

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:579.842.14:615.33.015.8(477.63)

DOI 10.36016/VM-2019-105-3

АНАЛІЗ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ *SALMONELLA* SPP. У ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ (УКРАЇНА)

Мартиненко Г. А.

Дніпровська експериментально-інноваційна група ветеринарної медицини
Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Дніпро, Україна, e-mail: anna29.10.76@i.ua

У статті наведені узагальнені результати бактеріологічних досліджень різних груп тварин, що були проведені протягом 2014–2018 рр. у Дніпропетровській області, та доведено стабільно високий рівень ($86 \pm 3,7$ %) висівання грам-негативних мікроорганізмів. Встановлено, що домінуючими збудниками в досліджуваному регіоні були представники родини *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Salmonella* spp.), дані щодо яких можна використовувати в якості сурогатних маркерів резистентності. Визначені епізоотологічні закономірності сальмонельозу тварин і представлені дані стосовно резистентності збудника одного із найбільш поширених зоонозів. Також показана можливість прогнозування розповсюдження антибіотикорезистентних штамів у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду

Ключові слова: антибіотикорезистентність, *Salmonella* spp., тварини, прогнозування

На сьогоднішній день однією з актуальних проблем ветеринарної та гуманної медицини залишається сальмонельоз [1]. Джерелом інфекції можуть бути тварини і люди, причому роль тварин в епідеміології є основною [2]. Існує безліч публікацій щодо харчових отруєнь у людей, що були спричинені стійкими штамми цього збудника. Спектр резистентності *Salmonella* spp., виділених від тварин, нерідко є наслідком селекційного тиску антибіотиків, які використовуються у тваринництві. Більш того, дані з країн ЄС свідчать, що нечутливість сальмонели, ізолюваної від свиней, ВРХ і курчат, у значній мірі подібна спектру резистентності до антибактеріальних препаратів сальмонели, яка виділена з відповідних харчових продуктів і від людей [3].

Мета роботи. Вивчення видового складу циркулюючих у регіоні патогенів та резистентності до антибактеріальних препаратів у збудника одного із найбільш поширених зоонозів — сальмонельозу.

Матеріали та методи. У період 2014–2018 рр. у Дніпропетровській області вивчали якісний склад мікрофлори з біологічного та патологічного матеріалів від різних груп тварин. Аналізували власні дослідження, а також результати ветеринарної статистичної звітності регіону. Бактеріологічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою, ідентифікуючи бактерії до виду. Одночасно з вивченням морфологічних, культуральних, ферментативних і патогенних властивостей бактерій виконували типізацію культур у реакції аглютинації з використанням тест-реагентів Sifin, Німеччина. Антибіотикочутливість ізолюваних штамів визначали диско-дифузійним методом із застосуванням стандартних паперових дисків, виробництва ТОВ «Аспект». Оцінку зон пригнічення росту бактерій здійснювали за нормами для клінічних ізолятів, згідно до методичних вказівок [4]. У роботі застосовували антибактеріальні препарати з п'яти груп, які найбільш часто використовують у ветеринарній практиці. Усі отримані кількісні результати досліджень піддавали статистичній обробці з використанням спеціалізованої комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень. Аналіз результатів бактеріологічних досліджень у Дніпропетровській області свідчить, що виділення грам-негативних бактерій від ДРХ, ВРХ, хутрових, свиней, птиці, риб, бджіл, ембріонів у всі строки спостереження залишалося стабільно високим ($86 \pm 3,7$ %). Усього за п'ять років було виявлено та вивчено 237 культур грам-негативних бактерій. Так, домінуючим представником у досліджуваному регіоні була *E. coli* (56,7 %) з родини

Enterobacteriaceae. Друге місце за частотою виявлення у патологічному матеріалі посідала *Salmonella* spp. (10,5 %), що підтверджує убіквітарність цієї інфекції.

Усього було ізолювано 29 культур збудника сальмонельозу від шести видів тварин (цесарок, курей, гусей, свиней, ВРХ, нутрій) із превалюванням частки пташиних ізолятів (86 %). Дані бактеріологічних досліджень свідчать, що для сільськогосподарської птиці різних вікових груп характерним було виявлення *S. Gallinarum-Pullorum* (56 %) та *S. Enteritidis* (32 %).

Виділення нерухомих серотипів *S. Gallinarum-Pullorum* доводить можливість вертикального шляху інфікування поголів'я і є одним із основних факторів ризику для птиці у регіоні. Присутність рухливих серотипів сальмонели (*S. Enteritidis*), здатної спричиняти системні ураження організму птиці, підтверджують потенціальний ризик розвитку зоонозів. Також у поодиноких випадках зафіксовано наявність нетипізованої пташиної сальмонели групи В (4 %). Під час підтвердження діагнозу на сальмонельоз характерним для ВРХ був сероваріант *S. Enteritidis Gartneri*, а для свиней — *S. Typhimurium* та *S. Typhi*. Отже, на території Дніпропетровської області доведено домінування сальмонели групи D (86,2 %).

