

УДК 619:579.842.17

UDC 619:579.842.17

06.02.00 Ветеринария и Зоотехния

Veterinary and Zootechnics

**МОНИТОРИНГ АНТИБИОТИКОРЕЗИ-  
СТЕНТНОСТИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ****MONITORING OF ANTIBIOTIC RESISTANCE  
OF ENTEROBACTERIA**

Горковенко Наталья Евгеньевна  
д. б. н., профессор, РИНЦ SPIN-код 2648-5641

Gorkovenko Natalya Evgenyevna  
Dr.Sci.Biol., Professor, SPIN-code 2648-5641

Макаров Юрий Анатольевич  
д. в. н., профессор, академик РАН, РИНЦ SPIN-код  
1713-0784  
*Кубанский государственный аграрный универси-  
тет, Краснодар, Россия*

Makarov Yuri Anatolyevich  
Dr.Sci.Vet., Professor, member of the Russian Acade-  
my of Sciences, SPIN-code 1713-0784  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia*

В связи с появлением и широким распространением антибиотикорезистентности у возбудителей инфекционных заболеваний животных, все более важное значение приобретает осуществление наблюдения за изменением чувствительности различных групп микроорганизмов к антибактериальным препаратам. В статье представлены результаты изучения чувствительности к антимикробным препаратам энтеробактерий, изолированных из кишечника больных телят, и динамики ее изменения в течение трех лет. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о значительном распространении устойчивости изолированных от телят энтеробактерий к большому спектру антибактериальных препаратов. К таким препаратам как неомицин, стрептомицин и левомицетин были резистентны до 100 % изолятов эшерихий, протеев, энтеробактеров, морганелл, цитробактеров. Наиболее эффективным препаратом из группы аминогликозидов оказался гентамицин, из группы хинолонов – энрофлоксацин. К полимиксину достаточно хорошую чувствительность проявляли до 80 % изолятов эшерихий, цитробактеров и клебсиелл. Установлено, что многие энтеробактерии, выделяемых от больных телят обладают полирезистентностью к АБП (66,7 % изолятов *E. coli*, 57,1 % *Enterobacter spp.*, 75 % *Morganella*, 60 % *Edwardsiella*, 42,9 % *Citrobacter spp.*). Выявлена тенденция увеличения количества резистентных изолятов к широко применяемым в ветеринарной практике АБП с течением времени. Высокая частота сочетанной устойчивости к традиционно используемым препаратам – канамицину (до 80 %), тетрациклину (до 85 %) и левомицетину (до 83 %) свидетельствует о необходимости обязательного проведения теста на чувствительность к АБП перед их использованием

Relative to the emergence and wide extension of an antibiotic resistance in infectious agents of animal infectious diseases, the particularly important assessment increases over change of sensitivity of various groups of microorganisms to anti-infective drugs. Results of studying antibiotic sensitivity of the enterobacteria isolated from an intestine of sick calves, and dynamics of its change within three years are presented in article. Results of the research demonstrate prevalence of resistance to the majority of anti-infective drugs (AID) among the Enterobacteriaceae isolates emitted from calfs. To chloramphenicol, neomycin and streptomycin from 100% of isolates *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Citrobacter* were sensitivity. From AID of group of aminoglycosides gentamycin, from group of quinolones – enrofloxacin was the most effective. The good sensitivity to a polymyxin was shown to 80 % of isolates *E. coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.* It was established that 66,7 % of *E. coli* isolates, 57,1 % of *Enterobacter spp.*, 75 % of *Morganella*, 60 % of *Edwardsiella*, 42,9 % of *Citrobacter spp.*, allocated from sick calfs, has fastness to 7 AID. At the same time to other AID of a series the appreciable number of multi-resistant strains shows weak sensitivity. The tendency of augmentation of number of antibiotic resistance isolates to AID which are widely applied in veterinary practice as time passed. High frequency of the combined resistance to traditionally used antibiotic drugs – to kanamycin (up to 80 %), to tetracycline (up to 85 %) and to chloramphenicol (up to 83%) testifies to need of obligatory test for sensitivity to AID before their use

