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 3                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 4                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| Риба масою 150 г |                 |                                 |                          |                                    |                            |                                       |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 2                | 10 <sup>4</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 3                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 4                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 5                | 10 <sup>5</sup> | -                               | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| Риба масою 350 г |                 |                                 |                          |                                    |                            |                                       |
| 1                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                        | 10 <sup>2</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 2                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 3                | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                        | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 4                | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                        | 10 <sup>4</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |
| 5                | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>2</sup>                 | -                        | 10 <sup>3</sup>                    | -                          | 10 <sup>2</sup>                       |

ферменти та інші корисні речовини, синтезовані повноцінними ешеріхіями, що в підсумку може призвести до серйозних обмінних порушень і навіть запальних захворювань. Відомо також, у разі дисбіотичних порушень мікробіоценозного гомеостазу відбувається здебільшого збільшення чисельності представників аеробної частини мікрофлори (зокрема ешеріхій зі зниженою ферментативною активністю) та посилення агресивного потенціалу цих бактерій [1]. Це сприяє подоланню ними бар'єру проєпітеліального шару кишечника, транслокації у внутрішнє середовище організму та розвитку позакишкових форм інфекцій і ускладнень.

За комплексом культуральних і біохімічних ознак виділено колонії, із роду *Enterobacter spp.* (рис. 3), які на середовищі Олькеницького ферментували глюкозу з утворенням газу, розщеплювали сечовину та не утворювали сірководень. За мікроскопії мазків клітини мали вигляд прямих тонких паличок, забарвлених за Грамом негативно. Не рухливі, використовують цитрат натрію у середовищі Сімонса та ацетатному середовищі,

розщеплюють глюкозу, маніт, сахарозу до кислоти і газу. Слабко ферментують лактозу.

За сукупністю культурально-біохімічних ознак, виявлено у пробах *Flavibacterium spp.*, які фарбуються за Грамом негативно, рухливі (рис. 4). На середовищі Олькеницького розщеплюють сечовину. Не ферментують глюкозу, лактозу, маніт та сахарозу. Не використовують цитрат та ацетат натрію.

Виділено *Citrobacter spp.*, які на середовищі Олькеницького ферментували лактозу та глюкозу з утворенням газу, розщеплювали сечовину та утворювали сірководень, не рухливі, здатні рости (використовувати цитрат натрію) на середовищі Сімонса та ацетатному середовищі, розщеплюють глюкозу, маніт, лактозу до кислоти і газу (рис. 5). Слабко ферментують сахарозу.

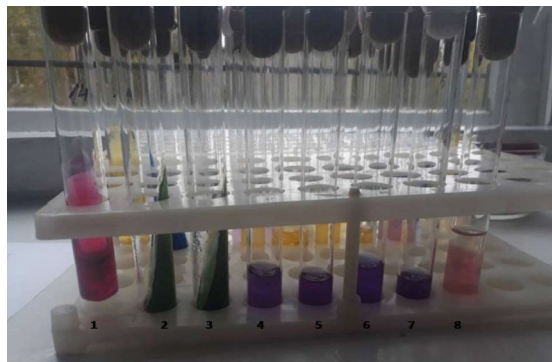
Виділено у пробах *Klebsiella pneumoniae*, яка на середовищі Ендо росла у вигляді малинових слизистих, тягучих колоній (рис. 6).

За пересіву на середовище Олькеницького – ферментувала лактозу та глюкозу з утворенням газу, розщеплювала сечовину та не

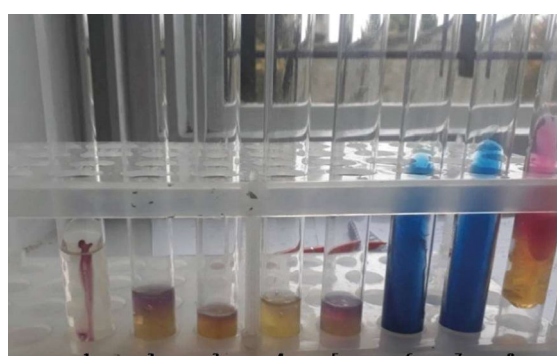


Рис. 3. *Enterobacter spp.*

1. Середовище Олькеницького. 2. Ацетатне середовище. 3. Середовище Сімонса.  
4. Маніт. 5. Лактоза. 6. Сахароза. 7. Глюкоза. 8. Рухливість.

