

леваний птиц путем введения в рацион цыплят-бройлеров биологически активных веществ / Е.А. Капитонова // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2009. – Т. 75. – С. 329-331.

3. Капитонова, Е.А. Продуктивность цыплят-бройлеров при введении в рацион адсорбента микотоксинов / Е.А. Капитонова, В.А. Медведский // Ученые Записки УО ВГАВМ, 2010. – Т. 46. – № 1-2. – С. 136-139.

4. Красочко, П.А. Микрофлора кишечника цыплят-бройлеров и ее коррекция биологически активными препаратами / П.А. Красочко [и др.]. – Труды Всероссийского

НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2009. – Т. 75. – С. 393-398.

5. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балькина [и др.]. – Научно-производственный журнал «Международный вестник ветеринарии». – ФГБОУ ВПО СПбГАВМ, 2018. – № 1 – С. 33-40.

6. Санитарно-гигиеническое значение бактерий и плесневых грибов в изменении качества кормов : учебно-методическое пособие / С. В. Абрамова [и др.]. – Витебск, 2012. – 32 с.

УДК 579.253.2:579.861.2:615.281.9

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.103

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ

Макавчик С.А. - к.вет.н., доцент - ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Кротова А.Л. - ФГБУ «Ленинградская Межобластная ветеринарная лаборатория»

Ключевые слова: микрофлора, чувствительность к антибиотикам, механизмы резистентности, антибиотикорезистентность, микробиологические методы. **Keywords:** microflora, sensitivity to antibiotics, resistance mechanisms, antibiotic resistance, microbiological methods.



РЕФЕРАТ

В последние годы чаще встречаются метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA), изолированные от животных. Стафилококки зоонозного происхождения (LA-MRSA) труднее поддаются лабораторному контролю. Лабораторные результаты исследований на чувствительность *in vitro* важны при выборе наиболее эффективного АМП при фармакотерапии. Лабораторный контроль за антибиотикочувствительностью микроорганизмов, ранжирование результатов и их выборочное репортирование позволяют профилактировать возникновение и распространение резистентности к антимикробным препаратам.

В работе представлены данные об устойчивости изолятов стафилококков, изолированных от животных, при интерпретации данных, полученных диско-диффузионным методом и методом серийных микроразведений в бульоне.

Изоляты были чувствительны к азитромицину и эритромицину (S=76,0%), цефотаксиму (S=100,0%), цефалексину (S=100,0%), неомицину (S=70,0%), тетрациклину (S=70,0%), клиндамицину (S=76,0%), индуцибельной резистентности к клиндамицину не выявлено.

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (24%) обладали устойчивостью к азитромицину по ДДМ и проявили рост 20 (60,6%) при МИК₃ 0,5 мг/л, а 4 изолятов (8,0 %) при МИК₃ 1,0 мг/л.

Из исследуемых изолятов устойчивостью к тетрациклину обладали *Staphylococcus aureus* (30,0%). Если *Staphylococcus aureus* был резистентен к тетрациклину, определяли резистентность к доксициклину МИК₃ 0,5 мг/л у 7 изолятов, и у 8 изолятов отмечали МИК₃ 1,0 мг/л.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

Устойчивости к оксациллину у всех исследованных нами изолятов мы не обнаружили, что позволяет отнести их к метициллин-чувствительным *S. aureus* MSSA. Установлено, что изоляты, выделенные из биоматериала, были восприимчивы к ванкомицину (S=100 %).

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечается тенденция к возникновению и распространению микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Постоянное использование антимикробных препаратов способствует появлению полирезистентных микроорганизмов, что показывает актуальность рациональной фармакотерапии животных [1, 2,3].

В последние годы чаще встречаются метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA), изолированные от животных. Стафилококки зоонозного происхождения (LA-MRSA) труднее поддаются лабораторному контролю. Лабораторные результаты исследований на чувствительность *in vitro* важны при выборе наиболее эффективного АМП при фармакотерапии [6,7,8].

Механизмы развития антибиотикорезистентности различны (продукция ферментов, антимикробная избирательность клеточной стенки, эффлюкс-система) [2]. Лабораторный контроль антибиотикочувствительности микроорганизмов, ранжирование результатов и их выборочное репортирование позволяют профилировать возникновение и распространение резистентности к антимикробным препаратам.

Цель работы: оценить фенотипическую устойчивость изолятов стафилококков, выделенных от телят с респираторной патологией и коров при маститах к основным антимикробным препаратам, используемых в Российской Федерации, и определить их минимальные ингибирующие концентрации (МИК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ранжирование АМП проводили с учетом их клинической эффективности, а также возбудителей, имеющих природную резистентность, определены маркерные АМП или предикторы чувствительности.

