

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ МЕТОДОМ ИНДИКАТОРНЫХ ДИСКОВ ИЗ СУБСТАНЦИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

Общепринятые методики определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам основаны на проведении испытаний методом дисков (он же — метод диффузии антибактериального вещества в агар, метод индикаторных дисков), наиболее удобным для применения на птицефабриках и в государственных ветеринарных лабораториях. Этот метод используется и у нас, и за рубежом на протяжении нескольких десятилетий согласно утвержденным международным стандартам. Основной производителем индикаторных дисков для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам в России — Научно-исследовательский центр фармакотерапии (НИЦФ, Институт антибиотиков) — выпускает в соответствии с ГОСТ и международным стандартом CLSI — Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals (Approved Standard, Third Edition, 2013) более 90 % отечественных индикаторных дисков.

С. В. Щепеткина,
кандидат ветеринарных наук,
член Союза ученых
Санкт-Петербурга,
National Mastitis Council,
Всемирной научной ассоциации
по птицеводству,
старший научный сотрудник,
ФГБНУ ВНИВИП,
Санкт-Петербург

Содержание действующего вещества в одном диске строго регламентировано и должно соответствовать нормативам, разработанным для каждой группы препаратов. Так, для пенициллина это 20 мкг в одном диске, для энрофлоксацина — 5 мкг, для доксициклина — 30 мкг, для колистина — 300 ЕД, для тилмикозина — 15 мкг.

Предпосылкой для наших исследований явилась низкая терапевтическая эффективность применяемых на птицефабриках препаратов и возникновение антибиотикорезистентности микроорганизмов в процессе одного цикла выращивания птицы, хотя при определении чувствительности микроорганизмов — возбудителей болезней птиц с помощью стандартных индикаторных дисков отмечали их высокую чувствительность. Установлено, что препараты с одинаковым содержанием действующего вещества (например, с 10 % раствором энрофлоксацина для перорального применения) действуют на микроорганизмы, выделяемые в птицеводческих хозяйствах, по-разному.

На птицефабриках это проявляется в повышении заболеваемости, росте падежа птицы, в отсутствии терапевтической эффективности от применения антибактериальных препаратов. Чувствительность

микроорганизмов к антибиотикам может изменяться на протяжении одного цикла выращивания птицы и зависит от многих факторов (микробного фона птичников и чувствительности микроорганизмов у цыплят при посадке, качества дезинфекции, заболеваемости в первые дни выращивания, количества курсов антибактериальных препаратов в технологическом цикле). Именно поэтому необходимо определять чувствительность микроорганизмов в критические точки выращивания.

Нами разработан способ определения чувствительности микроорганизмов с помощью индикаторных дисков из субстанций, предназначенных для выпуска готовых лекарственных форм антибактериальных препаратов. «Коммерческие» индикаторные диски изготавливаются из субстанций производителя, из этих субстанций получают готовые лекарственные формы антибактериальных препаратов. С целью дифференциации индикаторным диском присваивают коммерческие названия, соответствующие названиям препаратов, производимых компанией (рис. 1).

В таблице представлены данные исследований стандартных и «коммерческих» индикаторных дисков, произведенных в рамках научно-исследовательской



работы сотрудника НИЦФ Е. В. Белоусовой.

Результаты, полученные при определении чувствительности референс-штаммов микроорганизмов с помощью индикаторных дисков из субстанций, соответствуют международным стандартам и не имеют отклонений в качественных показателях зоны задержки роста. Вместе с тем для специалистов, определяющих чувствительность микробов и назначающих антибактериальный препарат, разница в 2–3 мм (допустимое отклонение по международным стандартам) имеет существенное значение и может являться основанием для выбора конкретного антибиотика.

Удобным является то, что специалист может определить чувствительность возбудителей именно к тем препаратам, которые он и планирует использовать (например, к фторхинолонам, как показано на рис. 2).

В ходе исследований, проведенных на птицефабриках, установлено, что индикаторные диски проявляют разные свойства



Рис. 1. Флаконы с индикаторными дисками, изготовленными из субстанций для производства готовых лекарственных форм антибактериальных препаратов

Зоны задержки роста референс-штаммов

№ п/п	Препарат	Код	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 чувств.						<i>E. coli</i> ATCC 25922 чувств.						<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 чувств.					
			26–37	38	40	40	39	39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	Бензилпенициллин	Пен	26–37	38	40	40	39	39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Тетрациклин	Тет	24–30	28	28	27	27	27	18–25	22	22	22	23	23	—	—	—	—	—	—
3	Левифлоксацин	Лфц	25–30	28	28	28	28	27	29–37	30	30	30	31	33	19–26	24	24	24	24	26
4	Азитронит	Арн	21–26	21	21	21	22	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Флорокс	Фл	22–29	22	22	22	22	23	22–28	25	25	25	27	27	—	—	—	—	—	—
6	Гентамицин	Ген	19–27	24	23	—	—	—	19–26	21	23	—	—	—	17–23	21	19	—	—	—
7	Ципрофлоксацин	Цип	22–30	24	24	24	24	23	30–40	30	30	31	31	31	25–33	33	33	33	33	30
8	Ципроген	Цип	—	22	24	24	24	25	—	31	31	31	31	33	—	30	32	32	32	33
9	Ципрон	Цип	—	24	24	24	24	25	—	30	30	30	31	31	—	32	32	32	32	33
10	Интекол	Пол	—	—	—	—	—	—	13–19	18	18	18	18	18	14–18	18	18	18	18	19
11	Колимиксин	Пол	—	—	—	—	—	—	—	17	17	17	17	18	—	18	18	18	18	19
12	Колимиксин	Пол	—	—	—	—	—	—	—	18	18	18	18	18	—	18	18	18	19	19
13	Каренкол	Пол	—	—	—	—	—	—	—	18	19	19	19	19	—	18	18	18	19	20
14	Энрофлоксацин	Энр	27–31	30	30	30	30	30	32–40	32	32	32	32	32	15–19	20	20	20	21	23
15	Энронит	Энр	—	29	30	30	30	30	—	32	32	32	32	33	—	21	21	21	21	23
16	Карифлокс	Энр	—	29	30	30	30	30	—	32	32	32	32	32	—	21	21	21	21	23
17	Доксициклин	Док	23–28	24	24	24	24	24	18–24	19	19	19	19	19	—	—	—	—	—	—
18	Доксилос	Док	—	23	23	23	23	23	—	19	20	20	20	20	—	—	—	—	—	—
19	Каридокс	Док	—	23	23	24	24	24	—	19	19	19	20	21	—	—	—	—	—	—
20	Макродокс	Док	—	24	24	24	24	25	—	19	19	19	21	21	—	—	—	—	—	—
21	Доксициклин	Док	—	19	19	19	19	20	—	25	25	25	25	25	—	—	—	—	—	—
22	Амоксициллин	Акц	—	32	32	32	32	33	—	22	23	23	23	23	—	—	—	—	—	—
23	Ампициллин	Амп	—	32	32	335	35	35	—	20	20	21	21	22	—	—	—	—	—	—



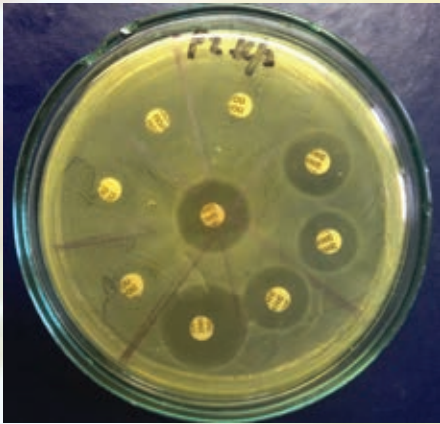


Рис. 2. Зона задержки роста микроорганизмов к препаратам группы фторхинолонов. В центре – стандартный индикаторный диск (ГОСТ), вокруг – индикаторные диски, изготовленные из субстанций для производства готовых лекарственных форм антибиотиков

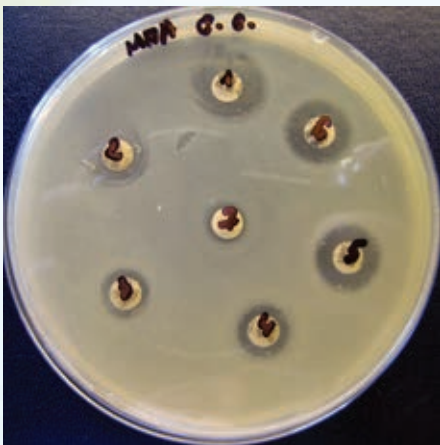


Рис. 3. Результаты определения методом индикаторных дисков чувствительности *Escherichia coli*

