

Таким образом, поражение грибковой инфекцией икры при обработке ее монклавитом-1 в концентрации 100–150 мл/10 л воды снижается в 2 раза, а при обработке в концентрации 200 мл/10 л воды – в 3,6 раза, что свидетельствует об эффективности препарата.

Развитие личинок в опыте и в контроле происходило нормально, различий по скорости роста, активности перехода на активное питание и по отходу не выявлено.

В рыбопитомнике ООО «Кала-Ранта» обработку икры радужной форели проводили один раз перед закладкой на инкубацию. Дозировка монклавита-1 составляла 90-180 мл/10 л воды при экспозиции 10-15 минут. Икру до закладки на инкубацию обрабатывали физиологически раствором с экспозицией 3-5 минут, а затем в отдельных емкостях осторожно при перемешивании в растворе «Монклавит-1».

В результате опыта на икре, обработанной раствором «Монклавит-1» в дозировках 90 мл/10 л воды, 120 мл/10 л воды, 180 мл/10 л воды при экспозиции 10-15 мин., поражение сапролегнией отсутствовало. В то же время в контроле грибковое поражение было выявлено и в некоторых пробах достигало 30%.

После завершения периода подращивания выход молоди превысил контрольный на 7,6% и составлял 69% в опытах и 61,4% в контроле.

Заключение. 1. Йодполимерное лекарственное средство «Монклавит-1» не является токсичным для инкубируемой икры радужной форели при трехкратной обработке (перед закладкой на инкубацию, на 20-й день инкубации и на стадии «глазка») в концентрации от 50 до 300 мл/10 л воды при экспозиции до 20 минут. В дальнейшем развитие молоди проходит без каких-либо отклонений.

2. Наибольший лечебный эффект при сапролегниозе икры радужной форели был отмечен при дозировках препарата от 150 до 300 мл/10 л воды. Наблюдается снижение поражения икры рыб грибковой инфекцией в три-четыре раза.

3. Монклавит-1 в значительной степени снижает поражение икры радужной форели сапролегниевыми грибами. Поэтому его можно рекомендовать к применению в рыбоводных хозяйствах для профилактики сапролегниоза по разработанной схеме.

По результатам исследования получен патент РФ № 2421987 «Способ повышения сопротивляемости икры к заболеваниям».

Литература. 1. Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с сапролегниозом рыбы и икры в рыбоводных хозяйствах (Утв. Департаментом ветеринарии 26.05.98). – Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Часть 1. Москва. Отдел маркетинга АМБ-агро. – 1998. – С. 170-173. 2. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней / Рахконен Р. и др. - 2 изд. – Хельсинки, 2013. – С. 1-160. 3. Кузнецов А. Ф., Романова О. В., Варюхин А. В. Методические рекомендации по применению Монклавита-1 – лекарственного средства для животных, для обработки инкубационных выводных шкафов и для санации воздушной среды животноводческих помещений. - СПб. – 2010. – С. 1 – 23. 4. Монклавит-1. Инструкция по применению. С-ГПб.2012. С. 1-3.

Статья передана в печать 27.04.2017 г.

УДК 619:579 861.2:618.19-002:636.2

БИОПЛЕНКА МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ФАКТОР ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

*Макарова Е.С., **Тонко О.В., *Бобрик Д.И.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**УО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Республика Беларусь

*Стафилококки относятся к одним из основных этиологических факторов развития инфекционного процесса у домашних животных. Прежде всего, они остаются основным источником возникновения инфекций кожи и поверхностных тканей тела, а также раневой инфекции. Широкое присутствие стафилококков среди патогенных микроорганизмов в значительной степени обуславливает их высокий уровень резистентности к антибактериальным препаратам. Использование наночастиц металлов в составе средств, обладающих антибактериальной эффективностью, является одним из рациональных решений в борьбе с антибиотикорезистентностью. **Ключевые слова:** биопленки, антибиотикорезистентность, условно-патогенные микроорганизмы, мастит.*

BIOFILM OF MICROORGANISMS AS A FACTOR OF FORMING RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

*Makarova E.S., **Tonko O.V., *Bobryk D.I.

* Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

** Belarusian Medical Academy for Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

*Staphylococci are among the main etiological factors of infection in domestic animals. First of all, they remain the main cause of skin infections and superficial body tissues of animals, as well as wound infections. Widespread presence of pathogenic staphylococci is largely responsible for their high level of resistance to antibiotics. The use of metal nanoparticles in the composition of medicines possessing antibacterial effectiveness is one of the rational decisions in the fight against antibiotic resistance. **Keywords:** biofilms, antibiotic resistance, opportunistic microorganisms, mastitis.*

Введение. Анализ структуры заболеваний крупного рогатого скота в молочном скотоводстве показывает, что развитию отрасли существенно препятствуют различные инфекционные и незаразные болезни лактирующих коров, среди которых наиболее серьезный ущерб наносит мастит.

Большинство авторов придерживаются мнения, что непосредственной причиной возникнове-

ния мастита у коров является проникновение и развитие в молочной железе патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Основную роль в возникновении мастита коров играют такие возбудители, как *Staph.aureus*, *Staph.epidermidis*, *Str. uberis*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *E. coli* и другие виды бактерий и грибов [3].

Результаты исследований показывают, что в развитии воспалительного процесса в вымени у коров участвуют разные виды кокковых микроорганизмов при доминирующей роли стафилококков, среди которых значительный удельный вес принадлежит *Staph. epidermidis*. В последнее время штамм этого вида стафилококков стали относить к патогенным, поскольку, попадая в организм иммунокомпromетированного организма, они могут вызывать тяжелые гнойно-септические процессы.

Эпидермальные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*) являются частью флоры кожи и поверхности слизистых оболочек человека и животных, обычно слабо вирулентны. В опытах Кузьмина Г.Н. экспериментально подтверждено этиологическое значение эпидермального стафилококка при мастите. Однако вирулентность эпидермального стафилококка недостаточна для преодоления местного иммунитета вымени у здорового животного, поэтому возникновение мастита, обусловленного таким микроорганизмом, возможно лишь при взаимодействии с другими факторами, угнетающими защитную функцию молочной железы (асептическое воспаление, бактерионосительство) [2].

Инфекции, вызываемые коагулазонегативными стафилококками, разнообразны, но имеют некоторые общие черты: во-первых, вялое течение. Нередко между заражением и появлением первых симптомов болезни бывает длительный латентный период; во-вторых, большинство тяжелых инфекций обусловлено полирезистентными штаммами стафилококков, то есть устойчивыми ко многим антибиотикам, включая пенициллины и цефалоспорины; в-третьих, инфекции, вызываемые коагулазонегативными стафилококками, чаще всего связаны с их имплантацией на объектах окружающей среды. Они обладают меньшим набором факторов вирулентности, чем *Staphylococcus aureus*, но зато таким, который позволяет прикрепляться к инородным телам и длительное время на них сохраняться. Среди факторов вирулентности идентифицирован ряд поверхностных антигенов, из которых лучше всего изучен полисахаридный адгезин, обеспечивающий первую стадию прикрепления к инородному телу. Кроме того, эпидермальный стафилококк секретирует полисахарид, образующий слизистый слой на поверхности инородного тела. Этот слой предохраняет бактерию от действия защитных сил макроорганизма, в том числе от уничтожения фагоцитами. Коагулазонегативные стафилококки не секретируют во внешнюю среду ферменты и токсины; тем не менее, их обитание на поверхности инородного тела приводит к развитию местной, а иногда и системной воспалительной реакции.

Биопленки представляют собой бактериальные сообщества, которые могут быть образованы бактериями одного или нескольких видов. Они состоят как из активно функционирующих клеток, так и из покоящихся или некультивируемых клеток.

Развитие биопленочных сообществ - одна из основных стратегий выживания бактерий не только в окружающей среде, но и в организме инфицированных хозяев. В составе биопленок клетки бактерий объединены сложными межклеточными связями, осуществляющими регуляцию экспрессии генов в различных частях биопленок и на разных стадиях их развития, в результате чего популяцию биопленочных бактерий рассматривают как функциональный аналог многоклеточного организма.

Формирование биопленки является сложным многостадийным и строго регулируемым биологическим процессом, включающим адгезию бактерий к поверхности; пролиферацию, последующее накопление массы клеток в виде многослойной структуры, содержащей синтезируемой клетками полимерный внеклеточный матрикс; созревание и распространение биопленки [4, 5].

