УДК 615.035.1:618.19-002:599.735.51

Матренов И. С., Красникова Е. С., Павленко В. В.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТА У КОРОВ ПРИ МИКСТ-ИНФЕКЦИИ

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТА У КОРОВ ПРИ МИКСТ-ИНФЕКЦИИ

THE STUDY OF MASTITIS CAUSATIVE AGENTS' ANTIBIOTIC RESISTANCE IN COWS WITH MIXED INFECTIONS

Матренов Илья Сергеевич
ООО «Нита-Фарм», Росси, Саратов
E-mail: matrenov.is@yandex.ru
Инженер-микробиолог
Красникова Екатерина Сергеевна
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, Россия, Саратов
E-mail: krasnikovaes@yandex.ru
Профессор кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, д.в.н., доцент
Павленко Вероника Вячеславовна
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, Россия, Саратов
E-mail: shansik23@gmail.com
Студент С-ВТ 401

Matrenov Ilya Sergeevich
LLC "Nita-farm", Russia, Saratov
E-mail: matrenov.is@yandex.ru
Engineer-microbiologist
Krasnikova, Ekaterina Sergeevna
FSBEI HE "Saratov State Agrarian University", Russia, Saratov
E-mail: krasnikovaes@yandex.ru
Professor of Department of Microbiology, biotechnology and chemistry, Doctor of Veterinary science, associate professor
Pavlenko Veronika Vyacheslavovna
FSBEI HE "Saratov State Agrarian University", Russia, Saratov
E-mail: shansik23@gmail.com
4th year student

Аннотация. *Необоснованное использование антибиотиков при лечении маститов у коров приводит к возникновению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов и ограничению использования продукции животноводства. Цель исследования - оценка антибиотикорезистентности ассоциации бактериальных контаминантов, содержащихся в пробах молока, взятых от коров, больных маститом. В исследуемых пробах были выявлены штаммы Staphylococcus aureus, Esherchia coli и Klebsiella oxytoca. Выделенные E.coli и Klebsiella oxytoka были резистентны к амоксициллина тригидрату, проявляли умеренную чувствительность к доксициклину и азитромицину, были чувствительны к цефтиофуру и флорфениколу. St. Aureus проявил умеренную чувствительность к всем использовавшимся антибактериальным препаратам.*

Abstract. *The unjustified using of antibiotics in the treatment of mastitis in cows leads to the emergence of antibiotic-resistant strains of microorganisms and the restriction of the livestock products using. The aim of the study was to assess the antibiotic resistance of association of milk bacterial contaminants in cows with mastitis. Strains of Staphylococcus aureus, Esherchia coli and Klebsiella oxytoca were revealed in samples. Isolated E. coli and Klebsiella oxytoka were resistant to amoxicillin trihydrate, showed moderate sensitivity to doxycycline and azithromycin, were sensitive to ceftiofur and florfenicol. St. Aureus showed moderate sensitivity to all used antibacterial drugs.*

Ключевые слова. *мастит, антибиотикорезистентность, пенициллины, макролиды, тетрациклины, фениколы, цефалоспорины, Escherichia coli, Klebsiella oxytoka, Staphylococcus aureus.*

Keywords. *mastitis, antibiotic resistance, penicillins, macrolides, tetracyclines, phenicols, cephalosporins, Escherichia coli, Klebsiella oxytoka, Staphylococcus aureus.*

АГРОФОРСАЙТ

Введение

Продуктивность коров и качество молока являются важными показателями для животноводческих хозяйств. Несмотря на широкое распространение ветеринарных препаратов, направленных на лечение маститов, мастит продолжает являться одной из главных причин снижения продуктивности коров и ухудшения санитарно-бактериологического качества молока. Молоко от больных коров теряет питательную ценность, а также может вызвать различные заболевания людей из-за обсемененности контаминантами – представителями условно-патогенной микрофлоры, возбудителями мастита бактериальной этиологии [7]

Несмотря на широкое распространение маститов у коров, исследование молока на выявление бактериальных контаминантов и изучение их свойств, в частности антибиотикорезистентности, проводится далеко не всегда. Чаще лечение назначается эмпирически и в случае отсутствия положительного эффекта, препарат переназначается. Такое не обоснованное использование антибиотиков приводит развитию у микроорганизмов резистентности к АМП. Остатки используемых препаратов сохраняются в продукции до 30 суток, что также приводит к ограничению использования продукции [9].

Сохранение микроорганизмами способности к росту и размножению в присутствии концентрации антибактериальных препаратов, создаваемой при введении терапевтических доз препарата, называют антибиотикорезистентностью [2]. Резистентность к действию антибиотиков, как правило, детерминирована генетически: изменения собственных генов, приобретения нового генетического материала, изменение уровня экспрессии собственных генов [8] При этом существует опасность передачи гена антибиотикорезистентности внутри рода бактерий по средствам коньюгации [5].

На данном этапе проблематика возникновение резистентности бактериальной биоты к противомикробным препаратам – всемирно признанная, о чем свидетельствует принятый на 68 Всемирной ассамблее здравоохранения Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам. Он состоит из пяти стратегических целей, одной из которых является укрепление базы фактических данных путем усиления глобального эпиднадзора и научных исследований [3]

Материалы и методы исследования

Целью нашего исследования является оценка антибиотикорезистентности ассоциации бактериальных контаминантов, содержащихся в пробах молока, взятых от коров, больных маститом.

В соответствие с целью исследования был определен ряд задач:

- осуществить высев проб молока на питательные среды;
- выделить изоляты – чистые культуры;
- идентифицировать выделенные изоляты;
- провести испытание выделенных культур на чувствительность к антибактериальным препаратам диск-диффузионным методом.

Отбор проб осуществлялся от 30 коров разных возрастных групп в стерильные пробирки. Для выделения чистых культур микроорганизмов свежее сырое молоко

АГРОФОРСАЙТ

отсевали на мясопептонный агар (МПА) и кровяной агар (КА), для идентификации использовали наборы ПБДЭ и ПБДС (Диагностические системы, Россия). Определяли чувствительность полученных изолятов к пяти антимикробным препаратам диск-диффузионным методом в соответствии с МУК 4.2.1890-04 [6]. Для тестирования чувствительности выделенных изолятов использовали стандартные диски с препаратами, содержащими в себе: амоксициллина тригидрат 20 мкг (группа пенициллинов), азитромицин 15 мкг (группа макролидов), доксициклин 30 мкг (группа тетрациклинов), флорфеникол 30 мкг (группа фениколов), цефтиофур 30 мкг (группа цефалоспоринов), производитель НИЦФ (Россия).

Основная часть. Результаты исследования.

Идентификация изолятов выявила следующие бактерии-контаминанты: Staphylococcus aureus, Esherchia coli и Klebsiella oxytoca. Исследованию были подвергнуты только те штаммы, котрые были выделены в форме микст-инфекции.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Диаметр зон задержки роста, M±m

Штамм /ассоциация (группа животных)	Диаметр зоны подавления роста микроорганизмов, мм				
	Доксициклин	Цефтиофур	Флорфеникол	Амоксициллина тригидрат	Азитромицин
E.coli / в ассоциации с Klebsiella oxytoka	14,09±1,37	23,41±2,14*	22,21±2,16*	8,84±0,86	16,03±1,51
Klebsiella oxytoka / в ассоциации с E.coli	11,23±1,03	21,38±2,09*	23,01±2,26*	7,09±0,71	16,74±1,59
St.aureus / в ассоциации с Klebsiella oxytoka и E.coli	16,37±1,61*	13,76±1,27*	17,12±2,69*	26,06±2,58*	16,45±1,61*
E.coli / в ассоциации с Klebsiella oxytoka и St.aureus	13,31±1,27	22,90±2,21*	25,73±2,24**	8,98±0,88	17,01±1,67
Klebsiella oxytoka / в ассоциации с E.coli и St.aureus	12,98±1,25	21,11±2,09*	25,98±2,60**	8,41±0,83	16,28±1,61

Примечание: * - умеренная чувствительность к препарату;
** - высокая чувствительность к препарату.

Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют об избирательной чувствительности выделенных биологических агентов условно-патогенной микрофлоры. В рамках проводимого исследования не выявлен феномен сочетанной устойчивости к двум и более антибактериальным препаратам. Исследования, проведенные в работе Н.Е. Горковенко и Ю.А. Макарова [4], показывают высокую чувствительность изолятов бактерий рода Esherichia, Enterobacter к доксициклину, что не подтвердилось проведенными нами исследованиями – изоляты, выделенные из молока отдельно взятого хозяйства показывали промежуточную чувствительность к данному АМП, что может свидетельствовать о применении препаратов с доксициклином в данном хозяйстве ранее.

