

ЕФЕКТИВНІСТЬ НОВОГО АНТИМІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ДАНОФЛОКСАЦИНУ ПРИ ЛІКУВАННІ ШЛУНКОВО- КИШКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ КУРЕЙ

Т. І. Стецько, канд. с.-г. наук

М. В. Пашковська, В. Н. Падовський, Г. П. Угрин, наукові співробітники

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведені результати досліджень чутливості ізолятів Escherichia coli, виділених від клінічно хворих на колибактеріоз курчат-бройлерів, до нового антибактеріального препарату Даноксан-50 на основі фторхінолонового антибіотика третього покоління данофлоксацину. Отримані результати показали високий рівень антимікробної активності препарату по відношенню до виділених культур кишкової палички. Згідно отриманих результатів тесту на чутливість, проведеного диско-дифузійним методом, 9 ізолятів Escherichia coli проявили високу чутливість до данофлоксацину (90%), помірну чутливість – лише один штамп (10%). Резистентних до данофлоксацину штамів E. coli не було виявлено. Середній рівень мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) данофлоксацину для ізолятів Escherichia coli становив 0,4 мкг/мл (діапазон 0,1-1,6 мкг/мл). Встановлена терапевтична ефективність нового препарату при лікуванні клінічно вираженої форми колибактеріозу в курчат-бройлерів.

Ключові слова: ФТОРХІНОЛОНИ, ДАНОКСАН 50, ШЛУНКОВО-КИШКОВІ ЗАХВОРЮВАННЯ, КУРИ, МІКРООРГАНІЗМИ, ЧУТЛИВІСТЬ, ТЕРАПЕВТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ.

На сьогоднішній день найбільш розвинутою галуззю тваринництва в Україні є птахівництво. Ефективність ведення цієї галузі залежить від епізоотичної ситуації, а саме – від рівня збереженості птиці. Найважливішою ознакою якості продуктів птахівництва є показники їх безпечності для споживача, зокрема, це відсутність у продукції збудників інфекційних хвороб. Якщо для попередження вірусних захворювань проводять вакцинацію птиці, то для боротьби з бактеріальними інфекціями, особливо захворюваннями незаразного характеру, що викликані умовно-патогенною мікрофлорою, застосовують засоби хіміотерапії, а саме, антибіотики [1]. Проте, за останні роки ефективність багатьох традиційних антимікробних препаратів різко знизилась через широке розповсюдження антибіотикостійких штамів мікроорганізмів [2, 3]. До того ж, зазвичай, опірність мікроорганізмів носить полірезистентний характер [4].

Сьогодні широкого застосування у терапії бактеріальних інфекцій у свійської птиці набули препарати фторхінолонового ряду. Фторхінолони відносяться до класу найефективніших антимікробних активних речовин, як в гуманній, так і у ветеринарній медицині, завдяки широкому спектру бактерицидної дії, безпечності, а також своїм фармакокінетичним і фізико-хімічним властивостям, високій біодоступності та ступенем проникнення в тканини і клітини макроорганізму [5, 6]. Провідні позиції в сучасній антибіотикотерапії фторхінолони посідають і завдяки унікальності механізму антибактеріальної дії: їх мішенню є ДНК-гіраза і топоізомераза IV – ферменти, що каталізують і забезпечують проходження конкретних етапів формування необхідної топології ДНК у хромосомі бактерій у результаті її суперспіралізації [7]. Як результат, зупиняється

утворення подвійної спіралі ДНК та її скручування, внаслідок чого порушується нормальне функціонування нуклеїнової кислоти, що призводить до загибелі клітини [8]. Фторхінолони, завдяки відсутності аналогів у природному середовищі, забезпечують відносно високу активність по відношенню до полірезистентних штамів мікроорганізмів. Резистентність до цього класу антибіотиків розвивається досить повільно та, в основному, внаслідок генних мутацій у хромосомах бактерій, рідко поширюючись через плазмідні [9, 10]. Відсутні дані щодо ензимної інактивації фторхінолонів бактеріями. Для антибіотиків цієї групи не характерна перехресна резистентність з іншими класами антибіотиків [11].

Завдяки унікальному механізму антимікробної дії та фармакологічним властивостям фторхінолони залишаються одними із найефективніших засобів хіміотерапії бактеріальних інфекцій у свійської птиці. Одним із основних показань до застосування фторхінолонів є лікування інфекцій шлунково-кишкового тракту свійської птиці, викликаних чутливими до дії цих антибіотиків мікроорганізмами [8]. Упродовж кількох останніх років в Україні серед фторхінолонів у ветеринарній медицині, у тому числі, для потреб птахівництва, найчастіше застосовувався енрофлоксацин. Проте, широкое, часто нераціональне, його використання привело до зниження його ефективності через прогресуючий розвиток резистентності серед мікроорганізмів до дії цього антибіотика [12]. Тому, актуальним є впровадження у практику ветеринарної медицини нових антибактеріальних препаратів фторхінолонового класу, які б володіли високою активністю проти широкого ряду мікроорганізмів, збудників бактеріальних інфекцій у с/г тварин та птиці.