Окрім видового типування циркулюючого у Дніпропетровській області збудника сальмонельозної інфекції було визначено спектр його антибіотикорезистентності. Так, розповсюдження стійкої до антибіотиків *Salmonella* spp. складало 96,55 %. Під час зіставлення результатів досліджень встановлено переважання частки культур збудника резистентних до двох препаратів (58,6 %), у той час як кількість культур резистентних до п'яти антибіотиків складала 20,69 %.

У процесі роботи визначено високу активність шести β -лактамів (цефазолін, цефаклор, цефтріаксон, ампіцилін, амоксицилін, карбеніцилін), нечутливими до них були від 3,4 до 13,8 % досліджених культур *Salmonella* spp. Одним із представників цієї групи з підтвердженою клінічною ефективністю є ампіцилін. Його високу активність доводить низький рівень виявлення нечутливих культур сальмонели у 2014–2017 рр. — 3,4 %.

Оцінка резистентності до трьох представників групи тетрациклінів (тетрациклін, доксициклін, хлортетрациклін) показала, що нечутливими були від 6,9 до 17,2 % досліджених культур сальмонели.

Аналіз резистентності до двох представників групи поліміксинів (поліміксин, фосфоміцин) засвідчив, що кількість нечутливої *Salmonella* spp. коливалась від 6,9 до 17,2 %.

Стійкість досліджених культур *Salmonella* spp. до трьох представників аміноглікозидів (гентаміцин, стрептоміцин, канаміцин) реєструвалась у межах від 17,2 до 31,0 %.

Вивчення резистентності до чотирьох представників фторхінолонового ряду (норфлоксацин, офлоксацин, енрофлоксацин, флюмеквін) продемонструвало, що питома вага стійких культур *Salmonella* spp. варіювала від 3,4–44,8 %. Так, найбільш високі показники резистентності визначалися до норфлоксацину (44,8 %) і офлоксацину (24,1 %), які входять до рекомендованого переліку антибіотиків першого ряду для встановлення чутливості Enterobacteriaceae, виділених при кишкових інфекціях. Зважаючи, що *E. coli* — домінуючий представник у досліджуваному регіоні (56,7 %), були проаналізовані дані та встановлено, що відсоток її резистентних культур до норфлоксацину складав 37,9 %.

Враховуючи високий рівень резистентності до норфлоксацину серед домінуючих у Дніпропетровській області збудників родини Enterobacteriaceae було проведено її прогнозування у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду (рис.). Під час вибору залежностей враховували величину достовірності (R), шляхом їх порівняння. Графічне відображення прогнозу проводили на один період вперед.

Обговорення. Превалювання культур збудника *Salmonella* spp., виділених від птиці, пояснює сучасну епідеміологічну особливість виникнення позалікарняного сальмонельозу, а саме збільшення числа харчових спалахів, що пов'язані насамперед із вживанням птахопродуктів [5].

Оскільки при генералізованих інфекціях, спричинених мікроорганізмами роду *Salmonella* (виділення збудника зі стерильних локусів), у дослідження рекомендовано включати цефалоспорины III покоління [4], у процесі роботи було проведено порівняння рівня резистентності *Salmonella* spp. до цефтріаксону з даними по Україні за 2006–2012 рр. [6] і встановлено збереження його низького рівня (13,8 %). Також, аналіз показників по країні за 2006–2012 рр. свідчить про збільшення питомої ваги резистентних *Salmonella* spp. до тетрацикліну на 15,6 %.