Ключевые слова: ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ, ЭНТЕРОБАКТЕРИИ, ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОСТЬ, МОНИТОРИНГ

Keywords: SENSITIVITY TO ANTI-INFECTIVE DRUGS, ENTEROBACTERIA, MULTIRE-SISTANCE, MONITORING

Doi: 10.21515/1990-4665-137-032

В настоящее время проблема появления устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам является одной из наиболее сложных проблем, которая возникает вследствие многих взаимосвязанных факторов, в частности применения и неправильного применения противомикробных препаратов [2]. В мае 2015 года 68-я сессия Всемирной ассамблеи здравоохранения приняла Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам. Одна из пяти стратегических целей этого плана действий состоит в укреплении базы фактических данных путем усиления глобального эпиднадзора и научных исследований. С этой целью по инициативе ВОЗ создана «Глобальная система эпиднадзора за устойчивостью к противомикробным препаратам (Global Antimicrobial Surveillance System – GLASS)», которая выявила широкое распространение резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП). Наибольшее количество данных об устойчивости к АБП получено для следующих видов бактерий – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, а также *Salmonella spp.* Поскольку АБП применяются не только в медицине гуманной, но и ветеринарной медицине, актуальность научных исследований по сбору фактических данных об изменении чувствительности патогенных и условно патогенных микроорганизмов, играющих этиологическую роль при инфекционной патологии животных, представляется бесспорной.

Известно, что некоторые микроорганизмы, в том числе энтеробактерии, обладают высокой природной устойчивостью к антибактериальным препаратам. Такие энтеробактерии, как *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp.*, *Morganella morganii*, синтезирующие так называемые хромосомные цефалоспорины (AmpC) характеризуются наиболее широким спектром природной устойчивости к  $\beta$ -лактамам [1, 7].

Так, например, *Morganella morganii* природно устойчива к фосфомицину, тетрациклинам, полимиксинам и нитрофуранам; *Proteus spp.*,

*Providencia spp.* — к тетрациклинам, полимиксидам и нитрофуранам; *Serratia marcescens* — к полимиксидам и нитрофуранам [6]. Такой вид устойчивости обусловлен генетически, однако отдельные штаммы бактерий приобретают резистентность и в результате мутаций и селекции устойчивых клонов, такой вид устойчивости называют приобретенной резистентностью. Кроме того, резистентность у бактерий может сформироваться в результате обмена генетической информацией посредством плазмид между отдельными бактериальными клетками. Например, такие виды как *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter cloacae* обладают исключительной способностью к формированию вторичной (или приобретенной) резистентности к антибиотикам разных классов [1, 8].

Устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам проявляется либо к отдельным препаратам, либо к нескольким АБП одной группы. В результате чего микроорганизмы могут проявлять полную или частичную перекрестную резистентность к антибактериальным препаратам с близкой химической структурой. Полная перекрестная резистентность среди устойчивых бактерий наблюдается между тетрациклинами; природными пенициллинами; оксациллином и метициллином; цефалоспоридами первого поколения; линкозаминами [1].

В связи с появлением и широким распространением антибиотикорезистентности у бактерий – возбудителей инфекционных заболеваний животных, все более важное значение приобретает осуществление наблюдения за изменением чувствительности различных групп микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП). Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* наиболее часто являются этиологическими агентами при инфекционных гастроэнтеритах молодняка сельскохозяйственных животных [3, 5].

Целью настоящего исследования являлось изучение чувствительности выделенных от больных телят энтеробактерий к антимикробным препаратам и динамики ее изменения.