Чувствительность изолятов к пенициллину, оксациллину, гентамицину, эритромицину, линкомицину, рифампицину, ципрофлоксацину, ванкомицину, фузидину тестировали диско-диффузионным методом (ДДМ) на агаре Мюллера-Хинтона (Великобритания). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли методом серийных микроразведений на бульоне Мюллера-Хинтона (Великобритания). Для этого из агаровой культуры готовили инокулом исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* с плотностью 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Индикация резистентности к АМП методом серийных разведений с определением МПК проводили с применением планшетом GPALLIF (с левофлоксацином, моксифлоксацином и хлорамфениколом для грамположительных микроорганизмов), RUSTEF (с доксициклином и цефтаролином для стафилококков и энтерококков), GPN3F (с пенициллином ампицилином оксациллином, ванкомицином для грамположительных кокков).

Для рациональной фармакотерапии животных использовали критерии интерпретации ECOFF с учетом биологической активности микроорганизмов, «Экспертные правила определения к антибиотикам EUCAST» [4, 5].

Прогнозирование (экстраполирование)

наличия ассоциированной резистентности проводили по приоритетным препаратам. Выборочное репортирование АМП осуществляли, анализируя антибиотикограммы, с учетом результатов чувствительности антибиотиков, имеющих критическое значение в медицине согласно перечню ВОЗ. Биометрическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Excel, и онлайн платформы AMRcloud.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изоляты культур *Staphylococcus aureus* проявили высокую чувствительность только к антибиотикам цефалоспоринового ряда. *Staphylococcus aureus* обладает природной резистентностью к ряду антибиотиков, включая цефтазидиму, азтреонаму, полимиксину, колистину, налидиксовой кислоте.

Изоляты были чувствительны к азитромицину и эритромицину ($S=76,0\%$), цефотаксиму ($S=100,0\%$), цефалексину ($S=100,0\%$), неомицину ($S=70,0\%$), клиндамицину ($S=76,0\%$), индуцибельной резистентности к клиндамицину не выявлено, тетрациклину ($S=70,0\%$) (табл.1).

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (24%) обладали устойчивостью к азитромицину по диско-диффузионному методу и проявили рост 20 (60,6%) при $\text{МИК}_{\frac{1}{2}} 0,5$ мг/л, а изолятов 4 (8,0 %) при $\text{МИК}_{\frac{1}{2}} 1,0$ мг/л.

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (30,0%) обладали устойчивостью к тетрациклину. Если *Staphylococcus aureus* был резистентен к тетрациклину, определяли резистентность к доксициклину $\text{МИК}_{\frac{1}{2}} 0,5$ мг/л у 7 изолятов, и у 8 изолятов отмечали $\text{МИК}_{\frac{1}{2}} 1,0$ мг/л.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

Оксациллин использовали для выявления резистентности ко всем бета-лактамным препаратам у стафилококков (MRSA). Устойчивости к оксациллину у всех исследованных изолятов мы не обнаружили, что позволяет отнести их к мети-

циллин-чувствительным *S.aureus* (MSSA), исследования чувствительности к цефокситину не проводили.

В ходе наших исследований мы выделили MSSA (метициллинчувствительные стафилококки) – *S.aureus*, чувствительные к оксациллину (метициллину), что согласуется с авторами других работ (О.А. Артемьева, Д.А. Никанова, Е.Н. Катковская и др., 2016) [1].

Согласно обновленной версии рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) рекомендует использовать цефокситин для скрининга *mecA/mecC*- опосредованной резистентности к бета-лактамам у *S. aureus*.

Оксациллин и цефокситин – индикаторные препараты, по результатам определения чувствительности к которому можно с высокой степенью вероятности судить о резистентности не только к данным препаратам, но и ко всем бета-лактамам. Установлено, что изоляты *S. aureus*, выделенные из биоматериала были восприимчивы к ванкомицину ($S=100\%$). Собранные данные загружены в таблице Excel на платформу AMRcloud для последующего комплексного анализа и систематизации.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

В заключение важно отметить, что значение МИК позволяет прогнозировать вероятность успеха и неудачи выбранной терапии.

Низкое значение МИК указывает на высокую чувствительность к АМП, а высокое значение прогнозирует низкую чувствительность и вероятную резистентность.

