

ЧУТЛИВІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ З ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ, ДО АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

*І. М. Кушнір, д-р вет. наук,
Г. В. Колодій, канд. вет. наук,
С. Д. Мурська, канд. вет. наук,
І. С. Семен, канд. с.-г. наук,
У. З. Бербека, молодший науковий співробітник,
І. К. Авдосьєва, канд. вет. наук*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
kolgal129@gmail.com

Надмірне та безконтрольне використання антибіотиків часто приводить до виникнення антибіотикорезистентності. Тому основна мета цих досліджень полягала у визначенні чутливості до антибіотиків мікроорганізмів, виділених з патматеріалу.

У статті наведено визначення чутливості виділених штамів до таких антибіотиків: ампіциліну, амоксициліну, оксациліну, офлоксацину, стрептоміцину, цефазоліну, гентаміцину, амікацину, амоксиклаву, еритроміцину, енрофлоксацину, лінкоміцину, тетрацикліну, доксицикліну, ванкоміцину, рифампіцину, ципрофлоксацину, норфлоксацину, тилозину, нітрофурантоїну, поліміксину В.

*При дослідженні шести штамів – *Escherichia coli* та трьох *Salmonella enteritidis*, встановлено, що вони проявляли різну чутливість до досліджуваних антибіотиків, зокрема резистентними до стрептоміцину виявились лише два ізоляти *E. coli*, що складає 33,3 %, чутливими було 50 % виділених штамів.*

*При визначенні чутливості встановлено, що всі виділені ізоляти *E. coli* були стійкими до цефазоліну, ванкоміцину, оксациліну, а 83,3 % стійкими до амоксициліну, ампіциліну, ванкоміцину, амоксиклаву, рифампіцину. 33,3 % виділених ізолятів *S. enteritidis* були помірно-чутливими до стрептоміцину, амоксициліну, ампіциліну, а 66,7 % – чутливими до ципрофлоксацину, норфлоксацину та енрофлоксацину.*

*Встановлено, що всі виділені штами *S. enteritidis* були стійкими до цефазоліну, тилозину, ванкоміцину, оксациліну, лінкоміцину та еритроміцину, 100 % чутливими до ципрофлоксацину, амікацину та офлоксацину та 68,7 % помірно-чутливими до амоксициліну та гентаміцину.*

Ключові слова: АНТИБІОТИКИ, ЧУТЛИВІСТЬ, СТІЙКІСТЬ, МІКРООРГАНІЗМИ, КИШКОВА ПАЛИЧКА, ЗОНА ЗАТРИМКИ РОСТУ.

SENSITIVITY OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM PATHOLOGICAL MATERIAL TO ANTIMICROBIAL PREPARATION

I. M. Kushnir, G. V. Kolodiy, S. D. Murska, I. S. Semen, U. Z. Berbeka, I. K. Avdosieva

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine
kolgal129@gmail.com

Excessive and uncontrolled use of antibiotics commonly results in the emergence of antimicrobial resistance (AMR). Therefore, the main aim of these studies was to determine the antibiotic susceptibility of microorganisms isolated from the pathological material.

The article describes the susceptibility of isolated strains to the following antibiotics: ampicillin, amoxicillin, oxacillin, ofloxacin, streptomycin, cefazolin, gentamicin, amikacin, amoxiclav, erythromycin, enrofloxacin, lincomycin, tetracycline, doxycycline, vancomycin, rifampicin, ciprofloxacin, norfloxacin, tylosin, nitrofurantoin, polymyxin B.

During the study of six *Escherichia coli* and three *Salmonella enteritidis* strains, it was ascertained that they demonstrated different susceptibility to the studied antibiotics, in particular, only two *E. coli* isolates, which is 33,3 %, were resistant to streptomycin, 50 % of the isolated strains were susceptible.

When determining the susceptibility, it was established that all isolated *E. coli* isolates were resistant to cefazolin, vancomycin, oxacillin, and 83,3 % were resistant to amoxicillin, ampicillin, vancomycin, amoxiclav, rifampicin.

33,3 % of *Salmonella enteritidis* isolates were moderately susceptible to streptomycin, amoxicillin, and ampicillin, and 66,7 % were sensitive to ciprofloxacin, norfloxacin, and enrofloxacin.

