

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРОБИОТЫ ДОМАШНИХ И ДИКИХ ЖИВОТНЫХ

Ольга Алексеевна Манжурина¹
Анна Михайловна Скогорева¹
Борис Витальевич Ромашов¹
Наталья Борисовна Ромашова²

¹Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

²Воронежский государственный природный биосферный заповедник имени В.М. Пескова

Эпизоотический надзор за антибиотикорезистентностью представляет собой постоянный процесс сбора и анализа данных с целью количественной оценки распространенности устойчивости клинически значимой микрофлоры к антимикробным препаратам, позволяет получить информацию по сдерживанию, возникновению и распространению антибиотикоустойчивости на локальном, региональном и национальном уровнях. В проведенных на локальном уровне исследованиях изучена чувствительность к антибактериальным препаратам (АП) микробиоты свиней крупного свиного комплекса и бобров, находящихся в заповеднике, расположенном в одном административном районе с комплексом. Бактериологическое исследование биоматериала от бобров и свиней проводили согласно действующим методическим указаниям и наставлениям. Отмечалась полирезистентность микробиоты свиней и бобров к испытанным антибиотикам разных химических групп. По результатам исследований два антимикробных препарата (гентамицин и норфлоксацин) оказались наиболее эффективными для выделенной от бобров и свиней микрофлоры, а 10 препаратов из 12, усиливающих рост выделенных культур из свиного комплекса, вызывали в том числе усиление роста культур, изолированных от бобров. Таким образом, мониторинговые исследования позволили отметить зависимость чувствительности к антибактериальным препаратам аэробной микрофлоры, выделенной от свиней и бобров, которые находились территориально изолированно друг от друга. Учитывая тот факт, что от 25 до 75% потребляемых антибактериальных средств без изменений выводится из организма животных и человека с фекалиями и мочой, а затем попадают вместе со сточными водами в естественные водоемы, а с навозом – на поля, то происходит распространение плазмид с генами устойчивости к АП. Поэтому необходимо проводить локальные мониторинговые исследования по определению чувствительности условно-патогенной микрофлоры к антибактериальным препаратам и делать эту информацию доступной практикующим ветеринарным врачам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: свиньи, бобры, микроорганизмы, резистентность, антибактериальные препараты.

MODERN TRENDS IN ANTIBIOTIC RESISTANCE OF THE MICROBIOTA OF DOMESTIC AND WILD ANIMALS

Olga A. Manzhurina¹
Anna M. Skogoreva¹
Boris V. Romashov¹
Nataliya B. Romashova²

¹Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great

²Voronezhsky State Natural Biosphere Reserve named after V. Peskov

Epizootic antibiotic resistance surveillance is an ongoing process of data collection and analysis in order to quantify the prevalence of resistance of clinically significant microflora to antimicrobial agents. It allows obtaining the information on management, emergence and spread of antibiotic resistance on local, regional and national levels. The authors have performed local-level research to study the sensitivity to antimicrobial agents in the microflora of pigs in a large pig farm and beavers in the natural reserve located in the same administrative district. Bacteriological examination of biological samples from beavers and pigs was carried out in accordance with the existing guidelines and instructions. It was noted that the microbiota of pigs and beavers showed multiple resistance to the tested antibiotics of different chemical groups. Study results indicate that two antimicrobial drugs (gentamicin and norfloxacin) were most effective against the microflora obtained from beavers and pigs, and 10 out of 12 drugs that promoted the growth of cultures obtained from

the pig farm also caused intensive growth of cultures obtained from beavers. Thus, the surveillance studies helped to note the dependence between the sensitivity to antibiotics active against the microorganisms obtained from pigs and beavers living in the same geographical location. Considering the fact that 25-75% of the consumed antimicrobial agents are excreted unchanged from the humans and animals with faeces and urine and then can be flown with wastewaters to natural water reservoirs or carried in the fields with manure, it is evident how plasmids with genes of resistance to antimicrobial agents are spread. Therefore, it is necessary to perform local surveillance studies to determine the sensitivity of opportunistic pathogenic microflora to antibacterial agents and to make this information available to practicing veterinarians.

KEY WORDS: pigs, beavers, microorganisms, resistance, antimicrobial agents.

