



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 579.62:618.19-002:619

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.1.13

МИКРОФЛОРА, ВЫДЕЛЯЕМАЯ ПРИ МАСТИТЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Джавадов Э.Д.-академик РАН, д.вет.н., проф., Стекольников А.А.- академик
РАН, д.вет.н., проф., Ладанова М.А. — к.вет.н., ассистент, СПГУВМ Новикова О.Б.
ВНИИВИП – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН

Ключевые слова: мастит, микрофлора, бактериологическое исследование, стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, синегнойная палочка, антибактериальные препараты, чувствительность к антибиотикам. **Keywords:** mastitis, microflora, bacteriological research, staphylococci, streptococci, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa.

РЕФЕРАТ

В этиологии и патогенезе мастита наблюдается связь с микробным фактором, проявляющемся в его взаимодействии с механизмами локальной иммунной защиты молочной железы и общей иммунобиологической реактивностью организма, что является особенностями проявления и течения болезни.

Провели отбор проб молока от коров с клиническими признаками воспаления молочной железы из четырёх животноводческих хозяйств разных районов Ленинградской области с последующим бактериологическим исследованием. При бактериологическом исследовании молока от маститных коров, мы выделили 68 культур разных видов микроорганизмов, что говорит о разнообразии микробного пейзажа. Среди выделенной микрофлоры доминирующими были стафилококки (в т.ч. гемолитические), микроорганизмы рода *Bacillus* (в т.ч. гемолитические), энтеробактерии (кишечная палочка, клебсиелла). Выделяли стрептококки (в т.ч. гемолитические), синегнойную палочку. Диско-диффузным методом определили чувствительность выделенных культур стафилококков к антибактериальным препаратам. С целью подбора эффективных средств лечения у доминирующих видов микроорганизмов была изучена чувствительность к антибактериальным препаратам разных групп (аминогликозиды, амфениколы, макролиды, полипептиды, тетрациклины, фторхинолоны, цефалоспорины и другие). При определении чувствительности наилучшие результаты показали антибиотики из группы аминогликозидов (гентамицин), макролидов (азитромицин), амфениколов (левомицетин), фторхинолонов (ципрофлоксацин, энрофлоксацин), цефалоспоринов (цефтиофур) – к ним были чувствительны более 50% исследованных культур. Наихудшие результаты показал линкомицин – все 9 исследованных культур стафилококков были к устойчивы к данному препарату. При применении антибиотиков с целью лечения в каждом отдельном случае необходимо проверять чувствительность культур, выделяемым в хозяйстве, к антибактериальным препаратам. Бессистемное лечение антибиотиками не только неэффективно, но и наносит существенный ущерб, поскольку развивается антибиотикорезистентность.

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире животноводческие хозяйства несут существенный экономический ущерб из-за потерь от мастита у высокопродуктивных коров. Важно организовать необходимые условия содержания и кормления коров, что является ключевым в профилактике мастита. Бактериологическое исследование молока с последующим определением антибактериальной чувствительности выделенных культур от маститных коров позволит получить лучший терапевтический ответ [1].

Стоит отметить, что кроме снижения качественных показателей молока из-за повышения в нем количества соматических клеток, также снижается молочная продуктивность коров. В первые дни заболевания наблюдается снижение продуктивности на 50-60% [4].

В этиологии и патогенезе мастита наблюдается связь с микробным фактором, проявляющемся в его взаимодействии с механизмами локальной иммунной защиты молочной железы и общей иммунобиологической реактивностью организма, что является особенностями проявления и течения болезни. В молоке при мастите всегда выделяются патогенные микроорганизмы, которые обладают определённой антибиотикорезистентностью, и являются источником постоянной инфекции в вымени [2, 3, 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Был произведен отбор проб молока от коров с клиническими признаками воспаления молочной железы из четырёх животноводческих хозяйств разных районов Ленинградской области с последующим бактериологическим исследованием.

Для отбора каждой пробы молока использовали одноразовый стерильный пластиковый контейнер. Для посева первичных проб исследуемого молока использовали стерильные стеклянные пробирки с простыми питательными средами – мясопептонным бульоном (МПБ), которые после инкубирования в течение 24 часов в термостате при $t +37,5^{\circ}\text{C}$.

Далее пересевали культуры с первичных посевов на скошенный мясопептонный агар (МПА), элективные и диффе-

ренциально-диагностические питательные среды: среду Эндо и XLD-агар для выделения кишечной микрофлоры, стафилококковый агар, полимиксиновую среду для выделения энтерококков. Гемоллиз определяли посевом на колумбийский кровяной агар с бараньей кровью.

