



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 615.33:619:636.5.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.114

ВЛИЯНИЕ МИНИМАЛЬНОЙ ПОДАВЛЯЮЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ОФЛОКСАЦИНА НА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ *SALMONELLA INFANTIS*-ИНФЕКЦИИ ЦЫПЛЯТ

Горбанёва А.С.* – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1128-0020);
Скворцов В.Н. – д-р ветеринар. наук, руководитель филиала (ORCID 0000-0002-9629-0000);
Присный А.А. – д-р биол. наук, зав. лабораторией (ORCID 0000-0001-5229-4576);
Лаишевцев А.И. – канд. биол. наук, зав. лабораторией (ORCID 0000-0002-5050-2274);
Лопунов С.В. – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3201-1065).

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

*A.S.Saprunova@yandex.ru

Ключевые слова: *Salmonella infantis*, экспериментальное заражение, минимальная подавляющая концентрация, фторхинолоны, офлоксацин

Keywords: *Salmonella infantis*, experimental infection, minimal inhibitory concentration, fluoroquinolones, ofloxacin

Поступила: 03.09.2024

Принята к публикации: 20.09.2024

Опубликована онлайн: 01.10.2024



РЕФЕРАТ

Цель работы заключалась в определении влияния показателей МПК (минимальной подавляющей концентрации) офлоксацина на его эффективность при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят. Значения МПК офлоксацина для *S. infantis* устанавливали с использованием HiComb Strip — теста. Полученные *in vitro* результаты по определению МПК офлоксацина свидетельствуют о том, что препарат проявил высокую антибактериальную активность в отношении большинства штаммов *S. infantis*, так в концентрациях 0,005 - 0,05 мкг/мл он задерживал рост исследуемых микроорганизмов. Один из изолятов проявил устойчивость к данному препарату (МПК составляла 1,5 мкг/мл). Лечебно-профилактическое действие офлоксацина определяли на цыплятах суточного возраста. Для проведения опыта 250 цыплят были разделены на две группы по пять подгрупп (25 голов) в каждой. Экспериментальную инфекцию воспроизводили двумя штаммами *S. infantis*, у которых ранее зарегистрировали различные показатели МПК офлоксацина. Экспериментальную инфекцию воспроизводили путём внутрибрюшинного введения суспензии из суточной агаровой культуры в концентрации 300 млн. колоние-

образующих единиц (КОЕ), которые вводили в объёме 0,5 мл. Цыплят в группе №1 заражали штаммом, у которого МПК исследуемого препарата составляла 0,05 мкг/мл, в группе №2 – МПК 1,5 мкг/мл. Лечение продолжительностью пять суток начинали за сутки до заражения, выпаивали препарат в концентрациях: 25, 50, 100, 200 мг/л воды в обеих группах. Результаты опыта свидетельствуют о том, что при назначении офлоксацина при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят, воспроизведённой чувствительным штаммом отмечен высокий лечебно-профилактический эффект при использовании препарата в концентрациях 100 и 200 мг/л воды (88 и 96% соответственно). При заражении цыплят изолятом более устойчивым к офлоксацину, его выпаивание в вышеназванных концентрациях не дало положительных результатов лечения.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сальмонеллёз – это инфекционное заболевание, обладающее высокой инвазивностью. Больная и переболевшая птица, а также птицепродукты, обсеменённые сальмонеллами являются одними из самых частых источников заражения, как людей, так и животных. Непрерывный и стандартизированный надзор за распространённостью сероваров сальмонеллы на птицеводческих предприятиях имеет большое значение. Известно, что искоренение данного микроорганизма в условиях животноводческих комплексов и в пищевых цепочках является задачей не из легких [1]. Исследователями отмечено, что до 2016 года *Salmonella enterica Serovar infantis* составлял менее 10% изолятов из куриного мяса, но в 2021 году этот показатель увеличился почти до 30%. По состоянию на 2023 год он является наиболее распространённым серовариантом, который выделяют от цыплят-бройлеров [2, 3].

