

УДК 579.64

РЕГИОНАЛЬНАЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ ЖИВОТНЫХ, НА ПРИМЕРЕ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Протасова Е.М, Павлова О.Н.

ФГБОУ ВО Костромская ГСХА, Россия, Костромская область, п. Каравеево, e-mail:

Vetta261010@gmail.com

Представленная работа направлена на выявление региональной тенденции формирования антибиотикоустойчивости микрофлоры, выделенной из патологического материала от крупного рогатого скота, направленного из хозяйств Костромской области. Приведен статистический анализ протоколов исследования антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных из маститного молока крупного рогатого скота 2017-2020 гг. в ОГБУ Костромской областной ветеринарной лаборатории. Сформированы теоретические предположения о закономерностях и причинах формирования антибиотикорезистентности выделенной условно-патогенной микрофлоры, подкрепленные статистическим анализом.

Ключевые слова: антибиотикоустойчивость, антибиотикочувствительность микроорганизмов, крупный рогатый скот, антибиотикотерапия.

REGIONAL ANTIBIOTIC RESISTANCE OF CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROFLORA OF ANIMALS, ON THE EXAMPLE OF THE KOSTROMA REGION

Protasova E.M., Pavlova O.N.

Kostroma State Agricultural Academy, Kostroma region, p. Karavaevo, Russia, e-mail:

Vetta261010@gmail.com

The presented work is aimed at identifying a regional trend in the formation of antibiotic resistance of microflora isolated from pathological material from cattle sent from farms of the Kostroma region. A statistical analysis of protocols for the study of antibiotic sensitivity of microorganisms isolated from mastitis milk of cattle in 2017-2020 in the Kostroma Regional Veterinary Laboratory is presented. Theoretical assumptions about the patterns and causes of the formation of antibiotic resistance of the isolated conditionally pathogenic microflora, supported by statistical analysis, have been formed.

Keywords: antibiotic resistance, antibiotic sensitivity of microorganisms, cattle, antibiotic therapy.

Резистентность условно-патогенной и патогенной микрофлоры к антибиотикам (далее АБ) является актуальной проблемой сферы продуктивного животноводства. Синтезируются все новые средства борьбы с вредоносными микроорганизмами, но с течением времени, и активного применения антибиотических препаратов бактерии приобретают к ним в различной степени генетическую невосприимчивость. В последние годы актуальность проблемы возрастает с введением органического животноводства.

Причины развития устойчивости микроорганизмов к антибиотикам многообразны, среди них значимое место занимают нерациональное, а порой и ошибочное бесконтрольное применение данной группы химиопрепаратов. Поэтому существует острая необходимость в разработке наиболее выгодных техник антибактериальной терапии, замедляющих или предотвращающих развитие чувствительности микроорганизмов к антибактериальным веществам.

Целью работы является установление региональной тенденции формирования антибиотикорезистентности у некоторых микроорганизмов, определение закономерностей выявленных изменений, на базе Костромской областной ветеринарной лаборатории.

Для осуществления цели были установлены следующие задачи: проанализировать протоколы бактериологических исследований антибиотикочувствительности, предоставленных Костромской областной ветеринарной лабораторией; выделить наиболее часто используемые для анализа антибиотики. Для этого отобрать максимальное количество протоколов их применения при исследовании проб маститного молока; определить микроорганизмы чаще других выделяемые из проб; провести статистический анализ данных и проследить динамику устойчивости микроорганизмов к выбранным антибиотикам.

Материалом исследования являлись протоколы анализа антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных из маститного молока крупного рогатого скота в 2017-2020 гг. Всего было проанализировано более 3550 протоколов испытаний отдела ветеринарно-санитарных и бактериологических исследований Костромской областной ветеринарной лаборатории.

Методы исследования: диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности микроорганизмов, статистический анализ, работа с литературой.