С целью подбора эффективных средств лечения у доминирующих видов микроорганизмов была изучена чувствительность к антибактериальным препаратам разных групп (аминогликозиды, амфениколы, макролиды, полипептиды, тетрациклины, фторхинолоны, цефалоспорины и другие). В работе при определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам использовали следующие документы:

МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации - Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.Г.Онищенко 4 марта 2004 г.

Клинические рекомендации Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (Москва, 15.05.2017 г.) и экспертном совещании профильной комиссии по специальности «Клиническая микробиология и антимикробная резистентность» (г. Сочи, 18.10.2017 г.)

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили диск-диффузионным методом (методом дисков), основанным на диффузии антибиотика в питательную среду. Использовали диски с антибиотиками с известной концентрацией действующего вещества, изготовленные промышленным способом, производства НИЦФ, НИИЭМ им. Пастера. В качестве питательной среды для определения чувствительности использовали плотную среду Мюллера-Хинтон в

Таблица 1

Чувствительность выделенных культур стафилококков к антибактериальным препаратам

		Количество исследованных культур	Высокочувствительные	Чувствительные	Среднечувствительные	Устойчивые
1	Азитромицин	13	1 (7,7%)	7 (53,8%)	1 (7,7%)	4 (30,8%)
2	Амоксициллин	12	1 (8,3%)	3 (25%)	0	8 (66,7%)
3	Гентамицин	14	3 (21,4%)	5 (35,75%)	1 (7,1%)	5 (35,75%)
4	Доксициклин	12	1 (8,3%)	5 (41,7%)	3 (25%)	3 (25%)
5	Канамицин	10	0	3 (%)	3 (%)	4 (%)
6	Колистин	8	0	1 (12,5%)	1 (12,5%)	6 (75%)
7	Котримоксазол	14	1 (7,1%)	3 (21,4%)	2 (14,3%)	8 (57,2%)
8	Левомецетин	8	0	6 (75%)	0	2 (25%)
9	Линкомицин	9	0	0	0	9 (100%)
10	Стрептомицин	8	0	4 (50%)	0	4 (50%)
11	Тетрациклин	8	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)	2 (25%)
12	Тиозин	11	0	3 (%)	1 (%)	7 (%)
13	Флорфеникол	10	0	5 (50%)	3 (30%)	2 (20%)
14	Цефтиофур	8	4 (50%)	1 (12,5%)	0	3 (37,5%)
15	Ципрофлоксацин	12	5 (41,7%)	3 (25%)	1 (8,3%)	3 (25%)
16	Энрофлоксацин	14 (%)	9 (64,3%)	2 (14,3%)	1 (7,1%)	2 (14,3%)
17	Эритромицин	9 (%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	0	7 (77,8%)

чашках Петри. Инокулят для нанесения на поверхность питательной среды готовили из чистой культуры микроорганизма, предварительно выращенного на МПА. Затем чистые колонии суспендировали в физрастворе, устанавливая концентрацию по стандарту мутности 0,5 по Мак

-Фарланду, что соответствует $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Далее инокулят наносили на поверхность чашки Петри стерильным ватным зонд-тампоном, формируя равномерный газон по всей поверхности питательной среды. Затем на поверхность чашки наносили диски с соответствующими препара-

тами. Чашки инкубировали в термостате в течение 18-20 ч при $t\ 37,0\pm0,5^{\circ}\text{C}$.

Эффективность антибактериальных препаратов учитывали, измеряя диаметр зоны задержки роста культуры. Для измерения использовали прозрачную линейку со скошенным краем. Размер высчитывали на тёмном фоне под отражённым светом. Оценку результатов проводили в соответствии с показателями таблиц, прилагаемых к наборам с дисками. Интерпретация размера зоны задержки роста зависела от вида микроорганизма и наименования антибактериального препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При бактериологическом исследовании молока от маститных коров, мы выделили 68 культур разных видов микроорганизмов, что говорит о разнообразии микробного пейзажа. Среди выделенной микрофлоры доминирующими были стафилококки (в т.ч. гемолитические), микроорганизмы рода *Bacillus* (в т.ч. гемолитические), энтеробактерии (кишечная палочка, клебсиелла). Выделяли стрептококки (в т.ч. гемолитические), синегнойную палочку.

Диско-диффузным методом определили чувствительность выделенных культур стафилококков к антибактериальным препаратам (таблица 1).

При определении чувствительности наилучшие результаты показали антибиотики из группы аминогликозидов (гентамицин), макролидов (азитромицин), амфениколов (левомицетин), фторхинолонов (ципрофлоксацин, энрофлоксацин), цефалоспоринов (цефтиофур) – к ним были чувствительны более 50% исследованных культур. Хуже всех сработал препарат из группы линкозамидов линкомицин – все 9 исследованных культур стафилококков были к устойчивы к данному препарату.

