

УДК 615.281.9:636.4:636.5

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.2.31

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНРОФЛОКСАЦИНА *IN VITRO*

Д.В. Юрин – к.вет.н., старший научный сотрудник, В.В. Невзорова – младший научный сотрудник, А.А. Балбуцкая – к.биол.н., ведущий научный сотрудник, С.С. Белимова – исследователь, Белгородский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Ключевые слова: энрофлоксацин, диско-диффузионный метод, резистентность, чувствительность, бактериальные возбудители.

Keywords: enrofloxacin, disco-diffusion method, resistance, sensitivity, pathogens of bacterial infections.



РЕФЕРАТ

В силу длительного применения энрофлоксацина участились случаи выделения устойчивых к действию препарата микроорганизмов. Данная статья посвящена изучению распространения резистентности к энрофлоксацину среди возбудителей бактериальных болезней животных. Чувствительность определяли диско-диффузионным методом в соответствии со стандартным регламентом. Всего было исследовано 437 бактериальных изолятов. Высокую чувствительность к энрофлоксацину проявили культуры *Salmonella dublin* и *Salmonella typhimurium* (100%) и несколько меньшую – *Salmonella enteritidis* и *Salmonella choleraesuis* (95% и 94,7%). Только 5% *S. enteritidis* и 5,3% культур *S. choleraesuis* имели промежуточные значения чувствительности. Резистентных культур не выделено среди сальмонелл, пастерелл и морганелл (*Pasteurella multocida*, *Morganella morganii*). Среди штаммов *Escherichia coli* 83,9% были чувствительны к энрофлоксацину, зоны задержки роста 6,4% изолятов соответствовали промежуточным значениям чувствительности, резистентность выявлена у 9,7% изолятов. В нашем опыте 90,9% *Pseudomonas aeruginosa* были чувствительными к энрофлоксацину и 9,1% – имели промежуточные значения чувствительности. Высокую чувствительность к энрофлоксацину проявили изоляты *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus pseudintermedius*, а также возбудители листериоза и рожи свиней (*Listeria monocitogenes* и *Erysipelotrix rhusiopathiae*). Доля чувствительных к энрофлоксацину коагулазоотрицательных стафилококков достигала 87,5%; 6,25% изолятов были резистентными или имели промежуточные значения чувствительности. Количество чувствительных к препарату изолятов *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus uberis* равнялась соответственно 65,1%, 75% и 75%. При этом количество изолятов с промежуточными значениями чувствительности было соответственно – 9,3%, 15% и 25%. Устойчивость была выявлена соответственно у 25,6% и 10% стафилококков. Резистентных к энрофлоксацину штаммов *Str. uberis* не выделено. Среди энтерококков чувствительными к энрофлоксацину были 52,4% изолятов, а численность резистентных изолятов и микроорганизмов с промежуточными значениями чувствительности было соответственно 11,9% и 37,7%. Резистентность к энрофлоксацину среди грамотрицательных возбудителей на данный момент не имеет широкого распространения. При этом антимикробное действие энрофлоксацина на значительную долю возбудителей стафилококковых инфекций и стрептококков значительно слабее.

ВВЕДЕНИЕ

В современной ветеринарной практике одним из наиболее часто применяемых антимикробных препаратов является энрофлоксацин. Данный препарат разработан фирмой Bayer и с 80-х годов XX века был известен под торговой маркой Baytril. К настоящему времени на рынке помимо оригинального препарата представлены и его аналоги. По химической структуре энрофлоксацин относится к фторированным карбоновым кислотам и по условной классификации данной группы соединений является хинолоном II поколения [8]. Препарат обладает широким спектром антимикробной активности, не токсичен для животных в терапевтических дозах, а его параметры фармакокинетики обеспечивают удобный режим введения и оптимальный курс лечения [10, 11]. Следствием широкого применения энрофлоксацина стало появления устойчивых к его действию популяций микроорганизмов [2]. Так, в 2005 году Управление по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) США отозвало разрешение на использование байтрила для лечения домашней птицы, поскольку такая практика приводила к появлению устойчивых к действию фторхинолонов штаммов бактерий рода *Campylobacter* [9]. Ограничений на применение энрофлоксацина в нашей стране пока нет, тем не менее, контроль за появлением резистентных штаммов возбудителей остается неотъемлемой частью эффективной борьбы с бактериальными инфекциями.

Целью нашей работы было выявление распространения резистентности к энрофлоксацину среди бактериальных изолятов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе была изучена чувствительность к энрофлоксацину 437 патогенных микроорганизмов, выделенных из проб патологического материала от больных и павших животных, а также проб, взятых с рабочих поверхностей, одежды, предметов ухода, из кормов и т.д. Выделение и определение видовой принадлежности возбудителей проведено по общепринятым для ветеринарных лабораторий методикам [1, 3]. Весь спектр проведенных исследований предполагал использование питательных сред производства фирмы HiMedia.