Основная часть

Антибиотики — это вещества, избирательно угнетающие жизнедеятельность микроорганизмов, т.е. они активны только в отношении тех или иных бактерий, но сохраняют жизнеспособность клеток макроорганизма. Принцип действия

антибактериальных веществ основан на препятствовании нормальному функционированию клетки бактерии. В то же время, угнетающее действие антибиотиков на микроорганизмы способствует развитию мутаций, в результате которых может возникнуть устойчивость к действию препаратов. Это также связано с тем, что бактерии способны к обмену информацией (внутривидовому и межвидовому), и быстрому размножению, что способствует развитию продуктивной реакции на изменившиеся неблагоприятные условия среды. Те организмы, которые своевременно мутируют в верном направлении, становятся антибиотикорезистентными и продолжают жить и размножаться в организме хозяина [2].

Микроорганизмы передают генетическую невосприимчивость к АБ последующим поколениям, формируя стойкую резистентность. Данная тенденция сохраняется в бактериальной популяции до тех пор, пока продолжается воздействие неблагоприятного фактора, то есть лечение животных с применением той же группы антибактериальных препаратов. При длительном отказе от АБ, ставших неэффективными, может привести к снижению резистентности. По этой причине так необходимо время от времени менять терапевтические препараты в ветеринарных аптеках хозяйств. Самым лучшим подходом к решению данной проблемы можно считать попеременное использование различных групп антибиотиков, следуя рекомендациям ветеринарной лаборатории, основанной на анализах продукции конкретного хозяйства; а также предупреждение использования АБ в профилактических целях.

В связи с необходимостью осуществления качественного и продуктивного лечения, важное место в исследованиях занимает изучение методов борьбы с антибиотикорезистентностью. На данный момент в качестве основных мер применяют лабораторный анализ устойчивости каждой отдельной группы патогенных и условно патогенных микроорганизмов, характерных для региона, к определенному препарату, ограничение продаж антибиотиков без рецепта врача, запрет на использование антибиотиков в пищевой промышленности. Немаловажным является поиск ингибиторов ферментов бактерии, создающих препятствия их метаболизму — метаболический блок. Также важными мерами является создание антибактериальных препаратов, действие которых основано на иных, ранее не использованных методах воздействия, и химическая модификация уже существующих форм препаратов [3,4].

Таким образом, появление у бактерий антибиотикорезистентности, происходящее различными механизмами под влиянием многих факторов, является важной клинической проблемой, решение которой возможно благодаря ограничению применения АБ, формированию системы их попеременного использования, введению в отрасль тенденций

профилактики инфекционных болезней с применением альтернативных методов, например, пробиотиков.

Для подтверждения полученных теоретических знаний и сформировавшихся на их основе предположений провели исследование. За основу его были взяты протоколы исследований антибиотикочувствительности микрофлоры выделенной из маститного молока коров, проведенные диско-диффузионным методом на базе Костромской областной ветеринарной лаборатории.

Диско-диффузионный метод (ДДМ) определения чувствительности основан на способности АБ диффундировать из пропитанных ими бумажных дисков в питательную среду, угнетая рост микроорганизмов, посеянных на поверхности агара [2].

Согласно МУК 4.2.1890-04 направляющим критерием при выборе АБ, подлежащих включению в исследование, являются данные о природной чувствительности отдельных видов микроорганизмов или их групп, о распространении среди них приобретенной резистентности, а также о клинической эффективности препаратов [1].

В исследование целесообразно включать АБ, обладающие в отношении выделенных микроорганизмов природной активностью и клинически подтвержденной эффективностью при соответствующих инфекциях. Учитывая значительное количество имеющихся в клинической практике антибактериальных средств, различия между лечебными учреждениями по контингенту пациентов, особенностям этиологической структуры инфекций и по распространенности приобретенной антибиотикорезистентности, создать единые стандартные наборы препаратов для всех лечебных учреждений не представляется возможным.