### **Материал и методы исследований.**

Материалом для исследования служили бактериальные изоляты, представители семейства *Enterobacteriaceae* ( $n=119$ ), выделенные в течение пяти лет (2006–2010 гг.) от телят с острыми кишечными расстройствами в 4-х хозяйствах Дальневосточного региона России. Чувствительность микроорганизмов определяли к 10 антимикробным препаратам дискодиффузионным методом в соответствии с МУК 4.2.1890-04 [4]. Для тестирования чувствительности к АБП выделенных энтеробактерий использовали стандартные диски с препаратами группы тетрациклина (тетрациклин, доксициклин), аминогликозидами (гентамицин, канамицин, стрептомицин, неомицин), хинолонами (энрофлоксацин), бета-лактамами (ампициллин), а также левомицетином и полимиксином. Набор дисков с антибактериальными препаратами формировался с учетом используемых в хозяйствах для лечения телят АБП.

### **Результаты и обсуждение.**

Результаты исследований показали, что в целом энтеробактерии, выделенные от больных телят, проявляли устойчивость к препаратам группы тетрациклинов. Большая часть изолятов (от 67 до 85 %) оказалась нечувствительная к тетрациклину, за исключением бактерий рода *Klebsiella*, среди которых резистентность к нему проявили лишь 30 % изолятов. Хорошую чувствительность к доксициклину проявили изоляты *E. coli* и *Enterobacter*, однако все изоляты *Morganella* были слабо чувствительны к этому препарату. Среди выделенных бактерий рода *Proteus* к доксициклину были резистентны 66,7 % изолятов, а 33,3 % из них характеризовались промежуточной чувствительностью к нему.

Наиболее эффективным антибактериальным препаратом из группы аминогликозидов в отношении выделенных энтеробактерий оказался гентамицин, чувствительность к которому проявили более 70 % изолятов *E. coli*. К канамицину, неомицину и стрептомицину от 50 до 80 % изолятов энтеробактерий проявили устойчивость.

Достаточно хорошую чувствительность проявили энтеробактерии к препаратам группы хинолонов (энрофлоксацин). К энрофлоксацину от 50 до 82 % изолятов энтеробактерий были чувствительны. Промежуточной чувствительности к этому препарату не тестируемые изоляты энтеробактерий не проявляли.

По отношению к полимиксину от 67 до 80 % изолятов *E. coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.* проявляли чувствительность. Большая часть бактерий, относящихся к родам *Proteus*, *Enterobacter*, *Morganella* (75–85 %), к полимиксину проявляли резистентность.

К левомецетину от 58 до 100 % изолятов *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Citrobacter* были резистентны.

В ходе проведения исследований выявлено, что устойчивость к АБП у энтеробактерий зачастую проявляется одновременно к целому ряду препаратов (табл. 1). Такую форму устойчивости (к 3–4 и более АБП) бактерий обозначают термином «полирезистентность» или «множественная лекарственная устойчивость» (МЛУ).

Исследования показали, что устойчивыми к 6–7 антибактериальным препаратам оказались более половины выделенных изолятов *E. coli* (66,7 %), *Enterobacter spp.* (57,1 %), *Morganella* (75 %), *Edwardsiella* (60 %). В то же время к другим тестируемым препаратам основная масса изолятов с полирезистентностью проявляла слабую чувствительность. Это свидетельствует о том, что эмпирическое назначение антибиотиков в обычных дозах будет неэффективным, более того, это будет способствовать селекции штаммов, устойчивых к АБП [3, 5]. Поэтому для лечения кишеч-

ных инфекций необходимо подбирать соответствующее сочетание АБП или альтернативные препараты (например, пробиотики).

Таблица 1 – Распространенность МЛУ у энтеробактерий, выделенных от больных телят

Микроорганизмы	n	Число устойчивых изолятов				Изоляты с промежуточной чувствительностью к 1-4 АБП	
		к 3-5 АБП		к 6 и более АБП			
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
<i>E. coli</i>	60	16	26,7	40	66,7	26	43,3
<i>Proteus spp.</i>	23	3	13,0	20	86,9	11	47,8
<i>Citrobacter spp.</i>	14	6	42,9	6	42,9	10	71,4
<i>Enterobacter spp.</i>	7	1	14,3	4	57,1	3	42,9
<i>Klebsiella spp.</i>	6	2	33,3	1	16,7	4	66,7
<i>Morganella morganii</i>	4	1	25,0	3	75,0	1	25,0
<i>Edwardsiella ictaturi</i>	5	1	20,0	3	60,0	3	60,0

Мониторинг распространения антибиотикорезистентности среди энтеробактерий, этиологически значимых при ОКР телят, показал, что в течение ряда лет почти ко всем группам АБП отмечается рост числа резистентных изолятов.