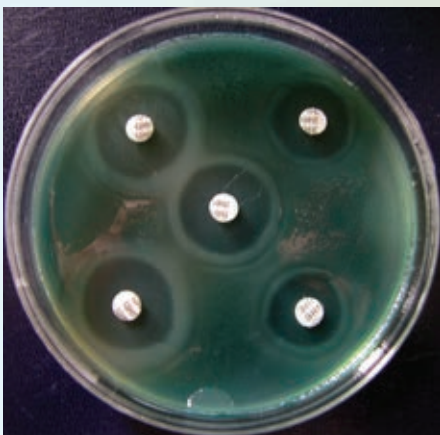


Рис. 4. Результаты определения методом индикаторных дисков чувствительности *Pseudomonas aeruginosa*

по отношению к выделяемым тест-культурам и микроорганизмам. Вместе с тем препараты с одним и тем же содержанием действующего вещества влияют на микроорганизмы, выделяемые в птицеводческих хозяйствах, по-разному (рис. 3–5).

Ветеринарным специалистам удобно использовать индикаторные диски с указанием коммерческих названий антибактериальных препаратов, так как результаты определения чувствительности позволяют применить именно те из них, к дискам которых была установлена высокая чувствительность микрофлоры, выделенной от конкретной птицы в конкретном птицеводческом хозяйстве. На основании диагностики врач-клиницист может выбрать из всего спектра антибактериальных препаратов одной группы самое эффективное лекарственное средство.

Важным достоинством применения индикаторных дисков из субстанций для производства готовых лекарственных форм антибиотиков является то, что специалисты лабораторий и НИИ могут изучать чувствительность микроорганизмов в динамике в рамках препаратов одной группы.

Регулярный мониторинг чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам на всех этапах производственного процесса позволяет предотвратить заболевание и падеж птицы, избежать дополнительных расходов на ее лечение и восстановление, а при исследовании в ветеринарной лаборатории – назначить именно тот антибактериальный препарат, чувствительность к которому наиболее высока.

По результатам исследований отдела микробиологии ВНИВИП, в 2013–2015 гг.

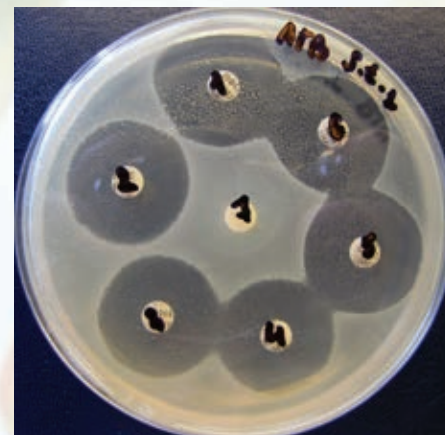


Рис. 5. Результаты определения методом индикаторных дисков чувствительности *Salmonella typhimurium*. В центре – картонный диск (ГОСТ 6722-75), пропитанный дистиллированной водой

отмечено значительное снижение чувствительности микроорганизмов – возбудителей болезней птицы бактериальной этиологии к противомикробным препаратам: в целом к группе фторхинолонов – на 27 %, к аминогликозидам – на 11,2–41,8 %, к тетрациклинам (основной представитель – доксициклин) – на 52,1–67,3 %.

При соблюдении принципов антибиотикотерапии восприимчивость микроорганизмов к этим средствам на протяжении всех туров выращивания птицы не теряется, снижается заболеваемость, повышается сохранность поголовья, масса тушек и категориальность мяса.

В чем же заключается грамотный подход к антибактериальной терапии на птицефабриках?

1. Необходимо на всех этапах производственного цикла проводить регулярный мониторинг чувствительности микроорганизмов, циркулирующих в хозяйстве, начиная с инкубационных шкафов.

2. Диагностический убой и отбор проб для бактериологического исследования и определения чувствительности выделенных микроорганизмов нужно производить:

а) за 3–5 дней до вывода из инкубационных шкафов. Это позволяет применить эффективный антибактериальный препарат при посадке птицы для предупреждения развития резистентности.

При отсутствии в хозяйстве инкубатория осуществляют диагностический мониторинг (выборочный убой, отбор проб, определение при посадке птицы восприимчивости выделенной микрофлоры);

б) в критические моменты цикла выращивания или содержания птицы (при смене рациона, технологическом стрессе, вакцинации);

в) при появлении субклинических признаков заболевания (снижение аппетита и др.), при обнаружении патологоанатомических симптомов бактериальной болезни (колибактериоза и др.).