Метою нашої роботи було дослідження антимікробної активності нового антибактеріального препарату Даноксан-50 (виробництва ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»), діючою речовиною якого є фторхінолоновий антибіотик третього покоління данофлоксацин, до кишкової палички, та вивчення його ефективності при лікуванні і профілактиці колібактеріозу в курей.

Матеріал і методи. Дослідження проводили в умовах віварію ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок. Об'єктом дослідження були курчата-бройлери 20-25-ти добового віку, хворі на ешерихіоз. Діагноз ставили на основі анамнестичних даних, клінічної картини захворювання, результатів патологоанатомічного розтину та бактеріологічного дослідження.

Для проведення мікробіологічних досліджень було знекровлено 10 голів курчат-бройлерів, хворих на ешерихіоз. Від трупів курчат було відібрано серце, шматочки печінки, селезінки, ексудат черевної порожнини. Проводили посіви біоматеріалу на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) і м'ясо-пептонний агар (МПА), а також на спеціальне поживне середовище – агар Ендо. На другий день, після інкубації, ріст культури переглядали макроскопічно. Дослідження на чутливість бактерій-ізолятів до данофлоксацину проводили диско-дифузійним методом [13], мінімальну інгібуючу концентрацію данофлоксацину для польових штамів мікроорганізмів визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі [14].

Терапевтичну ефективність препарату Даноксан-50 розчин для перорального застосування (1мл препарату містить 50 мг данофлоксацину) при лікуванні колібактеріозу в курчат-бройлерів порівнювали з ефективністю препарату порівняння Даномед (порошок для перорального застосування), виробництва фірми Медікавет (Туреччина) (1 г препарату містить 100 мг данофлоксацину). Було сформовано дві групи (дослідну і контрольну) по 20 голів курчат-бройлерів 25-ти денного віку, хворих на ешерихіоз. Птиці дослідної групи вводили перорально препарат Даноксан-50 у дозі 1 мл препарату на 1 л питної води щодобово упродовж 5 діб. Контрольній групі курчат-бройлерів вводили перорально препарат Даномед у дозі 0,5 г на 1 л питної води щодобово упродовж 5 діб.

Спостереження за птицею вели упродовж двох тижнів (14 діб) від початку введення препаратів. Фіксували збереженість, живу масу курчат на початку та по закінченню досліду, середньодобовий приріст за період досліду.

Результати й обговорення. Виявлено, що характерними клінічними ознаками захворювання птиці були: пригнічений стан, відсутність реакції на зовнішні подразники, сонливість, відсутність апетиту, пронос, желеподібна консистенція калу, зневоднення організму, сильна спрага, кон'юнктивіт. Спостерігали різке зниження росту та розвитку курчат.

При розтині загиблої птиці спостерігали зміни в серці – серцева сорочка містила певну кількість серозно-фібринозного ексудату. На поверхні печінки виявляли відкладення фібрину, застійну гіперемію печінки і селезінки. Відмічали катаральне запалення слизової кишечника. Повітряні мішки були заповнені серозно-фібринозним ексудатом.

На МПБ спостерігався ріст мікрофлори у вигляді помутніння середовища з невеликим осадом та пристіночним кільцем. На МПА посів дав ріст прозорих колоній з сірувато-голубим відтінком. На агарі Ендо утворилися плоскі червоні колонії середньої величини з металічним блиском. З агарового середовища з ізольованих колоній брали культуру для мікроскопічного дослідження. Мікроскопія мазків, фарбованих по Граму, показала грамнегативні палички з легко закругленими кінцями розміром 0,5 — 2 мкм. Отримані культуральні та морфологічні особливості виділених культур мікроорганізмів засвідчили присутність в організмі хворої птиці штамів кишкової палички.

Враховуючи епізоотичні дані, клінічну картину захворювання, результати патологоанатомічного і мікробіологічного дослідження, був встановлений діагноз «колібактеріоз» (ешерихіоз, коліінфекція).

Виділену та ідентифіковану культуру *Escherichia coli* (10 ізолятів) дослідили на чутливість до данофлорсацину методом дифузії в агар з використанням паперового диску з данофлорсацином (10 мкг). Інтерпретацію результатів визначення чутливості бактерій-ізолятів до данофлорсацину проводили наступним чином:

- діаметр зони затримки росту ≥ 21 мм — штам мікроорганізму чутливий;
- діаметр зони затримки росту від 16 до 20 мм — штам мікроорганізму помірно чутливий;
- діаметр зони затримки росту ≤ 15 мм — штам мікроорганізму резистентний.