Значение МИК позволяет ветеринарному врачу:

выбрать наиболее подходящий антимикробный препарат;

модифицировать дозирование АМП, принимая во внимание чувствительность патогенна (МИК) в комбинации с характеристиками животного и фармакокине-

Таблица 1

Устойчивость и чувствительность микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, выделенных от коров и телят в СЗ ФО РФ, к различным АМП (ECOFF)

Название антимикробного препарата	Чувствительные	Резистентные	Количество исследуемых культур
Пенициллины			
Ампициллин	13/26,0	37/74,0	50
Бензилпенициллин	37 /74,0	13/26,0	50
Макролиды			
Эритромицин	26 /76,0	12/24,0	50
Азитромицин	26/76,0	12/24,0	50
Линкозамины			
Клиндамицин	26 /76,0	12/24,0	50
Линкозамицин	45/90,0	5/10,0	50
Аминогликозиды			
Гентамицин	38/76,0	12/24,0	50
Неомицин	35/70,0	15/30,0	50
Тетрациклины			
Тетрациклин	35/70,0	15/30,0	50
Доксициклин	35/70,0	15/30,0	50
Цефалоспорины			
Цефалексин	50/100,0	0/0	50
Цефотаксим	50/100,0	0/0	50

Примечание: в числителе – абсолютное число культур, в знаменателе – процент от числа выделенных культур.

тическими параметрами лекарственного средства посредством использования терапевтического лекарственного мониторинга.

ВЫВОДЫ

Фенотипическая устойчивость изолятов в нашем исследовании подчеркивает важность рутинного скрининга для выявления резистентности фенотипов изолятов. Практическое применение фенотипических методов исследования позволяет выявить антибиотикочувствительность и механизмы резистентности у этиологически значимых возбудителей животных. Таким образом, изучение антибиотикорезистентности возбудителей болезней животных и правильно разработанные схемы лечения — меры, уменьшающие риск распространения полирезистентных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

ANTIBIOTIC RESISTANCE MICRO-

ORGANISMS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM ANIMALS. Makavchik S.A., Krotova A.L.

ABSTRACT

In recent years, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals have become more common. *Staphylococci* of zoonotic origin (LA-MRSA) are more difficult to control in the laboratory. Laboratory results of in vitro sensitivity studies are important when choosing the most effective AMP in pharmacotherapy. Laboratory monitoring of the antibiotic sensitivity of microorganisms, ranking of results and their selective reporting make it possible to prevent the occurrence and spread of antimicrobial resistance.

The paper presents data on the stability of staphylococcal isolates isolated from animals when interpreting the data obtained by the disco-diffusion method and the method

of serial micro-dilutions in broth.

The isolates were sensitive to azithromycin and erythromycin (S=76.0%), cefotaxime (S=100.0%), cephalixin (S=100.0%), neomycin (S=70.0%), tetracycline (S =70.0%), clindamycin (S=76.0%), inducible resistance to clindamycin was not detected.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Артемьева, О.А. Фенотипическая устойчивость к антибиотикам у штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из молока коров / О.А. Артемьева, Д.А. Никанова, Е.Н. Колодина, В.В. Романова, Ф.А. Бровко, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология – 2019 - том 54- № 6 - С. 1257-1266
- 2.Макавчик, С.А. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от крупного рогатого скота/ Макавчик С.А., Кротова А.Л., Баргман Ж.Е., Сухинин А.А., Приходько Е.И.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2020. -№ 4.- С. 41-46.
- 3.Макавчик, С.А. Этиологическая структура возбудителей мастита коров и их характеристика чувствительности к антибактериальным препаратам в Северо-Западном регионе / Макавчик С.А., Сухинин А.А., Кротова А.Л., Селиванова Л.В., Приходько Е.И.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2020. -№ 1.- С. 66-71.
- 4.European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.
- 5.EUCAST. Экспертные правила определения чувствительности к антибиотикам EUCAST. Доступно по адресу: https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/
- 6.Talukder, A.A. Isolation, identification and resistance pattern of microorganisms associated with mastitis in Buffalo./ Talukder A.A., Rahman H.H., Jamil Mahmud S.M., Alam F., Dey S.K.//J. Microbiol.- 2013- 30 (1-2)- P. 1-5.
7. Tanzin, T. Antibiotic resistance profile of bacteria isolated from raw milk samples of cattle and buffaloes / Tanzin T., Nazir K.H.M.N.H., Zahan M.N., Parvej M.S., Zesmin K., Rahman M.T.// Journal of Advanced Veterinary and Animal Research- 2016- 3(1) -P. 62-67,doi: 10.5455/javar.2016.c133.
- 8.Thaker, H.C. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat / Thaker H.C., Brahmabhatt M.N., Nayak J.B.// Veterinary World- 2013- 6(1)-P. 10-13,doi: 10.5455/vetworld.2013.10-13.
- 9.Antibiotic resistance of staphylococcus aureus microorganisms, isolated from animals. Makavchik. S.A. – PhD of vet.science St. Petersburg state academy of veterinary medicine, St. Petersburg, Krotova A.L.- Leningrad interregional veterinary laboratory, Saint-Petersburg.