Наиболее выраженный рост числа резистентных изолятов энтеробактерий отмечен к полимиксину, неомицину и энрофлоксацину. Так, например, среди изолятов *E. coli* в 2006 г. выявлено 6,5 % резистентных к энрофлоксацину, в 2007 г. их было 36,4 %, а в 2010 г. – 90 % (рис. 1). К полимиксину количество резистентных изолятов *E. coli* увеличилось с 23,3 % в 2006 г. до 75 % в 2010 г., к неомицину – с 64 до 81,8 % соответственно.

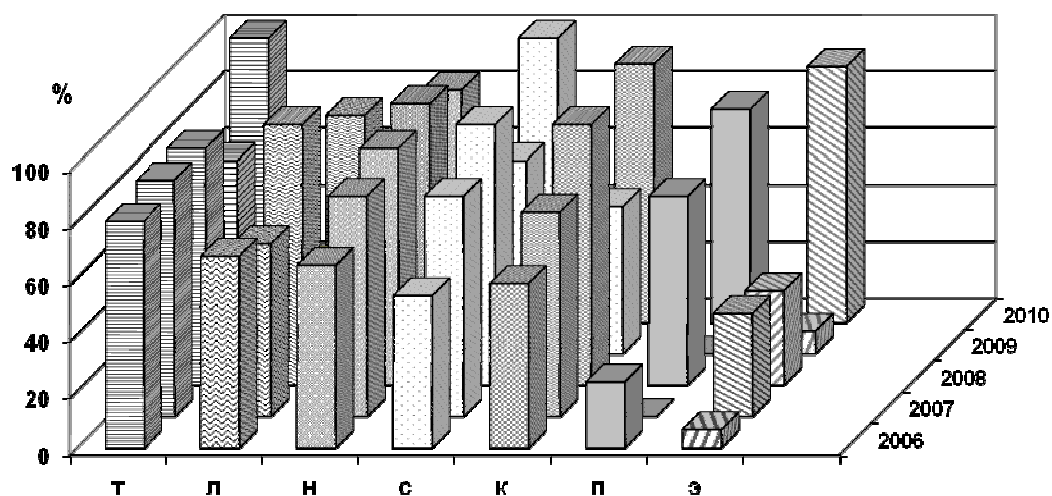


Рисунок 1 – Динамика антибиотикорезистентности культур *E. coli*, выделенных от телят с острыми кишечными расстройствами и, к некоторым антибиотикам (% резистентных культур)

Примечание: т – тетрациклин, л – левомецетин, н – неомицин, с – стрептомицин, к – канамицин, п – полимиксин, э – энрофлоксацин.

Бактерии рода *Proteus* от природы обладают повышенной устойчивостью к антибиотикам. В 2010 г. почти ко всем препаратам 100 % изолятов *Proteus spp.* проявляли резистентность, за исключением двух из. Один из которых оказался чувствительным к полимиксину, а другой – к гентамицину (рис. 2).

Бактерии рода *Citrobacter* в течение периода наблюдения проявляли четко выраженную устойчивость к тетрациклину, канамицину, стрептомицину. В то время как к полимиксину и энрофлоксацину основная масса выделенных изолятов цитробактеров в период с 2006 по 2010 гг. проявляла достаточно хорошую чувствительность. Однако в 2010 г. среди изолятов *Citrobacter spp.* (рис. 3) отмечено резкое увеличение числа резистентных к энрофлоксацину, полимиксину, канамицину (до 100 %).