Введение

В настоящее время проблема антибиотикорезистентности микроорганизмов чрезвычайно актуальна во всем мире. Процесс внедрения в ветеринарию новых групп антибактериальных средств постоянно сопровождается селекцией устойчивых микроорганизмов уже к новым группам антибактериальных препаратов (АП), возникновением и выявлением новых механизмов резистентности к антибиотикам как ответной реакции бактерий на негативное воздействие среды обитания [2, 6].

В основе механизма распространения генов антибиотикорезистентности между бактериями лежит обмен плазмидами и конъюгативными транспозонами [1, 7, 9, 10]. Грамотрицательные и грамположительные бактерии имеют разные уровни антибиотикорезистентности: высокие уровни антибиотикорезистентности у грамотрицательных бактерий обусловлены их способностью детоксицировать антибиотики в периплазматическом пространстве, а в клеточной стенке грамположительных бактерий периплазматическое пространство отсутствует, поэтому механизмы их детоксикационной резистентности к антибиотикам менее эффективны [5, 6, 7, 8].

Многолетние динамические наблюдения наглядно демонстрируют, что устойчивость микроорганизмов к антимикробным средствам становится все более и более актуальной и серьезной проблемой ветеринарии, препятствующей эффективному лечению больных животных с инфекциями бактериальной этиологии и предупреждению распространения инфекций, связанных с оказанием ветеринарной помощи. Для животных используется около 80% из общего количества производимых ежегодно антибиотиков, которое составляет от 100 000 до 200 000 тонн. Это происходит по двум основным причинам: применение АП для стимуляции роста животных и возможность снижения затрат, а соответственно и затрат, к санитарному состоянию ферм на фоне применения АП.

Использование для удобрения полей навоза от животных, получавших антибиотики, приводит к появлению у почвенных бактерий генов устойчивости, которые потом могут передаваться бактериям, живущим на растениях, и в конечном итоге попадать в кишечник животных, включая диких, с передачей резистентности микробиоте организма животных.

На крупных животноводческих комплексах плазмиды с генами устойчивости к АП очень быстро распространяются на ограниченном пространстве среди большого количества животных и обслуживающего их персонала. Поэтому проблема быстрого роста количества антибиотикорезистентных и панрезистентных штаммов, широкое территориальное распространение устойчивости инфекционных патогенов к АП требуют активного участия специалистов в проблеме противодействия росту антибиотикорезистентности. Эпизоотический надзор за антибиотикорезистентностью – это постоянный процесс сбора и анализа данных с целью количественной оценки распространенности устойчивости клинически значимой микрофлоры к антимикробным препаратам и ее временной динамики, что позволяет получить информацию по сдерживанию возникновения и распространения антибиотикоустойчивости на локальном, региональном, национальном и международном уровне [2, 3].

В задачу наших исследований входило провести локальные мониторинговые исследования по сравнению чувствительности к антибактериальным препаратам микрофлоры, выделенной от свиней крупного свиного комплекса и бобров, находящихся в заповеднике, расположенном недалеко от комплекса (в одном административном районе). На свином комплексе применяются обработки животных антибактериальными препаратами, в то же время обработки бобров последними не проводились.

Материалы и методы

Бактериологическое исследование биоматериала от 3 бобров и 15 свиней разных технологических групп свиного комплекса Воронежской области проводили в условиях лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней ГНУ ВНИВИПФиТ (г. Воронеж) согласно действующим методическим указаниям и наставлениям с использованием коммерческих питательных сред, тест-систем, диагностикумов.

Чувствительность выделенной микрофлоры к антибактериальным препаратам (ампициллину, амоксициллину, линкомицину, эритромицину, фуразолидону, фурадонину, гентамицину, левомицетину, рифампицину, доксициклину, полимиксину, тилозину, норфлоксацину, энрофлоксацину, стрептомицину, тетрациклину) определяли диффузионным методом с использованием стандартных индикаторных дисков производства НИЦФ (Санкт-Петербург) согласно МУК 4.2.1890-04 [4].

Результаты и их обсуждение

Проведенными бактериологическими исследованиями установлена инфицированность доставленного биоматериала от 3 бобров (2 самок и 1 самца) ассоциацией условно-патогенных аэробных и анаэробных микроорганизмов, в том числе аэробных: стафилококков *Staphylococcus aureus* – 100%, стрептококков *Streptococcus* spp. – 100%, *Enterococcus faecalis* – 33,3%, нетипируемых сальмонелл группы Д: *Salmonella* spp. – 100%, синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa* – 33,3%.

При проведении бактериологического исследования полученного биоматериала от свиней были выделены культуры патогенных и условно-патогенных микроорганизмов: из общего количества проб ($n = 15$) ассоциация микрофлоры была представлена в большей степени грамположительными бактериями, из них: *Ent. faecalis* присутствовал в 11 пробах (73,3%); *Staph. aureus* – в 6 пробах (40,0%); *Ent. Faecium* – в 1 пробе (6,6%), *Str. suis* – в 1 пробе (6,6%). Грамотрицательных бактерий в пробах было несколько меньше, из них *E. coli* присутствовала в 14 пробах (93,3%), *Ent. cloacae* – в 2 пробах (13,3%).

Установлено, что в проведенных исследованиях в разной степени (от 6,6 до 53,3%) были эффективны 12 антибактериальных препаратов: наибольшую эффективность в отношении изолированных культур показали гентамицин (в 53,3% проб) и норфлоксацин (40,0%), менее эффективными были фуразолидон и энрофлоксацин (20,0%), неомицин, левомицетин (13,3%), а 6 препаратов (фурадонин, полимиксин, доксициклин, пенициллин, амоксициллин, рифампицин) были эффективны всего лишь в 6,6% исследованных проб.

В отношении всех 15 проб ассоциированных культур (100%) были неэффективны 3 препарата (тилозин, стрептомицин, линкомицин), 4 препарата (амоксициллин, рифампицин, полимиксин, доксициклин) были неэффективны в 93,3% проб, левомицетин – в 86,6, фуразолидон – в 80,0, энрофлоксацин – в 73,3, норфлоксацин – в 60,0, а ампициллин, эритромицин, тетрациклин, фурадонин – в 40,0-46,6% исследованных проб.

Кроме того, 12 препаратов в разной степени – от 6,6 до 33,3% случаев усиливали рост выделенных культур, в большей степени пенициллин и амоксициллин (соответст-

венно 33,3 и 26,6%). В меньшей степени рост ассоциированных культур усиливали и ампициллин (в 20,0% проб), эритромицин и тилозин (13,3% проб). Остальные 7 АП (новобиоцин, полимиксин, тетрациклин, левомицетин, рифампицин, линкомицин и энрофлоксацин) дали усиление роста в 6,6% исследованных проб.

При исследовании смешанных культур ($n = 3$), выделенных от бобров, было установлено, что из 16 испытанных АП 100% эффективность показал только гентамицин, 3 препарата (амоксициллин, норфлоксацин, стрептомицин) были менее эффективными – 33,3% проб. То есть те же 2 антибактериальных препарата, что и на свинокомплексе (гентамицин и норфлоксацин) оказались наиболее эффективными.

В 100% исследованных проб 13 антимикробных препаратов (ампициллин, линкомицин, эритромицин, тетрациклин, левомицетин, рифампицин, полимиксин, фуразолидон, фурадонин, норфлоксацин, энрофлоксацин, тилозин, доксициклин) были неэффективными.

Кроме того, ампициллин, линкомицин и эритромицин усиливали рост смешанных культур в 100%, амоксициллин, фуразолидон, фурадонин, доксициклин – в 66,6%, тетрациклин, левомицетин и тилозин – в 33,3% проб, т. е. 10 препаратов из 12, усиливающих рост выделенных культур на свинокомплексе, вызывали в том числе усиление роста культур, изолированных от бобров.

Заключение

Таким образом, совершенно очевидна взаимосвязь чувствительности к антибактериальным препаратам условно-патогенной микрофлоры, полученной от свиней и бобров, которые находились территориально изолированно друг от друга. В немалой степени способствует распространению устойчивости к АП заведенная в животноводстве практика создания крупных комплексов с многотысячным поголовьем с циркуляцией генов устойчивости к АП. Учитывая тот факт, что от 25 до 75% потребляемых антибактериальных средств без изменений выводится из организма животных и человека с фекалиями и мочой, а затем попадают вместе со сточными водами в естественные водоемы, а с навозом – на поля, то происходит распространение плазмид с генами устойчивости к АП на близлежащую к комплексу территорию.