Отримані результати тесту на чутливість до данофлорсацину ізолятів *Escherichia coli* наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Чутливість ізолятів *Escherichia coli*, виділених від курчат-бройлерів, до данофлорсацину, n = 10

Показники	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Діаметр затримки росту, мм	23	27	32	18	28	30	26	26	33	30
Рівень чутливості	Ч	Ч	Ч	пЧ	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч

Примітка: «Ч» - мікроорганізм чутливий; «пЧ» - мікроорганізм помірно чутливий.

Згідно з отриманими результатами, високу чутливість до данофлорсацину проявили 9 штамів кишкової палички, що становить 90 % від загальної кількості ізолятів *Escherichia coli*, апомірну чутливість – лише один штам (10 %). Резистентних штамів кишкової палички до данофлорсацину не було виявлено.

При визначенні мінімальної інгібуючої концентрації данофлорсацину для ізолятів *Escherichia coli* інтерпретацію отриманих результатів проводили наступним 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.

Результати визначення МІК данофлораксацину для виділених штамів кишкової палички наведені в табл. 2.

Таблиця 2

МІК данофлораксацину 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	0,4	0,2	0,1	1,6	0,4	0,2	0,4	0,4	0,1	0,2

Примітка: «+» – помутніння бульйону; «—» – бульйон прозорий

Згідно з отриманими даними, рівень бактеріостатичної активності препарату (данофлораксацину) виявився високим щодо 9 з 10-ти штамів кишкової палички, що становить 90 % від загальної кількості ізолятів *Escherichia coli*. Помірну чутливість проявив лише 1 польовий штам кишкової палички (10 %). Середнє значення мінімальної інгібуючої концентрації данофлораксацину для бактерій-ізолятів *Escherichia coli* становило 0,4 мкг/мл (діапазон 0,1-1,6 мкг/мл). Значення МІК в загальному корелюють з даними, отриманими при проведенні тесту на чутливість мікроорганізмів до данофлораксацину, виконаного диско-дифузійним методом.

Результати визначення ефективності препарату Даноксан-50 при лікуванні та профілактиці колібактеріозу в курчат-бройлерів наведено у табл. 3

Таблиця 3

Лікувальна ефективність препарату Даноксан-50, у порівнянні з препаратом Даномед, при лікуванні ешерихіозу в курчат-бройлерів

Показники	Групи	
	дослідна	контрольна
Кількість птиці, гол	20	20
Збереженість, %	100	100
Середня жива маса на початку досліді, г	870	880
Середня жива маса по завершенню досліді, г	1570	1574
Середньодобовий приріст за період досліді, г	50,0	49,6
Терапевтична ефективність, %	100	100

За період досліді не було зафіксовано загибелі птиці як у дослідній, так і контрольній групі. Середньодобові прирости бройлерів дослідної групи суттєво не відрізнялися від приростів у курчат контрольної групи. Після проведеної антибіотикотерапії у курчат обох груп зникли клінічні симптоми захворювання: загальний стан покращився, поведінка стала активною, добре поїдали корм, відновився апетит, припинилися поноси, курчата та стали значно прибавляти у вазі. Терапевтична ефективність досліджуваного препарату Даноксан-50

при лікуванні ешерихіозу в курчат-бройцлерів була високою і не поступалася ефективністю препарату порівняння Даномед.

В И С Н О В К И

1. Новий антимікробний препарат на основі фторхінолонового антибіотика третьої генерації данофлораксину проявляє високу антимікробну активність щодо польових штамів *Escherichia coli*, збудника колібактеріозу у курей.

2. Препарат Даноксан-50 у рекомендованих виробником спосіб введення, дозах та тривалості застосування є ефективним хіміотерапевтичним засобом лікування коліінфекції у курей, викликаній чутливими до данофлораксину штамми кишкової палички.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними є подальші дослідження ефективності нових антибіотиків фторхінолонового класу при лікуванні інших захворювань бактеріальної етіології у свійської птиці.

EFFICIENCY OF NEW ANTIMICROBIAL PREPARATION BASED ON DANOFLOXACIN IN THE TREATMENT OF GASTROINTESTINAL DISEASES OF CHICKENS

T. I. Stetsko, M. V. Pashkovska, V. N. Padovsky, G. M. Ugryn

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

The results of studies of isolates sensitivity *Escherichia coli*, isolated from patients with clinically colibacteriosis broiler chickens, for a new antibacterial drug Danoksan-50 based on antibiotic danofloxacin, fluoroquinolones of the third generation, are presented. The results showed high antimicrobial activity of the drug in relation to isolated cultures of *E. coli*. According to the results of test of sensitivity obtained by disco-diffusion method, nine isolates *Escherichia coli* (90%) showed high sensitivity to danofloxacin, moderate sensitivity – only one strain (10%). Resistant strains of *E. coli* to danofloxacin were not found. The average of the minimum inhibitory concentration (MIC) of danofloxacin for isolates of *Escherichia coli* was 0.4 µg/ml (range 0,1-1,6 µg/ml). The effectiveness of a new drug in the treatment of symptomatic forms of colibacillosis of broiler chickens also are showed.