Рис. 4. *Flavibacterium spp.*Рис. 5. *Citrobacter spp.*

1. Рухливість. 2. Глюкоза. 3. Сахароза. 4. Лактоза. 5. Маніт.  
6. Середовище Сімонса. 7. Ацетатне середовище. 8. Середовище Олькеницького.

Рис. 6. *Klebsiella pneumoniae.*

утворювала сірководень. Росте на середовищі Сімонса та ацетатному середовищі, розщеплювала лактозу і сахарозу до кислоти і газу. Слабко ферментувала маніт і глюкозу.

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* чутливі до енрофлораксацину, котримаксазолу, доксациліну, хлорамфеніколу, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму і цефпірому та проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальктам (табл. 4). *E. coli* проявила стійкість до амоксициліну і цефпірому та чутливість до енрофлораксацину, окситетрацикліну, котримаксазолу, доксациліну, хлорамфеніколу, ампіциліну субальктам, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлораксацину, амоксициліну та ампіциліну субальктам, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальктам, а до всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

Мікрофлора риб є чутливим індикатором їх фізіологічного стану, якості живлення, змін у

водному середовищі. Систематичний контроль її складу дає можливість виявляти та вчасно запобігати виникненню хвороб риб та впливу інших негативних чинників на їх здоров'я та продуктивність.

В результаті проведених бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, зябер та кишечника встановлено, що в умовах господарства ТЗО «Квант Системс» серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює *E. coli*, в т.ч. із слабоферментативними властивостями, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальктам, *E. coli* стійка до амоксициліну і цефпірому, *Klebsiella pneumoniae* та *Flavibacterium spp.* – до енрофлораксацину, амоксициліну та ампіциліну субальктам, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальктам. До всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

Тому, основну увагу потрібно звертати на гідрохімічний режим водойм, підвищення неспецифічної резистентності організму риб (згодовування доброякісних збалансованих кормів з необхідною кількістю вітамінів), своєчасне проведення дезінфекції басейнів, ставів та інвентарю, а також запобігати стресуванню риби під час рибоводних маніпуляцій.

**Висновки.** 1. В умовах господарства ТОВ «Квант Систем» серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює така бактеріальна мікрофлора: *E. coli*, *E. coli* слабоферментативна, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

2. *Enterobacter spp.* стійкі до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальбому. *E. coli* стійка до амоксициліну і цефпірому. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлоксацину, амоксициліну, ампіциліну субальбому. *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальбому.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Експериментальні дослідження проводили відповідно до Закону України «Про захист від жорстокого поводження з тваринами» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів досліджень.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Войда Ю.В. Фенотипові прояви біологічного різноманіття клінічних ізолятів *Escherichia coli*. Медичні науки Scientific Journal «Science Rise». 2015. 10/3(15). С. 91–96. Doi: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.51835>

2. Висоцький А.Є., Барановская З.Н. Справочник по бактериологическим методам изысканий в ветеринарии. Изд. Министерства с.-х. республики Беларусь. 2002. 900 с.

3. Вовк Н.І. Іхтіопатологічні дослідження — важлива складова біомоніторингу водойм. Рибогосподарська наука України. 2009. № 3. С. 106–108. URL: <http://fsu.ua/index.php/ru/2009/3-2009-9/2009-03-106-109>.

