

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ІЗОЛЯТІВ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ХВОРИХ ТВАРИН, ДО АНТИБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ПОРІВНЯНО З ТЕСТ-МІКРООРГАНІЗМАМИ

Н. В. ГУДЗЬ, кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН України

Наведені результати дослідження з визначення чутливості музейних тест-культур мікроорганізмів та ізолятів, виділених від хворих тварин, до шести груп антибіотичних препаратів диск-дифузійним методом. Встановлено, що ефективність їх дії на ізоляти значно менша, порівняно з музейними штамами, що пов'язано з формуванням резистентних форм мікроорганізмів.

Ключові слова: *антибіотичні препарати, штами, ізоляти, резистентність*

На сьогодні полірезистентні штами бактерій є серйозною проблемою як для громадського здоров'я, так і здоров'я тварин. Набуття резистентності до протимікробних препаратів є складним питанням, що пов'язане зі здатністю бактерій швидко адаптуватись до зміни умов навколишнього середовища. Резистентність є інструментом, який дозволяє бактеріям виживати та розвиватись у відповідь на несприятливі умови [5–6].

Проникаючи в організм тварин, бактерії здатні викликати як перебігаючі окремо, так і змішані інфекційні хвороби, в тому числі спільні для тварин та людини [7, 9–10]. Ефективність терапії потребує постійної заміни одних антибіотичних препаратів на інші, часом дорожчі та токсичні. В умовах тваринницьких комплексів з високою концентрацією поголів'я спостерігається швидше утворення антибіотикорезистентних штамів збудників бактерійних захворювань, що може ускладнювати підбір оптимальної схеми лікування [1–4, 8].

Мета дослідження полягає у визначенні чутливості тест-мікроорганізмів та патогенних польових ізолятів, виділених від хворих свиней, до найбільш поширених антибіотичних препаратів.

Матеріали і методика досліджень. У роботі були використані штами бактерій, що зберігаються та підтримуються в Інституті ветеринарної медицини, а також ряд польових ізолятів, виділених від хворих свиней (табл. 1).

Культивування мікроорганізмів проводили на МПА, МПБ, середовищі Сабуро, тіогліколевому середовищі, які готували згідно з настановами або за загальноприйнятими рецептурами та методиками. Стерилізували автоклавуванням за температури 100–118°C протягом 30–60 хвилин.

1. Культури мікроорганізмів, використаних у дослідженні

№ з/п	Тестові музейні культури	№ з/п	Польові ізоляти
1.	<i>Micrococcus flavus</i> ATCC10240	1.	<i>E. coli</i>
2.	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	2.	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>
3.	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	3.	<i>Staphylococcus aureus</i>
4.	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	4.	<i>Klebsiella spp</i>
5.	<i>Staphylococcus aureus</i> P209	5.	<i>Pasterella multocida</i>
6.	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> VR-2		
7.	<i>E. coli</i> 1257		

У досліді використовували протимікробні засоби груп цефалоспоринів, фторхінолонів, аміноглікозидів, пеніцилінів, тетрациклінів та макролітів. Для оцінки їх активності застосовували диско-дифузійний метод (ДДМ).

Для постановки ДДМ використовували стандартизовані диски, на які були нанесені найбільш поширені антибіотичні препарати. Цей метод базується на їх здатності дифундувати із паперових дисків у поживне середовище та пригнічувати ріст мікроорганізмів, засіяних в товщу або на поверхню агару. Акцентували увагу на рівномірності шару агару в чашках. У наших дослідях вона становила $4,0 \pm 0,5$ мм (20 см^3).

Для інокулювання використовували завись мікроорганізмів у стерильному фізрозчині, еквівалентну 0,5 одиницям за оптичним стандартом МакФарланда (концентрація мікроорганізмів становила близько 10^6 КУО/см³).

Інокулюм об'ємом 1 см^3 наносили на поверхню поживного середовища в чашках Петрі і рівномірно розподіляли на всій його поверхні. Чашки підсушували в термостаті при температурі $36 \pm 1^\circ \text{C}$ 30 хвилин. На поверхню середовища розкладали диски з АБС за допомогою мікропінцета, дотримуючись відстані між дисками та краєм чашки не менше 20 мм. Тобто, в одній чашці розміщали не більше шести дисків, на які наносили різні антибіотичні речовини. Чашки інкубували за температури $36 \pm 1^\circ \text{C}$ протягом 24 годин.

Облік зон затримки росту (ЗЗР) тест-мікроорганізмів проводили за допомогою штангенциркуля. При визначенні зон затримки росту мікроорганізмів враховували лише зони повної відсутності видимого росту.