Биопленочные бактерии способны выживать при воздействии антибиотиков в высоких концентрациях, которые не могут быть достигнуты в организме при стандартных терапевтических дозировках. При этом микроорганизмы внутри биопленки способны проявлять устойчивость одновременно ко многим антибиотикам из разных групп. Такое ограничение проникновения антибактериальных препаратов внутрь микробного сообщества связывают с условиями взаимодействия антибиотика и его мишени. Известно, что мишенями для антибиотиков являются активно растущие микробные клетки, которые обнаруживаются на периферии кластеров биопленки, тогда как метаболически менее активные - внутри. Соответственно, внутри биопленки бактерии более защищены от воздействия антибиотиков, чем на ее поверхности. Кроме того, наличие биополимерных матриксов, окружающих биопленку, обеспечивает резистентность возбудителя к антибиотикам, связывая антимикробные вещества и препятствуя их диффузии, что снижает концентрацию антибиотика, проникающего внутрь. При этом резистентность наблюдается к большим молекулам, положительно заряженным аминокозидами антибиотика, а применение препаратов, содержащих небольшие антимикробные молекулы, только отдаляет срок гибели клеток, но не убивает находящиеся внутри бактерии.

У бактерий антибиотикорезистентность формируется в условиях непосредственного контакта с препаратом. Классическими считается пять типов механизмов устойчивости бактерий к антибиотикам: модификация мишени, инактивация антибиотика, активное выделение антибиотика из микробной клетки, нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки, формирование метаболического «шунта». Формирование биопленочной устойчивости происходит сложнее и объясняется множественной резистентностью микроорганизмов внутри биопленки, которая может быть связана с тремя механизмами.

Первый механизм может быть обусловлен существованием в биопленках особых персистирующих форм бактерий - персистеров. Персистеры - фенотипический вариант клеток с обычным для данного штамма геномом, но сильно заторможенным метаболизмом. Для персистеров характерно прекращение синтеза пептидогликана, остановка процесса построения клеточной стенки, отсутствие роста и деления, нахождение в интактном состоянии аппарата генетического аппарата, а именно, хромосом, белковых систем репликации, репарации, транскрипции. В результате действия белков-персистеров блокируется функциональная активность всех мишеней антибиотиков, что опосредует формирование мультитолерантности. Поэтому бактерицидные антибиотики в отношении персистеров способны ока-

зывать только бактериостатический эффект.

Другой механизм множественной резистентности может быть связан с фильтрующей способностью матрикса. Слизь, которая продуцируется некоторыми патогенами, обладает связывающим антибиотик действием. Опубликованы работы, описывающие подавление активности гликопептидов (ванкомицина, тейкопланина) и β -лактамов (оксациллина, цефотаксима) слизистым матриксом эпидермального и золотистого стафилококка.

Третий механизм множественной лекарственной устойчивости, возможно, обусловлен тем, что внутри биопленки могут присутствовать популяции бактерий с разными защитными свойствами, дополняющими друг друга. Например, немукцидные изоляты *P. aeruginosa* из биопленок способны к продукции высоких уровней β -лактамаз, что отличает их от мукоидных изолятов, лишенных такой способности. Немукцидные бактерии экзосцитируют везикулы, содержащие высокие концентрации β -лактамаз, тем самым обеспечивая защиту своих β -лактамазодефицитных «сородичей» от β -лактамных антибиотиков на расстоянии. Мукоид, главным компонентом которого является альгинат, обеспечивает защиту биопленочных бактерий от других антимикробных препаратов. Подобный механизм защиты описан для представителей полимикробных биопленок. Например, изоляты стафилококков и энтерококков обладают различными генами резистентности к ванкомицину, тетрациклину. Доказана межвидовая передача генов антибиотикорезистентности, реализующаяся в условиях тесного контакта бактерий внутри биопленки. Так, возможность передачи генов устойчивости к ванкомицину и тетрациклину от *E. faecium* к метилленрезистентным *S. aureus* обусловлена генетической кооперацией, позволяющей бактериальному сообществу более рационально использовать свои жизнеобеспечивающие ресурсы и гибко реагировать на повреждающие факторы (достигая при этом главной стратегической цели - выживания вида) [4, 5].

Стремительный рост резистентности микроорганизмов к противомикробным средствам позволяет говорить об антибиотикотерапии при мастите как мощном дисбиозном факторе, стимулирующем развитие антибиотикорезистентности у патогенных штаммов и обуславливающим тем самым безрезультатность лечения острых форм и их переход в хронические и субклинические формы [3].

В связи с этим разработка новых альтернативных эффективных препаратов для лечения и профилактики мастита, не содержащих в своем составе химиотерапевтических средств, является объективной необходимостью.