После идентификации выделенных культур была определена их чувствительность к

энрофлоксацину. Тестирование выполнялось диско-диффузионным методом в соответствии с регламентом, указанным в методических указаниях по определению чувствительности выделенных изолятов к антимикробным препаратам МУК 4.2.1890-04 [4]. Для определения чувствительности изолированных микроорганизмов к энрофлоксацину применяли бумажные диски в картриджах и октодиски фирмы HiMedia Laboratories Pvt. Limited с содержанием действующего вещества 5 мкг.

При интерпретации результатов исследования были использованы критерии Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [12], определяющие степень чувствительности для каждого вида микроорганизмов в зависимости от диаметра зоны задержки роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Видовой состав изученных возбудителей (Рис. 1) включал 124 изолята *Escherichia coli* (28,4%), 64 культуры коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) (14,6%), 43 – *Staphylococcus hyicus* (9,8%), 42 – *Enterococcus spp.* (9,6%), 40 – *Staphylococcus aureus* (9,2%), 20 – *Salmonella enteritidis* (4,6%), 19 – *Salmonella choleraesuis* (4,4), 17 – *Streptococcus spp.* (3,9%), 11 – *Pseudomonas aeruginosa* (2,5%), 10 – *Salmonella dublin* (2,3%), 10 – *Salmonella typhimurium* (2,3%), 8 – *Streptococcus uberis* (1,8%), 8 – *Staphylococcus pseudintermedius* (1,8%), 7 – *Morganella morganii* (1,6%), 6 – *Pasteurella multocida* (1,4%), 5 – *Listeria monocitogenes* (1,1%) и 3 – *Erysipelotrix rhusiopathiae* (0,7%).

В соответствии с критериями CLSI, выделенные микроорганизмы были разделены на три группы исходя из диаметра зоны задержки роста.

Сведения о чувствительности микроорганизмов к энрофлоксацину приведены в таблице 1.

Анализ полученных данных свидетельствует о высокой чувствительности к энрофлоксацину группы грамотрицательных микроорганизмов. Из выделенных культур сальмонелл наиболее чувствительны к энрофлоксацину *in vitro* были изоляты *S. dublin* и *S. typhimurium* (100% культур). Аналогичные результаты были получены и в отношении выде-

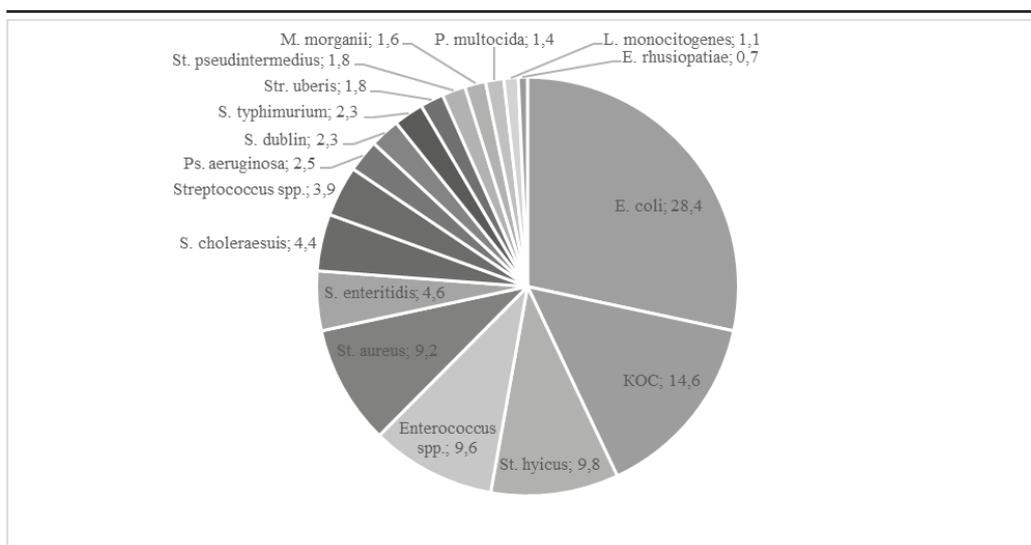


Рис. 1. Видовой состав выделенной микрофлоры в %.

