



УДК:636.09:612.017:579:615.33

## АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПОЛЬОВИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ

**М. Д. КУЧЕРУК**, кандидат ветеринарних наук,  
**Д. А. ЗАСЕКІН**, доктор ветеринарних наук, професор  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
**Л. М. ВИГОВСЬКА**, кандидат ветеринарних наук,  
**В. О. УШКАЛОВ**, доктор ветеринарних наук, професор  
Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК  
E-mail: kucheruk\_md@nubip.edu.ua

<https://doi.org/10.31548/bio2018.05.026>

У статті акцентовано приділяється увага загрозі виникнення невиліковних або складно усуваних захворювань зі стійкими до антибіотиків збудниками внаслідок неправильного нераціонального та недоцільного застосування антибіотиків. Це проблема глобального масштабу й має регулюватися як на рівні державного курсу, так і за особистого усвідомлення цієї небезпеки кожною людиною. У зв'язку з нагальною проблемою появи стійких мікроорганізмів, наведені результати визначення чутливості патогенних мікроорганізмів до переліку антимікробних препаратів. У дослідному господарстві, з патологічного матеріалу курчат-бройлерів була виділена *Salmonella* групи D. У ході дослідження було виведено антибіотикограму патогенного штаму мікроорганізмів. Встановлено його значну стійкість відношенню ряду традиційних антимікробних препаратів, що використовуються і в гуманній медицині.

Питання збільшення кількості та розповсюдження антибіотикорезистентних мікроорганізмів частково вирішується розвитком органічного виробництва, за якого заборонено використовувати антибіотики з профілактичною метою, що є першим кроком в боротьбі із стійкими мікроорганізмами. Завдяки пошуку та впровадженню дієвих альтернатив антибіотикам реалізується також завдання по зменшенню випадків виявлення й перевищення залишкових кількостей антибіотиків у продукції птахівництва.

*Ключові слова:* антибіотик, антибіотикорезистентність, *in vitro*, антибіотикограма

**Актуальність.** Антибіотики, що ще донедавна вважались панацеєю від усіх хвороб, досить стрімко втрачають свою ефективність.

Звичайно, в медицині для боротьби з багатьма інфекційними захворюваннями, що супроводжуються високою летальністю, вони й досі є єдиною надією. Однак, від стійких штамів щорічно помирають десятки тисяч людей. Разом із тим, вже

понад 25 років немає жодного нового класу антибіотиків.

У сільськогосподарському виробництві (тваринництві, птахівництві, бджільництві) антибіотики, які застосовуються в практиці гуманної медицини, часто використовують для лікування й профілактики інфекційних захворювань, а разом і як стимулятори росту, для підвищення продуктивності й активізації захисних реакцій.



У харчовій промисловості антибіотики застосовуються при консервуванні харчових продуктів, обробці тари, для подовження терміну зберігання тощо.

Щороку у світі використовують більше 300 тис т антибіотиків, і в більшості випадків без них цілком можна було б обійтися [1].

Разом із відкриттям антибіотиків життя на планеті змінилося, був знайдений дієвий порятунок людства. Однак внаслідок неконтрольованого, неправильного, нераціонального та безсистемного застосування могутньої антибактеріальної зброї, з'явилася нова проблема – «антибіотикорезистентність» [2].

Стійкість патогенних бактерій до противірусних засобів відзначається в усьому світі. Проблема втрати антибіотиками ефективності стосується буквально кожного жителя планети, тому вирішувати її потрібно спільно. Навіть один єдиний курс антибіотиків – це велике випробування для організму людини. Антибактеріальні препарати порушують баланс мікрофлори кишечника, можуть зумовити розвиток алергічних реакцій, негативно впливати на функції печінки та нирок тощо. Однак навіть не вживаючи лікувальні антибіотики можна набути резистентних мікроорганізмів. Перший шлях – через продукцію тваринництва, що не пройшла належну термічну обробку можна заразитися стійкими штамми мікроорганізмів, оскільки більшості тварин на фермах попереджують захворювання антибіотиками, задаючи їх із кормом чи водою. Наприклад, оскільки птиця часто є носієм сальмонельозу та кампілобактеріозу, британські вчені не рекомендують мити курятину під струменем води з під крану, через те, що із бризками води мікроорганізми розповсюджуються в повітря та на оточуючі предмети, створюючи небезпеку зараження людини [2].

М'ясо птиці також може містити залишкові кількості профілактичних антибіотиків, а у продукції від пролікованих тварин часто має місце значне перевищення ГДК

антибактеріальних речовин. Разом із тим, сульфаніламідні препарати та антибіотики мають властивість виділятися з послідом птиці в навколишнє середовище, створюючи умови для циркуляції цих антибіотиків у довкіллі та розвитку резистентності мікрофлори [1, 11].

У разі надходження з кормом антибіотики тільки частково метаболізуються в печінці (30-60 % від введеної дози), кумулюються в організмі тварин, виводяться з послідом до 20-50 % – в незмінному вигляді [3].

Відомо, що антибіотики, уже використані у тваринництві, харчовим ланцюгом потрапляють у рослини і, як наслідок, – в організм людини. Цим же шляхом можуть надходити і резистентні мікроорганізми [4], що унеможлиблюють лікування.

Разом зі стічними водами підприємств, чи за внесення забрудненого антибіотичними препаратами (АБП) посліду у якості органічного добрива у ґрунт і воду, розсіюються і переносяться водними потоками. Отже, поступово тотальне забруднення антибіотичними препаратами довкілля може призвести до того, що кожна людина та тварина отримуватиме свою постійну дозу антибіотика, не підозрюючи про це.

Термічна обробка практично не впливає на концентрацію бактерицидних речовин в їжі. А у ґрунті, воді та гною антибіотики зберігаються у незмінному стані понад рік [3].

Наразі в Україні законодавчо це не заборонено. І виробники курятини охоче цим користуються, оскільки крім попередження захворювань та втрат через загибель птиці, АБП є потужним стимулятором росту курчат. В Європі заборона на використання антибіотиків – стимуляторів росту у складі кормів діє ще з 2006 року. Хоча з'являються непоодинокі повідомлення про те, що і там виробники тваринної продукції намагаються обійти заборону, використовуючи бактерицидні препарати з водою чи, начебто, для лікування поголів'я [5].



За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я тільки за 2017 рік в світі через стійкість до антибіотиків померло майже 700 тис осіб. І це тільки офіційно зафіксовані випадки. І тільки з інфекційних захворювань. Фахівці Всесвітньої організації охорони здоров'я на Асамблеї ВООЗ ухвалили окрему резолюцію, присвячену цій проблемі [6]. Проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів визнана глобальною і в даний час однією з стратегічних задач у всьому світі є стримування розвитку і розповсюдження антибіотикостійких мікроорганізмів [7, 8, 9].

В Україні, з боку держави, на сьогодні недостатній контроль відпуску в аптеках та зоомагазинах антибіотиків, а агрохолдинги закупають їх тонами щомісячно. Самолікування та призначення лікарями антибіотиків відбувається навмання, без врахування чутливості мікроорганізмів (антибіотикограма), ускладнює проблему.

На сьогодні контроль державних органів в Україні за вмістом залишкових кількостей антибіотиків у сировині та продукції тваринництва здійснюється відповідно до «Обов'язкового мінімального переліку досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (Ф-2), затверджене наказом Державного департаменту ветеринарної медицини від 03.11.98 № 16 із змінами, внесені згідно з Наказами Державного департаменту ветеринарної медицини № 87 від 18.11.2003 та № 1249/9848 від 27.09.2004 року, що встановлюють допустимі рівні вмісту для таких груп показників безпеки як важкі метали, пестициди, мікотоксини, антибіотики і гормональні препарати, мікробіологічні критерії якості харчових продуктів [9].

В економічному плані ріст антибіотикорезистентності у бактерій призводить до суттєвого підвищення вартості терапії,

оскільки вона подовжує терміни лікування хворих, підвищує летальність і збільшує тривалість епідемії.

Отже, проблема забруднення довкілля й зокрема продукції тваринного походження антибіотиками, являється проблемою як національного, так і міжнародного масштабу і потребує нагального вирішення.

Достатньо простими та швидкими у застосуванні, відносно недорогими, високочутливими та доступними для державних лабораторій ветеринарної медицини є мікробіологічні методи визначення залишкових кількостей антибіотиків у сировині та продукції тваринництва, які дозволяють визначати мінімальні концентрації антибіотиків у дослідному зразку. Вони засновані на безпосередній біологічній дії антибіотиків на високочутливі штами мікроорганізмів, тому є найбільш специфічними і об'єктивними [3,12].

Реалізація державної концепції здорового харчування населення країни і вирішення цієї важливої народно-господарської задачі має реалізуватися в: 1) суворому контролі залишкових кількостей антибіотиків у сировині та продуктах харчування тваринного походження; 2) забороні використання антибіотиків стимуляторів росту та використання лікувальних антибіотичних речовин з профілактичною метою у тваринництві; 3) підтримки і розвитку в Україні органічного сільського господарства.

Однією з першочергових завдань галузі органічного господарювання і є уникнення потраплянь антибіотиків та стійких штамів мікроорганізмів до продуктів харчування як рослинного, так і тваринного походження, для забезпечення населення якісною і безпечною продукцією.

Результатом неконтрольованого та масового застосування антибіотичних речовин при вирощуванні курчат-бройлерів у промисловому виробництві й підсобному господарюванні стало виникнення захворювання курчат придбаних для організації органічного виробництва на одному з господарчих ринків



столиці. Оскільки при веденні органічного виробництва використання антибіотиків з профілактичною метою вже заборонене.

**Мета дослідження** – визначити причину загибелі та ідентифікувати збудник захворювання курчат-бройлерів встановити чутливість до антибіотиків польового штаму мікроорганізмів, виділених з патологічного матеріалу курчат.

**Матеріали і методи дослідження.** Курчата-бройлери кросу Cobb-500 (Cobb-500) вирощувались на експериментальному майданчику в умовах сертифікованого органічного виробництва ФГ «Дача» с. Єлизаветівка, Коростишівського району, Житомирської області. Утримання курчат було вільно-вигульним (до 1-місячного віку – підлоговим), доступ до кормів і води – вільним. Тваринам згодовували комбікорм власного приготування з органічних складників. Температурний і світловий режими в перший місяць утримання птиці відповідали рекомендованим нормам. Після переведення курчат на пасовище показники мікроклімату приміщень не нормували. Окрім системи вентиляції та щотижневої заміни підстилки). Дослідження проводили в Українській лабораторії якості і безпеки продукції АПК НУБіП України, яка акредитована згідно стандарту ДСТУ ISO/IEC 17025:2006.

Виготовлення та контролювання живих середовищ проводили відповідно до ДСТУ EN ISO 11133:2014 [12]. Ізоляцію та ідентифікацію *Salmonella* spp. проводили відповідно до ДСТУ 4769:2007 «Бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу від тварин. Методи виявлення сальмонел» [4, 12, 13, 14]. Проби для досліджень відбирали із серця, печінки та м'язового шлунку загиблих курчат. Чутливість до антибіотиків ізолятів, виділених від загиблих курчат-бройлерів, визначали диско-дифузійним методом, використовували комерційні диски з мінімальними інгібуючими дозами препаратів виробництва компанії HiMedia. Дослідження і інтерпретацію результатів проводили відповідно

до рекомендацій Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST, версія 8.0) та Методичних вказівок (МВ) «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» Міністерства охорони здоров'я України (МОЗ), Наказ № 167 від 05.04.2007 року [10].

**Результати досліджень.** Під час підготовки до проведення досліджень на курчатах-бройлерах в умовах органічного господарства було зафіксовано масовий падіж курчат на двадцяті добу життя. Трупи курчат були направлені до лабораторії.

З патматеріалу виділено *Salmonella* *grynu D (gallinarum, pulorum)*. За клінічними та патологоанатомічними ознаками діагностували сальмонельоз птиці.

З лікувальною метою застосування антибіотиків курчатам було проведено визначення чутливості виділених від загиблих курчат ентеробактерій до антибіотиків із групи пеніцилінів, цефалоспоринів, карбопенемів, хінолонів, макролідів, аміноглікозидів, тетрациклінів, лінкозамідів, нітрофуранів, хлорамфеніколу та деяких інших.

**Пеніциліни** – антимікробні препарати, що належать до класу  $\beta$ -лактамних антибіотиків.

Пеніциліни мають переважно бактерицидний ефект. Вони перешкоджають синтезу пептидоглікану, що є основним компонентом клітинної стінки бактерій, а саме пригнічують транспептидазну реакцію синтезу компонентів клітинної стінки (наприклад D-аланіну). Блокування синтезу пептидоглікану призводить до загибелі бактерії.

Для подолання широко поширеної серед мікроорганізмів набутої стійкості, пов'язаної із продукуванням особливих ферментів –  $\beta$ -лактамаз, що руйнують  $\beta$ -лактами, – були розроблені так звані захищені пеніциліни, що включають сполуки, здатні необоротно пригнічувати активність  $\beta$ -лактамаз (інгібітори  $\beta$ -лактамаз) – клавуланову кислоту, сульбактам та тазобактам.

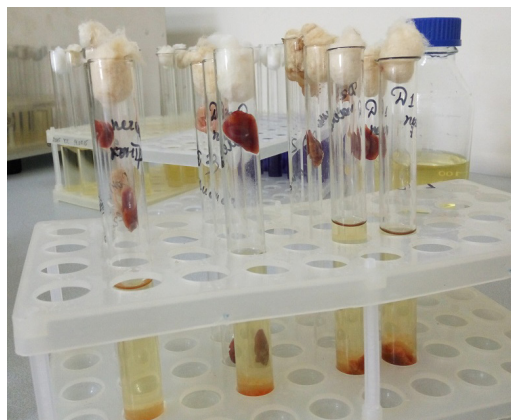


Рис. 1. Відбір проб із серця та печінки для діагностики на поживних середовищах.

До метициліну та оксациліну культури, виділені з патологічного матеріалу всіх курчат виявились нечутливими зовсім.

Найкраще проявив свою дію бензилпеніцилін, хоча зона затримки росту була й мінімальною. Інші препарати, при наявності дещо більшої зони затримки росту, допускали поодинокі резистентні колонії, що свідчить про дисоціацію мікроорганізмів. Природні інгібітори пригнічували ріст культур на початковому етапі культивування, проте через 7-8 годин культивування, в первинних зонах інгібіції росту культур виявляли ознаки росту резистентних колоній, а через 24 години культивування – суцільний ріст резистентних колоній.

До дії піперациліну виявлялись резистентними колонії в двох випадках (D3 та D4) за значних зон затримки росту 20 та 25 мм відповідно.

Випробовувані карбеніцилін та амоксицилін мали також по два випадки проростання резистентних колоній, хоча зони затримки росту були досить значними 22-25 мм. До ампіциліну резистентними виявились колонії в трьох пробах. Хоча зони затримки росту тут були найбільшого діаметру (28-30мм).

За дії тикарциліну та тикарцилін/клавуланової кислоти спостерігали суціль-

ний ріст резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібування від 28 мм до 10 мм, та від 27 мм до 12 мм відповідно. Також було відмічено стимуляцію росту культури навколо зони інгібіції.

Цефалоспорини – це клас  $\beta$ -лактамних антибіотиків, в основі хімічної структури яких лежить 7-аміноцефалоспоронова кислота (7-АЦК). Основними особливостями цефалоспоринів у порівнянні з пеніцилінами є їх велика резистентність по відношенню до  $\beta$ -лактамаз – ферментів, що виробляються мікроорганізмами. Однак, повної стійкості до  $\beta$ -лактамаз не мають. Будучи резистентними щодо плазмідних лактамаз, вони руйнуються хромосомними лактамазами, які виробляються грамнегативними бактеріями. Для підвищення стійкості цефалоспоринів, розширення спектра антимікробної дії, поліпшення фармакокінетичних параметрів були синтезовані їх численні напівсинтетичні похідні. Створено також комбіновані препарати, що містять цефалоспорини в поєднанні з інгібіторами, що руйнують їхні ферменти.

Цефазолін проявив найкраще свою дію (зона інгібування 15-24 мм), однак, антибіотики цефалоспоринового ряду переважно використовуються в гуманній медицині введенням підшкірно, внутрішньовенно чи внутрішньом'язово. Тому для лікування спа-





## 1. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами пеніцилового ряду, мм

№	Найменування	Позначення культури, виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Бензилпеніцилін	18/0	12/0	15/0	16/0
2	Піперацилін	16/0	20	22-0*	25*
3	Метицилін	0	0	0	-
4	Карбеніцилін	14/0	22*	20/0	24*
5	Амоксицилін	20*	20	18	20*
6	Ампіцилін	30/0	22*	28*	25-0*
7	Ампіцилін/сульбактам	22*	20/0	20/0	0
8	Тикарцилін	20*	28/10/0+	26/12/0 +	25/0
9	Тикарцилін/клавуланова кислота	11+	22*	24/10/0 +	24*
10	Оксацилін	0	0	0	0

Примітки: + – стимуляція росту культури навколо зони інгібіції; \* – ріст резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури; 20/12 – суцільний ріст резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібіції від 20 мм до 12 мм

лаху захворювання у птахогосподарстві було підбрано інший антибактеріальний препарат. Щодо інших антибіотиків цефалоспоринового ряду, то у кожному випробуванні з чотирьох проб виявлялись 1-3 проби з резистентними до препаратів бактеріями.

До цефалотіну бактерії виявились нечутливими. Цефаклор, цефотаксім, та цефтріаксон проявляли стимуляцію росту культури навколо зони інгібіції. Результатом дії цефтріаксону та цефоперазону стали зони затримки росту 22-30 мм та 16-30 мм. Однак цефоперазон, цефаклор, цефамандол та цефтріаксон одноразово в різних пробах проявили суцільний ріст резистентних колоній у проміжку діаметрів зони інгібіції в різній мірі.

Карбапенеми являють собою клас  $\beta$ -лактамних антибіотиків із широким спектром антибактеріальної активності. Вони мають структуру, яка робить їх дуже стійкими до більшості  $\beta$ -лактамаз. Карбапенеми були спочатку розроблені з тіенаміцину, природньо отриманого продукту з *Streptomyces cattleya*.

Карбапенеми є одними з антибіотиків останньої інстанції для багатьох бактеріальних інфекцій, таких як кишкова паличка (*E. coli*) і *Klebsiella pneumoniae*. Ці препарати мають широкий спектр антибактеріальної дії у порівнянні з іншими  $\beta$ -лактамними антибіотиками, такими як пеніциліни і цефалоспоринони. Не стійкі до нового виду  $\beta$ -лактамаз, NDM-1. Карбапенеми активні щодо як грампозитивних і грамнегативних бактерій, і анаеробів, за винятком внутрішньоклітинних бактерій (атипові), такі як хламідії.

Налідиксова кислота та нітроксолін взагалі не виявили антибактеріальної активності відносно польового штаму *Salmonella*. Норфлораксацин, виявили свою дію лише частково, у двох випадках зони затримки росту були відсутніми, а в інших двох випадках – недостатніми (13,14 мм). Іміпенем, меропенем, ципрофлоксацин та офлоксацин виявили свою дію лише у трьох випадках із чотирьох і дали інгібування відповідно – 10,11,12 мм; 10,22,19 мм; 17,22,15 мм; 12,18,15 мм. Дія інших антибіотичних препаратів (пєфлораксацин, левофлораксацин,



## 2. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами цефалоспоринового ряду, мм

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Цефазолін	15/0	21	20	24
2	Цефаклор	14*	16	23/14/0 +	23*
3	Цефалексін	14*	12/0	20/0*	22*
4	Цефалотін	0	0	0	0
5	Цефамандол	19*	20*	26/18*	0
6	Цефепім	24/0	26*	24/0*	25/0
7	Цефіксим	12	22*	20*	27*
8	Цефоперазон	16/0	30/20	23/0*	0
9	Цефотаксिम	25/12/0+	24*	20/0	0
10	Цефтазідім	0	14	24/0*	21*
11	Цефтріаксон	28/11/0+	22	26	30
12	Цефуроксिम	20/0	13*	20/0	0

ломефлосацин, гатіфлосацин, спарфлосацин) проявлялась у помірному інгібуванні росту культури виділеної з патматеріалу різних курчат, діаметр зони інгібування варіювався від 12 до 19 мм.

Аміноглікозиди – група природних та напівсинтетичних антибіотиків, до складу молекули яких входять аміносахариди. Основне клінічне значення аміноглікозидів полягає в їх активності щодо аеробних грамнегативних бактерій.

Аміноглікозиди є бактерицидними антибіотиками, тобто безпосередньо впливають на чутливі до них мікроорганізми (на відміну від бактериостатичних антибіотиків, які лише гальмують розмноження мікроорганізмів, а впоратися з їх знищенням повинен імунітет організму хазяїна). Тому аміноглікозиди виявляють швидкий ефект за більшості важких інфекцій, викликаних чутливими до них мікроорганізмами.

Аміноглікозиди мають бактерицидну дію незалежно від фази розмноження мікроорганізмів, у тому числі і на мікроорганізми, що знаходяться у фазі спокою, на відміну від бета-лактамічних антибіотиків,

що діють бактерицидно насамперед на мікроорганізми, що розмножуються. Тому терапевтична ефективність аміноглікозидів, на відміну від бета-лактамів, не знижується у разі одночасного призначення бактериостатично діючих антибіотиків.

Для дії аміноглікозидів необхідні аеробні умови (наявність кисню). Тому аміноглікозиди не діють на анаеробні мікроорганізми, а також недостатньо ефективні у тканинах, що погано забезпечуються кров'ю, гіпоксемічних або некротизованих (відмерлих) тканинах, у порожнинах абсцесів і кавернах.

Бактерицидна активність аміноглікозидів також сильно залежить від рН середовища: вони значно менш ефективні в кислому або нейтральному середовищі, ніж в слабколужному. Аміноглікозиди не проникають всередину клітин тканин організмів, тому не діють на збудників, що знаходяться внутрішньоклітинно, навіть у тих випадках, коли в культурі, *in vitro*, збудник інфекції чутливий до аміноглікозидів. Зокрема, аміноглікозиди неефективні проти шигел, сальмонел.



#### 4. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами аміноглікозидового ряду, мм

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Стрептоміцин	14	14	14*	12*
2	Гентаміцин	12	15*	16*	20
3	Канаміцин	0	20*	-	18*
4	Неоміцин	0	0	0	0
5	Тобраміцин	13	14*	15	20*
6	Сизоміцин	9	18	18*	-
7	Амікацин	15/0	18*	16/0	20*
8	Нетілін	18	14/0	17	17

Виділена з патматеріалу курчат культура мікроорганізмів виявилась нечутливою до неоміцину, слабкочутливою до канаміцину, недостатній діаметр зони затримки росту констатували за дії стрептоміцину і тобраміцину.

Нетілін виявив свою дію найкраще. За достатніх розмірів зон інгібування росту не виявлено жодної резистентної колонії мікроорганізмів. До інших представників антибіотичних препаратів аміноглікозидового ряду польовий штамп патогенних мікроорганізмів зміг набути резистентність (переважно по два випадки із чотирьох досліджуваних).

Макроліди – група лікарських засобів, здебільшого антибіотиків, основою хімічної структури яких є макроциклічне 14- або 16-членне лактонне кільце, до якого приєднані один або кілька вуглеводних

залишків. Переважно проявляють бактеріостатичну дію; активність проти грам-позитивних коків (стрептококи, стафілококи) та внутрішньоклітинних і мембранних паразитів (мікоплазми, хламідії, кампілобактерії і легіонелли); високі концентрації у тканинах; відсутність перехресної алергії з  $\beta$ -лактамами; низька токсичність.

Даний вид польового штаму *Salmonella*, виділений із патматеріалу курчат до антибіотичних препаратів макролідного ряду не чутливий взагалі.

**Тетрацикліни** – група антибіотиків, що відноситься до класу полікетидів, близьких за хімічною будовою і біологічними властивостями. Представники даного сімейства характеризуються загальним спектром і механізмом антимікробної дії. Відмінності стосуються деяких фізико-хімічних властивостей, ступеня антибактеріального ефек-

#### 5. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами макролідного ряду, мм

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Еритроміцин	0	0	0	0
2	Кларитроміцин	0	9*		0
3	Азитроміцин	0	0	0	7
4	Олеандоміцин	0	0	0	-





**6. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами тетрациклінового ряду, мм**

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Доксицилін	16/0	14*	16*	15
2	Тетрациклін	0	20*	18*	20

ту, особливостей всмоктування, розподілу, метаболізму в макроорганізмі й переносимості. Тетрацикліни є антибіотиками широкого спектру дії. Високоактивні *in vitro* відносно великого числа грампозитивних і грамнегативних бактерій. У високих концентраціях діють на деяких найпростіших. Мало або зовсім неактивні щодо цвілевих грибів. Недостатньо активні щодо кислотостійких бактерій. За активністю щодо грампозитивних бактерій поступаються пеніциліну і приблизно рівні левоміцетину.

Активність їх відносно грампозитивних бактерій у більшості випадків зменшується в ряду хлортетрациклін-тетрациклін-окситетрациклін.

Випробовували активність двох представників тетрациклінового ряду: доксицилін і тетрациклін. Тетрациклін в одному випадку виявився неактивним зовсім, у двох – були виявлені резистентні колонії мікроорганізмів. Доксицилін був активним на гранично малих значеннях зони інгібування росту виділеної культури, крім того, в двох випадках були зафіксовані резистентні колонії мікроорганізмів.

Лінкозаміди – група антибіотиків, в яку входять природний антибіотик лінкоміцин і його напівсинтетичний аналог кліндаміцин. Мають бактериостатичні

або бактерицидні властивості в залежності від концентрації в організмі і чутливості мікроорганізмів.

Дія обумовлена пригніченням у бактеріальних клітинах синтезу білка. Використовується у разі інфекцій, викликаних грампозитивними коками (переважно в якості препаратів другого ряду) і неспороутворюючою анаеробною флорою. Їх зазвичай поєднують з антибіотиками, що впливають на грамнегативну флору (наприклад, аміноглікозидами).

Лінкозаміди стійкі до дії соляної кислоти шлункового соку. Лінкоміцин погано всмоктується із шлунково-кишкового тракту, біодоступність невисока 5-30 %. Біодоступність кліндаміцину значно вище (90 %). Високі концентрації лінкозамідів відзначають у мокроті, жовчі, плевральній рідині, кістках і суглобах. Препарати погано проникають через гематоенцефалічний бар'єр, метаболізуються в печінці, виводяться переважно через шлунково-кишковий тракт. Період напіввиведення лінкоміцину дорівнює 4-6 год, кліндаміцину 2,5-3 год, може збільшуватись у разі тяжких порушень функції печінки.

Як видно з таблиці 7, зон інгібування росту за дії препаратів лінкозамідового ряду не встановлено.

**7. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами лінкозамідового ряду, мм**

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
49	Лінкоміцин	0	0	0	0
50	Кліндаміцин	0	0	0	0



### 8. Діаметри інгібування росту виділеної культури антибіотичними препаратами нітрофуранового ряду, мм

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Фуразолідон	15*	14/0	15/0*	0

Нітрофурани – група антибактеріальних засобів. Вони складають другий після сульфамідів клас синтетичних антибактеріальних препаратів. До нітрофуранів рідко розвивається лікарська резистентність мікроорганізмів. Основною проблемою у разі застосування нітрофуранів є висока частота небажаних побічних реакцій, а також відсутність парентеральних лікарських форм. До нітрофуранів чутливі грамположитивні і грамнегативні бактерії, а також хламідії і деякі найпростіші (трихомонади, лямблії). Зазвичай нітрофурани діють на мікроорганізми бактериостатично, проте в високих дозах вони можуть надавати бактерицидну дію. Мають значний спектр побічної негативної дії.

Фуразолідон проявив свою активність у недостатній мірі, виявлено випадки проростання в зоні дії препарату стійких до нього колоній мікроорганізмів, також зафіксовано випадок відсутності бактерицидного впливу на польовий штаб мікроорганізмів.

**Хлорамфенікол** – антибактеріальний засіб широкого спектра дії. Володіє високою активністю. Активний проти бага-

тьох грамположитивних і грамнегативних мікробів, рикетсій, спірохет, хламідій.

Механізм антимікробної дії пов'язаний із порушенням синтезу білків мікроорганізмів за рахунок блокування пептидилтрансферазної активності.

Виявляє бактериостатичну дію. Активний відносно грамположитивних бактерій: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.; грамнегативних бактерій: *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Yersinia* spp., *Proteus* spp., *Rickettsia* spp.; активний також відносно *Spirochaetaceae*, деяких великих вірусів.

Вкрай токсичний і часто залишає важкі побічні ефекти за застосування перорально [...]. У зв'язку з цим практично не застосовується і рекомендується тільки у разі відсутності альтернатив для лікування серйозних інфекцій [...]. Найбільш небезпечно (практично летальне) ускладнення застосування хлорамфеніколу – необоротна апластична анемія.

### 9. Діаметри інгібування росту виділеної культури іншими антибіотичними препаратами, мм

№	Найменування	Позначення культури виділеної з патматеріалу різних курчат			
		D1	D2	D3	D4
1	Поліміксін В	12	12	14*	16
2	Хлорамфенікол	26/1	24	25	22
3	Ванкоміцин	0	0	0	0
4	Ріфампіцин	8*	11*	10-0*	0

*Примітки:* – стимуляція росту культури навколо зони інгібіції; \* – ріст резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури; 20/12 – суцільний ріст резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібіції від 20 мм до 12 мм



Хлорамфенікол підтвердив свою активність по відношенню до *Salmonella* spp. Як відомо, хлорамфенікол активний відносно штамів, стійких до пеніциліну, стрептоміцину, сульфаніламідів. Стійкість мікроорганізмів до хлорамфеніколу розвивається відносно повільно.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Ентеробактерії природно чутливі до  $\beta$ -лактамів (пеніциліни, цефалоспори́ни, карбопенеми), фторованих хінолінів та хлорамфеніколу. Виділені нами культури проявляли ознаки дисоціації популяції: природні інгібітори пригнічували ріст культур на початковому етапі культивування, проте через 7-8 год культивування, в первинних зонах інгібіції росту культур виявляли ознаки росту резистентних колоній, а через 24 год культивування – суцільний ріст резистентних колоній.

Найбільш оптимальним препаратом у нашому випадку виявився хлорамфенікол: одна з колоній виявилася резистентною до нього, інші культури проявляли помірну стійкість. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) антибактеріальних препаратів (АБП) для штамів цієї категорії вища, ніж для чутливих, але знаходиться в межах, досяжних при рекомендованих режимах дозування.

Лікування інфекції, викликаной мікроорганізмом, що належить до цієї категорії, може бути ефективним у разі застосування антибактеріальних препаратів у підвищених дозах, або за локалізації осередку інфекції в тих органах або тканинах, де через фізіологічні особливості створюються підвищені концентрації препарату.

У період найінтенсивнішої загибелі курчат контрольної групи хлорамфенікол було застосовано з питною водою з розрахунку 0,5 г/л води упродовж 7 діб.

Результати проведених досліджень показали, що виділений нами польовий штам *Salmonella gypnu D* проявляв ознаки полірезистентності, й до жодного із препаратів у мінімальних інгібуючих дозах культури чутливо-

сті не проявляли. До ряду антибіотичних речовин виділені штами виявилися абсолютно резистентними, це препарати групи макролідів, лінкозамідів, метицилін та оксацилін із групи пеніцилінів, цефалотін із групи цефалоспоринів, налідіксова кислота та нітроксолін із групи хінолінів, неоміцин із групи аміноглікозидів та ванкомицин.

Як показано в антибіотикограмі, у мікроорганізмів виробляється стійкість, що є дуже небезпечним явищем, оскільки резистентні штами можуть розповсюджуватись і потрапляти до людського організму, також є повідомлення про передачу генів резистентності із плазмідами від одного виду мікроорганізмів до іншого. Тому пошук та випробування нових природних та дієвих препаратів, як для тваринництва, так і для гуманної медицини є актуальним напрямом досліджень. Особливо важливими результатами проведених досліджень є для органічного тваринництва, зокрема птахівництва, де використання антибіотиків із профілактичною метою вже заборонене.

Отже, для попередження виникнення і розповсюдження такої глобальної небезпеки, як стійкість патогенних мікроорганізмів до антибіотиків, перш за все слід розробити державну концепцію забезпечення здоров'я населення, яка полягатиме в:

- забезпеченні прийняття дієвого національного плану дій проти стійкості до антибіотиків;
- поліпшенні епідеміологічного нагляду за стійкими до антибіотиків інфекціями;
- розробки програми та здійснення заходів профілактики інфекцій та боротьби з ними;
- регулюванні та сприянні належному використанню якісних препаратів;
- інформуванні населення про наслідки стійкості до антибіотиків;
- суворому контролі залишкових кількостей антибіотиків у сировині;
- та продуктах харчування тваринного походження;



- заборони використання антибіотиків стимуляторів росту та використання лікувальних антибіотичних речовин із профілактичною метою у тваринництві;
- сприянні розвитку органічного виробництва й доступності органічних продуктів харчування широкому загалу, зокрема для дитячого харчування.

За дотримання цієї концепції, а також розвитку сектору органічного виробництва, можливо досягти покращення стану здоров'я населення й демографічної ситуації в Україні.

### Висновки

1. Встановлено, що виділені від клінічно хворих та загиблих курчат культури

*Salmonella* групи D виявилися резистентними до: макролідів; лінкозамідів; метициліну, оксациліну (пеніциліни); цефалотину (цефалоспоріни); налідіксової кислоти, нітроксоліну (хіноліни), неоміцину (аміноглікозиди), ванкоміцину.

2. До  $\beta$ -лактамів, фторованих хінолінів та хлорамфеніколу культури виявилися малочутливими та активно дисоціювали в присутності МК АПБ у середовищі.

3. Оптимальним для антимікробної терапії препаратом виявився хлорамфенікол у підвищених дозах, по відношенню до якого в більшості випадків культури проявляли помірну стійкість.