Keywords: FLUOROQUINOLONES, DANOKSAN 50, GASTROINTESTINAL DISEASE, CHICKENS, MICROORGANISMS, SENSITIVITY, THERAPEUTICAL EFFICACY

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ДАНОФЛОКСАЦИНУ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КУР

Т. І. Стецько, М. В. Пашковська, В. Н. Падовський, Г. П. Угрин

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок,
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты исследований чувствительности изолятов *Escherichia coli*, выделенных от клинически больных колибактериоза цыплят-бройлеров, к новому антибактериальному препарату Даноксан-50 на основе фторхинолонового антибиотика третьего поколения данофлоксацина. Полученные результаты показали высокий уровень антимикробной активности препарата по отношению к выделенным культурам кишечной палочки. Согласно полученным результатам теста на чувствительность, проведённого диско-диффузным методом, 9 изолятов *Escherichia coli* проявили высокую чувствительность к данофлоксацину (90%), умеренную чувствительность - только один штамм (10%). Резистентных к данофлоксацину штаммов *E. coli* не было обнаружено. Средний уровень минимальной ингибирующей концентрации (МИК) данофлоксацина для изолятов *Escherichia coli* составил 0.4 мкг/мл (диапазон 0,1-1,6 мкг/мл). Установлена также эффективность нового препарата при лечении клинически выраженной формы колибактериоза у цыплят-бройлеров.

Ключевые слова: ФТОРХИНОЛОНЫ, ДАНОКСАН 50, ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, КУРЫ, МИКРООРГАНИЗМЫ, ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ, ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Стецько Т. І. Засади ефективної антибіотикотерапії у ветеринарній медицині // Ветеринарна біотехнологія. — 2008. — № 13 (1). — С. 194–203.
2. Виолин Б. В., Абрамов В. Е., Ковалёв В. Ф. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях // Ветеринария. — 2001. — № 1. — С.42-46.
3. Aarestrup F. M., Agerso Y., Ahrens P., Jorgensen O. J. C. Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry // Veter.Microbiol. — 2000. — Vol.74, N 4. — P. 353-364.
4. Hofacre C. L., Cotret A. R., Maurer J. J., Garritty A. Presence of fluoroquinolone-resistant coliforms in poultry litter // Avian Dis. — 2000. — Vol. 44, № 4. — P. 963–967.
5. Papich M. G. Fluoroquinolone antimicrobial drugs. / M. G. Papich, J. E. Riviere // In: Adams HR, editor. Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 8th ed. Ames: Iowa State University Press, 2001. — P. 898–912.
6. Яковлев С. В. Место фторхинолонов в лечении бактериальных инфекций // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — Т. 44. — № 12. — С. 27–30.
7. Hooper D. C. Mechanism of quinolone action and bacterial killing / D.C. Hooper, J.S. Wolfson // in “Quinolone Antimicrobial Agents”, 2nd ed., Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S., Amer. Soc. For Microbiol., Washington, 1993. — P. 482–512.
8. Smith L. T. Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterials / L.T. Smith, C.S. Lewin // in “Quinolones”, Ed. Andriole V., Acaem. Press, 1988. — P. 64–82.
9. Medders W. M., Wooley R.E., Gibbs P.S., Shotts E.B., Brown J. Mutation rate of avian intestinal coliform bacteria when pressured with fluoroquinolones // Avian Dis. — 1998. — Vol. 42, N 1. — P. 146–153.
10. Martinez-Martinez L. Quinolone resistance from a transferable plasmid / L. Martinez-Martinez, A. Pascual, G. A. Jacoby. // Lancet. — 1998. — 351. — P. 797.
11. Чоп'як В. В. Особливості застосування фторхінолонів у клінічній практиці / В. В. Чоп'як, Ю. В. Федоров // Клиническая антибиотикотерапия. — 2005. — № 2. — С. 31–33.
12. Pedersen K.; Hansen H. C.; Jorgensen J. C.; Borck B. Serovars of Salmonella isolated from Danish turkeys between 1995 and 2000 and their antimicrobial resistance // Veter.Rec. — 2002. — Vol. 150, N 15. — P. 471–474.

13. Методичні вказівки по визначенню чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів методом дифузії в агар за допомогою стандартних дисків з антибіотиками (затверджені науково-методичною радою ДКВМ України від 20.12.2007 р. — Львів, 2010. — 12 с.

14. 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, 2003. — 6 с.

Рецензент — Н. В. Шкодяк, к. вет. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.