Таблица 1

Чувствительность микроорганизмов, выделенных от животных, к энрофлоксацину

Микроорганизмы	Ко-во изолятов	Чувствительные		Промежуточные значения		Устойчивые	
		Абс	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>Escherichia coli</i>	124	104	83,9	8	6,4	12	9,7
Коагулазоотрицательные стафилококки	64	56	87,5	4	6,25	4	6,25
<i>Staphylococcus hyicus</i>	43	28	65,1	4	9,3	11	25,6
<i>Enterococcus spp.</i>	42	22	52,4	15	37,7	5	11,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	30	75	6	15	4	10
<i>Salmonella enteritidis</i>	20	19	95	1	5	-	-
<i>Salmonella choleraesuis</i>	19	18	94,7	1	5,3	-	-
<i>Streptococcus spp.</i>	17	17	100	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	10	90,9	1	9,1	-	-
<i>Salmonella dublin</i>	10	10	100	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	10	10	100	-	-	-	-
<i>Streptococcus uberis</i>	8	6	75	2	25	-	-
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	8	8	100	-	-	-	-
<i>Morganella morganii</i>	7	7	100	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i>	6	6	100	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	5	100	-	-	-	-
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	3	3	100	-	-	-	-

ленных штаммов морганеллы и пастереллы.

Близкие, но, тем не менее, несколько более низкие результаты были получены при определении чувствительности изолятов *S. enteritidis* и *S. choleraesuis*. Так, из 20 выделенных штаммов *S. enteritidis* чувствительными к данному препарату были 19 (95%), 1 изолят (5%) можно отнести к микроорганизмам с промежуточными значениями чувствительности, а резистентных изолятов данного вида выделить не удалось. Из 19 выделенных штаммов *S. choleraesuis* 18 (94,7%) оказались чувствительны к энрофлоксацину, а 1 (5,3%) имел промежуточные значения чувствительности. Устойчивых возбудителей так же не выявлено.

Из 11 изолятов синегнойной палочки 10 культур (90,9%) были чувствительны к энрофлоксацину, а один штамм (9,1%) имел промежуточные значения чувствительности.

Чувствительность возбудителей колибактериоза к энрофлоксацину была несколько ниже. Из 124 выделенных культур 104 (83,9%) были чувствительными, 8 – (6,4%) имели промежуточные значения чувствительности и 12 (9,7%) были устойчивыми.

В силу особенностей химической структуры и механизма действия антимикробная активность энрофлоксацина на группу грамположительных бактерий выражена существенно слабее. Тем не менее, 100% выделенных нами возбудителей стрептококков, культур *St. pseudointermedius*, а также возбудители листериоза и рожи свиней были чувствительны к данному препарату. Высокой была так же чувствительность коагулазоотрицательных стафилококков (87,5%). Однако 6,25% изолятов данной группы имели промежуточные значения чувствительности и столько же культур были устойчивы к энрофлоксацину.

Количество чувствительных к препарату изолятов *St. hyicus*, *St. aureus* и *St. uberis* было существенно меньше. Так, например, доля чувствительных культур этих видов равнялась соответственно 65,1% (28 штаммов), 75% (30 изолятов) и 75% (6 культур). При этом количество изолятов с промежуточными значениями чувствительности было соответственно –

9,3% (4 штамма), 15% (6 изолятов) и 25% (2 штамма). Устойчивость в данном опыте была выявлена соответственно у 25,6% (11 штаммов) и 10% (4 штамма) стафилококков. Резистентных к энрофлоксацину культур *Streptococcus uberis* не выделено.

Из 42 выделенных культур энтерококков чувствительны к энрофлоксацину были 22 (52,4%), а численность изолятов с промежуточными значениями чувствительности и резистентных изолятов достигала соответственно 37,7% (15 изолятов) и 11,9% (5 штаммов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отношении грамотрицательных микроорганизмов *in vitro* энрофлоксацин является одним из наиболее активных антимикробных препаратов группы фторхинолонов. Резистентность к энрофлоксацину среди грамотрицательных возбудителей на данный момент не имеет широкого распространения.

В лабораторных условиях к действию энрофлоксацина восприимчивы возбудители рожи, листериоза, часть стрептококков и коагулазоотрицательных стафилококков, а также *St. pseudointermedius*. При этом антимикробное действие энрофлоксацина на значительную долю возбудителей стафилококковых инфекций и стрептококкозов выражено значительно слабее.

В отличие от других препаратов группы фторхинолонов [5, 6, 7], при определении чувствительности к энрофлоксацину наблюдается меньшее количество резистентных изолятов и культур с промежуточными значениями чувствительности. Так же нами не выделено резистентных к энрофлоксацину культур *P. aeruginosa*.

