

УДК 619:616.9:636.4

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СТАФИЛОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ КРОЛИКОВ

Балбуцкая А.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник, Скворцов В.Н. – д.в.н., директор филиала, Хохлова Н.С. – лаборант, Белимова С.С. – лаборант, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

Ключевые слова: стафилококк, видовое разнообразие, пододерматит, кролик, антибиотикоустойчивость. **Key words:** staphylococci, the species diversity, pododermatitis, rabbit, antibiotic sensitivity.



РЕФЕРАТ

Staphylococcus aureus является наиболее распространенным микроорганизмом, выделяемым от различных животных. У кроликов золотистый стафилококк вызывает такие заболевания, как септикопиемия, пододерматит, блуждающая пиемия и мастит. Пододерматит – широко распространенное заболевание кроликов, которое является одной из основных причин выбраковки маточного поголовья. Целью данного исследования являлось определение видового разнообразия представителей рода Staphylococcus, изолированных от кроликов маточного поголовья, больных пододерматитом, и здоровых кроликов различного возраста. 35 отобранных образцов были исследованы на наличие бактерий рода Staphylococcus общепринятыми методами. Видовая принадлежность 22 изолированных культур была определена с помощью биохимических тест-систем. Определена чувствительность выделенных изолятов стафилококка к антибиотикам различных групп диско-диффузионным методом. От больных кроликов были выделены 3 изолята S. aureus и 12 коагулазоотрицательных стафилококков (КОС). КОС были представлены следующими видами: S. xylosus (n=5), S. gallinarum (n=5), S. saprophyticus (n=2). Два изолята S. gallinarum, 2 - S. saprophyticus единичные изоляты S. xylosus, S. cohnii и S. simulans выделены от здоровых особей. Изученные изоляты стафилококка проявили высокую чувствительность к большинству протестированных антибиотиков. Наиболее резистентными они оказались к пенициллинам, макролидам, линкозамидам и цефалоспорином II и III поколений. 59% (13/22) исследованных изолятов обладали множественной устойчивостью к антибактериальным средствам, среди которых один метициллиноустойчивый изолят S. aureus и семь – метициллиноустойчивые КОС.

ВВЕДЕНИЕ

Кролиководство – одно из активно развивающихся направлений сельского хозяйства. Большая плодовитость и скороспелость кроликов обеспечивают высокую рентабельность производства. Качество получаемого диетического, гипоаллергенного мяса рождает дополнительный спрос на кролиководческую продукцию [2].

Однако современная интенсификация животноводства всегда сопровождается рядом проблем. Кролиководство не является исключением. Одной из основных проблем, с которыми приходится сталкиваться, являются заболевания дистального отдела задних конечностей. Так, по данным зарубежной литературы, пододерматит занимает третье место

среди причин выбраковки маточного поголовья, уступая лишь низким репродуктивным показателям и маститу у самок и абсцессам у самцов [9].

Пододерматит, начавшийся с небольшой аллапации на плантарной поверхности стопы, может переходить в язвенную форму, с образованием долго незаживающих ран, свищей, а иногда и контрактур. Существует большое количество мнений о причинах возникновения данного заболевания. Предрасполагающими же факторами считаются следующие: высокая масса тела, решетчатые полы, влажная подстилка, патогенная и условно-патогенная микрофлора, а иногда и генетическая предрасположенность [7, 8]. Ведущим возбудителем инфекционных заболеваний, в том числе пододерматита, у кроликов является *Staphylococcus aureus* [8]. Совершенствование методов видовой идентификации микроорганизмов в последние два десятилетия позволило переоценить роль группы коагулазоотрицательных стафилококков в инфекционной патологии различных животных. Установлено, что представители группы КОС способны вызывать гнойно-воспалительные заболевания, как у животных, так человека [1]. Однако данные об удельном весе представителей этой группы в инфекционной патологии кроликов практически отсутствуют.