Так, большое внимание уделяется изучению наноматериалов, а именно наночастиц металлов.

Цель: изучить антимикробную активность и определить терапевтические концентрации образцов субстанций наносеребра в отношении основных возбудителей мастита у коров.

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в микробиологической лаборатории кафедры эпидемиологии и микробиологии БелМАПО. Была изучена антимикробная активность 3 нанопрепаратов серебра.

1. Препарат № 1 – субстанция коллоидного наносеребра с массовой долей серебра 0,1% (1 г/л) в комплексе с биологически активным веществом прополиса водного.
2. Препарат № 2 - субстанция гуминовой соли серебра с массовой долей серебра 0,05% (0,5 г/л) в комплексе с биологически активным веществом прополиса водного.
3. Препарат № 3 - субстанция гуминовой соли серебра (массовая доля серебра 0,05% (0,5 г/л)).

При проведении исследований использовались культуры музейных штаммов из американской коллекции типовых культур (АТСС) и культуры музейных штаммов микроорганизмов, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях из гнойных ран.

1. Семейство *Micrococcaceae*. Род *Staphylococcus*:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus aureus*.

2. Семейство *Streptococcaceae*

- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Streptococcus pneumoniae*.

3. Семейство *Enterobacteriaceae*

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Escherichia coli*.

4. Грибы семейства *Saccharomycetaceae*. Род *Candida*

- *Candida albicans*.

1. Идентификацию выделенных культур микроорганизмов осуществляли по общепринятым методикам, применяемым в микробиологических лабораториях. Родовую и видовую идентификацию микроорганизмов выполняли путем изучения комплекса признаков с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK-2 Compact.

2. Определение чувствительности-устойчивости выделенных микроорганизмов к антибиотикам проводилось диско-диффузионным методом на среде Мюллер-Хинтонагар в соответствии с Инструкцией по применению № 226-1200 «Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 13.11.2008.

Проведено определение чувствительности-устойчивости изучаемых микроорганизмов к антибиотикам. Результаты исследования отражены в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Устойчивость-чувствительность к антибиотикам стрептококков и энтерококков

Вид микроорганизмов	Антибиотики, содержание в диске, мкг						
	Ампициллин 10	Бензилпенициллин (диск оксациллина 1 мкг)	Эритромицин 15	Ципрофлоксацин 5	Линезолид 30	Ванкомицин 30	Гентамицин 120
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	S	-	S	S	S	S	S
<i>E. faecalis</i>	S	-	R	R	S	S	S
<i>E. faecium</i>	S	-	R	R	S	S	S
<i>S. pneumoniae</i>	-	S	R	S	S	S	-

Примечания: S - культура чувствительна; R – устойчива, I - умеренно устойчива.

Таблица 2 – Устойчивость-чувствительность к антибиотикам энтеробактерий

Вид микроорганизмов	Антибиотики, содержание в диске, мкг					
	Ампициллин 10	Цефазолин 30	Цефалотин 30	Гентамицин 10	Амикацин 30	Ципрофлоксацин 5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	S	S	S	S	S	S
<i>E. coli</i>	R	R	R	S	S	I

Примечания: S - культура чувствительна; R – устойчива, I - умеренно устойчива.

Таблица 3 – Устойчивость-чувствительность к антибиотикам стафилококков

Вид микроорганизмов	Антибиотики, мкг					
	Пенициллин 6	Оксациллин 1	Цефазолин 30	Эритромицин 15	Линезолид 30	Ванкомицин 30
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus</i>	R	R	R	S	S	S
<i>S. epidermidis</i>	R	S	S	S	S	S
<i>S. saprophyticus</i>	R	S	S	S	S	S

Таким образом, при определении чувствительности микроорганизмов к антибиотикам установлено, что все изучаемые штаммы микроорганизмов, выделенные из гнойных ран, проявляют устойчивость хотя бы к 1 группе антибиотиков из изучаемых в эксперименте антибактериальных лекарственных средств.

3. Определение чувствительности - устойчивости выделенных микроорганизмов к антисептикам проводилось в соответствии с методическими рекомендациями «Методика определения чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам [1]. Метод основан на введении изучаемых препаратов серебра в незастывший питательный агар и высеве на него испытуемых культур микроорганизмов по 10 мкл в виде бляшек.

Этапы исследования:

1. Приготовление различных концентраций растворов антисептиков на стерильной дистиллированной воде:

1 - концентрированный - основной раствор антисептика;

2 - ½ основного раствора антисептика.