В настоящее время перечень АБ, чувствительность к которым рекомендуется определять у различных видов микроорганизмов, принято подразделять на две группы: подлежащие изучению в первую очередь (I группа) и дополнительные (II группа). Оценка чувствительности к препаратам I группы позволяет получить минимально необходимую информацию для обоснования рациональной терапии инфекции, вызванной исследуемым микроорганизмом. Информативность исследований возрастает по мере увеличения количества включенных в исследование АБ из группы II. [1]

Первым этапом исследования стал сбор данных. Для анализа были предоставлены результаты бактериологических исследований, проведенных на культурах, полученных из маститного молока крупного рогатого скота за 2017-2020 гг.

С целью увеличения точности исследования из предоставленных протоколов бактериологических исследований получили перечень антибактериальных веществ, наиболее

часто применяемых для диагностики антибиотикорезистентности микроорганизмов, он представлен в таблице 1.

Таблица 1. Антибактериальные вещества, наиболее часто применяемые для определения антибиотикоустойчивости микроорганизмов в ОГБУ Костромской областной ветеринарной лаборатории (Абс. – абсолютное количество проведенных исследований, в которых был применен антибиотик; Отн. – отношение количества применений антибиотика от общего числа проведенных исследований, %)

	Год								Ср. знач.
	2017		2018		2019		2020		
	Абс., шт	Отн.,%	Абс., шт	Отн., %	Абс., шт	Отн., %	Абс., шт	Отн., %	
Всего проб	197	100	236	100	85	100	79	100	
Проб проверенных на чувствительность к АБ									
Цефалексин	65,1	53,8	96	40,7	71	83,5	65	82,3	65,1
Энрофлоксацин	54,1	50,8	101	42,8	42	49,4	58	73,4	54,1
Цефазолин	47,8	78,7	140	59,3	0	0,0	42	53,2	47,8
Цефотаксим	67,4	68,0	108	45,8	57	67,1	70	88,6	67,4
Ципрофлоксацин	49,2	54,3	145	61,4	69	81,2	0	0,0	49,2
Левомецетин	64,4	60,9	106	44,9	57	67,1	67	84,8	64,4
Тетрациклин	59,9	18,3	140	59,3	59	69,4	73	92,4	59,9
Гентамицин	53,5	18,8	95	40,3	50	58,8	76	96,2	53,5
Цефоперазон	58,7	28,9	102	43,2	65	76,5	68	86,1	58,7
Амоксициллин	66,5	23,9	158	66,9	67	78,8	76	96,2	66,5
Линкомицин	72,3	59,9	130	55,1	63	74,1	79	100	72,3
Цефтриаксон	64,2	30,5	114	48,3	75	88,2	71	89,9	64,2
Ампициллин	48,7	21,3	58	24,6	46	54,1	75	94,9	48,7
Азитромицин	49,1	47,2	52	22,0	48	56,5	56	70,9	49,1

Из данных таблицы 1 можно заключить, что чаще всего для определения антибиотикочувствительности микрофлоры проб маститного молока, используются АБ класса цефалоспориновых: цефалексин (в среднем за 4 года использовался в 65,1% исследований), цефазолин (47,8%), цефоперазон (58,7%), цефотаксим (67,4%), цефтриаксон (64,2%); фторхинолонов: ципрофлоксацин (49,2%), энрофлоксацин (54,1%); пеницилинов: ампициллин (48,7%), амоксициллин (66,5%), а так же линкомицин (72,3%), левомецетин (64,4%), тетрациклин (59,9%), азитромицин (49,1%) и гентамицин (53,5%).

Обнаружили микроорганизмы, которые чаще других присутствуют в патологическом материале, следовательно, более подвержены воздействию лекарственных антибактериальных препаратов при жизни животного. По этой причине наблюдение изменчивости их антибиотикорезистентности наиболее интересно. Эти бактерии при исследовании обнаруживались в 20-60% всех проб (Таблица 2), что позволило провести

наиболее точные статистические расчеты. Это кишечная палочка (*Escherichia coli*), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) и гемолитический стафилококк.