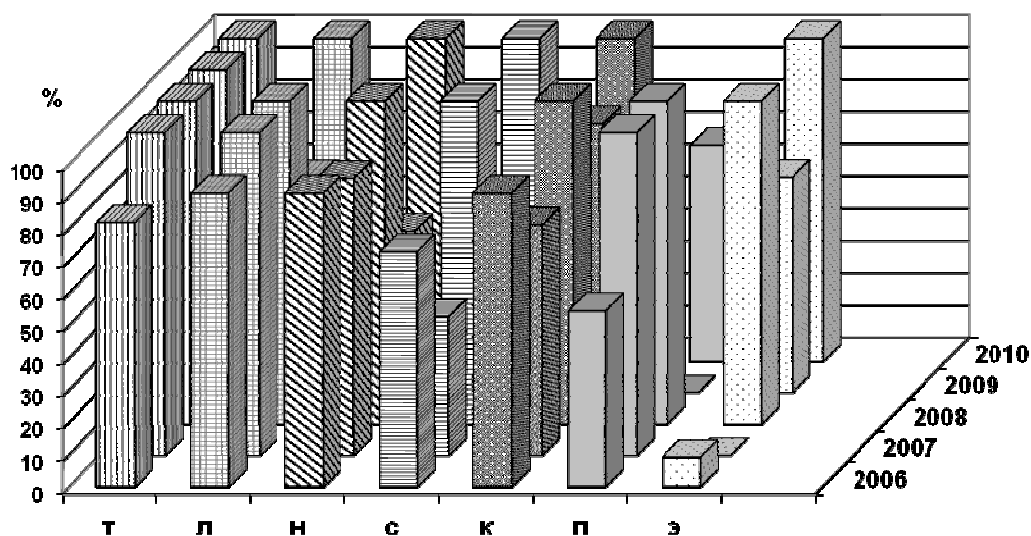


Рисунок 2 – Динамика антибиотикорезистентности культур *Proteus spp.*, выделенных от телят с острыми кишечными расстройствами, к некоторым антибиотикам (% резистентных культур)

Примечание: т – тетрациклин, л – левомецетин, н – неомицин, с – стрептомицин, к – канамицин, п – полимиксин, э – энрофлоксацин

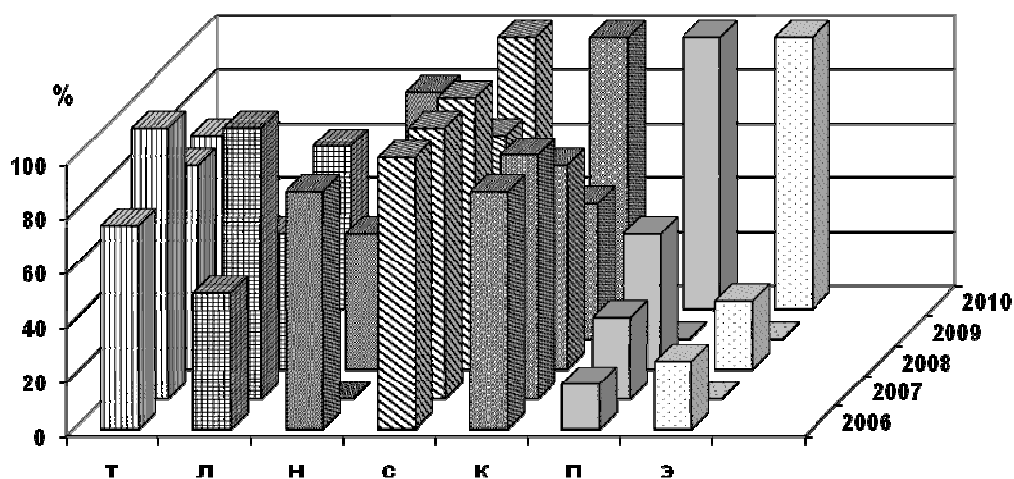


Рисунок 3 – Динамика антибиотикорезистентности культур *Citrobacter spp.*, выделенных от телят с острыми кишечными расстройствами, к некоторым антибиотикам (% резистентных культур)

Примечание: т – тетрациклин, л – левомецетин, н – неомицин, с – стрептомицин, к – канамицин, п – полимиксин, э – энрофлоксацин



Наиболее выраженный рост числа резистентных изолятов энтеробактерий отмечен к полимиксину и энрофлоксацину. Так, например, среди изолятов *E. coli* в 2006 г. выявлено 6,5 % резистентных к энрофлоксацину, в 2007 г. их было 36,4 %, а в 2008 г. – 33,3 %. Количество резистентных к полимиксину изолятов *E. coli* увеличилось с 23,3 % в 2006 г. до 66,7 % в 2008 г., к неомицину – с 64 до 83 % соответственно.