All isolated *S. enteritidis* strains were found to be resistant to cefazolin, tylosin, vancomycin, oxacillin, lincomycin, and erythromycin, 100 % susceptible to ciprofloxacin, amikacin, and ofloxacin and 68,7 % moderately susceptible to amoxicillin and gentamicin.

Keywords: ANTIBIOTICS, SUSCEPTIBILITY, RESISTANCE, MICROORGANISMS, *ESCHERICHIA COLI*, GROWTH RETARDATION ZONE.

Важливим завданням, що стоїть перед службою ветеринарної медицини України є забезпечення стійкого благополуччя птахівничих господарств і попередження виникнення інфекційних хвороб птиці. Для цього необхідно підвищувати ефективність господарської діяльності птахівничої галузі в Україні, що полягає не лише у її механізації, автоматизації процесів, оптимізації кормової бази, а й у забезпеченні належних умов утримання птиці з чітким виконанням ветеринарно-санітарних вимог. Саме ця галузь є складним агропромисловим виробництвом з тривалим безперервним циклом, який не можна періодично зупиняти, і де створюються умови щодо скупчення великої кількості птиці на обмежених площах та постійно існує небезпека швидкого поширення інфекційних захворювань, зокрема бактеріальної етіології (Polehenka, 2019; Shcherbakov et al., 2020).

Одне з провідних місць серед захворювань сільськогосподарських тварин та птиці займає як кишкова, так і сальмонельозна інфекція (Herman et al., 2002).

У загальній структурі патології птиці, сальмонельоз має особливе значення, що пов'язане з великою антигенною різноманітністю штамів. Економічні збитки від сальмонельозу зумовлені високою летальністю, витратами на відгодівлю перехворілих тварин, які відстають у рості і розвитку та на ветеринарно-санітарні заходи з профілактики та лікування захворювання. Крім того, перехворілі тварини протягом тривалого часу залишаються носіями і джерелом збудника інфекції (Stukan, 2011).

Тому при виникненні захворювань постає питання використання антибіотиків. Проте, надмірне чи неправильне їх використання може призвести до поширення стійких проти дії антибіотиків форм мікроорганізмів, що спричиняє виникнення антибіотикорезистентності (Ihnatov, 2001).

Стійкість мікроорганізмів до дії антибіотиків та інших протимікробних препаратів є однією з важливих детермінант вірулентності та складною проблемою сучасної ветеринарної медицини

Зростаючий рівень уваги у світі щодо появи резистентності до антибіотиків клінічно значимих патогенів призвів до створення цілої низки програм епізоотичного моніторингу у багатьох країнах світу, основними цілями яких є визначення, розуміння та прогноз тенденцій резистентності; виявлення нових механізмів резистентності; розробка, впровадження та моніторинг впливу нових рекомендацій з призначення антибіотиків, визначення спалахів інфекційних хвороб, спричинених резистентними мікроорганізмами. З огляду на це, зростання антибіотикорезистентності умовно-патогенних мікроорганізмів є актуальною проблемою сучасної ветеринарної медицини.

Лікарські засоби, які ще декілька років тому були ефективними, сьогодні втрачають свої позиції, а їх використання вимушено обмежується. І тому контроль та зменшення рівня резистентності клінічно значущих патогенів до антимікробних препаратів, можливі лише за умови комплексного підходу до розв'язання проблеми (Sorokoumova et al., 2011). Оскільки проблема резистентності кишкової палички та сальмонел, в Україні досліджено недостатньо, тому є потреба у подальшому поглибленому вивченні цього питання (Petrov, 2013).

Мета досліджень – вивчити чутливість мікроорганізмів до антибіотиків.

Матеріали і методи. Для дослідження використовували дев'ять штамів мікроорганізмів, виділених з патологічного матеріалу, з них шість – *Escherichia coli* та три – *Salmonella enteritidis*.

Відповідно до мети роботи, нами було визначено чутливість виділених штамів до таких антибіотиків: ампіциліну, амоксициліну, оксациліну, офлоксацину, стрептоміцину, цефазоліну, гентаміцину, амікацину, амоксиклаву, еритроміцину, енрофлоксацину, лінкоміцину, тетрацикліну, доксицикліну, ванкоміцину, рифампіцину, ципрофлоксацину, норфлоксацину, тилозину, нітрофурантоїну, поліміксину В.