К антибиотикам тетрациклиновой группы (доксициклин, тетрациклин), из группы аминогликозидов (стрептомицин) 50% культур были высокочувствительны и чувствительны и 50% имели среднюю чувствительность или были устойчивы. Поэтому при применении антибиотиков с целью лечения в каждом отдельном слу-

чае необходимо проверять чувствительность культур, выделяемым в хозяйстве, к антибактериальным препаратам. Бессистемное лечение антибиотиками не только неэффективно, но и наносит существенный ущерб, поскольку развивается антибиотикорезистентность. Кроме того, накопленные в организме животных, а также в их продуктах антибиотики способствуют развитию аллергии и появлению антибиотикорезистентных микроорганизмов, вызывающих болезни у людей.

Выявление доминирующей микрофлоры в каждом отдельном случае было разным, и зависело от эпизоотической ситуации в конкретном животноводческом хозяйстве. Во многих случаях отмечали развитие смешанных инфекций, ассоциативное воздействие разных видов микроорганизмов на организм животного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для получения лучшего терапевтического эффекта перед началом лечения коров, больных маститом, следует выделить культуры, вызывающие воспаление молочной железы, определить антибактериальную чувствительность данных культур и на основании полученных данных выбирать антибактериальный препарат.

Следует отметить, что при бактериологическом исследовании молока часто наблюдается наличие смешанных инфекций, а также ассоциативное воздействие разных видов микроорганизмов на организм животного.

При использовании антибиотиков без определения чувствительности часто развивается антибактериальная резистентность у микроорганизмов.

MICROFLORA RELEASED IN MASTITIS AND DETERMINATION OF ITS SENSITIVITY TO ANTIBACTERIAL DRUGS.
E.D. E.D. Javadov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, A.A. Stekolnikov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, M.A. Ladanova - Ph.D in Veterinary Science, associate professor, Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine O.B. Novikova - Ph.D in Veterinary Science

ABSTRACT

A bacteriological study of milk samples from cows with clinical forms of mastitis from four livestock farms of different districts of the Leningrad region, were conducted. During the bacteriological study of milk from cows with mastitis, we isolated 68 cultures of different types of microorganisms, which indicates the diversity of the microbial "paysage". Among the isolated microflora, the dominant ones were staphylococci (including hemolytic), microorganisms of the genus *Bacillus* (including hemolytic), *Enterobacteria* (*Escherichia coli*, *Klebsiella*). *Streptococci* (including hemolytic), *Pseudomonas aeruginosa* were isolated. The sensitivity of the isolated cultures of staphylococci to antibacterial drugs was determined by the disco-diffuse method. In order to select effective treatment agents in the dominant species of microorganisms, sensitivity to antibacterial drugs of different groups (aminoglycosides, amphenicols, macrolides, polypeptides, tetracyclines, fluoroquinolones, cephalosporins, and others) was studied. When determining the sensitivity, the best results were shown by antibiotics from the group of aminoglycosides (gentamicin), macrolides (azithromycin), amphenicols (levomycetin), fluoroquinolones (ciprofloxacin, enrofloxacin), cephalosporins (ceftiofur) – more than 50% of the studied cultures were sensitive to them. Lincomycin showed the worst results – all 9 studied cultures of staphylococci were resistant to this drug. When using antibiotics

for the purpose of treatment in each individual case, it is necessary to check the sensitivity of crops isolated in the farm to antibacterial drugs. Unsystematic treatment with antibiotics is not only ineffective, but also causes significant damage, as antibiotic resistance develops.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джавадов Э.Д. Спектр микрофлоры, выделяемой при мастите коров / Стекольников А.А., Ладанова М.А., Новикова О.Б. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – №4. – С. 66-68
2. Колчина А.Ф., Баркова А.С., Барашкин М.И. Современные методы в диагностике патологии молочной железы высокопродуктивных коров // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 12 (104). – С. 12-14
3. Комаров В.Ю., Белкин Б.Л. Диагностика мастита и оценка эффективности проводимой терапии // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. 2016. – № 1 (9). – С. 97-102.
4. Кугелев И.М. Эффективность применения ветеринарного препарата «Бовистэм» для крупного рогатого скота производства ООО «Новистем» при лечении маститов / И.М. Кугелев, А.В. Заремба, Х.Д. Эльдаров // Международный научно-исследовательский журнал. – 2019. – №12 (90) часть 2. – С. 131-136
5. Фармакотерапия акушерских и гинекологических заболеваний у сельскохозяйственных животных / В.П. Иванюк, Л.Ю. Нестерова, О.В. Ильина [и др.]. – Луганск: ЛНАУ. – 2011. 90 с 3.