

УДК: 619:616.981.

UDC: 619:616.981.

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ
АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ
МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА**

**DYNAMIC CHANGES OF ANTIBIOTIC
SENSITIVE AGENTS OF DISEASES OF CALFS**

Шкиль Николай Николаевич
к.в.н., доцент
ГНУ ИЭВС и ДВ Россельхозакадемия,
г.Новосибирск, Россия

Shkil Nicolay Nicolaevich
Cand.Vet.Sci., associate professor
Rosselchosacademy, Novosibirsk, Russia

Изучение динамики чувствительности микроорганизмов показало волнообразный характер изменения в отношении различных антибиотиков с доминированием препаратов аминогликозидного и хинолонового / фторхинолонового рядов

Study of dynamic sensitive of microorganisms shows wave shape change of characters with change of dominance with sensitive aminoglycosids and hinolone \ ftorhinolone groups of drugs

Ключевые слова:
АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ,
МИКРООРГАНИЗМ, ТЕЛЯТА, АНТИБИОТИК,
АМИНОГЛИКОЗИДЫ,
ХИНОЛОНЫ/ФТОРХИНОЛОНЫ,
ЭНРОФЛОКСАЦИН

Keywords: ANTIBIOTIC SENSITIVE,
MICROORGANISM, CALVES, ANTIBIOTIC,
AMINOGLICOSIDS,
HINOLONE/FTORHINOLONE, ENROFLOXACINE

Введение. Респираторные и желудочно-кишечные заболевания полиинфекционной природы телят в ранний постнатальный период остаются основной причиной недополучения ремонтного молодняка в скотоводстве. Падёж от них может достигать от 10 до 35 % новорожденного поголовья. Установлено также снижение уровня продуктивности животных [5,6].

Основным методом лечения животных остаётся широкое использование антибиотиков с различным спектром действия, в зависимости от чувствительности возбудителя и этиологии заболевания. Это привело к формированию устойчивости микроорганизмов к применяемым антибактериальным препаратам и в целом отрицательно отразилось на эффективности терапии.

Изменение биологических свойств возбудителей инфекционных заболеваний (в том числе и антибиотикочувствительность) осуществляется за счёт передачи информации внутри сообщества микроорганизмов. В

настоящее время выделяют несколько способов передачи информации о биологических свойствах микроорганизмов. Первый – за счёт кольцевой ДНК - плазмиды, второй - посредством химических соединений и ферментных структур микроорганизмов, третий – физический или энергополевой, без непосредственного контакта микроорганизмов [1,3,7,18]. Так, гибнущая от хлорамфеникола культура *Vibrio costisola* посылает сигнал стимулирующего роста другой культуре [9]. Также, установлен факт повышения резистентности к антибиотикам у *Bacillus carbonifillus* посылаемой культуры как одного, так и разных видов микробов в условиях разделения испытываемых культур сплошным слоем. Предполагается, что передача сигнала обеспечивается электромагнитными или ультразвуковыми волнами [16,17].

Установлено, что уровень чувствительности микроорганизмов к антибиотикам может быть обусловлен широким кругом химических и лекарственных веществ (гормоны, витамины, минеральные соли, органические и неорганические соединения) [1, 2, 11]. Так, на фоне применения животным тетрациклинов и хлорамфеникола отмечено приобретение устойчивости (мультирезистентности) микроорганизмов не только к этим препаратам, но и к β - лактамам и хинолонам [10]. Установлено, что культивирование *E.coli* в присутствии апромицина, представителя аминогликозидного ряда в концентрации 18 мкг/мл, вызывает утрату R – плазмиды, отвечающей за резистентность к β – лактамам [2, 14-15, 19].

Изучение закономерностей передачи свойств антибиотикоустойчивости открывает широкие перспективы управления инфекционным процессом и, как следствие, создаёт предпосылки для повышения эффективности лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Цель исследования – провести анализ динамики изменения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и её закономерностей.