Предупредить развитие антибиотикорезистентности крайне сложно, а иногда и невозможно. Необходимо придерживаться некоторых правил, которые, конечно, не решают проблему, но позволяют не усугублять ее:

- 1) применять антибиотики строго по показаниям;
- 2) начинать лечение с ударных доз;
- 3) через 10-15 дней антибиотикотерапии с учетом того, что у микроорганизмов обычно существует перекрестная устойчивость к антибиотикам одной группы, производить смену антибиотика другой группы;
- 4) по возможности использовать антибиотики узкого спектра действия;
- 5) через определенное время производить смену антибиотика не только в хозяйстве, но и в регионе.
- 6) изучать и внедрять технологии обеззараживания навоза от животных не только от заразных возбудителей, но и от остатков антибиотиков.
- 7) проводить локальные мониторинговые исследования по чувствительности условно-патогенной микрофлоры к антибактериальным препаратам и делать эту информацию доступной (бюллетени, интернет и т.п.) для любого практикующего ветеринарного врача.

Библиографический список

1. Брода П. Плазмиды / П. Брода. – Москва : Мир, 1982. – 224 с.
2. Видовой состав и чувствительность к антибактериальным препаратам микрофлоры свиномышечных комплексов / О.А. Манжурина [и др.] // Молодежный вектор развития аграрной науки : матер. 65-й науч. студ. конф. – Воронеж : ФГБОУ ВПО Воронежский ГАУ, 2014. – С. 107-109.
3. Ефанова Л.И. Видовой состав и чувствительность к антибактериальным препаратам возбудителей факторных инфекций у перепелов / Л.И. Ефанова, О.А. Манжурина, В.В. Давыдова // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве : матер. 17-й международной конф. – Сергиев Посад, 2012. – С. 544-546.
4. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания МУК 4.2.1890-04. Утв. и введ. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004. – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
5. Смирнов Г.Б. Механизмы приобретения и потери генетической информации бактериальными геномами / Г.Б. Смирнов // Успехи современной биологии. – 2008. – Т. 128. – № 1. – С. 52–76.
6. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М.В. Супотницкий // Биопрепараты. – 2011. – № 2. – С. 4–11.
7. Титок М.А. Плазмиды грамположительных бактерий / М.А. Титок. – Минск : БГУ, 2004. – 130 с.
8. Франклин Т. Биохимия антимикробного действия / Т. Франклин, Дж Сноу. – Москва : Мир, 1984. – 240 с.
9. Bryan L. Mechanisms of plasmid mediated drug resistance / L. Bryan // Plasmids and Transposons. – 1980. – P. 51–81.
10. Smith D.H. R factor infection of Escherichia coli lyophilized in 1946 / D.H. Smith // J. Bact. – 1967. – Vol. 94. – P. 2071–2072.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Ольга Алексеевна Манжурина – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры паразитологии и эпизоотологии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-94-73, E-mail: manol65@mail.ru.

Анна Михайловна Скогорева – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры паразитологии и эпизоотологии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-94-73, E-mail: annaskogoreva@mail.ru.

Борис Витальевич Ромашов – доктор биологических наук, зав. кафедрой паразитологии и эпизоотологии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-94-73, E-mail: bvrom@yandex.ru.

Наталья Борисовна Ромашова – кандидат биологических наук, начальник научного отдела, ФГБУ «Воронежский государственный биосферный заповедник имени В.М. Пескова», Российская Федерация, г. Воронеж, Госзаповедник, Центральная усадьба, тел. 8(473) 259-45-49, E-mail: bvnrom@yandex.ru.

Дата поступления в редакцию 28.12.2016

Дата принятия к печати 26.01.2017

AUTHOR CREDENTIALS

Affiliations

Olga A. Manzhurina – Candidate of Veterinary Sciences, the Dept. of Parasitology and Epizootiology, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-94-73, E-mail: manol65@mail.ru.

Anna M. Skogoreva – Candidate of Veterinary Sciences, the Dept. of Parasitology and Epizootiology, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-94-73, E-mail: annaskogoreva@mail.ru.

Boris V. Romashov – Doctor of Biological Sciences, Head of the Dept. of Parasitology and Epizootiology, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-94-73, E-mail: bvrom@yandex.ru.

Nataliya B. Romashova – Candidate of Biological Sciences, Head of Science Department, Voronezhsky State Nature Biosphere Reserve named after V. Peskov, Russian Federation, Voronezh, Goszapovednik, Centralnaja usadba, tel. 8(473) 259-45-49, E-mail: bvnrom@yandex.ru.

Date of receipt 28.12.2016

Date of admittance 26.01.2017