4. Ідентифікація небезпечних чинників під час вирощування райдужної форелі в умовах замкнутого водопостачання / Н.Є. Гриневич та ін. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. 2017. Т. 19. № 78. С. 48–52. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7810>.

5. Давидов О.М., Куровська Л.Я. Сучасна епізоотологічна ситуація іхтіофауни прісноводних водойм України. Вісник ДАУ: науково-теоретичний збірник. Житомир, 2007. № 2 (19). Т. 1. С. 101–106. URL: [http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU\\_2007\\_2\\_1\\_101-106.pdf](http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU_2007_2_1_101-106.pdf).

6. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів: Закон України № 771/97 ВР (23.12.1997) та № 191-У від 24.10.2002. В редакції Закону № 2042-VIII від 04.04.2018.

7. Про рибу, інші водні живі ресурси та харчову продукцію з них: Закон України № 486-IV від 06.02.2003. Відомості Верховної Ради України.

8. Кухтин М.Д., Малімон З.В., Ярошенко Т.Я., Покотило О.С. Зміна біохімічних і мікробіологічних показників замороженої риби за наявності залишкових кількостей антибактеріальних препаратів. Медична та клінічна хімія. 2019. Т. 21. № 3. С. 78–84. Doi: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i3.10563>

9. Патогены, рыба и среда обитания / О.Н. Давыдов и др. Київ: Институт зоологии НАН Украины, 1998. 250 с.

10. Рудь Ю.П. Ідентифікація грамнегативних бактерій у риб методом ПЛР- ПДРФ гену 16s PPHK. Рибогосподарська наука України. 2013. № 1. С. 80–86.

11. Хоулт Дж. Краткий определитель бактерий Берджи. Москва: Мир, 1997. 444 с.

12. Matvienko N.M., Vashchenko A.V., Tsiganok I.O., Buchatsky L.P. Results of surveillance studies of infectious fish diseases in freshwater aquaculture of ukraine. Agricultural Science and Practice. 2015. Vol. 2. № 2. P. 32–37. Doi: <https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.032>

13. Cunningham C.O. Molecular diagnosis of fish and shellfish disease: present status and potential use in disease control. Aquaculture. 2002. Vol. 206. P. 19–55. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00864-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00864-X).

14. Woo P.T.K., Bruno D.W. Fish Diseases and Disorders. Vol. 3. 2011. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI. 944 p.

## REFERENCES

1. Vojda, Ju.V. (2015) Fenotipovi прояви biologichnogo riznomanittja klinichnih izolyativ *Escherichia coli* [Phenotypic manifestations of clinical diversity of clinical isolates *Escherichia coli*]. Medichni nauki Scientific Journal «Science Rise» [Medical Sciences Scientific Journal «Science Rise»]. 10/3(15), pp. 91–96. Available at: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.51835>

2. Vysoc'kyj, A.Je., Baranovskaja, Z.N. (2002) Spravochnik po bakteriologicheskim metodam izyskanij v veterinarii [Handbook of bacteriological research methods in veterinary medicine]. Izd. Ministerstva s.-h. respubliki Belarus' [Publishing House of the Ministry of Agriculture The Republic of Belarus]. 900 p.

3. Vovk, N.I. (2009) Ihtiopatologichni doslidzhennja — vazhliva skladova biomonitoringu vodojm. Ribogospodars'ka nauka Ukrainy. no. 3. pp. 106–108. Available at: <http://fsu.ua/index.php/ru/2009/3-2009-9/2009-03-106-109>.

4. Grynevych, N.Je., Diman', T.M., Kuhtin, M.D. (2017). Identifikacija nebezpečnih chinnikov pid chas viroshhuvannja rajduzhnoi foreli v umovah zamknutogo vodopostachannja [Identification of hazardous factors during rainbow trout cultivation under closed water supply]. Naukovij visnik LNUVMB imeni S.Z. G'zhyc'kogo [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 19, no. 78, pp. 48–52. Available at: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7810>.