Материалы и методы. Выделение возбудителей инфекционных заболеваний телят осуществляли в течение 2001-2010 гг. ежегодно из хозяйств Новосибирской, Кемеровской, Томской областей и Алтайского края. При исследовании 224 проб от мёртвых, абортированных плодов и телят от 1 дневного до 6 месячного возраста патологический или биологический материал высевали на МПА, среды Эндо, Китта - Тарроцци. Для выделения микоплазм и уреоплазм использовали специальные питательные среды производства НИИПОИ г.Омск. Для индикации выделенных культур посева из биоматериала от мышей проводили на МПА. Типирование и биохимические свойства выделенных культур изучали по методическим рекомендациям системы СИБ “Новые ускоренные методы индикации патогенных микроорганизмов” (ИМБИО г. Н-Новгород).

Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли дискодиффузионным методом [8] с дисками мономицина, тетрациклина, стрептомицина, левомицетина, полимиксина, неомицина, гентамицина, окситетрациклина, амоксиклава, синюлокса, левомицетина, кламоксила, апромицина, ампициллина, тилана, канамицина, нетилмицина, бензилпенициллина, энрофлоксацина, ципрофлоксацина, линкомицина, эритромицина, цефуроксима.

Коэффициент резистентности к антибиотикам рассчитывали для каждого изолята по следующей формуле: $K = R/N$, где K - коэффициент резистентности, R - число антибиотиков, к которым исследуемый изолят резистентен, N — общее количество тестируемых антибиотиков для данного изолята [4].

Результаты исследований. Исследованы 21 (9,4 %) проба от абортировавших и мертвых плодов телят, 71 (31,8 %) - от телят

профилактического периода, 67 (30,0 %) - от телят от 10 дн. до 1 мес. возраста, 47 (21,0 %) – от 1-3 мес. телят, 18 (8,0 %) - старше 3 мес. В 32 % случаев патогенную микрофлору выделяли от телят с клиническими признаками желудочно-кишечных заболеваний. Респираторный синдром отмечали у 68% телят.

В 54,5 % пробах выделяли бактерий родов *Enterococcus* и *Streptococcus*. Семейство *Enterobacteriaceae* было представлено микроорганизмами родов *Escherichia* в 38,0 % пробах патологического материала, *Proteus* – в 23,2 %, *Klebsiella* – в 21,4 %, *Salmonella* – в 5,4 %. Представители рода *Pasteurellaceae* были выявлены в 4,9 % пробах. Микроорганизмы других родов (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Clostridium*, *Listeria*, *Shigella*, *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, *Neisseria*) выделяли в 21,4 % случаях. Выделенная микрофлора в 81,5 % случаев обладала патогенностью для белых мышей.

При проведении исследований выявлены наиболее часто встречаемые ассоциации микроорганизмов родов *Escherichia*, *Enterococcus* и *Streptococcus*, что послужило основанием для рассмотрения динамики коэффициента антибиотикорезистентности (рис.1-2).