Таблица 2. Микроорганизмы, наиболее часто выделяемые из материала в ходе бактериологических исследований в ОГБУ Костромской областной ветеринарной лаборатории (*КП – абсолютное количество проведенных исследований, в которых был применен антибиотик; Отн. – отношение количества применений антибиотика от общего числа проведенных исследований, %*)

	Год								Ср. знач.
	2017		2018		2019		2020		
	Абс	Отн	Абс	Отн	Абс	Отн	Абс	Отн	
Всего проб	197	100	236	100	85	100	79	100	
Проб, в которых был обнаружен м/о									
Гемолитический стафилококк	114	58	155	66	55	65	41	52	60
Кишечная палочка	36	18	65	28	13	15	12	15	19
Золотистый стафилококк	43	22	26	11	31	36	31	39	27
Другие м/о	4	2	0	0	0	0	0	0	1

Результаты

При анализе данных лабораторных исследований выявили ряд закономерных изменений, свойственных каждому из выбранных микроорганизмов. Их отобразили в графиках.

В исследованных пробах, содержащих гемолитический стафилококк уровень устойчивости к АБ группы цефалоспоринов и фторхинолонов, в 2017 году, был высок (50-80%), но в 2018-2020 гг. он значительно ниже (до 35%). (Рис.1) Исходя из этих данных можно предположить, что в 2018-2020 гг. использование цефалоспориновых и фторхинолоновых препаратов в лечебных целях по Костромской области в результате лабораторных рекомендаций снизилось.

Устойчивость к ампицину, амоксицилину, линкомицину, тетрациклину и азитромицину в 2017 году была низкой и не превышала 50%, а в 2018-2020 годах стала выше и изменялась в пределах 50-80%. Можно предположить, что антибиотики данных групп, стали использоваться с лечебной целью в 2018-2020 гг. чаще. Это привело к выработке устойчивости гемолитического стафилококка к данной группе АБ.

Устойчивость к левомицетину (до 60% в 2018 году) и гентамицину (до 50%) на протяжении 4 лет сохраняется, колебания ее не превышают 20%. Можно сделать вывод об устоявшемся отношении гемолитического стафилококка к данным АБ, что, в свою очередь, указывает на процесс формирования стабильной резистентности на уровне генотипа

бактерий. В перспективе данная тенденция может привести к снижению или полному отсутствию антибактериального действия левомецетина и гентамицина против гемолитического стафилококка. Причиной этого процесса можно считать дешевизну и популярность данных антибактериальных веществ.

