

УДК: 579.842.11:615.33:636.5  
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.37

## ДЕТЕКЦИЯ *ESCHERICHIA COLI* С ПРОДУКЦИЕЙ БЕТА-ЛАКТАМАЗ И ПРОБЛЕМЫ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Макавчик С.А.- доктор ветеринарных наук, доцент, [orcid.org/ 0000-0001-5435-8321](https://orcid.org/0000-0001-5435-8321), Пушкина В.С.- студент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Кротова А.Л.- соискатель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург

**Ключевые слова:** *Escherichia coli*, механизмы резистентности, антибиотикорезистентность, микробиологические методы, птицы. **Keywords:** *Escherichia coli*, resistance mechanisms, antibiotic resistance, microbiological methods, poultry.



### РЕФЕРАТ

В последние годы чаще встречаются *Escherichia coli*, продуцирующие бета-лактамазы, изолированные от птиц. Данные ферменты способствуют расщеплению и модифицированию молекулы бета-лактамных антибактериальных средств, таких как пенициллины, цефалоспорины и др. Энзиматическая инактивация антибиотика приводит к клинической неэффективности при терапии животных, что ведет к экономическим потерям в сельском хозяйстве.

Целью исследования является изучение бактерий *E. coli* с продукцией бета-лактамаз и проблемы антибиотикотерапии в птицеводстве.

Предложенное распределение антимикробных препаратов (АМП) необходимо использовать в работе ветеринарных лабораторий. Это позволит разделить АМП на группы с учетом приоритетности антибиотика, природной устойчивости микробов, путей передачи генов резистентности для целесообразного использования лекарственных препаратов. Рациональное ранжирование имеет значимость для сохранения биологической безопасности страны, в том числе противодействия образованию полирезистентных возбудителей бактериальных болезней птиц.

Установлено, что выделенный от птиц микроорганизм *E. coli* характеризуется резистентностью к разным классам антимикробных препаратов: сульфаниламидам, цефалоспорином 1-го поколения, 2-го поколения и 3-го поколения, пенициллину, аминогликозидам, фторхинолонам.

В результате проведенных тестов с амоксициллин-клавулановой кислотой в комбинации с цефалоспорином III-IV поколения было установлено наличие продукции бета-лактамаз расширенного спектра.

Выделенный микроорганизм чувствителен к следующим антибактериальным препаратам: цефтазидим (цефалоспорин 3-го поколения) и амоксициллин с клавулановой кислотой.

Проанализировав полученные данные, было установлено, что к большинству антимикробных препаратов данный микроорганизм *E. coli* резистентен.

Существует необходимость создания группы резерва АМП в ветеринарной медицине и ее использования в случае резистентности микроорганизма к АМП 1 и 2 группам выбора. Борьба с возбудителями бактериальных инфекций птиц и противоэпизоотические

действия требуют пересмотра алгоритмов, и должны включать меры по предотвращению возникновения и распространения генов антибиотикорезистентности микроорганизмов.

## ВВЕДЕНИЕ

Важной причиной появления толерантности к различным антибиотикам являются эволюция бактерий под действием факторов окружающей среды, спонтанные мутации, вертикальный и горизонтальный пути передачи генов от других микроорганизмов в результате генетических рекомбинаций. Также, приобретение антибиотикорезистентности различных микроорганизмов связано с нерациональным использованием антимикробных препаратов в птицеводстве: отсутствие ротационных схем применения препаратов; лекарственного мониторинга за клинической эффективностью антибиотиков [3,4].

В последние годы чаще встречаются *Escherichia coli*, продуцирующие бета-лактамазы, изолированные от птиц [5, 7, 8, 11, 12].

Инфекции птиц, вызванные резистентными микроорганизмами, отличаются более тяжелым течением, рецидивами, хронизацией или латенцией (бактерионосительством) инфекционного процесса, что увеличивает продолжительность лечения [4, 1, 2].

Существуют аналоги антибиотикотерапии - бактериофаги, различные антисептики, дезинфектанты, которые сейчас активно используются в различных хозяйствах, но, к сожалению, они не так действенны в терапии [4].

