

УДК 619:579.842.11

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ СВИНЕЙ И ИНДЮКОВ К НЕКОТОРЫМ АНТИБИОТИКАМ

Пасунькина М.А., Онищенко Н.Г.

Крымская опытная станция ННЦ «ИЭКВМ», г. Симферополь

Великое открытие британского бактериолога Александра Флеминга в 1929 году [1] положило начало новой эре взаимоотношений между человечеством и царством микробов. К сожалению, то, что на протяжении многих лет было панацеей, в настоящий момент из-за чрезмерного и не всегда обоснованного применения становится причиной появления суперустойчивых микроорганизмов [2, 3].

Как сообщает Управление по контролю качества продуктов и лекарств США (FDA), в попытке защитить важный класс антибиотиков для лечения людей и снижения развития лекарственной устойчивости, введен запрет на использование некоторых видов цефалоспоринов в продовольственном животноводстве, так как это приводит к развитию и распространению резистентных бактерий и генов от животных к людям через пищевую цепь [4].

Полностью исключить применение антибактериальных препаратов в животноводстве невозможно. Связано это с тем, что, во-первых, в промышленном производстве сложно исключить скученное содержание животных, что предопределяет распространение различных инфекций; во-вторых, выращивание и содержание животных предусматривает медикаментозную обработку; в-третьих, широкомасштабная профилактика антибиотиками необходима при транспортировке животных.

В настоящее время описано более 2000 антибиотиков, изучено полностью или частично строение более 600, из которых ряд синтезирован. Однако в практике применяют примерно 50 препаратов, так как многие антибиотики токсичны для человека и животных.

В последние десятилетия в результате длительного, а иногда и неправильного применения антибиотиков (с лечебными и профилактическими целями), появились резистентные штаммы патогенных микроорганизмов и, как следствие, значительно уменьшилась эффективность этих препаратов [5–8].

Одним из главных элементов рационального применения антибиотиков в ветеринарии при инфекционных болезнях животных и птиц является определение чувствительности возбудителя к химиотерапевтическим средствам. Это позволяет выбрать наиболее эффективный препарат из числа рекомендованных при этом заболевании, и своевременно заменить длительно применяемые антибиотики другими.

Цель работы – изучение чувствительности культур микроорганизмов, выделенных от свиней и индюков к некоторым антимикробным препаратам.

Материалы и методы. Работу проводили в течении 2011–2012 гг. на базе лаборатории диагностики инфекционных болезней животных Крымской опытной станции ННЦ «ИЭКВМ». Биологический материал поступал из свиноводческих и птицеводческих хозяйств АР Крым (трупы поросят, индюшат, смывы со слизистых оболочек взрослых свиней).

Для определения чувствительности к антибиотикам использовали метод диффузии в агар с применением стандартных дисков производства ООО «Аспект» и НИЦФ, которые содержали следующие антибиотики: оксациллин, ампициллин, амоксициллин, цефтриаксон, стрептомицин, гентамицин, неомицин, полимиксин, окситетрациклин, тилозин, ко-тримоксазол, энрофлоксацин.

Для определения чувствительности микробной культуры к антибиотикам смыв в объеме 1,0 мл двухмиллиардной суспензии испытуемой культуры засеивали на чашку Петри с мясопептонным агаром. На засеянные и подсушенные чашки пинцетом (стерильно) накладывали бумажные диски, пропитанные различными антибиотиками. Диски размещали на расстоянии двух сантиметров от края чашки и на равном расстоянии один от другого. Чашки помещали в термостат при температуре 37 °С. Учет результатов проводили через сутки по наличию или отсутствию роста микробов вокруг дисков.

Появление зон задержки роста культур микроорганизмов вокруг дисков указывало на ингибирующее действие антибиотиков. Оценка результатов производилась с помощью линейки. Измеряли диаметр зон задержки роста культур микроорганизмов вокруг бумажных дисков, включая диаметр самого бумажного диска. Если зона задержки роста вокруг диска отсутствовала, то, следовательно, культура микроорганизмов устойчива к данному антибиотику. Культура малочувствительна, когда зона задержки роста диаметром до 15 мм, чувствительна – от 15 до 25 мм и высокочувствительна при зоне задержки более 25 мм.

Результаты исследований и их обсуждение. Систематическое изучение уровня чувствительности возбудителей инфекционных болезней к антибиотикам является важным элементом рациональной терапии, позволяющей своевременно устанавливать появление резистентных штаммов, прогнозировать результативность использования антибиотиков в животноводческих хозяйствах и определять направление в изыскании новых лечебных средств.