Основным средством лечения пододерматита кроликов на протяжении многих лет служат антибактериальные препараты, нерациональное и интенсивное применение которых приводит к появлению резистентных к ним штаммов бактерий. Широкое распространение устойчивых к антибиотикам микроорганизмов является серьезной проблемой для животноводства во всем мире [3, 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2016 году в кролиководческом хозяйстве Белгородской области были отобраны 35 проб патологического и биологического материала от 19 кроликов маточного поголовья, больных пододерматитом, и 8 здоровых кроликов различного возраста. От больных животных отбирали

мазки с поверхности кожи пораженных лап или раневое отделяемое. От здоровых – мазки со слизистой оболочки десен. От одной вынужденно убитой самки проведено бактериологическое исследование крови из сердца, мазков-отпечатков печени, почек, селезенки и легких. Посев проб производили на дифференциально-диагностические питательные среды (желточно-солевой, стрептококковый, желчно-эскулиновый, висмут-сульфитный агары, среду Эндо, «HiMedia», Индия) и мясо-пептонный агар с добавлением 5% стерильной дефибринированной крови барана и инкубировали 24 ч при +37°C. Родовую идентификацию проводили путем оценки морфологии выросших колоний и результатов микроскопии окрашенных по Граму мазков. Стафилококки дифференцировали с помощью каталазной реакции. Дифференциацию стафилококков на коагулазоположительные (КПС) и коагулазоотрицательные (КОС) проводили с помощью теста на плазмокоагулирующую активность лиофилизированной цитратной плазмы крови кролика (ЗАО «ЭКОлаб»). Дальнейшая видовая идентификация чистых культур микроорганизмов была выполнена согласно инструкции производителя коммерческих биохимических тест-систем («ErbaLachema», Чехия).

Чувствительность изолированных микроорганизмов к антибактериальным средствам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона («Bio-Rad», США), результаты интерпретировали в соответствии с критериями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (2018) [10]. В работе использовали диски, содержащие 35 антибиотиков различных классов («HiMedia», Индия). Лекарственную устойчивость считали множественной, если микроорганизм был резистентен не менее чем к трем антибактериальным средствам различных фармакологических групп [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Из 35 исследованных образцов выде-

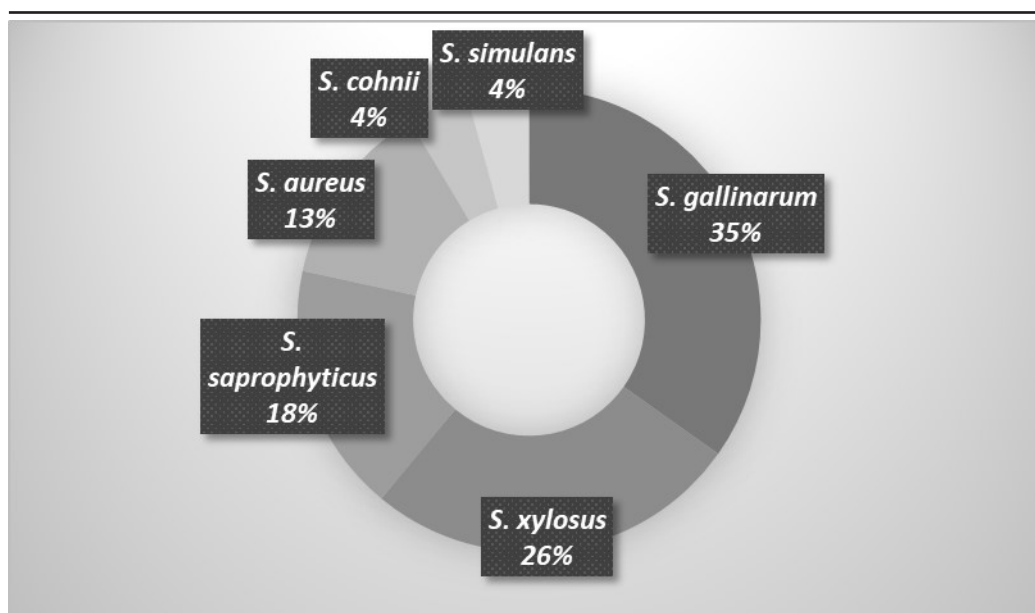


Рисунок 1. Видовое разнообразие стафилококков, изолированных от больных и здоровых кроликов.

лены 26 изолятов 7 видов микроорганизмов, в том числе бактерий рода *Staphylococcus* – 22 (84,6%) и *Enterococcus* (15,4%). Фенотипическими методами среди стафилококков изолированы 13% *S. aureus* 87% коагулазоотрацательных представителей рода, видовая структура которых отображена на рисунке 1.