Цель исследования - изучение бактерий *E. coli* с продукцией бета-лактамаз и проблемы антибиотикотерапии в птицеводстве.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе изучали антибиотикочувствительность бактерий *E. coli*, выделенных от птиц. Проводили мониторинг антибиотикорезистентности, применив международные системы интерпретации результатов, разработанные Европейским международным комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам EUCAST (The European Com-

mittee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Для получения данных использовали диски с антибиотиками: Цефалексин (ЦФЛ); Цефуросим (ЦОМ); Цефотаксим (ЦТК); Цефтазидим (ЦАЗ); Амоксициллин (АКЦ); Ампициллин (АМП); Гентамицин (ГЕН); Меропинем (МПН); Триметоприм/сульфаметоксазол (ЗКТ); Ципрофлоксацин (ЦИП) (производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера), среду-агар Мюллера-Хинтона (Великобритания).

Наличие бета-лактамаз расширенного спектра у выделенных микробов установили методом «двойных дисков». Амоксициллин-клавулановая кислота в комбинации с цефалоспорином III-IV поколения использованы с целью выявления ESBL диск-диффузионным методом для детекции механизмов резистентности, имеющих клиническое, эпизоотологическое и эпидемиологическое значение.

Анализ профилей антибиотикорезистентности *E. coli* провели с применением нормативных документов [1, 6, 9, 10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовлена питательная среда-агар Мюллера-Хинтона. Приготовлен смыв микробной взвеси 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, нанесен инокулят на агар Мюллера-Хинтона. Диски с антибиотиками расположены на расстоянии 1,5-2см друг от друга для предотвращения перекрывания зон подавления роста и взаимодействия между антибиотиками. Поставлены в термостат при 37 С на 18-20ч вверх дном, измерены зону задержки роста.

При учете результатов проанализировали «Приказ Министерства сельского хозяйства РФ "Об утверждении Перечня лекарственных препаратов, предназначенных для лечения инфекционных и паразитарных болезней животных, вызываемых патогенными микроорганизмами и условно-патогенными микроорганизмами, в отношении которых вводятся огра-

Таблица 1.  
 Антибиотикорезистентность *E. coli*, выделенных от птиц

Наименование АМП	<i>E. coli</i> с ESBL	Пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм); EUCAST	
		Ч ≥	Р <
<b>Цефалоспорины 1-го поколения (разрешен) (ГРУППА С)*</b>			
Цефалексин (ЦФЛ)	R (7)	14	14
<b>Цефалоспорины 2-го поколения (разрешен) (ГРУППА В)*</b>			
Цефуроксим (ЦОМ)	R (18)	19	19
<b>Цефалоспорины 3-го поколения (запрещены) (ГРУППА А)*</b>			
Цефотаксим (ЦТК)	R (10)	20	17
Цефтазидим (ЦАЗ)	S (23)	22	19
<b>Пенициллины (разрешены) (ГРУППА В)*</b>			
Амоксициллин (АКЦ)	R (0)	14	14
Ампициллин (АМП)	R (0)	14	14
Продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра	Проведены подтверждающие тесты: Амоксициллин-клавулановая кислота в комбинации с цефалоспорином III-IV поколения. Установлено наличие продукции БЛРС.		
<b>Аминогликозиды (разрешен) (ГРУППА В)*</b>			
Гентамицин (ГЕН)	R (13)	17	14
<b>Карбапенемы (запрещен) (ГРУППА А)*</b>			
Меропинем (МПН)	S (26)	22	16
<b>Сульфаниламиды (разрешен) (ГРУППА С)*</b>			
Триметоприм/сульфаметоксазол (ЗКТ)	R (0)	14	11
<b>Фторхинолоны 2-го поколения (разрешен) (ГРУППА В)*</b>			
Ципрофлоксацин (ЦИП)	R (8)	25	22

Примечание: R-Резистентный; S-Чувствительный; препараты 1-го из группы С и 2-го выбора из группы В, Группа А\* – запрещена для всех животных [2].

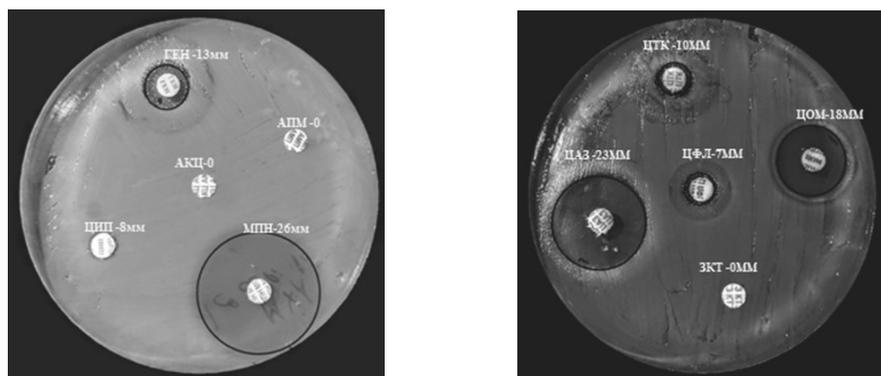


Рисунок 1. - Результаты определения антибиотикорезистентности *Escherichia coli* диско-диффузионным методом