Antimicrobial activity of enrofloxacin *in vitro* . Yurin D.V. – PhD of V.Sc., senior researcher, Nevzorova V. V. – junior researcher, Balbutskaya A.A. – PhD of Bio.Sc., leading researcher, Belimova S.S. – researcher, Belgorod department of Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV"

ABSTRACT

Continuous use of enrofloxacin contributes to emergence of enrofloxacin-resistant microbial resistance, isolated and reported lately. In this study we deal with the spread of

resistance of enrofloxacin among pathogenic organisms, infecting animals. The susceptibility to enrofloxacin was studied in standard disc diffusion assay. We studied 437 bacterial isolates in total. *Salmonella dublin* and *Salmonella typhimurium* showed the highest susceptibility to enrofloxacin (100%); *Salmonella enteritidis* and *Salmonella choleraesuis* proved a bit less susceptibility (95% and 94,7%). 5% of *S. enteritidis* isolates and 5.3% of *S. choleraesuis* isolates had intermediate susceptibility. We did not register any resistance of isolates of *Salmonella*, *Pasteurella* and *Morganella* (*Pasteurella multocida*, *Morganella morganii*). 83.9% of *Escherichiacoli* strains proved susceptibility to enrofloxacin, the zone of retardation in 6.4% of the isolates was in correspondence with intermediate susceptibility, 9.7% of the isolates proved to be resistant. 90,9% of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in our study was susceptible to enrofloxacin, 9.1% of them had intermediate susceptibility. The isolates of *Streptococcus spp.* and *Staphylococcus pseudintermedius* revealed high susceptibility to enrofloxacin, also as *Listeria monocytogenes* (causative agent of listeriosis) and *Erysipelothrix rhusiopathiae* (causative agent of swine erysipelas). 87.5% of the coagulase negative staphylococci proved susceptible to enrofloxacin; 6.25% of the isolates were resistant or had intermediate susceptibility. The shares of susceptible isolates of *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus uberis* were respectively 65.1%, 75%, 75%. The shares of isolates with intermediate susceptibility of the same spp. were respectively 9.3%, 15%, 25%. The shares of resistant isolates of *Staphylococci* were respectively 25.6% and 10%.

We found no strains of *Str. uberis* with resistance to enrofloxacin. As for *Enterococci*, 52.4% of the isolates were enrofloxacin-susceptible, 11,9% and 37,7% of them were respectively enrofloxacin-resistant or had intermediate susceptibility. Presently most Gram-negative pathogenic bacteria have no resistance to enrofloxacin. Notwithstanding that enrofloxacin is significantly less effective against such pathogenic organisms as *Staphylococci* and *Streptococci*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторные исследования в ветеринарии : справ. / сост.: Б.И. Антонов, В.В. Борисова, П.М. Волкова, Л.П. Каменева, Л.В. Кошеленко, Г.А. Михальский, В.В. Поповцев, Л.И. Прянишникова, В.Е. Храпова ; под ред. Б.И.

Антонова. – Москва : Агропромиздат, 1986. – 352 с.

Лыско, С.Б. Резистентность к энрофлоксацину и возможность ее преодоления / С.Б. Лыско, Л.М. Кашковская, М.И. Сафарова // Птицеводство. – 2016. – №10. – С. 37-40.

Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных : справ. / Д.И. Скородумов, В. В. Субботин, М.А. Сидоров, Т.С. Костенко. – Москва : Изограф, 2005. – 656 с.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : метод. указания МУК 4.2.1890-04 / сост. Н.А. Семина, С.В. Сидоренко, С.П. Резван [и др.]. – Москва, 2004. – 91 с.

Чувствительность возбудителей бактериальных болезней животных к офлоксацину / Д.В. Юрин, В.Н. Скворцов, А.А. Балбуцкая, С.С. Белимова, О.А. Манжурина // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – № 2 (12). – С. 46-51.

Чувствительность возбудителей бактериальных болезней животных к ципрофлоксацину / Д.В. Юрин, В.Н. Скворцов, А.А. Балбуцкая, С.С. Белимова // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 1. – С. 91-95.

Чувствительность патогенной микрофлоры к норфлоксацину / Д.В. Юрин, А.А. Балбуцкая, В.Н. Скворцов, Белимова С.С. // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – №3. – С. 32-36.

Altreuther, P. Data of chemistry and Toxicology of Baytril / P. Altreuther // Veterinari Medical Review. – 1987.- Vol. 2. – P.87-89.

Campylobacter Infections: Background, Pathophysiology, Epidemiology. - 2019.

Cu, D.T.W. Structure activity relationships of the fluoroquinolones / D.T.W. Cu, P.B. Fernandes // Antimicrobial Agents and Chemotherapy.- 1989.- Vol. 13.- P. 131-135.

Gedek, W. Antibakterielle Wirkung von neueren Chinolonen und Nalidixinsäure gegenüber Mastitiserregern vom Rind / W. Gedek // Deutsche tierärztliche Wochenschrift. - 1987.- T. 94, № 10. - S. 545-548.

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Third Informational Supplement. M100-S23. - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2013