В ходе бактериологических исследований патологического материала от свиней и индюков в 2011 и 2012 гг. было выделено 58 и 72 культуры патогенных микроорганизмов соответственно. За исследуемый период основными возбудителями бактериальных инфекций были *Escherichia coli* (40 культур) и *Staphylococcus spp.* (26 культур) (табл. 1).

Таблица 1 – Спектр и количество выделенной микрофлоры от свиней и индюков за период 2011–2012 гг.

№	Возбудитель	Количество выделенных бактериальных культур		
		2011 год	2012 год	Всего
1.	<i>Escherichia coli</i>	18	22	40
2.	<i>Enterobacter spp.</i>	6	14	20
3.	<i>Klebsiella spp.</i>	0	10	10
4.	<i>Salmonella spp.</i>	4	4	8
5.	<i>Pasteurella spp.</i>	2	2	4
6.	<i>Streptococcus spp.</i>	10	6	16
7.	<i>Staphylococcus spp.</i>	18	8	26
8.	<i>Neisseria spp.</i>	0	6	6
	Всего	58	72	130

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

Результаты определения чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Чувствительность выделенных возбудителей бактериальных инфекций к антибиотикам (зона задержки роста 15–25 мм) за период 2011–2012 гг.

№ п/п	Антибиотик	Бактериальные культуры															
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterobacter spp.</i>		<i>Klebsiella spp.</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>Pasteurella spp.</i>		<i>Streptococcus spp.</i>		<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>Neisseria spp.</i>	
		К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%
1.	Оксациллин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	3	11,1	0	0
2.	Ампициллин	0	0	0	0	0	0	-	-	2	100	6	50	5	33,3	0	0
3.	Амоксициллин	0	0	2	33,3	-	-	-	-	0	0	0	0	5	50	3	100
4.	Стрептомицин	2	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	20	0	0
5.	Гентамицин	28	85,6	12	100	3	33,3	4	66,6	2	100	2	20	4	50	0	0
6.	Неомицин	9	50	5	100	3	33,3	-	-	0	0	8	100	7	100	2	50
7.	Полимиксин	6	21,4	2	14,3	2	20	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
8.	Окситетра-циклин	4	13,3	4	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Тилозин	0	0	0	0	2	25	0	0	3	100	2	33,3	0	0	0	0
10.	Ко-тримоксазол	3	10	2	16,7	2	33,3	0	0	0	0	2	25	5	50	0	0
11.	Энрофлоксацин	4	20	3	50	0	0	0	0	-	-	0	0	6	75	-	-
12.	Цефтриаксон	5	100	6	100	4	100	-	-	-	-	5	100	4	100	5	100

В наших исследованиях к оксациллину (антибиотику из группы полусинтетических пенициллинов, активному только в отношении грамположительной микрофлоры и грамотрицательных кокков) проявляют чувствительность только 11,1 % *Staphylococcus spp.*

К ампициллину, полусинтетическому пенициллину широкого спектра действия, чувствительными были лишь 33,3 % *Staphylococcus spp.*, 50 % *Streptococcus spp.* и 100 % *Pasteurella spp.*

К амоксициллину, полусинтетическому пенициллину широкого спектра действия, проявляли чувствительность 33,3 % *Enterobacter spp.*, 50 % *Staphylococcus spp.* и 100 % *Neisseria spp.*

К стрептомицину (антибиотику из группы аминогликозидов) чувствительность большинства штаммов выделенных микроорганизмов была низкой. Только 33,3 % *Escherichia coli* и 20 % *Staphylococcus spp.* были чувствительны к данному препарату

Так, спектр антимикробного действия гентамицина (антибиотика из группы аминогликозидов) был высоким к большинству штаммов микроорганизмов: 100 % *Pasteurella spp.* и *Enterobacter spp.*, 85,6 % *Escherichia coli*, 66,6 % *Salmonella spp.*, 50 % *Staphylococcus spp.*, 33,3 % *Klebsiella spp.*, 20 % *Streptococcus spp.*

Неомицин (антибиотик из группы аминогликозидов) показал высокий спектр антимикробного действия, к нему были чувствительны 100 % *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*, 50 % *Escherichia coli* и *Neisseria spp.*, 33,3 % *Klebsiella spp.*

Чувствительность выделенной микрофлоры к полимиксину (антибиотику из группы полипептидов, обладающего преимущественной активностью в отношении грамотрицательных бактерий) была невысокой. Спектр антимикробного действия полимиксина распространялся на 21,4 % *Escherichia coli*, 20 % *Klebsiella spp.* и 14,3 % *Enterobacter spp.*

Чувствительность выделенной микрофлоры к окситетрациклину (антибиотику широкого спектра действия из группы тетрациклинов) была очень низкой. К данному препарату чувствительность проявляли 13,3 % *Escherichia coli* и 25 % *Enterobacter spp.*

Спектр антимикробного действия тилозина (антибиотик из группы макролидов, обладающего преимущественной активностью в отношении грамотрицательных бактерий) был невысокий. Спектр антимикробного действия распространялся на 100 % *Pasteurella spp.*, 33,3 % *Streptococcus spp.* и 25 % *Klebsiella spp.*

К ко-тримоксазолу (комбинированный противомикробный препарат широкого спектра действия, состоящий из сульфаметоксазола и триметоприма) проявляют чувствительность 50 % *Staphylococcus spp.*, 33,3 % *Klebsiella spp.*, 25 % *Streptococcus spp.*, 16,7 % *Enterobacter spp.*, 10 % *Escherichia coli*.

Энрофлоксацин (антибиотик из группы фторхинолонов) обладает средним спектром антимикробного действия. К нему чувствительны 75 % *Staphylococcus spp.*, 50 % *Enterobacter spp.* и 20 % *Escherichia coli*.

Чувствительность к цефтриаксону (антибиотику из группы цефалоспоринов) была стабильно высокой (100 %) на протяжении всего периода исследований у всех исследуемых микробных культур.

Таким образом, как показали наши исследования в настоящее время число антибиотиков, к которым чувствительна патогенная микрофлора, быстро сокращается. При этом необоснованное применение антимикробных препаратов для лечения и профилактики заболеваний может привести к весьма нежелательным последствиям.

Выводы: 1. Наиболее часто выделяемыми возбудителями бактериальных инфекций свиней и индюков являются культуры *Escherichia coli* и *Staphylococcus spp.*

2. Наибольшая антибактериальная активность установлена у цефтриаксона, неомицина и гентамицина, а наименьшая у окситетрациклина и ампициллина.

Список литературы

- Ваксман, З.А. Антибиотики, их природа, получение и применение [Текст] : лекции / З.А. Ваксман. – М. : Изд-во АН Союза ССР, 1946. – 110 с.
- Шостакович-Корецкая, Л.Р. Проблема антимикробной резистентности в терапии острых респираторных заболеваний у детей [Текст] / Л.Р. Шостакович-Корецкая // Современная педиатрия. – 2012. – № 1. – С. 70–75.
- Beloeil, P. Борьба с устойчивостью к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов в Европе [Text] / P. Beloeil [at al.] // Всемирная организация здравоохранения. – Европейское региональное бюро. – 2012. – 80 с.
- Использование антибиотиков в сельскохозяйственном производстве США и стран Европейского Сообщества [Электронный ресурс]. – Режим доступа : URL: <http://www.portal-slovo.ru/art/36424.php?PRINT=Y>. – Заглавие с экрана.
- Авдеева, А.В. Проблема резистентности

микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Текст] / А.В. Авдеева // Лаб. диагностика. – 1998. – № 3 (5). – С. 36–38. 6. Сидоренко, С.В. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам [Текст] / С.В. Сидоренко, В.И. Тишков // Успехи биол. химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263–306. 7. Особенности применения антибиотиков в ветеринарной практике [Электронный ресурс]. – Режим доступа : URL: <http://www.vetorg.ru/articles/item-39.html>. – Заглавие с экрана. 8. Проблема антибиотикорезистентності у ветеринарній медицині [Текст] / М. Косенко [та ін.] // Вет. медицина України. – 2005. – № 1. – С. 38–39.

SENSITIVITY OF AGENTS OF BACTERIAL INFECTIONS OF PIGS AND TURKEYS TO SOME ANTIBIOTICS

Pasun'kina M.A., Onishchenko N.G.

Crimean Experimental Station of the NSC "IECVM", Simferopol

In the article there are presented the results concerning detection of sensitivity of the isolated cultures of microorganisms from pigs and turkeys to commonly used antibiotics. Analysis of the results has shown that the most of the cultures of isolated microorganisms were not sensitive to the antibiotics studied, with the exception of ceftriaxone, gentamicin and neomycin.

УДК 619:636.1

КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСУ ГЕРПЕСУ ДРУГОГО ТИПУ, ЙОГО КОНЦЕНТРУВАННЯ ТА КРІОКОНСЕРВУВАННЯ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР

Радзиховський М.Л.