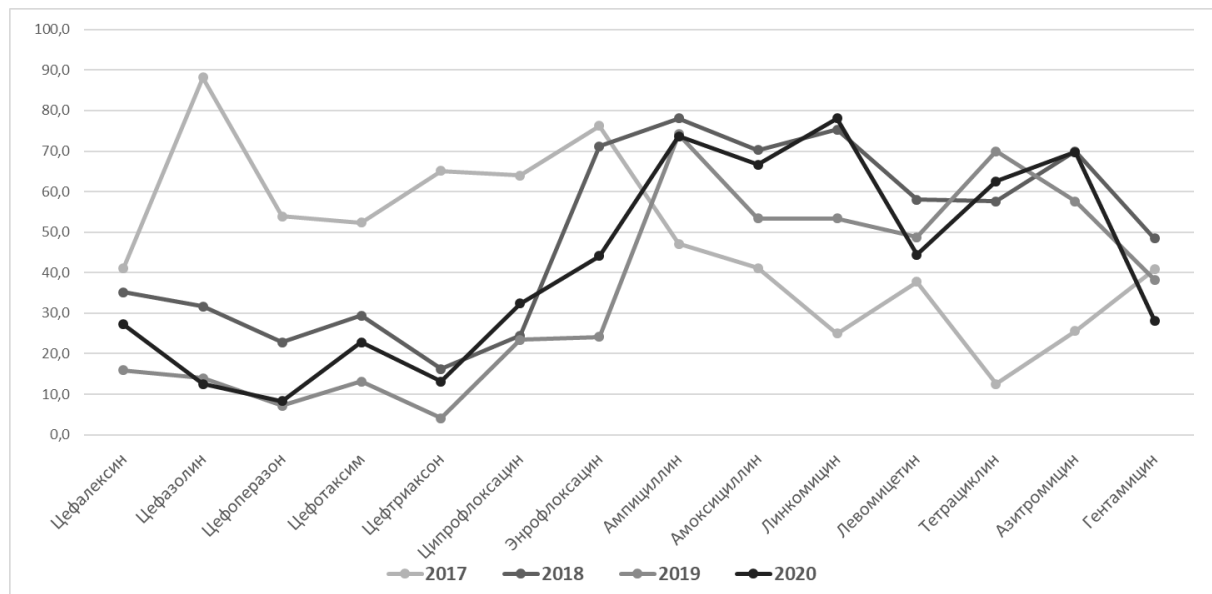


Рисунок 1. График устойчивости гемолитического стафилококка к антибиотикам в 2017-2020 гг.

В исследованных пробах, содержащих золотистый стафилококк, наблюдали закономерности, которые отображены в графике (Рис.2).

Устойчивость к цефалоспориновым антибиотикам (за исключением цефалексина) и ципрофлоксацину достаточно низкая на протяжении всех 4 лет, она не превышает 50%, следовательно, указанные АБ стабильно эффективны против *S. aureus*.

Резистентность к амоксициллину и тетрациклину стабильно высока (60-80%). Это может говорить о последствиях длительного применения данных АБ.

Если в 2017 г. устойчивость к ампициллину не превышала 20%, то в 2018-2019 г. она возросла до 100%, хотя в 2020 г. просматривается тенденция к ее снижению до 60%. Можно сделать предположение о том, что в 2018 г. выработалась устойчивость золотистого стафилококка к данному АБ, но она не смогла закрепиться на уровне генома. Причиной этому может быть популярность ампицилина как терапевтического средства против бактериальных инфекций в 2018-2019 гг., что привело к выработке и поддержанию резистентности золотистого стафилококка к данному АБ на протяжении двух лет. В 2019-2020 гг. спад частоты применений препаратов на основе ампицилина по лабораторным

рекомендациям, привел к снижению необходимости бактерии хранить в геноме информацию о сопротивляемости данному АБ, а, следовательно, к уменьшению резистентности.

Резистентность золотистого стафилококка к линкомицину и левомецитину изменяется неравномерно повышается, понижается и вновь повышается.

Устойчивость цефалексину и гентамицину в 2017-2018 гг. была высока 60-80%, а в 2019-2020 гг. он резко снизилась до 0-30% к цефалексину и 0-10% к гентамицину. Можно судить о выведении в 2019-2020 г. данных АБ из массового использования в хозяйствах, предоставивших образцы.