Убой и отбор проб нельзя проводить во время курса применения антибиотиков и в течение семи дней после него.

3. Чувствительность циркулирующей в хозяйстве микрофлоры следует определять с помощью дисков, изготовленных из субстанций для выпуска готовых лекарственных форм (кроме количественного содержания антибиотика на каждом флаконе с индикаторными дисками указано коммерческое название препарата).



С целью контроля при проведении исследований обязательно нужно использовать стандартные индикаторные диски (организатор производства – ГК «ЗДОРОВЬЕ ЖИВОТНЫХ», производитель – Научно-исследовательский центр фармакотерапии, Санкт-Петербург) для мониторинга чувствительности микроорганизмов. Диаметры зоны задержки их роста заносят в таблицы (в миллиметрах) для систематизации и анализа эффективности диагностики и лечения. В случае массового заболевания или падежа птицы ветеринарный врач может применить препарат на основании результатов предыдущих исследований.

4. Использовать антибактериальные препараты нужно только в соответствии с выявленной чувствительностью к ним микроорганизмов. Если выделено несколько видов возбудителей бактериальной болезни, и они восприимчивы к препаратам разных групп, следует вводить комплексное средство того же производителя (субстанции одинаковы). При применении антибиотиков разных групп необходимо учитывать их сочетаемость (например, фторхинолоны можно комбинировать с аминогликозидами, пенициллинами, цефалоспоридами, но не с тетрациклинами и хлорамфениколом, иначе возникнет антагонистический эффект).

5. Производить ротацию препаратов можно только по результатам определения чувствительности к ним микроорганизмов, выделенных от птицы на конкретном этапе в конкретном птичнике.

6. Рекомендуется ежеквартально анализировать эффективность применения антибиотиков (например, по заболеваемости, сохранности поголовья, европейскому индексу продуктивности, расходам на обработки птицы) с учетом результатов исследования чувствительности микроорганизмов. Следует иметь на складе запас антибактериальных средств с ранее доказанной эффективностью.

7. Необходимо контролировать качество дезинфекции и определять чувствительность микрофлоры к дезинфектантам, применяемым на птицефабрике.

8. Если в хозяйстве выделены антибиотикорезистентные штаммы, не восприимчивые ни к одному препарату, подбирают альтернативные средства (пробиотики с антибактериальным действием и высокой антагонистической активностью в от-

ношении патогенных микроорганизмов, подкислители и др.).

Приведенные рекомендации легко выполнимы и дадут положительный эффект на фабриках и мясного, и яичного направления. Благодаря системному подходу к применению антибактериальных препаратов в хозяйствах улучшаются производственные показатели, повышаются качество, безопасность и увеличивается выход продукции.

Современные принципы антибиотикотерапии в птицеводстве изложены в труде, подготовленном сотрудниками ВНИВИП и НИИЭМ им. Пастера (Современные принципы антибиотикотерапии в птицеводстве. СПб., 2015. 160 с.). Презентация книги состоялась 30 октября 2015 г. в рамках Балтийского форума ветеринарной медицины на Международном форуме птицеводов «Лаборатория-2015» и вызвала неподдельный интерес. По сути, это практическое пособие для ветеринарных врачей птицефабрик и работников лабораторий, и оно уже показало свою востребованность на крупнейших предприятиях России. В приложении к книге представлены: таблицы с перечнем индикаторных дисков, широко используемых для определения чувствительности микроорганизмов – возбудителей бактериальных болезней птиц; перечень антибактериальных препаратов по группам; схемы их применения и другая не менее важная для специалистов информация.

Определение чувствительности микроорганизмов – возбудителей болезней птиц к индикаторным дискам из субстанций для производства готовых лекарственных форм антибактериальных препаратов помогает ветеринарному врачу не только выбрать эффективный антибактериальный препарат и решить проблему антибиотикорезистентности штаммов микроорганизмов, циркулирующих в птицеводствах, но и снизить стоимость и продолжительность лечения птиц благодаря рациональному подбору эффективного антибиотика. Метод определения чувствительности патогенной микрофлоры с помощью индикаторных дисков, изготовленных из субстанций для производства готовых лекарственных форм антибактериальных препаратов, используется на птицефабриках России с 2010 г. и дает высокий клинический и экономический эффект. ■