2. Выращивание на скошенном питательном агаре суточной культуры изучаемых штаммов микроорганизмов с обязательным контролем чистоты культуры и проверкой основных биохимических родовых и видовых признаков.

3. Подготовка для опыта суспензии микроорганизмов из выросшей суточной культуры на стерильном физиологическом растворе в концентрации $1,5 \times 10^8$ микроорганизмов, что соответствует 10 ЕД стандарта мутности.

4. Приготовление чашек с Мюллер-Хинтонагаром и введение в чашки различных концентраций антисептиков (основного раствора антисептика и разведенных концентраций основного раствора).

5. Нанесение на чашки с подготовленным агаром в виде бляшек суспензии штаммов микроорганизмов объемом 10-15 мкл.

6. После высыхания капель чашки инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 часов

Результаты исследований. Учет результатов по наличию роста (устойчивый, R) или отсутствию роста (чувствительный, S) микроорганизмов на месте посевов в лунках.

Результаты исследования отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты чувствительности-устойчивости исследуемых штаммов бактерий и грибов к испытываемым антисептикам

Испытуемые штаммы микроорганизмов	Исследуемые препараты					
	субстанция №1		субстанция №2		субстанция №3	
	Основная конц.	50% конц.	Основная конц.	50% конц.	Основная конц.	50% конц.
Семейство <i>Micrococcaceae</i> Род <i>Staphylococcus</i>: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	S	S	S
Семейство <i>Streptococcaceae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	S	R	S	S	S	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	S	R	S	S	S	S
<i>Enterococcus faecium</i>	S	R	S	S	S	S
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	S
Грибы семейства <i>Saccharomycetaceae</i> Род <i>Candida</i> <i>Candida albicans</i>	S	S	S	S	S	S

Заключение. Таким образом, установлено, что все 3 исследуемые субстанции серебра в основной концентрации оказывали бактерицидное действие на все испытываемые микроорганизмы.

При исследовании действия субстанций, разведенных в 2 раза, установлена устойчивость энтерококков и *Staphylococcus aureus* к субстанции № 1. Остальные субстанции оказывали бактерицидное действие на испытываемые микроорганизмы и при 50% концентрации.

Литература: 1. Адарченко, А. А. Методика определения чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам : методические рекомендации / А. А. Адарченко, А. П. Красильников, О. П. Собошук. – Минск : МГМИ, 1989. – 20 с. 2. Кузьмин, Г. Н. Мастит кокковой этиологии у коров и рациональные способы его терапии и профилактики : автореф. дис. доктор. наук : 16.00.03 / Г. Н. Кузьмин. – Воронеж, 1995. – 47 с. 3. Микрофлора молока при остром течении мастита у коров / И. В. Гордеева [и др.] // Ветеринарная патология. – 2006. – № 1. – С. 21–25 4. Рахматулина, М. Р. Биопленки микроорганизмов и их роль в формировании резистентности к антибактериальным препаратам / М. Р. Рахматулина, И. А. Нечаева // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 2. – С. 58-62. 5. Харсеева, Г. Г. Биопленки патогенных бактерий : биологические свойства и роль в хронизации инфекционного процесса / Г. Г. Харсеева, Я. Н. Фролова, А. Ю. Миронов // Успехи современной биологии. – 2015. – Т. 135, №4. – С. 346–354.

Статья передана в печать 08.03.2017 г.

УДК 616.1/4-084:636.2

ПРОФИЛАКТИКА ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Курдеко А.П., **Трофимов А.Ф., ***Щербаков Г.Г.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**Национальная академия наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

***ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Теоретически обоснованы, разработаны или усовершенствованы, апробированы в отечественном молочном скотоводстве ветеринарные технологические приемы профилактики внутренних болезней. Они позволяют повысить эффективность ведения отрасли за счет сокращения заболеваемости телят диспепсией не менее, чем в 2 раза, проводить ветеринарное обслуживание коров на современном уровне, с минимальными затратами и в целом повышают культуру ведения животноводства. **Ключевые слова:** крупный рогатый скот, внутренние болезни, диагностика, терапия, промышленная технология, дренаж-технология.

PREVENTION OF INTERNAL DISEASES OF THE CATTLE IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY: STATUS AND PROSPECTS

*Kurdeko A.P., **Trofimov A.F., ***Shcherbakov G.G.

* Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

** National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

*** Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation