

БАКТЕРІОСТАТИЧНА ТА БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ ФТОРХІНОЛОНІВ ДО ІЗОЛЯТІВ *ESCHERICHIA COLI*

Т. І. Стецько, В. П. Музика, О. В. Купецька, Л. О. Святоцька, Г. П. Угрин

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

*Ефективність лікування незаразних захворювань бактеріальних інфекцій у ветеринарній медицині перш за все залежить від правильного вибору антибактеріального хіміотерапевтичного засобу. Показником ефективності антимікробного препарату є рівень бактеріостатичної і бактерицидної активності його діючої основи. У статті наведені результати вивчення антимікробної активності антибіотиків фторхінолонового ряду данофлорсацину і енрофлорсацину по відношенню до ізолятів *Escherichia coli*, виділених від телят, хворих на гостре шлунково-кишкове захворювання. Отримані результати показали досить високий рівень чутливості польових штамів кишкової палички до фторхінолонів. При цьому значення мінімальних бактерицидних концентрацій антибіотиків для бактерій-ізолятів були лише у 2-4 рази вищими за значення їх мінімальних інгібуючих концентрацій, що підтверджує бактерицидний тип дії фторхінолонів.*

Інфекції шлунково-кишкового тракту є одними з найпоширеніших захворювань незаразної етіології у великої рогатої худоби, у першу чергу, молодняка ВРХ. В основному етіологічним фактором клінічно виражених шлунково-кишкових захворювань у телят є умовно-патогенна мікрофлора, одним із основних представників якої є кишкова паличка [1]. Для досягнення терапевтичного ефекту при лікуванні колібактеріозу телят необхідно підібрати такий антибактеріальний засіб, який би містив активніючу речовину, до дії якої чутливий збудник захворювання [2]. При виборі антибіотикотерапії важливо враховувати не тільки чутливість мікроорганізму до антимікробних препаратів, але й тип його антимікробної дії (бактеріостатична чи бактерицидна).

Антибіотики фторхінолонового ряду набули широкої популярності серед практичних ветеринарних лікарів при лікуванні незаразних захворювань бактеріальної етіології. Фторхінолони — це високоактивні синтетичні хіміотерапевтичні засоби широкого спектру антибактеріальної дії, що характеризуються добрими фармакокінетичними властивостями, високою біодоступністю та високим ступенем проникнення в тканини та клітини макроорганізму [3, 4]. Розвиток резистентності мікроорганізмів до дії фторхінолонів проходить значно повільніше, ніж до антибіотиків інших груп, і виникає в основному внаслідок генних мутацій у хромосомах бактерій [5]. Відсутні також дані щодо ензимної інактивації фторхінолонів бактеріями. Для антибіотиків цієї групи не характерна перехресна резистентність з іншими класами антибіотиків [6].

Метою нашої роботи було встановити ступінь бактеріостатичної та бактерицидної активності антибіотиків фторхінолонового ряду енрофлорсацину і данофлорсацину для ізолятів кишкової палички, збудників колібактеріозу телят.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися на базі Навчального науково-дослідного центру Львівського національного аграрного університету. Клінічним обстеженням стада молодняка великої рогатої худоби було відібрано 10 телят чорно-рябої породи у віці від 3 до 3,5 місяців з симптомами гострого шлунково-кишкового захворювання (гастроентерит). Від хворих телят брали кров з яремної вени для мікробіологічного дослідження. З метою виділення та ідентифікації збудника захворювання проводили посів

біоматеріалу (крові) на звичайні (м'ясо-пептонний бульйон, м'ясо-пептонний агар) і селективно-диференціальні (середовище Ендо) поживні середовища. За допомогою мікроскопії мазків чистої культури вивчали морфологію збудника. Також визначали ферментативні властивості виділеної бактеріальної культури.

Мінімальні інгібуючі (МІК) і мінімальні бактерицидні (МБК) концентрації данофлораксацину і енрофлораксацину для польових штамів мікроорганізмів визначали згідно Методичних вказівок по визначенню бактериостатичної і бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень [7].

Для досліджень використовували препарати Данофлораксацин, розчин для ін'єкцій, виробництва ПАТ «Галичфарм», Україна (1 мл препарату містить 180 мг данофлораксацину) і Енроксил Макс, розчин для ін'єкцій, виробництва фірми КРКА, Словенія (1 мл препарату містить 100 мг енрофлораксацину). Для визначення МІК данофлораксацину використовували 14 пробірок з м'ясо-пептонним бульйоном (МПБ) з такими розведеннями антибіотика: 90,0; 45,0; 22,5; 11,2; 5,6; 2,8; 1,4; 0,7; 0,35; 0,17; 0,08; 0,04; 0,02 і 0,01 мкг/мл. Для визначення МІК енрофлораксацину використовували 14 пробірок з МПБ з такими розведеннями антибіотика: 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,2; 3,1; 1,6; 0,8; 0,4; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025 і 0,0125 мкг/мл. Пробірки інкубували в термостаті при температурі 37 °С протягом 18–20 годин. За МІК антибіотика брали мінімальну його кількість, що дає повну видиму затримку росту культури (прозорий бульйон).

Інтерпретацію результатів визначення мінімальної переважної концентрації данофлораксацину і енрофлораксацину для ізолятів *Escherichia coli* проводили таким чином:

- МІК антибіотика $\leq 0,5$ мкг/мл — мікроорганізм чутливий;
- МІК антибіотика 1-2 мкг/мл — мікроорганізм помірно чутливий;
- МІК антибіотика ≥ 4 мкг/мл — мікроорганізм резистентний.

Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації антибіотиків для польових штамів кишкової палички з пробірок з МПБ, де був відсутній видимий ріст культури робили посів на м'ясо-пептонний агар (МПА). Для цього з кожної пробірки брали по 0,05 мл її вмісту, ретельно перемішували з 15 мл розплавленого і охолодженого до 45 °С агару, розливали в чашки Петрі і інкубували при температурі 37 °С протягом 48 годин. Після цього оглядали чашки. За мінімальну бактерицидну концентрацію антибіотика брали концентрацію в тій пробірці, крапля бульйону з якою не дала зростання на чашці з агаром, або дала ріст одиничних (окремих) колоній.

Результати й обговорення. При посіві крові на МПБ спостерігали значне помутніння середовища з невеликим осадом і пристінковим кільцем, а на МПА утворювалися прозорі колонії з сірувато-блакитним відтінком. Присутній ріст на м'ясо-пептонному агарі іншої мікрофлори був незначним і його до уваги не брали. Посів чистої культури на середовище Ендо дав ріст плоских червоних колоній середньої величини з металевим блиском, що є свідченням присутності у біоматеріалі кишкової палички.

За допомогою мікроскопії мазків чистої культури, пофарбованих по Граму, виявляли грам-негативні палички зі злегка закругленими кінцями розміром 0,5-2 мкм. Така морфологія характерна для ешерихій. Крім того, виділена бактеріальна культура ферментувала лактозу, глюкозу, маніт і мальтозу з утворенням кислоти і газу. Таким чином, враховуючи морфологічні, культуральні та ферментативні особливості виділених штамів мікроорганізмів, можна стверджувати про їх приналежність до виду *Escherichia coli*.

Результати визначення МІК і МБК данофлораксацину і енрофлораксацину для виділених штамів кишкової палички наведені в таблицях 1–4.

Таблиця 1

МІК данофлорсацину для ізолятів *Escherichia coli* (n = 10)

Розведення, мкг/мл	Зразки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
90,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,35	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
0,17	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+
0,08	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
0,04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
МІК, мкг/мл	0,17	0,35	0,08	0,17	0,35	0,35	0,17	0,35	0,7	0,35

Примітка: тут і в наступних таблицях: «+» — помутніння бульйону; «-» — бульйон прозорий.

Всі ізоляти кишкової палички виявили високу чутливість до данофлорсацину. Середня величина МІК данофлорсацину становила 0,252 мкг / мл (діапазон від 0,08 мкг/мл до 0,7 мкг/мл).

Таблиця 2

МБК данофлорсацину для ізолятів *Escherichia coli* (n = 10)

Розведення, мкг/мл	Зразки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
90,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,7	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—
0,35	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+
0,17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
МБК, мкг/мл	0,35	0,7	0,35	0,7	1,4	0,7	0,7	1,4	1,4	0,7

Середня величина МБК данофлорсацину щодо ізолятів кишкової палички становила 0,84 мкг/мл (діапазон від 0,35 до 1,4 мкг/мл). Мінімальна бактерицидна концентрація данофлорсацину була в 2-4 рази вище його мінімальної інгібуючої концентрації, що підтверджує бактерицидний характер дії фторхінолонових антибіотиків, зокрема, данофлорсацину.

Таблиця 3

МІК енрофлоксацину для ізолятів *Escherichia coli* (n = 10)

Розведення, мкг/мл	Зразки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
0,2	—	+	+	—	—	+	+	+	—	+
0,1	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
МІК, мкг/мл	0,1	0,4	0,4	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,8

Дев'ять із 10-ти виділених штамів *Escherichia coli* за величиною мінімальної інгібуючої концентрації відносяться до категорії «чутливі» до дії енрофлоксацину, один штам – до категорії «помірно чутливі». Рівень бактеріостатичної активності енрофлоксацину коливалася від 0,21 до 0,8 мкг/мл (в середньому 0,34 мкг/мл).

Таблиця 4

МБК енрофлоксацину для ізолятів *Escherichia coli* (n = 10)

Розведення, мкг/мл	Зразки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,8	—	—	+	—	—	+	—	—	—	+
0,4	—	+	+	—	—	+	+	+	—	+
0,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
МБК, мкг/мл	0,4	0,8	1,6	0,4	0,4	1,6	0,8	0,8	0,4	1,6

Як і у випадку з данофлоксацином, енрофлоксацин проявляє бактерицидний ефект по відношенню до ізолятів кишкової палички в концентраціях, вищих за мінімальні бактеріостатичні концентрації в 2–4 рази.