Житомирський національний агроєкологічний університет, м. Житомир

Герпесвірусна інфекція поширена серед людей і тварин. До родини герпесвірусів належать віруси, які вражають центральну нервову систему (енцефаліт, мієліт, енцефаломієліт), органи зору (кератит, кератокон'юнктивіт), слизові оболонки ротової порожнини (стоматит) і шкіряний покрив (екзема, везикулярний дерматит). За сучасною класифікацією родина *Herpesviridae* поділяється на підродини α , β та γ *herpesvirinae* [1, 2].

Патогенний потенціал герпесвірусної інфекції коней другого типу ГВК-2 на сьогоднішній день повністю не з'ясований, але результати серологічних досліджень вказують, що більшість коней є вірусноносцями даного типу. Даний вірус зазвичай виявляють в крові клінічно здорових лошат і в секретях дихальних шляхів молодняку з ознаками захворювання дихальних шляхів. Літературні дані свідчать, що найбільш розповсюджена респіраторна форма прояву герпесвірусної інфекції [3, 4].

Культури клітин і тканин отримали в останній час широке розповсюдження майже в усіх галузях біології. Використання культур клітин тварин з суто експериментальної процедури перетворилось в технологічний компонент багатьох біологічних досліджень і виробничих процесів. Виникли нові підходи, які забезпечують розширення галузі застосування та стандартизацію [5, 6].

В Україні лабораторна діагностика ГВК-2 проводиться на досить низькому рівні. Не в повній мірі вивчена епізоотологічна ситуація щодо розповсюдженості даної патології в різних регіонах, відсутні профілактичні заходи [7, 8]. У зв'язку із викладеним, удосконалення лабораторних методів діагностики герпесвірусної інфекції у коней другого типу з використанням культур клітин, які можна використовувати як депо накопичення культурального антигену, є надзвичайно актуальним питанням ветеринарної науки і практики.

Метою роботи було вивчення та визначення оптимального методу кріоконсервування культур клітин, їх використання для культивування й накопичення культуральної вірусвмісної рідини її концентрування з визначенням оптимальної концентрації для серо-діагностики.

Результати досліджень. Робота виконувалася на факультеті ветеринарної медицини, у навчально-дослідній лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології Житомирського національного агроєкологічного університету.

Для культивування герпесвіруса другого типу використовували такі культури клітин, як фібробласти шкіри коня та трахеї теляти. Для культивування перещеплюваної культури фібробластів шкіри коня (Рис. 1) використовували ростове середовище, до складу якого входили середовище Ігла або МЕМ – 90 %, 10 % ембріональної сироватки та антибіотики.

Для культивування культури трахеї теляти (Рис. 2) використовували ростове середовище такого складу: ГЛА + середовище 199 + 10 % сироватки великої рогатої худоби та 4 %-ний гентаміцин з розрахунку 1 см³ на 500 см³ середовища.

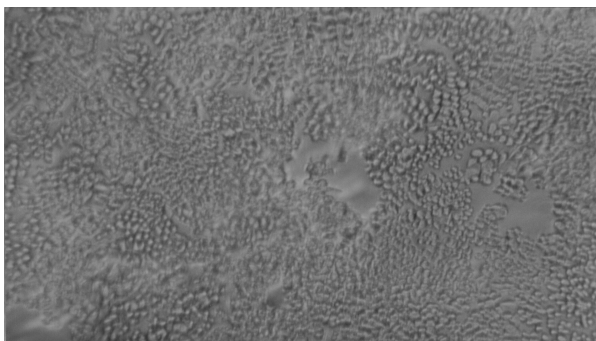


Рис. 1. Стан перещеплюваної культури фібробластів шкіри коня (x120) – 48 годин

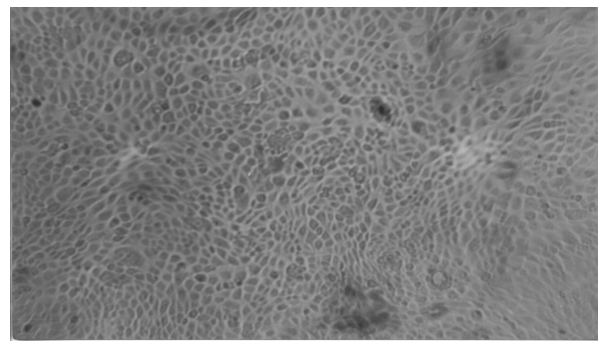


Рис. 2. Стан перещеплюваної культури ТТ (x120) – 72 години

Маточні культури пересівали з інтервалом 3–4 доби. Для культивування використовували матраци об'ємом 100, 250 та 500 см³. При пересіві культури застосовували розчин трипсин-версену у співвідношенні 1:2 та антибіотик. Коли у матраці формувалася моно-