Результати досліджень та їх обговорення. Бактерії роду *Micrococcus* проявили високу чутливість до протимікробних препаратів групи цефалоспоринів та амоксициліну – ЗЗР становила від 50 мм. Найменш ефективним виявились препарати групи аміноглікозидів (табл. 2).

Культури *Bacillus* показали різні результати. Так, *B. subtilis* був найбільш чутливим до гентаміцину – ЗЗР становила $36 \pm 1,0$ мм, та фторхінолонів – 30–32 мм. *B. cereus* проявив помірну чутливість до окремих антибіотичних засобів, найефективнішими серед яких були препарати цефалоспоринового ряду – ЗЗР 20–25 мм.

На збудник *Erysipelothrix rhusiopathiae* мала добре виражений ефект дія препаратів пеніцилінового, цефалоспоринового ряду та фторхінолонів – ЗЗР коливалась в межах 39–48 мм. Особливо слід відзначити два препарати, які проявили найсильніший вплив, це амоксицилін ($48 \pm 1,2$ мм) та цефалексин ($41 \pm 0,9$ мм). Решта засобів була слабо або зовсім неефективною.

St. aureus був чутливим до всіх препаратів, окрім еритроміцину. Найбільшу чутливість він проявив до цефалоспоринів – цефалексину та цефазоліну (ЗЗР становила 27 мм), енрофлоксацину ($26 \pm 0,5$ мм) та гентаміцину ($25 \pm 0,5$ мм).

Тест культура *E. coli* виявилась чутливою до фторхінолонів (24–27 мм) та препарату цефтриаксону ($22 \pm 0,4$ мм). До препаратів груп аміноглікозидів та

тетрациклінів встановлена незначна чутливість – ЗЗР коливалась в межах від 12 до 19 мм, а до решти – була зовсім нечутливою.

З усіх досліджених ізолятів найбільшу чутливість майже до всіх протимікробних препаратів демонстрував збудник *Klebsiella spp.* Найчутливішим він виявився до ципрофлоксацину – ЗЗР – $33\pm 1,0$ мм та цефтриаксону – $28\pm 0,5$ мм.

Решта ізолятів проявили вибірккову і значно меншу чутливість до всіх препаратів. Так, ізолят *E. coli* проявив найбільшу чутливість до цефазоліну, ЗЗР становила $25\pm 0,4$ мм, цефтриаксону та гентаміцину – 20–21 мм.

Збудник *St. zooepidemicus* був найчутливішим до амоксициліну та еритроміцину, ЗЗР становила відповідно $24\pm 0,3$ та $21\pm 0,5$ мм.

Найбільш активними протимікробними препаратами до збудника *P. multocida* виявились цефалексин, ЗЗР – $23\pm 0,4$ мм, амоксицилін та енрофлоксацин, ЗЗР – по 22 мм.

Ізолят збудника *St. aureus* проявив найбільшу чутливість до двох препаратів – цефазоліну та енрофлоксацину, ЗЗР яких становила відповідно $25\pm 0,3$ та $22\pm 0,8$ мм.

ВИСНОВКИ

За результатами проведених досліджень встановлено відмінність чутливості тест-культур мікроорганізмів і ізолятів, виділених від хворих тварин, до протимікробних засобів різних фармакологічних груп. Польові ізоляти, на відміну від тест-культур мікроорганізмів відповідних груп, проявили чутливість тільки до антибіотичних препаратів цефалоспоринового і фторхінолонового ряду. При чому, спостерігалась вибірккова чутливість до окремих препаратів у межах однієї групи.

2. Чутливість мікроорганізмів до антибіотичних засобів

Антибіотичний засіб	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів, мм											
	Тестова музейна культура							Ізолят				
	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 3209	<i>E. coli</i> 1257	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	<i>Klebsiella</i> spp	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Цефалексин	50±2,0	50±2,0	28,0±1,0	25±0,6	41±0,9	27±1,0	—	—	—	20±0,2	23±0,4	11±0,5
Цефтриаксон	55±2,0	55±2,0	14±0,3	20±1,0	38±0,1	20±0,3	22±0,4	21±0,5	—	28±0,5	16±0,2	17±1,0
Цефазолін	55±1,5	55±1,5	16±0,5	25±0,6	39±0,8	27±0,9	—	25±0,4	—	18±0,2	17±0,4	25±0,3
Ампіцилін	40±1,0	40±1,0	16±0,8	—	39±1,0	19±0,3	—	—	18±0,3	—	—	—
Стрептоміцин	25±0,2	25±0,2	28±1,1	—	8±0,6	24±0,1	12±0,3	—	—	18±0,2	—	—
Канаміцин	25±0,3	25±0,3	25±0,9	—	—	23±0,2	14±0,5	—	—	17±0,2	—	—
Гентаміцин	22±0,2	22±0,2	36±1,0	20±1,0	12±0,3	25±0,5	18±0,2	20±0,5	14±0,5	21±0,4	—	—
Еритроміцин	45±1,0	45±1,0	15±0,2	—	15±0,4	—	—	—	21±0,5	—	—	—
Тетрациклін	40±0,5	40±0,5	18±0,3	—	—	21±0,1	15±0,6	—	—	19±0,3	—	—
Ципрофлоксацин	22±0,1	22±0,1	32±1,0	—	39±0,3	23±0,3	27±1,0	18±0,2	—	33±1,0	14±0,3	17±1,0
Амоксицилін з клавулановою кислотою	50±1,0	50±1,0	—	20±0,4	48±1,2	23±0,3	—	—	24±0,3	16±0,4	22±0,2	—
Окситетрациклін	35±,5	35±,5	15±0,2	—	10±1,0	25±0,1	19±0,3	—	—	20±0,5	—	—
Енрофлоксацин	35±1,0	35±1,0	30±1,0	20±0,5	39±1,0	26±0,5	24±0,5	18±0,5	19±0,5	24±1,0	22±0,3	22±0,8

Таку відмінність чутливості тест-культур і ізолятів можна пояснити розвитком резистентних форм збудників захворювань у зв'язку з широким застосуванням антибіотиків у тваринницьких господарствах.

Рекомендуємо раціональний підхід щодо антибіотикотерапії із використанням різних груп антибіотичних препаратів на різних етапах вирощування тварин, задля зниження ризиків швидкого утворення резистентних форм збудників хвороб.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Собко А. І., Павлов Є. Г. Ветеринарна технологія в промисловому свинарстві: практичний посібник. – К.: УкрІНТЕІ, 1994. – 192с.
2. Антибиотики и антибиоз в сельском хозяйстве/ Пер. с англ. З. Ф. Богаутдинова; под ред. А. Н. Полина. – М.: Колос, 1981. – 360 с.
3. G. E. Bergonzelli, D. Donnicola, N. Porta, and I. E. Corthésy-Theulaz (Nestle Research Center, Lausanne, Switzerland) Essential Oils as Components of a Diet-Based Approach to Management of *Helicobacter* Infection. – Antimicrobial Agents and Chemotherapy, October 2003. – Vol. 47. – No. 10. – P. 3240–3246.
4. Hanaki H., Hiramatsu K. Detection methods of glycopeptide-resistant *Staphylococcus aureus*. Susceptibility testing // Methods in Molecular Medicine Vol 48:Antibiotic resistance methods and protocols. – 2003. – Humana press. – P. 85 – 91.
5. Hiroshi Nikaido Multidrug Resistance in Bacteria // Annu Rev Biochem. – 2009. – Vol. 78. – P. 119–146.
6. Julian Davies, Dorothy Davies Origins and Evolution of Antibiotic Resistance // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2010. – Vol. 74. – № 3. – P.417–433.
7. Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine / 4th ed. – Baltimore: Williams and Wilkins. – 1996. – 642 p.

8. Lorian V. The gradient plate method/ in Antibiotics and Chemotherapeutic Agents in clinical and laboratory practice. – 1966. – Springfield. – P. 102 – 103.

9. National committee for clinical laboratory standarts. Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing approved standart– 1993. – 4 ed. – Document M2-A4. – Villanova, PA:NCCLS.

10. Weidemann B. Evaluation of data from susceptibility testing./ International journal of antimicribial agents. – 1998. – №10. – P. 218 –219.

Изучение чувствительности изолятов, выделенных от больных животных, к антибиотическим препаратам в сравнении с тест-микроорганизмами

Н.В. Гудзь

Приведены результаты исследования по определению чувствительности музейных тест-культур микроорганизмов и изолятов, выделенных от больных животных, к шести группам антибиотических препаратов диско-диффузионным методом. Установлено, что эффективность этих препаратов в отношении изолятов значительно меньше по сравнению с музейными штаммами, что связано с формированием резистентных форм микроорганизмов.

Ключевые слова: *антибиотические препараты, штаммы, изоляты, резистентность*

Studies on sensitivity of isolates isolated from diseased animals to antibiotic means compared with the test microorganisms

N. Hudz

The article presents the results of a study on sensitivity determination of the museum test cultures of microorganisms and isolates isolated from diseased animals to 6 groups of antibiotic means with disk diffusion method. It is established the efficiency of these drugs against isolates significantly less compared to the museum strains due to the formation of resistant forms of microorganisms.

Keywords: *antibiotic means, strains, isolates, resistance*