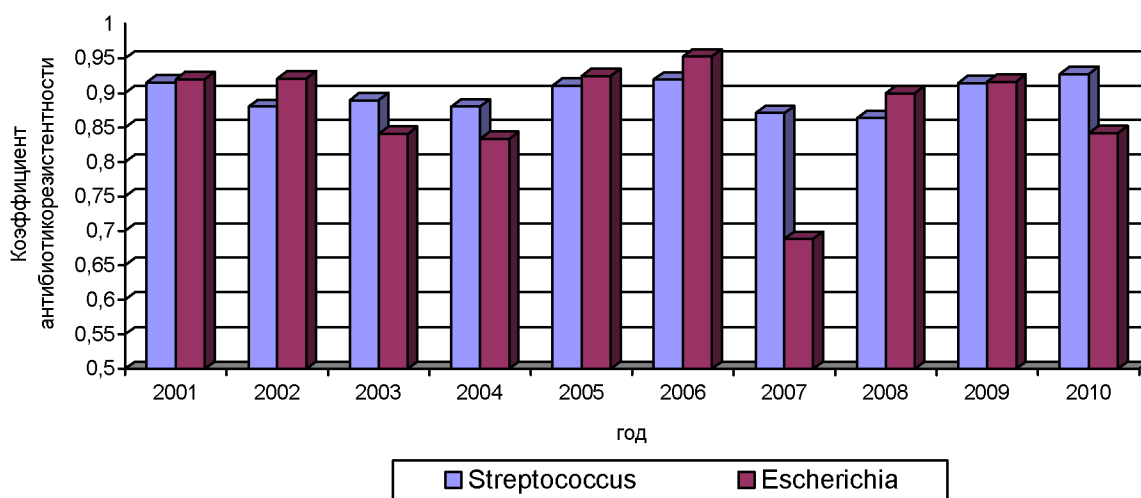


Рис.1 Динамика коэффициента антибиотикорезистентности микроорганизмов родов *Streptococcus* и *Escherichia*.

Проведённые исследования показали волнообразный характер изменения антибиотикочувствительности микроорганизмов родов *Streptococcus* и *Escherichia*, причём период спада показателя у одного из родов сопровождается ростом у другого.

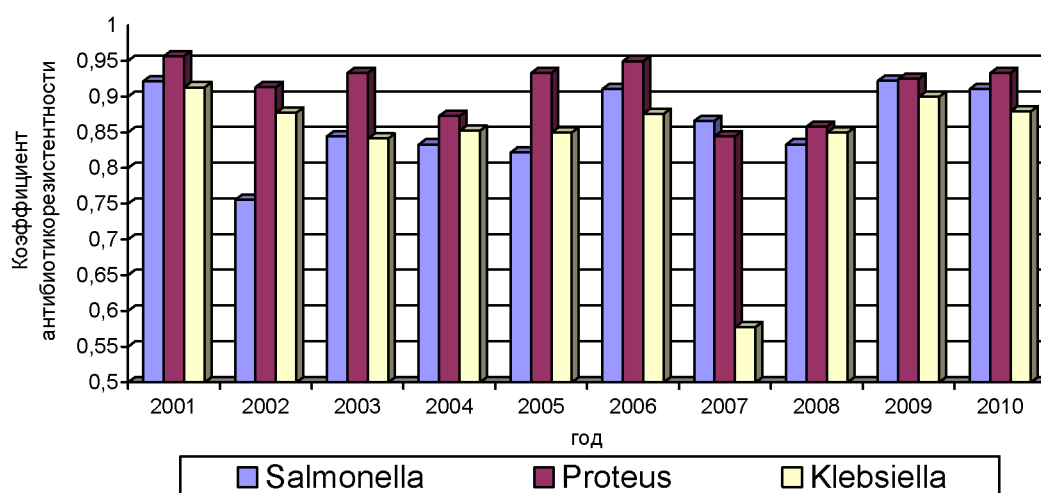


Рис.2 Динамика коэффициента антибиотикорезистентности микроорганизмов родов *Salmonella*, *Klebsiella* и *Proteus*.

Среднее значения коэффициента антибитикоустойчивости у микроорганизмов в течение 2001 - 2010 гг. отмечали у микроорганизмов рода *Proteus* - $0,91 \pm 0,03$, *Streptococcus* - $0,89 \pm 0,02$, *Escherichia* - $0,87 \pm 0,05$, *Salmonella* - $0,86 \pm 0,04$, *Klebsiella* - $0,84 \pm 0,05$.

Результаты исследований показали, что наибольшая чувствительность выявлена к антибиотикам хинолонового/фторхинолонового (энрофлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин) и аминогикозидного (гентамицин, левомицетин, неомицин, нетилмицин) рядов. При анализе динамики изменения чувствительности возбудителей инфекционных заболеваний телят выявлены общие закономерности для всех изучаемых родов микроорганизмов, а именно волновой характер изменчивости показателя. Отмечено, что повышенная чувствительность к определённому ряду

антибиотика соответствует снижению аналогичного показателя в этот же год, при этом смена повышенной чувствительности в течение нескольких лет сменяется понижением показателя в течении ряда последующих лет (рис. 2 - 7). Так, 2001г. характеризовался высокой чувствительностью микрофлоры к препаратам аминогликозидного ряда, однако с 2002 по 2005-2006гг. отмечен стабильным рост показателя к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда, с последующим снижением к 2010г. Также установлено, что степень проявления этой закономерности у разных родов микрофлоры неодинаковая.

В группе микроорганизмов (род *Proteus*, *Escherichia*, *Salmonella*), которые чаще выделялись при заболеваниях желудочно-кишечного тракта телят, отмечены характерные изменения (рис.3-5). В 2001г. в группе родов *Proteus*, *Escherichia* и *Salmonella* установлена высокая чувствительность к аминогликозидам у 27,1, 50,0 и 75,0 % выделенных изолятов соответственно.

Последующие годы характеризуются резким ростом показателя к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда с максимальными значениями в 2005 и 2006 гг. у рода *Proteus* 80,0 и 100,0 % и рода *Escherichia* 62,5 и 66,0 % соответственно. Однако в 2007г. эти показатели выравниваются с препаратами аминогликозидного ряда, а в течение 2009 и 2010 гг. отмечается к ним максимальная чувствительность из всего спектра изучаемых антибактериальных препаратов. В 2009 г. у микроорганизмов рода *Proteus* и *Escherichia* отмечен максимальный показатель к аминогликозидам у 33,3 и 50,0 % при полной устойчивости к антибиотикам хинолонового/фторхинолонового ряда. В течение 10 лет мониторинга чувствительности микроорганизмов рода *Proteus* к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового ряда составила – $18,1 \pm 11,3$ и $38,9 \pm 25,3$ % соответственно.



Рис.3 Динамика чувствительности микроорганизмов рода Proteus к антибиотикам

Средняя чувствительность в период диагностических исследований у микроорганизмов рода Escherichia к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового ряда составила - $33,1 \pm 13,5 \%$, $29,4 \pm 18,0 \%$ соответственно.



Рис.4 Динамика чувствительности микроорганизмов рода Escherichia к антибиотикам

Динамика изменения антибиоткочувствительности у микроорганизмов рода Salmonella отличается отсутствием резких колебаний показателя в течении 2002-2010 гг. наблюдения. Уровень чувствительности к препаратам аминогликозидного ряда в период его доминирования у микроорганизмов рода Salmonella был выше аналогичного показателя к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда. Так, в 2001 г. он составлял – $75,0 \%$, в 2006 – $43,0 \%$, в 2007 – $59,0 \%$, в

2008 – 57,0 , в 2009 – 57,6, в 2010 – 46,0 %. Чувствительность к хинолонового/фторхинолоному ряду в 2002 - 2005 гг. варьировала от 40,0 - 48,18 %. Средняя чувствительность в период диагностических исследований у микроорганизмов рода *Salmonella* к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового ряда составила - $41,4 \pm 18,0$ и $36,5 \pm 8,1$ % соответственно.