### Література

1. Sorg RA, Lin L, van Doorn GS, et al. Collective Resistance in Microbial Communities by Intracellular Antibiotic Deactivation. PLoS Biol. 2016; 14(12):e2000631. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000631> PMID:28027306
2. Food standards agency <https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/campylobacter>
3. Doborzhan Yu.V., Metelia R.V., Shevchenko L.V. [Residual antibiotic content in the chickens of the industrial herd] In: Proceedings of the International scientific and practical conference «Food Safety Control. Ukraine-EU: Unsolved Questions»; 2018 April 19–20; Kyiv, Ukraine, 2018:114-116. Ukrainian.
4. Kalnitskaya, O.I. [Effect of residual amounts of antibiotics on the results of the veterinary examination of animal products] In: Proceedings of the 8th All-Russian Congress Optimal Nutrition Health Nation. 2005; Moscow, Russia, 2005:110. Russian.
5. Bassetti M, Poulakou G, Ruppe E, Bouza E, Antimicrobial resistance in the next 30 years, human-kind, bugs and drugs: a visionary approach. Intensive Care Med. 2017 Oct;43(10):1464-1475. doi: 10.1007/s00134-017-4878-x.
6. J. M. Blair et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance [Electronic resource] Nature Reviews Microbiology. 2015; 13(1):42-51. – Mode of access: <https://www.ars.usda.gov/alternativestoantibiotics/PDF/publications/MolMechAntibiotResistNRM2014.pdf>
7. Moura de Sousa J, Balbontin R, Durão P, Gordo I. Multidrug-resistant bacteria compensate for the epistasis between resistances. PLoS Biol. 2017;15(4): e2001741. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001741> PMID:28419091
8. National Antimicrobial Resistance Surveillance Thailand (NARST). Antimicrobial Resistance 2000-2016 [Electronic resource] : <http://narst.dmsc.moph.go.th/data/AMR%202000-2016.pdf>
9. Golovko AM, Ushkalov VA, Pinchuk N.G., Kiselev T.F., Dmitrieva G.V., [Methodical recommendations "Rules of work with reference test-strains of microorganisms intended for determination of activity and residual the number of antimicrobial drugs in raw materials and products of animal origin "]. 2012; Kiev, Ukraine: 30p.
10. Gufry D. [The use of antibiotics in livestock - rescue or the emergence of a new problem with the progressive increase in the resistance of microorganisms against them] Veterinary Medicine. 2000; 8: 20-22. Ukrainian.
11. Kucheruk M.D. Zasiėkin D.A., Dymko R.O. Microbiological and sanitary-hygienic significance of intestinal eubiozus the agricultural animals. Ukrainian Journal of Ecology, 2018, 8(2), 287-293 doi:10.15421/2018\_340
12. DSTU EN ISO 11133: 2014 [Microbiology of food and animal feed. Cooking, producing, storing, testing of culture media]. Ukrainian.



13. DSTU 4769: 2007 [Bacteriological study of pathological material from animals. Methods of detecting salmonella]. Ukrainian.
14. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: [guidance] Order of the Ministry of Health of Ukraine: 05.04.2007.: 167. <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=6958>. Ukrainian.

## SUMMARY

*M. D. Kucheruk, D. A. Zasekin, L. N. Vygovskaya, V. A. Ushkalov. Antibiotic resistance of new strains microorganisms. Biological Resources and Nature Managment. 2018. 10, № 5–6. P. 205–217. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.026>*

The article focuses attention on the threat of incurable, difficult to eliminate diseases with pathogens resistant to antibiotics, due to improper, irrational and inappropriate use of antibiotics. This is a global problem and it should be regulated both at the level of the state course of development and at the level of personal awareness of this danger by each person. In connection with the urgent problem of the emergence of resistant microorganisms, the results of determining the sensitivity of pathogenic microorganisms to the list of antimicrobial drugs are given. In the experimental farm, Salmonella Group D was isolated from the pathological material of broiler chickens. An antibiogram of the pathogenic field strain of microorganisms was derived during the study. Its significant resis-

tance to a number of traditional antimicrobial drugs used in humane medicine has been established.

The issue of spreading and increasing the number of antibiotic-resistant microorganisms is partially solved by the development of organic production, which prohibits the use of antibiotics for preventive purposes, and this is the first step in the fight against resistant microorganisms. Through the search for and implementation of effective alternatives to antibiotics, the task is also being implemented to reduce the incidence of detection and excess of residual amounts of antibiotics in poultry products.

**Keywords:** antibiotic, antibiotic resistance, postbiotic, test cultures of microorganisms, *in vitro*, antibiogram

## АННОТАЦІЯ

*М. Д. Кучерук, Д. А. Засєкін, Л. Н. Виговська, В. А. Ушкалов. Антибіотикорезистентність польових штампів мікроорганізмів. Біоресурси і природокористування. 2018. 10, № 5–6. С. 205–217. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.026>*

В статті акцентовано увагу на небезпеку виникнення невилічуваних важко лікуваних захворювань з стійкими до антибіотиків збудителями, внаслідок неправильного, нераціонального та нецільового застосування антибіотиків. Це проблема глобального масштабу і вона повинна регулюватися як на рівні державного курсу розвитку, так і на рівні особистого усвідомлення цієї небезпеки кожним человеком. В зв'язі з нагальною проблемою появи стійких мікроорганізмів, наведено результати визначення чутливості патогенних мікроорганізмів до переліку антибіотичних препаратів. В експериментальному господарстві з патологічного матеріалу цыплят-бройлерів була виділена Salmonella групи D. В ході дослідження було виведено антибіотикограму патогенного польового штаму мікроорганізмів.

Встановлено його значимі стійкість до ряду традиційних антимікробних препаратів, використовуваних в гуманній медицині.

Вопрос распространения и увеличения количества антибиотикорезистентных микроорганизмов частично решается развитием органического производства, при котором запрещено использовать антибиотики с профилактической целью, и это является первым шагом в борьбе с устойчивыми микроорганизмами. Благодаря поиску и внедрению действенных альтернатив антибиотикам реализуется также задача по уменьшению случаев выявления и превышения остаточных количеств антибиотиков в продукции птицеводства.

**Ключевые слова:** антибиотик, антибиотикорезистентность, *in vitro*, антибиотикограмма