Salmonella infantis отличается высокой резистентностью к антимикробным средствам и обладает множественной устойчивостью, резистентностью к дезинфицирующим средствам, развитием биопленок [4, 5]. Более того, этот микроорганизм, в виду своих особенностей, может поставить под угрозу эффективность применения критически важных антимикробных препаратов, что является новым и серьёзным вызовом для ветеринарии и здравоохранения [6].

На разных этапах прогресса ветеринарной и медицинской науки в борьбе с данной инфекцией применялись различные медикаменты, такие как хлорамфени-

кол, ампициллин и другие. Но с появлением устойчивости к традиционным лекарственным средствам стали применять фторхинолоновые препараты [7 - 10].

Особый интерес в данном направлении представляет офлоксацин – трициклический монофторхинолон [8]. Обладая обширным диапазоном бактерицидного действия в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, а также возбудителей с внутриклеточной локализацией, офлоксацин является часто назначаемым препаратом. Его выраженное бактерицидное действие обусловлено подавлением обеих субъединиц ДНК-гиразы, в связи с чем вероятность возникновения плазмидо- или хромосомно-опосредованной резистентности при антибиотикотерапии минимальна [11].

Целью работы стало изучение влияния значений минимальной подавляющей концентрации офлоксацина на его эффективность при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для достижения поставленной цели нами было проведено исследование в два этапа. Первый этап – определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) офлоксацина для изолятов *S. infantis* с использованием HiComb Strip – теста (HiMedia Laboratories Pvt.Limited, Индия).

Второй этап осуществляли уже с учетом результатов первого. Экспериментальную инфекцию воспроизводили двумя штаммами *S. infantis*, у которых ранее зарегистрировали различные показатели МПК офлоксацина. Суспензии готовили асептически из смывов суточных агаро-

вых культур на изотоническом растворе NaCl в концентрации 300 млн. колониеобразующих единиц (КОЕ), которые вводили внутрибрюшинно в объёме 0,5 мл. Лечебно-профилактическое действие препарата исследовали на цыплятах суточного возраста. Для проведения опыта 250 цыплят были разделены на две группы по пять подгрупп (25 голов) в каждой.

Цыплят в группе №1 заражали штаммом, у которого МПК офлоксацина для данного микроорганизма составляла 0,05 мкг/мл, для заражения цыплят в группе №2 использовали штамм с МПК 1,5 мкг/мл. Цыплятам первой подгруппы в каждой группе назначали препарат в концентрации 25 мг/л воды, цыплятам второй подгруппы – 50 мг/л воды, цыплятам третьей подгруппы – 100 мг/л воды, цыплятам четвертой подгруппы – 200 мг/л воды, пятая подгруппа цыплят служила контролем. Лечение продолжительностью пять суток начинали за сутки до заражения. Длительность наблюдения за птицей в опыте составляла 15 суток.

Оценку лечебно-профилактической

эффективности офлоксацина проводили с учетом выживаемости опытных и контрольных цыплят.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные *in vitro* результаты по определению минимальной подавляющей концентрации офлоксацина свидетельствуют о том, что препарат проявил высокую антибактериальную активность в отношении большинства штаммов *S. infantis*, так в концентрациях 0,005 - 0,05 мкг/мл он задерживал рост исследуемых микроорганизмов. Однако к одному из изолятов (4632) результат по определению МПК значительно отличался от предыдущих и равнялся 1,5 мкг/мл. Таким образом было установлено, что данный штамм менее чувствителен к воздействию офлоксацина.

Для дальнейших исследований по определению лечебно-профилактической эффективности офлоксацина при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят были отобраны два штамма с различными показателями МПК.

Таблица 1 – Лечебно-профилактическая эффективность офлоксацина при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят

№ подгруппы	Доза, мг/кг	Группа №1				Группа №2			
		выжило		пало		выжило		пало	
		голов	%	голов	%	голов	%	голов	%
1	25	14	56	11	44	6	24	19	76
2	50	15	60	10	40	11	44	14	56
3	100	22	88	3	12	8	32	17	68
4	200	24	96	1	4	13	52	12	48
5	Контроль	1	4	24	96	1	4	24	96

Данные проведённого эксперимента представлены в таблице 1 и свидетельствуют о том, что культуры сальмонелл проявили высокую вирулентность, так как в контрольных группах отмечена высокая смертность (по 96%). В группе №1, в которой был для заражения использован штамм с значением МПК 0,05 мкг/мл получены следующие результаты. Наибольшую эффективность (96%) удалось получить при выпаивании офлоксацина в концентрации 200 мг/мл воды. За период

наблюдений в этой группе пал всего лишь один цыплёнок. При назначении лекарственного средства в концентрации 100 мг/л воды лечебно-профилактическая эффективность составила 88% (пало 3 цыплёнка). При использовании препарата в дозах 50 и 25 мг/л воды отмечался значительный падеж (40-44%) среди птицеполовья.