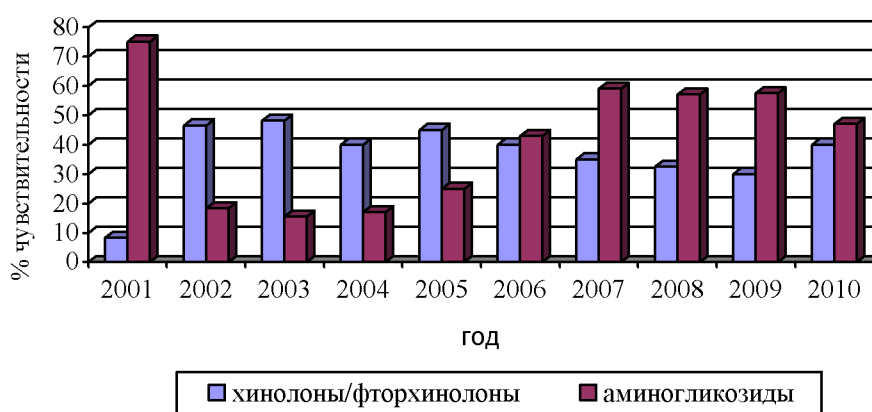


Рис.5 Динамика чувствительности микроорганизмов рода *Salmonella* к антибиотикам

Изучение изменения чувствительности у микроорганизмов родов *Enterococcus*, *Streptococcus* и *Klebsiella* выделенных преимущественно при заболеваниях респираторного тракта на протяжении периода наблюдения не показал абсолютного превалирования антибиотиков одного из рядов (6-7).

Наибольшую чувствительность микроорганизмов родов *Enterococcus* и *Streptococcus* к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда отмечали в 2002 - 2005 гг. с последующим снижением в 2006 - 2010гг. Период роста чувствительности микроорганизмов к препаратам аминогликозидного ряда в 2001, 2007 - 2010 гг. характеризуется более выраженным доминированием над препаратами хинолонового/фторхинолонового ряда. Так, в период 2001г., 2006 - 2010 гг. показатель чувствительности составлял – 34,6; 28,5; 42,86; 34,21; 31,25; 46,15 % соответственно. Средняя чувствительность в период

диагностических исследований у микроорганизмов рода *Enterococcus* и *Streptococcus* к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового ряда составила - $33,15 \pm 6,8$ и $23,8 \pm 12,8$ % соответственно.



Рис.6 Динамика чувствительности микроорганизмов родов *Enterococcus* и *Streptococcus* к антибиотикам

Чувствительность микроорганизмов рода *Klebsiella* характеризуется более быстрым изменением показателя чувствительности от хинолонового/фторхинолонового ряда, который наблюдали в 2002 – 2003 гг., с периодом одинаковой чувствительности с препаратами аминогликозидного ряда в 2004 - 2005 гг., к росту показателя к аминогликозидному ряду в 2006 – 2010 гг. (рис.7). Кроме того, род *Klebsiella* характеризуется наименьшей чувствительностью к антибиотикам сопоставляемых рядов, максимальное значение, которого установлено в 2006г. - у 31,25 % выделенных изолятов к препаратам аминогликозидного ряда.