5. Davidov, O.M., Kurovs'ka, L.Ja. (2007). Suchasna epizootologichna situacija ihtiofauni prysnovodnih vodojm Ukrainy [The current epizootological situation of ichthyofauna of freshwater bodies of water of Ukraine]. Visnik DAU: nauko- teoretichnij zbirnik [GAU Bulletin: scientific and theoretical collection]. Zhytomyr, no. 2 (19), Vol. 1, pp. 101–106. Available at: [http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU\\_2007\\_2\\_1\\_101-106.pdf](http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU_2007_2_1_101-106.pdf).

6. Pro osnovni pryncypy ta vymogy do bezpechnosti ta jakosti harchovyh produktiv: Zakon Ukrainy № 771/97 VR (23.12.1997) ta № 191-U vid 24.10.2002. V redakcii' Zakonu № 2042-VIII vid 04.04.2018 [On the basic principles and requirements for safety and security of this product: Law of Ukraine No. 771/97 BP (23.12.1997) and No. 191-U of 24.10.2002. As amended by Law No. 2042-VIII of 04/04/2018].

7. Pro rybu, inshi vodni zhyvi resursy ta harchovu produkciju z nyh: Zakon Ukrainy № 486-IV vid 06.02.2003. Vidomosti Verhovnoi' Rady Ukrainy [On fish, other aquatic living resources and food products: Law of Ukraine No. 486-IV of 06.02.2003. Information of the Verkhovna Rada of Ukraine].

8. Kuhtin, M.D., Malimon, Z.V., Jaroshenko, T.Ja., Pokotilo, O.S. (2019). Zmina biohimichnyh i mikrobiologichnyh pokaznykiv zamorozhenoi' ryby za najavnosti zalyshkovykh kil'kostej antybakterial'nyh preparativ [Change of biochemical and microbiological parameters of frozen fish in the presence of residual amounts of antibacterial preparations]. Medichna ta klinichna himija [Medical and clinical chemistry]. Vol. 21, no. 3, pp. 78–84. Available at: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i3.10563>

9. Davydov O.N., Isaeva N.M., Balahnin I.A., Kurovs'ka L.Ja., Prosjanaja V.V., Kozinenko I.I. (1990). Patogeny, ryba i sreda obitanija [Pathogens, fish and habitat]. K.: Institute of Zoology of the NAS of Ukraine, 250 p.

10. Rud', Ju.P. (2013) Identifikacija gramnegatyvnyh bakterij u ryb metodom PLR- PDRF genu 16s RRNK [Identification of gram-negative bacteria in fish by PCR-RFLP gene 16s RNA]. Rybogospodars'ka nauka Ukrainy [Fisheries Science of Ukraine]. no. 1, pp. 80–86.

11. Hoult, Dzh. (1997). Kratkij opredelitel' bakterij Berdzhii [Brief Guide to Buggy Bacteria]. 444 p.

12. Matvienko, N.M., Vashchenko, A.V., Tsiganok, I.O., Buchatsky, L.P. (2015). Results of surveillance studies of infectious fish diseases in freshwater aquaculture of Ukraine. Agricultural Science and Practice. Vol. 2, no. 2, pp. 32–37. Available at: <https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.032>

13. Cunningham, C.O. (2002) Molecular diagnosis of fish and shellfish disease: present status and potential use in disease control. Aquaculture. Vol. 206, pp. 19–55. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00864-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00864-X).

14. Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (2011). Fish Diseases and Disorders. Vol. 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI, 944 p.

### **Видовой состав циркулирующей микрофлоры и ее устойчивость к антибактериальным препаратам в условиях ООО «Квант Систем»**

**Кисера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.Е., Сторчак Ю.Г.**

Накопление количества условно-патогенных бактерий в водной среде может привести к изменениям в структуре микробиоценоза поверхностных покровов, кишечника рыб, что в свою очередь обуславливает развитие патологических процессов в их организме, снижает барьерные функции тканей, слизи и, как следствие, может индуцировать развитие бактериальных инфекций. Таким образом, при оценки состояния организма рыб нужно учитывать анализ эпизootической ситуации в водоемах (наличие инфекционных и инвазионных болезней рыб, гибель рыбы), состояние кожного покрова, жабр и желудочно-кишечного тракта.