От больных животных выделены 3 изолята *S. aureus* и 12 изолятов КОС. В образцах патологического материала, отобранного с плантарной поверхности пораженных лап самок, изолировали *S. xylosus*– 5, *S. gallinarum*– 3. В исследование были включены 4 культуры КОС (*S. gallinarum*– 2, *S. saprophyticus*– 2), выделенные со слизистой оболочки ротовой полости у 4 из 5 больных пододерматитом самок, обследованных на носительство, а также 1 изолят *S. gallinarum* с кожи в области паха одной из крольчих. В образцах раневого отделяемого тех же особей стафилококк был выделен у 2 из 5 крольчих. Среди здоровых животных у одной взрослой самки обнаружен *S. saprophyticus* только на слизистой оболочке ротовой полости. Пять из семи обследованных крольчат

оказались носителями стафилококка на слизистой оболочке ротовой полости. У них идентифицированы 2 культуры *S. gallinarum* единичные изоляты *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. simulans* и *S. saprophyticus*. Из внутренних органов вынуждено убитой больной самки монокультура *S. saprophyticus* была изолирована в посевах из печени и селезенки.

Согласно результатам тестов все изоляты (100%) оказались чувствительными к цефазолину, цефепиму, гентамицину, фуразолидону, фурадонину, рифампицину и ванкомицину. Единичные штаммы были устойчивы к стрептомицину, цiproфлоксацину, норфлоксацину, левофлоксацину, энрофлоксацину, моксифлоксацину, тетрациклину, доксициклину, линезолиду и левомицетину (по 4,5%). Резистентность к другим антибиотикам выделенных культур рода *Staphylococcus* распределилась следующим образом: пенициллины – 59% к оксациллину, 50% к бензилпенициллину, 31,8% к ампициллину, 18,2% к амоксициллину, 9% амоксициллин/

сульбактаму; цефалоспорины – 90,9% к цефтазидиму, 22,7% к цефокситину, 18,2% обладали промежуточной чувствительностью к цефотаксиму; аминогликозиды – 9% к канамицину и неомицину; нитрофураны – 27,3% к фузидину; 9% к офлоксацину; линкозамидам – 63,6% к линкомицину, 9% были устойчивы к клиндамицину, 31,8% проявляли промежуточную чувствительность к клиндамицину; макролиды – 27,3% к эритромицину (кроме того 9% имели промежуточную чувствительность) и 22,7% к тилозину (27,3% имели промежуточную чувствительность). 59% изолятов обладали множественной устойчивостью к антибиотикам, из них 1 оказался метициллину устойчивым *S. aureus* (MRSA).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что спектр бактерий рода *Staphylococcus*, выделенных от больных пододерматитом и здоровых кроликов был представлен 6 видами стафилококка. У больных кроликов преобладал *S. xylosum* (33,3%), который являлся возбудителем пододерматита. От здоровых кроликов чаще изолировали *S. gallinarum* и *S. saprophyticus*. Изученные изоляты стафилококков проявили высокую чувствительность к большинству протестированных антибактериальных средств. Наиболее резистентными они оказались к пеницилинам, макролидам, линкозамидам и цефалоспорином II и III поколений. Множественную лекарственную устойчивость проявили 59% изолятов стафилококка, в том числе 1 изолят MRSA и 7 изолятов метициллину устойчивых КОС.

ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM RABBITS.

A.A. Balbutskaya, V.N. Skvortsov, N.S. Khokhlova, S.S. Belimova. Federal Research Center All-Russian scientific research institute of experimental veterinary medicine named after K.I. Skryabina and Ya.R. Kovalenko, Russian Academy of Sciences

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is by far the most frequently isolated microorganism in different animals. In rabbits, this bacterium causes