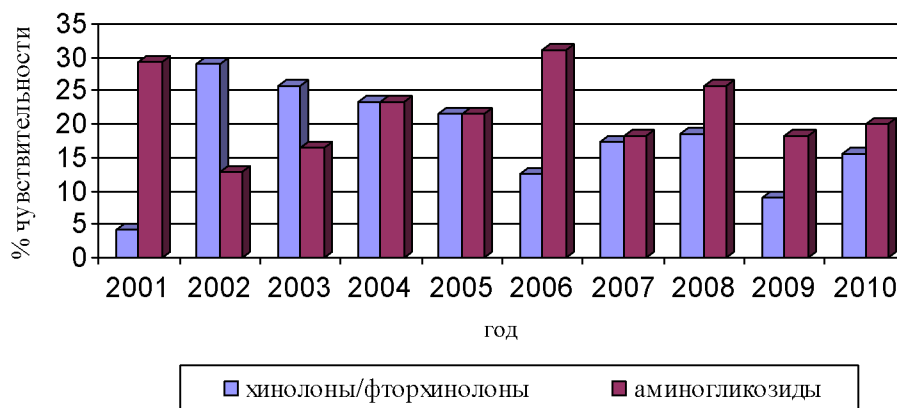


Рис.7 Динамика чувствительности микроорганизмов рода *Klebsiella* к антибиотикам

Средняя чувствительность в период диагностических исследований у микроорганизмов рода *Klebsiella* к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового ряда составила - $21,6 \pm 4,5$ и $17,6 \pm 5,9$ % соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Результаты диагностических исследований чувствительности микроорганизмов родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterococcus* и *Streptococcus* к антибиотикам аминогликозидного и хинолонового/фторхинолонового рядов показали, что чаще всего рост показателя в одной группе препаратов сопровождается падением этого показателя в другой группе препаратов.
2. Наиболее резкие изменения показателей антибиотикоустойчивости с наличием абсолютных значений, отмечены у микроорганизмов рода *Escherichia*, что видимо, связано с наиболее развитым механизмом формирования резистентности, как способа адаптации (ген *micF* вызывает положительную модуляцию транскрипции, продукт которого, антисмысловая РНК, ингибирует синтез пориновых белков на уровне трансляции положительно воздействуя на содержание в клетках фактора множественной стрессорной устойчивости σ^5) к фторхинолонам [11, 12] в 2008 – 2010 гг.

3. Микроорганизмы рода *Salmonella* показали более высокий уровень чувствительности к препаратам аминогликозидного ряда и доминировали по аналогичному показателю над препаратами хинолонового/фторхинолонового ряда. Так, в 2001 г. он составлял – 75,0 %, в 2006 – 43,0, в 2007 – 59,0, в 2008 – 57,0, в 2009 – 57,6, в 2010 – 46,0 %. Чувствительность к хинолонового/фторхинолоновому ряду в 2002 - 2005 гг. варьировала от 40,0 до 48,18 %.
4. Выявлена наиболее выраженная устойчивость микроорганизмов родов *Enterococcus* и *Streptococcus* к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда в сравнении с антибиотиками аминогликозидной группы, которую обеспечивают соответствующие области генов *gyrA*, *gyrB*, *parC* и *parE*, определяющими устойчивость к хинолонам (QRDR – *quinolone resistance determining region*) [13].
5. Результаты диагностических исследований в течение 2001-2010 гг. чувствительности к антибиотикам микроорганизмов родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterococcus* и *Streptococcus* показали максимальную чувствительность к антибиотикам аминогликозидного ряда, который варьировал от $33,1 \pm 13,5$ %, $41,4 \pm 18,0$ %, $21,6 \pm 4,5$ %, $33,1 \pm 6,8$ % соответственно. Наименьший показатель чувствительности к этому ряду установили у микроорганизмов рода *Proteus* - $18,1 \pm 11,3$ %.
6. Оценка динамики коэффициента антибиотикорезистентности микроорганизмов показала его определённую связь между ростом и падением показателя чувствительности к препаратам аминогликозидной и хинолонового/фторхинолонового групп. Так, наименьший показатель коэффициента у всех изучаемых микроорганизмов отмечен в 2006 - 2008 гг., что соответствует моменту снижения чувствительности к препаратам

хинолонового/фторхинолонового ряда и ростом этого показателя к антибиотикам аминогликозидной группы.