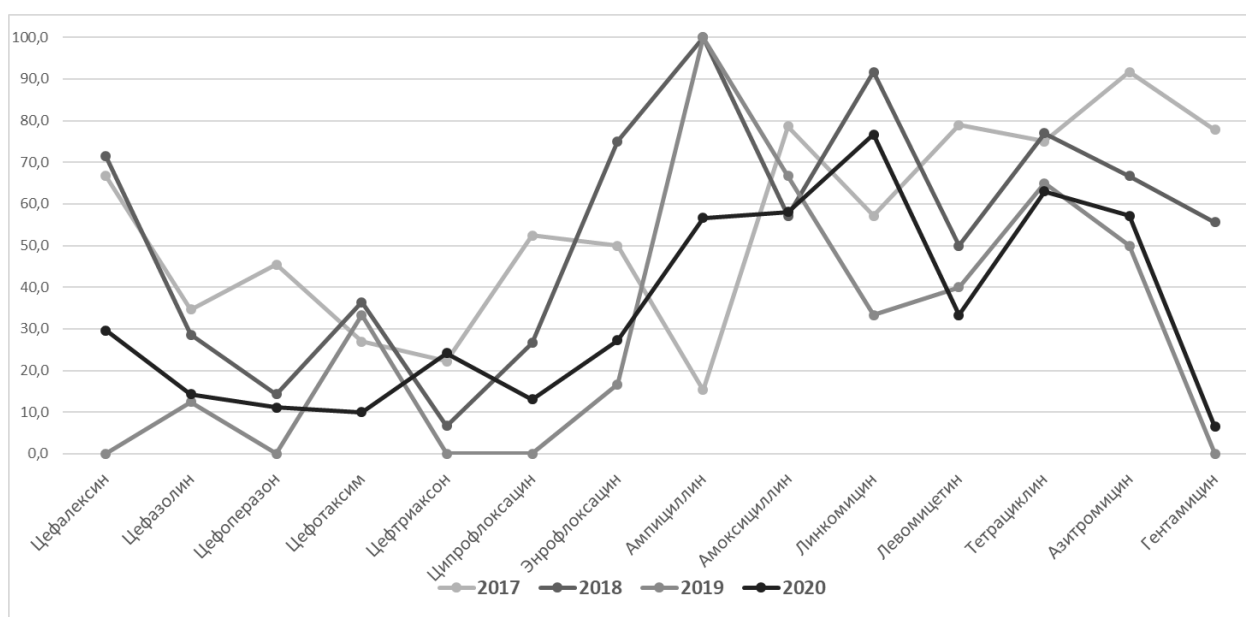


Рисунок 2. График устойчивости S. aureus к АБ за 2017-2020 гг.

Кишечная палочка, выделенная из исследуемых проб на протяжении четырех лет (Рис.3) оставалась устойчива к тетрациклину и азитромицину (неэффективность антибиотика в 80-100% проб), линкомицину (100%), амоксициллину (70-80%). Можно судить о стабильной неэффективности указанных АБ.

В то же время к более новым АБ класса цефалоспоринов устойчивость стабильно низкая на протяжении 4 лет (до 40%), следовательно, их эффективность против кишечной палочки стабильно высока (до 100% у цефоперазона).

Резистентность к цефотаксиму и цефалексину в 2017 году достигала 90%, однако в 2018 году она снизилась до 23% и 40-50% соответственно, оставаясь низкой в последующих годах. Можно судить о прекращении использования данных АБ по лабораторным рекомендациям.

Аналогично предыдущим исследованиям устойчивость к ампициллину, левомецитину и азитромицину изменялась по направлению понижение-повышение-понижение.