Чутливість виділених тест-штамів мікроорганізмів до антибіотиків вивчали дискодифузійним методом (метод дисків), що є найпоширенішим методом оцінки чутливості до антибіотиків (Avdieieva et al., 2005). Метод ґрунтується на здатності антибіотиків дифундувати з просочених ними паперових дисків в поживне середовище і пригнічувати ріст мікроорганізмів посіяних на поверхні агару.

Дослідженню на антибіотикорезистентність підлягали чисті культури, які вирощували на скошеному м'ясо-пептонному агарі (МПА) впродовж 18-24 год за температури 37 °С, після чого проводили змив ізотонічним розчином натрію хлориду та готували завись на 0,5 одиниць за оптичним стандартом Мак-Фарланда. У стерильні чашки Петрі розливали по 20 см³ Мюллера-Хінтона, на поверхню середовища проводили посів бактеріальної суспензії (10⁵ КУО/см³) в об'ємі 1 см³ та рівномірно розподіляли по поверхні, надлишок рідини видаляли піпеткою. Чашки підсушували при кімнатній температурі впродовж 20-30 хв, після чого на них, на однаковій відстані, за допомогою стерильного пінцета розкладали диски з антибіотиками. Відстань від диска до краю чашки і між дисками складала 15-20 мм. Не пізніше, ніж через 30 хв після накладання дисків, чашки поміщали у термостат, і інкубували за температури 35 °С упродовж 18-24 год. Після закінчення терміну інкубації проводили вимірювання зон затримки росту навколо дисків. За їх величиною визначали чутливість виділених мікроорганізмів до антибіотиків.

За ступенем чутливості до антибіотиків мікроорганізми поділяли на три групи: 1 група – чутливі (15-25 мм); 2 група – помірно-чутливі (10-14 мм); 3 група – стійкі (10 мм і менше).

Результати й обговорення. Серед бактеріальних інфекцій, які часто реєструють на території України у сільськогосподарських тварин та птиці є ешерихіози та сальмонельози. В результаті проведених мікробіологічних досліджень, із патологічного матеріалу було виділено та ідентифіковано польові штами мікроорганізмів *Escherichia coli* та *Salmonella enteritidis*. Результати вивчення чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків наведені в таблицях 1-4.

Таблиця 1

**Чутливість мікроорганізмів, виділених із патматеріалу до антибіотиків
(діаметр зон затримки росту, мм (M±m, n=3))**

Штам мікроорганізму	Ізолят №	Стрептоміцин	Амоксициклін	Ципрофлоксацин	Ампіцилін	Норфлораксацин	Енрофлораксацин
<i>E. coli</i>	1	-	-	16,7±0,3	-	14,3±0,3	17,0±1,2
	2	11,1±0,3	-	13,3±0,3	-	11,3±0,3	-
	3	19,3±0,3	13,3±0,3	32,0±0,6	16,3±0,3	32,3±0,3	34,3±0,3
	4	-	14,3±0,3	21,7±0,3	14,3±0,3	20,3±0,3	14,3±0,3
	5	20,7±0,3	-	36,0±0,6	-	29,7±0,3	31,7±0,3
	6	19,3±0,3	-	31,±0,3	-	22,0±0,6	21,3±0,3
<i>S. enteritidis</i>	7	11,7±0,3	11,7±0,3	29,3±0,3	11,3±0,3	-	-
	8	14,7±0,3	10,7±0,3	31,3±0,3	-	29,3±0,3	27,7±0,3
	9	25,7±0,3	17,0±0,6	29,3±0,3	15,3±0,3	26,7±0,3	29,3±0,3

Примітка: у цій і наступних таблицях: – зона затримки росту відсутня

Виділені польові штами мікроорганізмів *E. coli* (табл. 1) проявляли різну чутливість до досліджуваних антибіотиків, зокрема резистентними до стрептоміцину виявились лише два ізоляти *E. coli* (№ 1 та 4), що складає 33,3 %, чутливими – три ізоляти (№ 3, 5, 6) із зонами затримки росту від 19,3 до 20,7 мм, що у відсотковому відношенні становить 50 %.