Большинство исследованных нами проб молока были контаминированы микроорганизмами в ассоциации. Выполненные исследования показали, что

АГРОСАЙТ

чувствительность микроорганизмов к антибиотикам изменяется в зависимости от состава ассоциации. Наибольшей резистентностью к использованным АМП обладала Klebsiella oxytoka не зависимо от состава микробной ассоциации, наименьшей - St.aureus.

Выводы.

1. Выделенные из большинства проб молока E.coli и Klebsiella oxytoka резистентны к амоксициллина тригидрату, проявляют умеренную чувствительность к доксициклину и азитромицину, чувствительны к цефтиофуру и флорфениколу.

2. Штаммы St. aureus проявили умеренную чувствительность к всем использовавшимся антибактериальным препаратам.

3. Наибольшей резистентностью к использованным АМП обладала Klebsiella oxytoka не зависимо от состава микробной ассоциации, наименьшей - St.aureus.

Список источников

1. Абаимова А.Д. Резистентность организма коров и эффективность их лечения при мастите в лактационный период [Текст]: Автореф. Дис. Канд.вет.наук /А.Д.Абаимова.-М., 1999.-24 с.
2. Биологическая характеристика бактерий, колонизирующих слизистые оболочки дыхательных путей, при хронических заболеваниях / Е.В. Беляева и др. // Медицинский альманах. – 2009. - 2(7). - 114-117.
3. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам, 2001. – 168 с. [Электронный ресурс]. – URL: http://www.who.int/drugresistance/surveillance/ru/]
4. Горковенко Н.Е. Антибиотикорезистентность энтеробактерий / Н.Е. Горковенко, Ю.А.Макаров // Бюллетень научных исследований. – 2008. - №14. С 56-60.
5. Динамический анализ особенностей структуры и антибиотикорезистентности микрофлоры многопрофильных лечебно-профилактических учреждений / Н.Н. Митрофанова, В.Л. Мельников, Е.Н. Миронова, Т.М. Ковешникова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2008. - № 4. – С. 3-10.
6. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. – URL: http://docs.cntd.ru/document/1200038583.
7. Нежданов А.Г. Мастит и акушерская патология у коров /А.Г.Нежданов, В.Г. Зинкевич // Ветеринария.-1999.-№9. –С.36-39.
8. Применение полимеразной цепной реакции в молекулярной диагностике инфекционных болезней животных / А.А. Сухинин, С.А. Макавчик, О.В. Прасолова, М.В. Виноходова // Учебное пособие. - СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СПБГАВМ, 2017. - 96 с.
9. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspective / P.Gruet [at all] // Advanced Drug Delivery Review.-2001.-Vol.50(1).-P.245-259.

References

1. Abaimova A.D. Resistance of the organism of cows and the effectiveness of their treatment during mastitis during the lactation period [Text]: Author's abstract. Dis. Candidate of Science / A.D. Abaimova.-M., 1999.-24 p.
2. Biological characteristics of bacteria colonizing the mucous membranes of the respiratory tract in chronic diseases / E.V. Belyaev and others. // Medical almanac. - 2009. - 2 (7). - 114-117.
3. WHO global strategy for containing antimicrobial resistance, 2001. - 168 p. [Electronic resource]. - URL: http://www.who.int/drugresistance/surveillance/en/]
4. N.E. Gorkovenko Antibiotic resistance of enterobacteria / N.E. Gorkovenko, Yu.A. Makarov // Bulletin of scientific research. - 2008. - №14. From 56-60.
5. Dynamic analysis of the features of the structure and antibiotic resistance of microflora of multi-profile treatment-and-prophylactic institutions / N.N. Mitrofanova, V.L. Melnikov, E.N. Mironova, T.M. Koveshnikov // News of higher educational institutions. Volga region. Medical sciences. - 2008. - № 4. - p. 3-10.
6. MUK 4.2.1890-04 Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Methodical instructions. - URL: http://docs.cntd.ru/document/1200038583.
7. Nezhdanov A.G. Mastitis and obstetric pathology in cows / A.G.Nezhdanov, V.G. Zinkevich // Veterinary.-1999.-№9. –C.36-39.
8. The use of polymerase chain reaction in the molecular diagnosis of infectious animal diseases / A.A. Sukhinin, S.A. Makavchik, OV Prasolov, M.V. Vinokhodov // Study Guide. - SPb .: Publishing house of FSBEI HE SPBGAVM, 2017. - 96 p.
9. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspective / P.Gruet [at all] // Advanced Drug Delivery Review.-2001.-Vol.50 (1) .- P.245-259.

АГРОФОРСАЙТ