7. Уровень и коэффициент антибиотикочувствительности отражают общий уровень «агрессивности» возбудителей и характеризуют патогенный потенциал микроорганизмов. Изучение уровня коэффициента антибиотикорезистентности показало, что наибольшим показателем обладали микроорганизмы рода *Proteus* $0,91 \pm 0,03$, а наименьшим рода *Klebsiella* - $0,84 \pm 0,05$, что совпадает с общей чувствительностью этих микроорганизмов к изучаемым антибиотикам (от 0 - 100,0 % и 4,17 - 31,25 %) соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В. Проблема персистенции патогенов в инфектологии / О.В. Бухарин // ЖМЭИ. - № 4. - 2006. - С. 4 - 8.
2. Волчанская О.А. Апромицин и проблема плазмидной резистентности бактерий / О.А. Волчанская, О.П. Татарчук // Российский ветеринарный журнал.- № 1.- 2006 г. – С. 8 - 9.
3. Габидулина З.Г. Характеристика свойств определяющих персистенцию моно- и ассоциированных культур условно патогенных энтеробактерий / З.Г. Габидулина, Ю.З. Габидулин, А.А. Ахтариева // ЖМЭИ.-№4. - 2006. - С. 62 - 64.
4. Гостев В.В. Антибиотикорезистентность микрофлоры ран открытых переломов (II сообщение) / В.В. Гостев, З.С. Науменко, И.И. Мартель // Травматология и ортопедия России. - №1(55), – 2010. - С. 33 - 37.
5. Джупина С.И. Этиология и профилактика массовых желудочно-кишечных болезней телят / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. 2003. № 2. С. 28-30.
6. Сидоров М.А. Иммунный статус и инфекционные болезни новорожденных телят и поросят / М.А. Сидоров, Ю.Н. Федоров, О.М. Савич // Ветеринария. 2006. № 11. С. 3-5.
7. Карасевич Ю.Н. Экспериментальная адаптация микроорганизмов М., «Наука», 1975 г., - 179с.
8. Методы бактериологического исследования в клинической микробиологии / Методические рекомендации (утв. Минздравом СССР от 17.01.1983).
9. Николаев Ю.А. Диктантные взаимодействия между клетками бактерий // Микробиология. 1992. Т. 61. №6. С.1066 – 1071.
10. Сидоренко С.В. Механизмы резистентности микроорганизмов / БИО, - М.: - № 5 (56), - 2005. - С. 2 - 4.
11. Ткаченко А.Г. Роль полиаминов в формировании множественной антибиотикочувствительности *E.coli* в условиях стрессорных воздействий / А.Г.

- Ткаченко, О.Н. Пожидаева, М.С. Шумков // Биохимия. - 2006. - № 9 (Т.71). - С. 1287 – 1297.
12. Решедько Г.К. Аминогликозиды: перспективы клинического использования в стационарах России / Г.К. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2008. - № 3 (Т.10). - С. 260 - 270.
 13. Федорчук В.В. Роль мутаций в ДНК-гиразе и топоизомеразе IV в устойчивости *Streptococcus pneumoniae* к фторхинолонам / В.В. Федорчук, С.А. Грудинина, Л.А. Кротова, Е.А. Черкашин, С.В. Сидоренко, В.И. Тишков // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. - 2002. - № 6 (43). - С. 349 - 352.
 14. DeNap J.C., Thomas J.R., Musk D.J., Hergenrother P.J. Combating drug-resistant bacteria: small molecule mimics of plasmid incompatibility as antiplasmid compounds/ *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 47, - P. 15402-15404.
 15. Gomes-Lus R. Evolution of bacterial resistance to antibiotic during the last decades / *Int. Microbiol.* , 1998, №1, P. 279-284.
 16. Matsushashi M., Pancrushina A.N., Endoh K. et.al. *Bacillus carbonifillus* cells respond to growth-promoting physical signals from cells of homologous and heterologous bacteria // *J.Gen.Appl.Microbiol.* 1996. V.42. P.315-32.
 17. Matsushashi M. et.al. Cellular signals regulating antibiotics sensitivities of bacteria // *Microbiol. Drug Res.* 1996. V.2 N.1 P.91-93.
 18. Montagnier L. Electromagnetic signals are produced by aqueous nanostructures derived from bacterial DNA sequences / L. Montagnier, J. Aissa, S. Ferris // *Interdiscip Sci Comput Life Sci* (2009) 1: 81–90.
 19. Rice L.B., Bonomo R.A. Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents/ In Lorian V. *Antibiotics in laboratory medicine.* Williams&Wikins, NY, 1996, P.453-501.