ничения на применение в лечебных целях, в том числе для лечения сельскохозяйственных животных" (подготовлен Минсельхозом России 27.07.2021 и вступил в силу с 1 марта 2022г.)» и разделили наши антимикробные препараты на группы: первого выбора – группа С (действующие вещества лекарственных препаратов, которые применяют для лечения инфекционных и паразитарных болезней животных, вызываемых патогенными микроорганизмами и условно-патогенными микроорганизмами); второго выбора – группа В (действующие вещества лекарственных препаратов, которые применяются в ветеринарии и медицине). Указанные лекарственные препараты разрешается использовать для лечения животных в том случае, если установлена неэффективность лекарственных препаратов 1-го выбора.

Препараты группы А- запрещенные препараты (действующие вещества лекарственных препаратов, которые запрещено использовать для лечения всех животных или для продуктивных животных) [1].

Предложенное ранжирование антимикробных препаратов (АМП) необходимо применить в работе ветеринарных лабораторий, что позволит разделить АМП на группы с учетом приоритетности для медицины, природной резистентности микробов для рационального использования лекарственных препаратов в ветеринарной медицине. Это имеет значимость для сохранения биологической безопасности страны, в том числе противодействия возникновения антибиотикорезистентных возбудителей бактериальных болезней птиц.

Существует необходимость в создании группы резерва АМП в ветеринарной медицине с учетом разных видов птиц и технологий производств. Данные антибиотики могут использоваться в случае резистентности микроорганизма к АМП 1 и 2 группы выбора. (табл. 1).

Установлено, что возбудитель коли-септициемии птиц *E. coli* характеризуется устойчивостью к разным классам антимикробных препаратов: пенициллинам,

аминогликозидам, фторхинолонам, сульфаниламидам, цефалоспорином 1-го поколения, 2-го поколения и 3-го поколения.

Проведены подтверждающие тесты: Амоксициллин-клавулановая кислота в комбинации с цефалоспоринами III-IV поколения. Установлено наличие продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС).

Выделенный микроорганизм чувствителен к антибиотикам: цефтазидиму (цефалоспорины 3-го поколения), амоксициллину с клавулановой кислотой (рис. 1).

#### **ВЫВОДЫ**

Полирезистентность микроорганизмов к различным группам антибактериальных средств приводит к клинически бездействию использованию препаратов в ветеринарной медицине.

Необходимо изучать механизмы антимикробной резистентности возбудителей бактериальных болезней птиц в ветеринарных лабораториях. Результаты оценки уровня бета-лактамазной активности позволят сократить необоснованное использование антибактериальных препаратов из группы бета-лактамов.

Борьба с бактериальными инфекциями птиц и противоэпизоотические мероприятия требуют пересмотра алгоритмов, и должны включать меры по предотвращению возникновения и распространения генов антибиотикорезистентности микроорганизмов.

#### **DETECTION OF *ESCHERICHIA COLI* WITH BETA-LACTAMASE PRODUCTION AND PROBLEMS OF ANTIBIOTIC THERAPY IN POULTRY FARMING**

Makavchik S.A. – PhD of vet. sciences St. Petersburg state academy of veterinary medicine, St. Petersburg, Pushkina V.S. St. Petersburg state academy of veterinary medicine, St. Petersburg, Krotova A.L.- Leningrad interregional veterinary laboratory, Saint-Petersburg.

#### **ABSTRACT**

In recent years, *Escherichia coli* producing beta-lactamases isolated from poultry have been more common. These enzymes

promote the cleavage and modification of the molecule of beta-lactam antibacterial agents, such as penicillins, cephalosporins, etc. Enzymatic inactivation of the antibiotic leads to clinical inefficiency in animal therapy, which leads to economic losses in agriculture.

The aim of the research is to study bacteria *E. coli* producing beta-lactamases and the problem of antibiotic therapy in poultry farming.