В группе №2 цыплят заражали штаммом, у которого МПК офлоксацина составляла 1,5 мкг/мл, смертность констати-

ровали у 48-76% цыплят. Ни в одной из опытных подгрупп не удалось достичь положительных результатов от назначения препарата.

Проведённые исследования демонстрируют необходимость контроля показателей устойчивости сальмонелл к антимикробным препаратам.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При изучении МПК офлоксацина в отношении *S. infantis* установлены различные значения данного показателя. Встречались как чувствительные, так и устойчивые штаммы.

В опыте по изучению лечебно-профилактической эффективности офлоксацина при экспериментальной *Salmonella infantis*-инфекции цыплят, воспроизведённой чувствительным штаммом отмечен высокий лечебно-профилактический эффект при использовании в концентрациях 100 и 200 мг/л воды (88 и 96% соответственно).

При заражении цыплят изолятом более устойчивым к офлоксацину, его выпаивание в вышеназванных концентрациях не дало положительных результатов лечения.

MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION OF OFLOXACIN AND ITS EFFICACY IN EXPERIMENTAL INFECTION OF CHICKS WITH *SALMONELLA INFANTIS*

Gorbaneva A.S.* – Junior Researcher (ORCID 0000-0003-1128-0020), **Skvortsov V.N.** – Dr. Vet. Sci., Head of Department (ORCID 0000-0002-9629-0000), **Prisnyi A.A.** – Dr. Biol. Sci., Director of Laboratory (ORCID 0000-0001-5229-4576), **Laishev-tsev A.I.** – C. Biol. Sci., Director of Laboratory (ORCID 0000-0002-5050-2274), **Lopunov S.V.** – C. Vet. Sci., Senior Researcher (ORCID 0000-0003-3201-1065).

FGBNU "Federal Scientific Centre — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and Ya. R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