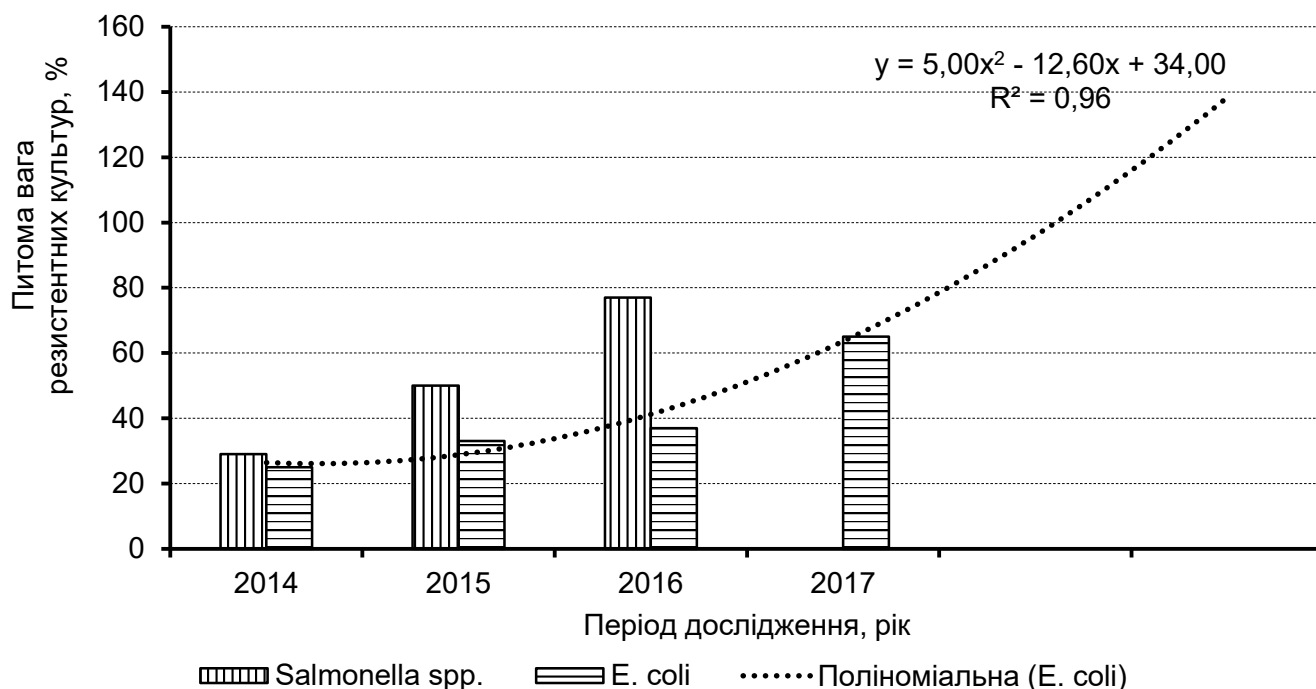


Рис. Прогнозування розповсюдження культур Enterobacteriaceae, резистентних до норфлуксацину.

Окрім того, зіставлення власних результатів із даними по Україні за 1996–2012 рр. показало формування тенденції до збільшення питомої ваги резистентних *Salmonella* spp. до поліміксину на 17,2 %, оскільки у попередні роки згідно з повідомленнями В. О. Бубало [6] спостерігали 100 % чутливість штамів. Порівняльний аналіз із показниками за 2006–2012 рр. свідчить про збільшення питомої ваги резистентних культур сальмонели до гентаміцину на 31 %, стрептоміцину на 15,7 % та до канаміцину на 14,0 %.

Таким чином, як видно з наведених даних, збільшення антибіотикорезистентності у патогенної *Salmonella* spp. спостерігали до β-лактамних антибіотиків (цефазолін, цефтріаксон), до аміноглікозидів (гентаміцин, стрептоміцин, канаміцин), а також до тетрацикліну та поліміксину. Особливе занепокоєння викликає зростання стійкості до хінолонів і цефалоспоринів, бо ці групи протимікробних препаратів входять до складеного ВОЗ списку антибіотиків, критично важливих для медицини [7].

Запропонована можливість використання рівняння лінійного тренду для опису довготривалої тенденції зміни резистентності також відображена і в роботах закордонних авторів [8].

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. У процесі роботи доведено, що Дніпропетровська область є географічною зоною зі стабільно високим рівнем ($86 \pm 3,7$ %) висівання грам-негативних мікроорганізмів серед бактерій, виділених від різних груп тварин.

2. Встановлено, що домінуючими збудниками в досліджуваному регіоні були представники родини Enterobacteriaceae (*E. coli*, *Salmonella* spp.), дані щодо яких можна використовувати в якості сурогатних маркерів резистентності.

3. Визначені епізоотологічні закономірності сальмонельозу тварин, а саме: провідна роль птиці, як джерела інфекції для птахопоголів'я (*S. Gallinarum-Pullorum*, *S. Enteritidis*) і людей (*S. Enteritidis*); домінування полірезистентних культур *Salmonella* spp. (93,1 %) та їх високий рівень резистентності до норфлуксацину (44,8 %).

4. Показана можливість прогнозування розповсюдження антибіотикорезистентних штамів у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду, шляхом використання кількісної інформації щодо чутливості бактерій.

5. Перспективами подальших досліджень є попередження та контроль виникнення стійкості до антибактеріальних препаратів у ветеринарній медицині та сільському господарстві регіону й країни в цілому.