The proposed distribution of antimicrobial drugs (AMPs) should be used in the work of veterinary laboratories. This would allow dividing AMPs into groups, taking into account the priority of the antibiotic, the natural resistance of microbes, the pathways of transmission of resistance genes for the rational use of drugs. Rational ranking is important for maintaining the biological safety of the country, including counteracting the formation of multidrug-resistant pathogens of bacterial poultry diseases.

It was determined that the microorganism *E. coli* isolated from poultry is characterized by resistance to different classes of antimicrobial drugs: sulfonamides, the 1st generation cephalosporins, the 2nd generation and 3rd generation, penicillins, aminoglycosides, fluoroquinolones.

The presence of extended spectrum beta-lactamase production was established as a result of the tests carried out with amoxicillin-clavulanic acid in combination with cephalosporins of the III-IV generation.

The isolated microorganism is sensitive to the following antibacterial drugs: ceftazidime (3rd generation cephalosporin) and amoxicillin with clavulanic acid.

After analyzing the obtained data, it was found that the microorganism *E. coli* is resistant to most antimicrobial drugs.

There is a need of creating a group of AMP reserve in veterinary medicine and its use in the case of resistance of the microorganism to AMP 1 and 2 groups of choice.

The fight against pathogens of bacterial infections of poultry and antiepidemic actions require a revision of the algorithms, and should include measures to prevent the emergence and

spread of antibiotic resistance genes of microorganisms.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.«Приказ Министерства сельского хозяйства РФ "Об утверждении Перечня лекарственных препаратов, предназначенных для лечения инфекционных и паразитарных болезней животных, вызываемых патогенными микроорганизмами и условно-патогенными микроорганизмами, в отношении которых вводятся ограничения на применение в лечебных целях, в том числе для лечения сельскохозяйственных животных" (вступил в силу с 1 марта 2022г.)»
- 2.Макавчик, С.А. Гипермукоидные фенотипы *Klebsiella pneumoniae* и проблемы антибиотикотерапии сельскохозяйственных животных/ Макавчик С.А.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2019. -№ 4.- С. 48-51.
- 3.Макавчик, С.А. Лабораторные методы контроля полирезистентных возбудителей бактериальных болезней животных и рациональное применение антимикробных препаратов: монография/ Макавчик С.А., Сухинин А.А., Енгашев С.В., Кротова А.Л. - Санкт-Петербург: изд-во ВВМ, 2021.-С. 156 с.:ил.
- 4.Макавчик, С.А. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам 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.
- 5.Макавчик, С.А. Колибактериоз птиц: особенности экспресс - диагностики, профилактики и лечения/Макавчик С.А.// автореферат дис. ... кандидата ветеринарных наук / С.-Петерб. гос. акад. вет. медицины. Санкт-Петербург, 2007
- 6.План мероприятий на 2019-2024 годы по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года. Утвержден распоряжением Правительства Российской Федерации от 30 марта 2019 г. № 604-

- p. <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266>
7. Azimun, N. Prevalence and characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in domestic and imported chicken meats in Japan/ Azimun Nahar, Sharda Prasad Awasthi, Noritoshi Hatanaka, Kentaro Okuno, Phuong Hoai Hoang, Jayedul Hassan, Atsushi Hinenoya, Shinji Yamasaki // *The Journal of Veterinary Medical Science*.-2018. P. 510-516.
8. Eibach, D. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in local and imported poultry meat in Ghana/ Eibach D., Dekker D., Kennedy Gyau Boahen, Charity Wiafe Akenten// *Veterinary Microbiology*.-2018.- P. 1-6
9. EUCAST. Экспертные правила определения чувствительности к антибиотикам EUCAST. Доступно по адресу: [https://www.eucast.org/expert.org/expert\\_rules\\_and\\_intrinsic\\_resistence/](https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistence/)
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.
11. Hosuru, S. S. Detection and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae from the gut of healthy chickens, *Gallus gallus domesticus* in rural Nepal: Dominance of CTX-M-15-non-ST131 *Escherichia coli* clones/ Hosuru Subramanya S., Bairy I., Nayak N., Amberpet R., Padukone S., Metok Y., Dharm Raj Bhatta, Sathian B.// *Plos One*.-2020.- P. 15-27
12. Tansawai, U. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* among backyard poultry farms, farmers, and environments in Thailand/ Tansawai U., Walsh Timothy R., Niumsup Pannika R.// *Poultry Science*.-2019.- P. 2622-2629.