Результаты бактериологических исследований смывов с кожи, жабр и кишечника показали, что в условиях хозяйства среди радужной форели разных возрастов циркулирует *E. coli*, *E. coli* с измененной ферментативной активностью, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* и *Citrobacter spp.*

При определении чувствительности выделенных культур к антибактериальным препаратам установлено, что энтеробактерии чувствительны к энрофлоксацину, котримаксазолу, доксацилину, хлорамфениколу, гентамицину, цефтриаксону, цефоперазону, цефтазидиму и цефпирому и проявили устойчивость к окситетрациклину, амоксициллину и ампициллину субальбату. Кишечная палочка проявила устойчивость к амоксициллину и цефпирому и чувствительность к энрофлоксацину, окситетрациклину, котримаксазолу, доксацилину, хлорамфениколу, ампициллину субальбату, гентамицину, цефтриаксону, цефоперазону, цефтазидиму; клебсиеллы были устойчивы к энрофлоксацину, амоксициллину и ампициллину субальбату, а флавибактерии – к амоксициллину и ампициллину субальбату, ко всем другим антибактериальным препаратам – чувствительны.

**Ключевые слова:** радужная форель, микрофлора, кожа, жабры, кишечник, антибактериальные препараты, устойчивость, чувствительность.



**Specific composition of microflora circulating at the FARM “Quant System” and its resistance to antibacterial medicines****Kisera Ya., Bozhyk L., Grynevych N., Storchak Yu.**

Accumulation of opportunistic pathogenic bacteria in the aquatic environment may lead to the changes in the structure of the surface cover microbiocenosis as well as the fish intestinal tract. In its turn, it causes the growth of pathological processes in the fish organism, reduces the barrier functions of tissues and mucus and, as a consequence, may induce the spread of bacterial infections. Thus, assessing the state of fish organism, it is necessary to take into account the analysis of the epizootic situation in water (i.e. presence of infectious and invasive diseases of fish, death of fish) as well as condition of the skin, gills and gastrointestinal tract.

The results of bacteriological studies of washes from the skin, gills and intestines showed that in the conditions of farming among rainbow trout of different age groups, *E.*

*coli*, low fermented *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* and *Citrobacter spp.*

For the purposes of determining the sensitivity of isolated cultures to antibacterial drugs, it was found that *Enterobacteriaceae* are sensitive to enrofloxacin, cotrimoxazole, doxycillin, chloramphenicol, gentamicin, ceftriaxone, cefoperazone, ceftazidime and ceftiofur and resistant to oxytetracycline, amoxicillin and ampicillin sulbactam.

*E. coli* also demonstrated resistance to amoxicillin and ceftiofur and sensitivity to enrofloxacin, oxytetracycline, cotrimoxazole, doxycillin, chloramphenicol, ampicillin sulbactam, gentamicin, ceftriaxone, cefoperazone, ceftazidime. *Klebsiella pneumoniae* was resistant to enrofloxacin, amoxicillin and ampicillin sulbactam, while *Flavobacteriaceae* were resistant to amoxicillin and ampicillin sulbactam and sensitive to all other antibacterial drugs.

**Key words:** rainbow trout, microflora, skin, gills, intestines, antibacterial agents, resistance, sensitivity.



Copyright: © Кісера Я.В. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Кісера Я.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-3503-4572>

Божик Л.Я.

ID <https://orcid.org/0000-0001-6968-1690>

Гриневич Н.Є.

ID <https://orcid.org/0000-0001-7430-9498>

Сторчак Ю.Г.

ID <https://orcid.org/0000-0001-8318-0120>