Список літератури

1. Глебова, Е. В. Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от сельскохозяйственной птицы [Электронный ресурс] / Е. В. Глебова, О. В. Майборода // Актуал. вопр. вет. биологии. — 2014. — № 2 (22). — С. 40–43. — Режим доступа : <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21607393>.
2. Сальмонеллез [Электронный ресурс]: справочник // Библиотека «Здоровье Украины». — Режим доступа : <http://www.dovidnyk.org/dir/27/156/1672.html>.
3. European Food Safety Authority. The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004–2007 [Electronic resource] // EFSA Journal. — 2010. — Vol. 8, iss. 4. — P. 1309–1615. — Access mode : <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1309>.
4. Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [Текст] / Т. О. Гаркавенко [та ін.]. — Київ : Держ. наук.-досл. ін-т з лаб. діагностики та вет.-сан. експертизи, 2014. — 78 с.
5. Куликовский, А. Сальмонеллез: мониторинг необходим [Электронный ресурс] / А. Куликовский // Животноводство России. Спецвыпуск по птицеводству. — 2016. — № 1 — С. 63–64. — Режим доступа : <http://zzr.ru/zzr-2016-pt-025>.
6. Bubalo, V. O. Sensitivity to antibiotics among strains of *Salmonella* current, which circulates in the past 10 years in Ukraine / V. O. Bubalo // The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series : Medicine. — 2013. — No. 26(1090). — P. 9–16. — Access mode : http://nbuv.gov.ua/UJRN/VKhM_2013_1090_26_4.
7. ВОЗ. Борьба с устойчивостью к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов в Европе [Электронный ресурс]. — Копенгаген, 2011. — Режим доступа : <http://www.euro.who.int/ru/publications/abstracts/tackling-antibiotic-resistance-from-a-food-safety-perspective-in-europe>.
8. Каркач, А. С. Прогнозирование распространения резистентных штаммов гонореи [Электронный ресурс] / А. С. Каркач, К. К. Авилов // XII Всероссийское совещание по проблемам управления ВСПУ-2014 (Москва, 16–19 июня 2014 г.) : труды. — Москва, 2014. — С. 6722–6731. — Режим доступа: <http://vspu2014.ipu.ru/proceedings/prcdngs/6722.pdf>.

ANALYSIS AND FORECASTS OF *SALMONELLA* SPP. ANTIBIOTIC RESISTANCE IN DNIPROPETROVSK REGION (UKRAINE)

Martynenko H. A.

*Dnipro Veterinary Medicine Experimental-Innovative Group of the National Scientific Center
“Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Dnipro, Ukraine*

*The paper presents data of the research aimed at studying the species composition of major pathogens circulating in the region and the resistance to antibacterial drugs in pathogens of salmonella, one of the most common zoonoses. Within the period 2014–2018 the qualitative composition of microflora from biological and pathological materials from different groups of animals was studied in Dnipropetrovsk region. Own research results and the results of the regional veterinary statistical reporting were analyzed. Within the short period of five years, 237 cultures of Gram-negative bacteria were detected and studied. The dominant agent in the studied region was *E. coli* (56.7%) from the Enterobacteriaceae family. The second most frequent agent in the pathology was *Salmonella* spp. (10.5%). In total, 29 cultures of salmonella infection were isolated from six species of animals with a predominance of bird isolates. Thus, for different age groups of poultry the most common were *S. Gallinarum-Pullorum* (56%) and *S. Enteritidis* (32%). An antibiotic resistance increase in pathogenic salmonella was observed for β -lactam antibiotics (cefazolin, ceftriaxone), aminoglycosides (gentamicin, streptomycin, kanamycin), as well as for tetracycline and polymyxin. Taking into consideration the high level of resistance against norfloxacin in the region's dominant pathogens of the Enterobacteriaceae family, we performed a forecast in MS Excel graphically and added a trend line. In the course of work it was proved that the Dnipropetrovsk region is a geographic zone with a stable high ($86 \pm 3.7\%$) allocation from different groups of animals of Gram-negative microorganisms. It was found that local dominant pathogens are representatives of the Enterobacteriaceae family (*E. coli*, *Salmonella* spp.). This data can be used as surrogate resistance markers. The epizootological patterns of animal salmonellosis are determined. It is shown the possibility of forecasting the distribution of antibiotic resistant strains in MS Excel in graphical form by adding a trend line, using quantitative information on the sensitivity of bacteria. Prospects for further research are the prevention and control of the emergence of resistance to antibiotics in veterinary medicine and agriculture in the region and in the country*

Keywords: antibiotic resistance, *Salmonella* spp., animals, forecasts