Виділені штами *E. coli* ізоляти № 3 та 4 були чутливими та помірно-чутливими до амоксициліну та ампіциліну та №1, 2, 5, 6 – стійкими. Якщо говорити про ципрофлоксацин, то всі штами були помірно - чутливі та чутливі, із зонами затримки росту від 16,7 до 36 мм. Штами мікроорганізмів *E. coli* (№ 1, 3, 4, 5, 6) були чутливими до норфлораксацину та енрофлораксацину, що складає 83,3 %.

Виділений ізолят *Salmonella enteritidis* № 7 був помірно-чутливий до стрептоміцину, амоксициліну, ампіциліну та резистентними до норфлораксацину та енрофлораксацину, а ізоляти № 8 та 9 були чутливими до ципрофлоксацину, норфлораксацину та енрофлораксацину із зонами затримки росту від 19,3 до 31,3 мм.

Таблиця 2

**Чутливість мікроорганізмів, виділених із патматеріалу до антибіотиків
(діаметр зон затримки росту, мм (M±m, n=3))**

Штам мікроорганізму	Ізолят №	Гентаміцин	Амікацин	Тетрациклін	Цефазолін	Тилозин
<i>E. coli</i>	1	29,7±0,3	21,3±0,7	18,7±0,3	-	19,3±0,3
	2	-	16,3±0,3	-	-	-
	3	29,3±0,3	22,7±0,3	21,7±0,3	-	-
	4	16,3±0,3	20,7±0,3	10,0±0,6	-	-
	5	-	22,3±0,3	16,0±0,6	-	-
	6	31,7±0,3	21,3±0,3	-	-	-
<i>S. enteritidis</i>	7	10,7±0,3	25,7±0,3	21,3±0,3	-	-
	8	10,7±0,3	24,7±0,3	-	-	-
	9	28,0±0,6	23,3±0,3	17,7±0,3	-	-

Як бачимо, резистентними до гентаміцину (табл. 2) були два штами *E. coli* № 2 та 5, високо-чутливими – чотири із зонами затримки росту від 29,7 до 31,7 мм. Високо-чутливими

до амікацину всі шість штамів, із зонами затримки росту від 16,3 до 22,7 мм. До цефазоліну та тилозину майже всі штами виявились стійкими.

Високочутливим до гентаміцину був ізолят *Salmonella enteritidis* № 9, а до амікацину ізоляти № 7, 8, 9, при цьому зони затримки росту становили 23,3 – 25,7 мм та стійкими № 7 і 9 до цефазоліну і тилозину.

Таблиця 3

**Чутливість мікроорганізмів, виділених із патматеріалу до антибіотиків
(діаметр зон затримки росту, мм (M±m, n=3))**

Штам мікроорганізму	Ізолят №	Нітрофурантоїн	Ванкоміцин	Амоксиклав	Оксацилін	Поліміксин В
<i>E. coli</i>	1	22,3±0,3	-	-	-	15,7±0,3
	2	15,0±0,6	-	-	-	15,3±0,3
	3	18,0±0,6	-	12,0±0,6	-	15,3±0,3
	4	19,1±0,3	-	11,3±0,3	-	16,0±0,3
	5	16,0±0,3	-	-	-	17,3±0,3
	6	13,7±0,3	-	-	-	14,3±0,3
<i>S. enteritidis</i>	7	15,7±0,3	-	17,0±0,6	-	14,0±0,6
	8	18,7±0,3	-	15,0±0,6	-	-
	9	12,7±0,3	-	15,0±0,6	-	17,3±0,3

У результаті проведених досліджень було встановлено, що всі виділені штами мікроорганізмів *Escherichia coli* та *Salmonella enteritidis* (табл. 3) були стійкими до ванкоміцину та оксациліну, помірно-чутливими та чутливими до нітрофурантоїну, № 3 та 4 *Escherichia coli* – помірно-чутливими до амоксиклаву. Чутливими до поліміксину В були штами № 1-7 та 9, при цьому зони затримки росту були в межах 14,3 – 17,3 мм.