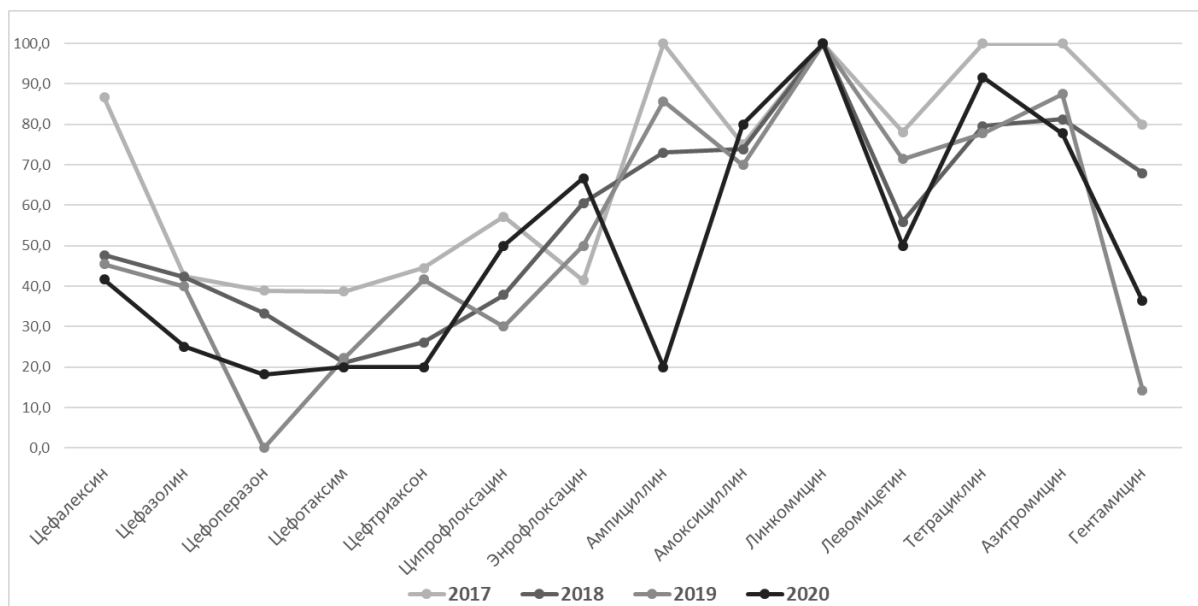


Рисунок 3. График устойчивости *Escherichia coli* к АБ за 2017-2020 гг.

Заключение

В заключении можно отметить полученную обобщенную, но достаточно наглядную картину:

- К цефалексину, цефазолину, цефоперазону, ципрофлоксацину и гентамицину устойчивость в 2018-2019 гг. в основном снижалась, а в 2020 г. снова возросла;

- Наименьший уровень устойчивости исследуемых микроорганизмов наблюдается к АБ класса цефалоспорины. Такую закономерность можно объяснить тем, что среди антибиотиков данного класса немало препаратов новых поколений, к которым бактерии еще не успели адаптироваться.

- К другим же классам, а в особенности к пенициллинам (ампициллин), амоксициллину, азитромицину, тетрациклину и линкомицину, устойчивость либо близка к 100%, либо быстро возрастает до высшей отметки. Вероятно, сказывается длительное их применение в терапии людей и животных.

Ввиду отсутствия подробной информации об источниках материала для проведения бактериологических исследований, в виду ее конфиденциальности, мы не можем с уверенностью судить о первопричинах выявленных закономерностей. Однако можем предположить, что такая тенденция сформировалась по причине регулярного, зачастую некорректного использования в терапии животных АБ, представленных в исследовании.

В то время как к «новым» поколениям АБ устойчивость бактерий ещё слабо выработана, к «старым» (давно применяемым) она сохраняется или очень быстро восстанавливается даже после временного исключения их из ветеринарного пользования.

Неэффективность некоторых терапевтических антибиотических средств свидетельствует о существовании в сфере ветеринарного обслуживания животных потребности в создании методологии цикличного, попеременного применения АБ со своевременным их выведением из использования, для предупреждения развития резистентности.

Список литературы

1. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. — М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2021. — 91 с.
2. Нетрусов А. И., Котова И. Б. Микробиология. — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: Издательский центр «Академия», 2012. — 384 с.
3. Попова О.А. Антибиотикочувствительность микроорганизмов, выделенных из молока коров с субклиническим маститом в лактационный период. Агробизнес и экология. 2016. Т. 3. № 1. С. 62-71
4. Савченко, К. Ю. Антибиотикорезистентность: факторы, механизмы и способы борьбы с явлением / К. Ю. Савченко. — Текст: непосредственный // Молодой ученый. — 2020. — № 22 (312). — С. 431-433. — URL: <https://moluch.ru/archive/312/70995/>
5. Шифрин. М. Гонка вооружений, или Война с микромиром // Вокруг Света: научно-популярный журнал. — М.: Хёрст Шкулёв Паблишинг, 2006. — 1 октября. Архивировано 22 октября 2007 года.
6. Katie Ledingham. Аналитический обзор № 2. Культурные контексты здоровья и благополучия. Устойчивость к антибиотикам: учет культурных контекстов здоровья при решении глобальной проблемы здравоохранения. — Всемирная организация здравоохранения. — 2019 г.