Беручи до уваги те, що в господарстві не раз застосовувалися при антибіотикотерапії фторхінолонові антибіотики, можна констатувати, що отримані результати підтверджують дані багатьох вчених про те, що до фторхінолонів розвиток резистентності проходить досить повільно [5, 8].

ВИСНОВКИ

1. Антибіотики фторхінолонового ряду данофлораксин і енрофлораксин володіють бактерицидною дією і проявляють високу антибактеріальну активність по відношенню до ізолятів кишкової палички, збудників інфекцій шлунково-кишкового тракту у телят.

2. Фторхінолони залишаються ефективними хіміотерапевтичними засобами лікування молодняка ВРХ при шлунково-кишкових захворювань, викликаних чутливими до їх дії мікроорганізмами.

Перспективи подальших досліджень. Постійний моніторинг чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів дасть об'єктивну оцінку стану антибіотикорезистентності у ветеринарній медицині і сприятиме впровадження відповідних заходів щодо попередження розвитку опірності основних збудників незаразних захворювань бактеріальної етіології у с.-г. тварин.

BACTERIOSTATIC AND BACTERICIDAL ACTIVITY OF FLUOROQUINOLONES REGARDING ISOLATES OF *ESCHERICHIA COLI*

T. I. Stetsko, V. P. Muzyka, O. V. Kupetska, L. O. Svjatotska, G. P. Ugryn

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

S U M M A R Y

The effectiveness of treatment of non-communicable diseases of bacterial infections in veterinary medicine first of all depends on the correct choice of antibacterial chemotherapeutic agent. An indicator of the effectiveness of the antimicrobial agent is the level of bacteriostatic and bactericidal activity of its active basis. The results of the study of the antimicrobial activity of fluoroquinolones danofloxacin and enrofloxacin regarding strains of *Escherichia coli*, isolated from calves sick from acute gastrointestinal disease, are given. The results showed a sufficiently high level of sensitivity of isolates of *Escherichia coli* to fluoroquinolones. The values of minimum bactericidal concentrations of antibiotics for bacteria-isolates were only 2-4 times higher than the value of its minimum inhibitory concentrations, confirming the bactericidal type of action of fluoroquinolones.

БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ФТОРХИНОЛОНОВ В ОТНОШЕНИИ К ИЗОЛЯТАМ *ESCHERICHIA COLI*

Т. И. Стецько, В. П. Музыка, О. В. Купецкая, Л. О. Святоцкая, Г. П. Угрын

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

Эффективность лечения незаразных заболеваний бактериальных инфекций в ветеринарной медицине прежде всего зависит от правильного выбора антибактериального химиотерапевтического средства. Показателем эффективности антимикробного препарата является уровень бактериостатической и бактерицидной активности его действующей основы. В статье приведены результаты изучения антимикробной активности антибиотиков фторхинолонового ряда данофлораксину и энрофлораксина по отношению к изолятов

Escherichia coli, выделенных от телят, больных на острое желудочно-кишечное заболевание. Полученные результаты показали достаточно высокий уровень чувствительности полевых штаммов кишечной палочки к фторхинолонам. При этом значение минимальных бактерицидных концентраций антибиотиков для бактерий-изолятов были только в 2-4 раза выше значения их минимальных подавляющих концентраций, что подтверждает бактерицидный тип действия фторхинолонов.

ЛІТЕРАТУРА

1. Петров В., Морозов Д. Лечение гастроэнтеритов у телят и поросят // Ветеринария с.-х. животных.— 2009.— № 1.— С. 48–56.
2. Стецько Т. І. Засади ефективної антибіотикотерапії у ветеринарній медицині. – Ветеринарна біотехнологія. — 2008. — № 13 (1). — С. 194–203.
3. Падейская Е. Н., Яковлев В. П. Фторхинолоны. — М.: Биоинформ, 1995. — 208 с.
4. Smith L. T., Lewin C. S. Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterials // in “Quinolones”, Ed. Andriole V., Academ. Press, 1988. — P. 23–82.
5. Janoir C., Zeller V., Kitzis M. D., Moreau N. J., Gutmann L. High-level fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* requires mutations in *parC* and *gyrA* // Antimicrob Agents Chemother. — 1996. — Vol. 40. — P. 2760–2764.
6. Tran J. H., Jacoby G. A. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — P. 5638–5642.
7. Методичні вказівки по визначенню бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень (затверджені науково-технічною радою ДДВМ України Міністерства агрополітики України від 19.12.2002 р.) — Київ, 2007. — 9 с.
8. Watts J. L., Salmon S. A., Yancey R. J. Jr., Nickerson S. C., Weaver L.J., Holmberg C., Pankey J. W., Fox L. K. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers // J. Dairy Sci. — 1995. — Vol. 78(7). — P. 1637–1648.