Таблиця 4

**Чутливість мікроорганізмів, виділених із патматеріалу до антибіотиків
(діаметр зон затримки росту, мм (M±m, n=3))**

Штам мікроорганізму	Ізолят №	Рифампіцин	Офлоксацин	Лінкоміцин	Еритроміцин	Доксицилін
<i>E. coli</i>	1	-	14,3±0,3	-	-	-
	2	-	15,0±0,6	-	-	-
	3	-	24,7±0,3	11,3±0,3	-	15,0±0,6
	4	-	18,6±0,7	-	12,0±0,6	-
	5	11,7±0,3	29,3±0,3	-	-	16,7±0,3
	6	10,7±0,3	20,3±0,3	-	-	11,3±0,3
<i>S. enteritidis</i>	7	-	23,3±0,3	-	-	10,3±0,3
	8	15,0±0,6	29,7±0,3	-	-	-
	9	-	31,3±0,3	-	-	14,7±0,3

Як видно з даних таблиці 4, більшість досліджуваних тест штамів були стійкими до рифампіцину, лінкоміцину та еритроміцину. При цьому чутливими до офлоксацину були всі досліджувані ізоляти із зонами затримки росту від 14,3 до 31,3 мм. Щодо доксициліну, то різні ізоляти мали різну чутливість до цього антибіотику, зокрема три виділені ізоляти кишкової палички були помірно-чутливими із зонами затримки росту, відповідно 15, 16,7 та 11,3 мм та три – стійкими, зокрема штами № 1, 2 та 4.

ВИСНОВКИ

1. При проведенні ідентифікації культур, виділених з патологічного матеріалу, виділено шість ізолятів *Escherichia coli* та три – *Salmonella enteritidis*.

2. При визначенні чутливості встановлено, що всі виділені ізоляти *E. coli* були стійкими до цефазоліну, ванкоміцину, оксациліну, а 83,3 % стійкими до амоксациліну, ампіциліну, ванкоміцину, амоксиклаву, рифампіцину.

3. Встановлено, що всі виділені штами *S. enteritidis* були стійкими до цефазоліну, тилозину, ванкоміцину, оксациліну, лінкоміцину та еритроміцину, 100 % чутливими до ципрофлоксацину, амікацину та офлоксацину і 68,7 % помірно-чутливими до амоксациліну та гентаміцину.

Перспективи досліджень. Вивчити чутливість виділених ізолятів до дезінфікуючих засобів.

References

Avdieieva, L.V., Polishchuk, O.I., Pokas, O.V. (2005). Metodolohichni pidkhody do vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybiotykyv// Laboratorna diahnozyka. 3(33). 35-40. [in Ukrainian].

Ihnatov, V.V. (2001). Epizootychnyi monitorynh infektsiinykh khvorob ptytsi. Veterynarna medytsyna Ukrainy. 6. 21-25. [in Ukrainian].

Herman, V.V., Stehni, B.T., Verbytskyi, P.I. et al. (2002). Dovidnyk z khvorob ptytsi Kh., 296. [in Ukrainian].

Petrov, Y.F. (1988). Parazytosenozy y assotsyatyvnie bolezny s.-kh. zhyvotnykh y ptytsi. L.: Ahropromyzzdat. 147. [in Russian].

Polehenka, M.A. (2019). Analiz suchasnoho stanu vyrobnytstva produktsii ptakhivnytstva v Ukraini. Ekonomika ta derzhava. 3. 137–143. [in Ukrainian].

Shcherbakov, P.N., Shniakyna, T.N., Shcherbakova, T.B., Stepanova, K.V. (2020). Yzmeneniya mykrobyotsenoza podstylochnoho materyala pry pryimenenyyu sanytarno-hyhyenycheskoho sredstva. Veterynariya. 7. 60–62. [in Russian].

Sorokoumova, L.K. Petrashenko, P.R., Moysenko, T.M. Volkov, T.O. (2011). Vplyv antyseptychnykh preparativ na formuvannia rezystentnosti u bakterii. Materialy XV zizdu ukrainskoho naukovomedychnoho tovarystva mikrobiolohiv, epidemiolohiv ta parazytolohiv im. D. K. Zabolotnoho „Problemy ta evoliutsiia epidemichnoho protsesu i parazytarnykh system providnykh infektsii suchasnosti”. Kharkiv, 79. [in Ukrainian].

Stukan, O.K. (2011). Doslidzhennia protymikrobnnykh vlastyvostei antyseptychnykh preparativ. Problemy ta evoliutsiia epidemichnoho protsesu i parazytarnykh system providnykh infektsii : XV zizd Ukrainskoho naukovomedychnoho tovarystva mikrobiolohiv epidemiolohiv ta parazytolohiv im. D. K. Zabolotnoho, 23-25 lystopada 2011. Kharkiv, 78. [in Ukrainian].