### **Заключение.**

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о широком распространении резистентности к большинству антибактериальных препаратов среди изолятов *Enterobacteriaceae*, выделяемых от телят при кишечных инфекциях. Установлена тенденция увеличения количества резистентных изолятов к широко применяемым в ветеринарной практике АБП с течением времени. Высокая частота сочетанной устойчивости к традиционно используемым препаратам – канамицину (до 80 %), тетрациклину (до 85 %) и левомицетину (до 83 %) свидетельствует о необходимости обязательного проведения теста на чувствительность к АБП перед использованием их в виде монотерапии или в составе комбинированной терапии при кишечных инфекциях молодняка сельскохозяйственных животных.

### **Литература**

1. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. / М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, Н.В. Иванчик и др. // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия, 2014. – Том 16. – № 4. – С. 254 – 265.
2. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам, 2001. – 168 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/ru/>
3. Макаров, Ю.А. Кишечные инфекции новорожденных телят бактериальной этиологии / Ю.А. Макаров, Н.Е. Горковенко, А.М. Кузьменко // Доклады РАСХН. – 2009. – № 2. – С. 46–49.
4. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания. – М., 2004. – 72 с.

5. Острые кишечные расстройства новорожденных телят бактериальной этиологии / Н.Е. Горковенко, Ю.А. Макаров, А.М. Кузьменко, В.А.Серебрякова // Труды ВИЭВ. – 2009. – Т. 75. – С. 179–181.
6. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing / Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG at all // Clin Microbiol Infect, 2013. – № 19(2). – P. 141–160.
7. Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance // Clin Microbiol Rev, 1995. – № 8 (4). – P. 557–584.
8. Pendleton JN. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens / JN. Pendleton, SP. Gorman, BF. Gilmore // Expert Rev Anti Infect Ther, 2013. – № 11 (3). – P. 297–308.

### References

1. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyx shtammov enterobacteriaceae v stacionarax rossii: rezultaty mnogocentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya marafon v 2011–2012 gg. / M.V. Suxorukova, M.V. Ejdelshtejn, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik i dr. // Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya ximioterapiya, 2014. – tom 16. – № 4. – S. 254 – 265.
2. Globalnaya strategiya voz po sderzhivaniyu ustojchivosti k protivomik-robnym preparatam, 2001. – 168 s. [elektronnyj resurs]. – rezhim dostupa : <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/ru/>
3. Makarov, Yu.A. Kishechnye infekcii novorozhdennyx telyat bakterialnoj etiologii / Yu.A. Makarov, N.E. Gorkovenko, A.M. Kuzmenko // Doklady RASCHN. – 2009. – № 2. – S. 46–49.
4. MUK 4.2.1890-04. Opredelenie chuvstvitelnosti mikroorganizmov k anti-bakterialnym preparatam : metodicheskie ukazaniya. – M., 2004. – 72 s.
5. Ostrye kischechnye rasstrojstva novorozhdennyx telyat bakterialnoj etiologii / N.E. Gorkovenko, Yu.A. Makarov, A.M. Kuzmenko, V.A. Serebryakova // Trudy VIEV. – 2009. – t. 75. – S. 179–181.
6. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing / Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG at all // Clin Microbiol Infect, 2013. – № 19(2). – P. 141–160.
7. Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance // Clin Microbiol Rev, 1995. – № 8 (4). – P. 557–584.
8. Pendleton JN. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens / JN. Pendleton, SP. Gorman, BF. Gilmore // Expert Rev Anti Infect Ther, 2013. – № 11 (3). – P. 297–308.