*A.S.Saprunova@yandex.ru

ABSTRACT

The goal of the present article was to study minimal inhibitory concentrations (MIC) of ofloxacin with regard to its efficacy in experimental infection of chicks with *Salmonella infantis*. Values of MIC of ofloxacin for *S. infantis* were procured with the help of HiComb Strip test. The results of the tests *in vitro*, aimed at securing the values of minimal inhibitory concentrations of ofloxacin, prove that the drug boasts high antibacterial activity against most strains of *S. infantis*. Thus, ofloxacin inhibited the growth of the aforementioned microorganism at concentrations within the interval 0.005 – 0.05 µg/mL. Though one of the isolates proved to be resistant to the drug, its MIC was as high as 1.5 µg/mL. We employed day-old chicks in our experiment, which we conducted in order to evaluate the therapeutic and prophylactic effects of ofloxacin. For the sake of the experiment, we divided 250 chicks in 2 groups with 5 subgroups in either of them (n = 25 in each subgroup). For the experimental infection we used 2 strains of *S. infantis*, with different minimal inhibitory concentrations of ofloxacin, which had been detected previously. The chicks were challenged intraperitoneally with *S. infantis* in suspension, incubated on agar medium for 24 hours, at a concentration 3×10^8 CFUs / 0.5 mL. The chicks in Group I were challenged with a strain with minimal inhibitory concentration of ofloxacin 0.05 µg/mL, the chicks in Group II - 1.5 µg/mL. The treatment with ofloxacin started 24 hours prior to the challenge and lasted 5 days. The drug was administered via drinking water *ad libitum* at concentrations 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L in both groups. The results of the experiment show that after the challenge of chicks with an *S. infantis* strain, susceptible to ofloxacin, the drug has high therapeutic and prophylactic effects at concentrations 100 mg/L and 200 mg/L (88 % and 96 % respectively). But in experimental infection of chicks with an *S. infantis* strain, resistant to ofloxacin, its administration at the above-mentioned concentrations did not lead to positive effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Commonly Used Disinfectants on *Salmonella Infantis* Isolates. / K. Bezek, J. Avberšek, O. Zorman Rojs, D. Barlič-Maganja, et al // –Microorganisms. – 2023. – 11(2). – doi.org/10.3390/microorganisms11020301.
2. Buffered Peptone Water Formulation Does Not Influence Growth of pESI-positive *Salmonella enterica* Serovar *Infantis*/ E.A. McMillan, M.E. Berrang, Q.D. Read, et al // Journal of Food Protection. – 2023. – №2. – P. 86. – doi.org/10.1016/j.jfp.2022.100033.
3. Uncommon *Salmonella Infantis* Variants with Incomplete Antigenic Formula in the Poultry Food Chain, Italy / S. Petrin, A. Tiengo, A. Longo, et al // Emerging Infectious Diseases. – 2024. – №30(4). – P. 795-799. – doi.org/10.3201/eid3004.231074.
4. Чувствительность *Salmonella Infantis* к антимикробным препаратам / А. С. Горбанева, Д. В. Юрин, В. Н. Скворцов, А. И. Лаишевцев // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 55-61. – doi.10.52419/issn2072-2419.2023.2.55.
5. Holistic Strategies to Control *Salmonella Infantis*: An Emerging Challenge in the European Broiler Sector/ L. Montoro-Dasi, L. Lorenzo-Rebenaque, A. Marco-Fuertes, S. Vega, C. Marin // Microorganisms. – 2023. – 11(7). – https://doi.org/10.3390/microorganisms11071765.
6. Чувствительность к антибиотикам сальмонелл-доминирующих сероваров, выделенных в Северо-Западном федеральном округе РФ в 2004–2018 гг. из различных источников / А.В. Забровская, С.А. Егорова, Н.А. Антипова, Е.В. Смирнова, Л.И. Семченкова, Т.Е. Быстрая, и др. // Журнал инфектологии. – 2022. – №14(1). – С.131-139. – doi.org/10.22625/2072-6732-2022-14-1-131-139.
7. Антибиотикорезистентность изолятов сальмонелл, выделенных из продуктов животного происхождения / Н. Б. Шадрова, О. В. Прунтова, Е. А. Корчагина // Ветеринария сегодня. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 27-34. – doi 10.29326/2304-196X-2022-11-1-27-34.

8. Антимикробная активность офлоксацина в отношении микроорганизмов, выделенных от больных животных/ В. Н. Скворцов, Н. А. Сафонова, А. А. Балбуцкая, и др. // Ветеринарная патология. – 2011. – № 3(37). – С. 100-103.
9. Чувствительность возбудителей бактериальных болезней животных к офлоксацину/ Д. В. Юрин, В. Н. Скворцов, А. А. Балбуцкая, и др. // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – № 2(12). – С. 46-51.
10. Терапия экспериментального сальмонеллёза цыплят антимикробными препаратами группы фторхинолонов/ В. Н. Скворцов, Д. В. Юрин, В. В. Невзорова, А. Д. Мазур // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 104-107. – doi 10.17238/issn2072-2419.2020.2.31.
11. Падейская, Е.Я. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике / Е.Я. Падейская, В.П. Яковлев. – Москва: ЛОГАТА, 1998 – 205 с.