important economic loss associated with several lesions, such as septicemia, pododermatitis, multisystemic abscessation and mastitis. Pododermatitis is a widespread disease of rabbits, which is one of the main reason for the culling of commercial rabbits. The present study aimed to determine the distribution of *Staphylococcus* from breeding rabbits with pododermatitis and healthy rabbits of different ages. For this purpose 35 samples were collected and examined for the presence of *Staphylococcus* species by conventional methods. The species identify a total of 22 strains of staphylococci was determined by biochemical method. Sensitivity of staphylococcal strains belonging to different species was studied with respect to antibiotics from different classes by disk diffusion method. 3 *S. aureus* and 12 strains of coagulase-negative staphylococci (CNS) were isolated from diseased rabbits. CNS included *S. xylosum* (n=5), *S. gallinarum* (n=5), *S. saprophyticus* (n=2). Two isolates of *S. gallinarum*, 2 of *S. saprophyticus* and single strains of *S. xylosum*, *S. cohnii* and *S. simulans* were isolated from healthy animals. The investigated isolates of staphylococci revealed high sensitivity to most of the tested antibiotics. Penicillins, macrolides, lincosamides and cephalosporins of II and III generations were less active against tested isolates. The prevalence of multiple drug resistance in this study was 59% (13/22). Among them 1 *S. aureus* and 7 strains of CNS were identified.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балбуцкая А.А., Дмитренко О.А., Войтенко А.В., Скворцов В.Н. Видовое разнообразие представителей рода *Staphylococcus*, выделенных от домашних и сельскохозяйственных животных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями. *Международный вестник ветеринарии*. 2015; 2:56 – 62.
2. Рютова В.П. *Болезни кроликов*. Москва: Россельхозиздат, 1985: 142.
3. Скворцов В.Н., Сафонова Н. А., Балбуцкая А.А., Маханёв В.В., Войтенко А. В. Антимикробная активность офлоксацина в отношении микроорганизмов, выделенных от больных животных. *Ветеринарная патология*, 2011; 3: 98-101.

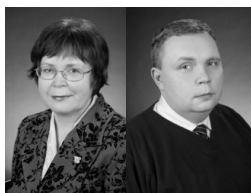
4. Bhargava K., Zhang Y. Multidrug-resistant coagulase-negative Staphylococci in food animals. *Journal of Applied Microbiology*. 2012;113: 1027-36.
5. Locatelli C., Cremonesi P., Caprioli A. et al. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle herds, related swine farms, and humans in contact with herds. *J Dairy Sci*. 2017;100(1): 608-19.
6. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268 – 81.
7. Martorell J. Scoring pododermatitis in pet rabbits / *Vet. Rec.* 2014: 174(17):427-8.
- Rosell J.M., de la Fuente L.F. Culling and mortality in breeding rabbits. *Prev. Vet. Med.* 2009; 88(2):120-7.
8. Sánchez J.P., de la Fuente L.F., Rosell J.M. Health and body condition of lactating females on rabbit farms. *J. Anim. Sci.* 2012;90(7):2353-61.
9. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015. <http://www.eucast.org>.

УДК 619:615.281.9

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ХЛОРГЕКСИДИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН У СОБАК

Барышев В. А. – асс., каф. фармакологии и токсикологии, Андреева Н.Л. - д.б.н., проф. кафедра фармакологии и токсикологии, ФГБОУ ВО СПбГАВМ, Матвеев В.М. - гл. вет. врач, ветеринарная клиника «Ника»

Ключевые слова: гель, хлоргексидин, раны, раневая инфекция, антисептик.
Key words: gel, chlorhexidine, wounds, wound infection, antiseptic



РЕФЕРАТ

Объектом исследования был ранозаживляющий гель, содержащий в своем составе 4% хлоргексидина, разработанный на кафедре фармакологии и токсикологии СПбГАВМ. Клинические испытания ранозаживляющего геля проводили на базе ветеринарной клиники «Ника». Для этой цели было сформировано две группы собак по 10 голов в каждой. Животных в группы определяли по принципу аналогов, чтобы размер раны был в диапазоне 3-4 см. Первой, подопытной группе, после хирургической обработки лечение осуществляли 4% гелем с хлоргексидином. В контрольной группе, после обработки раневой поверхности лечение осуществляли мазью Левомеколь.

Исследования антимикробной активности проводились *in vitro* методом диффузии на твердые питательные среды, в отношении референтных штаммов микроорганизмов - основных потенциальных возбудителей раневых гнойных процессов: *Escherichia coli* (штамм 259222), *Staphylococcus aureus* (штамм 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (штамм 27953), *Proteus mirabilis*. Учет антимикробной активности проводили путём замера зоны задержки роста микроорганизмов.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что гнойное воспаление раневой поверхности вызывает ассоциация условно - патогенных микроорганизмов. Существенную роль в этом процессе отводят кокковой микрофлоре, которая составляет 70%.