REFERENCES

1. Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Commonly Used Disinfectants on *Salmonella Infantis* Isolates. / K. Bezek, J. Avberšek, O. Zorman Rojs, D. Barlič-Maganja, et al // –Microorganisms. – 2023. – 11(2). – doi.org/10.3390/microorganisms11020301.
2. Buffered Peptone Water Formulation Does Not Influence Growth of pESI-positive *Salmonella enterica* Serovar *Infantis*/ E.A. McMillan, M.E. Berrang, Q.D. Read, et al // Journal of Food Protection. – 2023. – №2. – P. 86. – doi.org/10.1016/j.jfp.2022.100033.
3. Uncommon *Salmonella Infantis* Variants with Incomplete Antigenic Formula in the Poultry Food Chain, Italy / S. Petrin, A. Tiengo, A. Longo, et al // Emerging Infectious Diseases. – 2024. – №30(4). – P. 795-799. – doi.org/10.3201/eid3004.231074.
4. Chuvstvitel'nost' *Salmonella Infantis* k antimikrobnym preparatam [Sensitivity of *Salmonella Infantis* to antimicrobial drugs] / A.S. Gorbaneva, D.V. Yurin, V.N. Skvortsov, A.I. Laishevstev // *Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii* [International bulletin of Veteri-

- nary Medicine], 2023, no. 2, pp. 55-61. - doi.10.52419/issn2072-2419.2023.2.55 (In Russ.).
5. Holistic Strategies to Control *Salmonella Infantis*: An Emerging Challenge in the European Broiler Sector/ L. Montoro-Dasi, L. Lorenzo-Rebenaque, A. Marco-Fuertes, S. Vega, C. Marin // *Microorganisms*. – 2023. – 11(7). – <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071765>.
6. Chuvstvitel'nost' k antibiotikam sal'monell-dominiruiushchikh serovarov, vydelennykh v Severo-Zapadnom federal'nom okruge RF v 2004–2018 gg. iz razlichnykh istochnikov [Antimicrobial susceptibility of dominant *Salmonella* serovars, isolated in North-West federal district in 2004–2018 from different sources] / A.V. Zablovskaia, S.A. Egorova, N.A. Antipova, E.V. Smirnova, L.I. Semchenkova, T.E. Bystraya, S.E. Sokolnik, N.P. Utkina, L.Y. Sikhando, N.V. Satosova // *Jurnal infektologii*, 2022, no. 14 (2), pp. 131-139. – doi.org/10.22625/2072-6732-2022-14-1-131-139 (In Russ.).
7. Antibiotikorezistentnost' izoliatov sal'monell, vydelennykh iz produktov zhitvnogo proiskhozhdeniia [Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from animal products] / N.B. Shadrova, O.V. Pruntova, E.A. Korchagina // *Veterinariia segodnia* [Veterinary Science Today], 2022, no. 11 (1), pp. 27-34. – doi 10.29326/2304-196X-2022-11-1-27-34 (In Russ.).
8. Antimikrobnaiia aktivnost' ofloksatsina v otnoshenii mikroorganizmov, vydelennykh ot bol'nykh zhitvnykh [Antimicrobial activity of ofloxacin against microorganisms, isolated from sick animals] / V.N. Skvortsov, N.A. Safonova, A.A. Balbutskaya [et al.] // *Veterinarnaia patologiiia* [Russian Journal of Veterinary Pathology], 2011, no. 3 (37), pp. 100-103 (In Russ.).
9. Chuvstvitel'nost' vzbuditelei bakterial'nykh boleznei zhitvnykh k ofloksatsinu [Sensitivity of infection agents of bacterial animal diseases to ofloxacin] / D.V. Yurin, V.N. Skvortsov, A.A. Balbutskaya [et al.] // *Aktual'nye voprosy sel'skokhoziaistvennoi biologii* [Actual issues in agricultural biology], 2019, no. 2 (12), pp. 46-51 (In Russ.).
10. Terapiia eksperimental'nogo sal'monellioza tsypliat antimikrobnymi preparatami gruppy ftorkhinolonov [Treatment of experimental salmonellosis in chickens with fluoroquinolone antimicrobials] / V.N. Skvortsov, D.V. Yurin, V.V. Nevzorova, A.D. Mazur // *Mezhdunarodnyi vestnik veterinarrii* [International bulletin of Veterinary Medicine], 2020, no. 2, pp. 104-107. – doi 10.17238/issn2072-2419.2020.2.31 (In Russ.).
11. Padeiskaya Ye.N. Antimikrobnnye preparaty gruppy ftorkhinolonov v klinicheskoi praktike [Fluoroquinolone antimicrobials in clinical practice] / Ye.N. Padeiskaya, V.P. Yakovlev // Moscow, LOGATA Publ., 1998, 352 p (In Russ.).