

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП НА ИЗМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *E. COLI* ATCC 25922

НЕФЕДОВА Е.В.

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук,
Новосибирская область, п. Краснообск

*Проведены исследования по определению синергического эффекта применения комбинаций антибактериальных препаратов (энрофлоксацин, тилозин, гентамицин) и наночастиц серебра. При сочтанном культивировании E. coli ATCC 25922, наночастиц серебра с энрофлоксацином и тилозином отмечен рост чувствительности к 11 препаратам (91,6 %) от 5,9 до 100 %, с гентамицином к 10 препаратам (83,3 %) от 7,1 до 100 %. **Ключевые слова:** наночастицы серебра, E. coli, антибиотики, антибиотикорезистентность, AgNPs.*

THE EFFECT OF DRUGS OF VARIOUS PHARMACOLOGICAL GROUPS ON THE CHANGE OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF *E. COLI* ATCC 25922

NEFEDOVA E.V.

Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
Novosibirsk region, Krasnoobsk

*Studies have been conducted to determine the synergistic effect of the use of combinations of antibacterial drugs (enrofloxacin, tylosin, gentamicin) and silver nanoparticles. Combined cultivation of E. coli ATCC 25922, silver nanoparticles with enrofloxacin and tylosin showed an increase in sensitivity to 11 drugs (91,6%) from 5,9 to 100%, with gentamicin to 10 drugs (83,3%) from 7,1 to 100%. **Keywords:** silver nanoparticles, E. coli, antibiotics, antibiotic resistance, AgNPs.*

Введение. Применение антибиотиков и их комбинаций стало неотъемлемой технологической частью промышленного животноводства как ответ на резкий рост патогенности циркулирующей микрофлоры [1, 2]. Длительное, бесосновательное применение антибактериальных препаратов без учета определения чувствительности привело к росту антибиотикорезистентности, что значительно снизило эффективность проводимых ветеринарных мероприятий [3-5]. На протяжении последних 30 лет отмечается снижение объемов НИОКР, направленных на синтез и поиск новых антибактериальных препаратов, ввиду не окупаемости таких проектов по причине быстро возникающего феномена антибиотикорезистентности микрофлоры. Сложившаяся ситуация обосновывает поиск альтернативных, новых способов и методов лечения и профилактики инфекционных болезней животных.

Материалы и методы исследований. Для изучения использовались содержащий наночастицы серебра (AgNPs) 12-14 мкг/мл препарат арговит; энрофлоксацин, содержащий 50 мг энрофлоксацина в 1 мл; гентамицин, содержащий гентамицина сульфата 40 мг в 1 мл; нитокс, в 1 мл лекарственного препарата в качестве действующего вещества содержащий 200 мг окситетрациклина дигидрата; вспомогательные компоненты – магния оксид, N,N-диметилацетамид, ронгалит, моноэтаноламин и вода для инъекций.

Определение чувствительности микроорганизмов референтного штамма *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным веществам и их сочетаниям определяли из разведения с минимальной бактериостатической концентрации 0,2 мл которого вносили на агар Мюллера Хинтона и диско диффузионным методом определяли антибиотикочувствительность микроорганизмов (согласно методическим указаниям по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2004). Определение чувствительности проводилось к 12 видам антибактериальных препаратов.

Результаты исследований. При изучении влияния энрофлоксацина (табл. 1) на изменение чувствительности *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным препаратам, установлено снижение чувствительности к 7 препаратам (85,7 %), при этом отмечен незначительный рост чувствительности к 1 препарату (14,3 %).

При культивировании наночастиц серебра (AgNPs) и *E. coli* ATCC 25922, отмечен рост к 12 препаратам (100 %), в то время как, после сочтанного культивирования AgNPs, энрофлоксацина и *E. coli* ATCC 25922 отмечен рост чувствительности к 11 препаратам (91,6 %).

Таблица 1 - Влияние AgNPs и антибиотиков на изменение чувствительности *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным препаратам, мм

Препарат	Конт*	AgNPs	%	Энрофл**	%	Энрофл** + AgNPs	%
амоксциклин	-	13	100	-	-	18	100
ампициллин	-	16	100	-	-	-	-
гентамицин	15	20	33,3	13	-13,3	16	6,7
доксциклин	12	13	8,3	-	-100	16	33,3
неомицин	15	18	20	16	6,7	20	33,3
тетрациклин	14	16	14,3	12	-14,3	15	7,1
цефотаксим	-	16	100	-	-	14	100
энрофлоксацин	-	20	100	-	-	17	100
левомицетин	14	20	42,9	-	-100	17	21,4
ципрофлоксацин	17	22	29,4	15	-11,8	20	17,6
цефуросимом	13	16	23,1	11	-15,4	15	15,4
амикацин	14	16	14,3	10	-28,6	17	21,4

Примечание * конт - контроль, ** энрофл - энрофлоксацин

При изучении влияния тилозина, гентамицина (табл. 3) на изменение чувствительности *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным препаратам, установлено снижение чувствительности к 6 препаратам (50 %), с одновременным ростом чувствительности к 3 препаратам (25 %). Отмечен рост чувствительности при комбинации наночастиц серебра с тилозином к 11 препаратам (91,65 %) от 5,9 до 100 %, с гентамицином к 10 препаратам (83,3 %) от 7,1 до 100 %.

Таблица 2 - Влияние AgNPs и антибиотиков на изменение чувствительности *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным препаратам, мм

Препарат	Конт*	Тил**	%	Тил** + AgNPs	%	Гент***	%	Гент*** + AgNPs	%
амоксциклин	-	13	100	-	-	-	-	-	-
ампициллин	-	-	-	17	100	-	-	-	-
гентамицин	15	13	-13,3	17	13,3	10	-33,3	20	33,3
доксциклин	12	-	-100	16	33,3	14	16,7	16	33,3
неомицин	15	-	-100	16	6,7	10	-33,3	20	33,3
тетрациклин	14	16	14,3	16	14,3	-	-100	18	28,6
цефотаксим	-	10	100	14	100	12	100	18	100
энрофлоксацин	-	-	-	20	100	-	-	20	100
левомицетин	14	13	-7,1	17	21,4	15	7,1	17	21,4
ципрофлоксацин	17	-	-100	18	5,9	-	-100	21	23,5
цефуросимом	13	-	-100	14	7,7	-	-100	16	23,1
амикацин	14	15	7,1	16	14,3	-	-100	15	7,1

Примечание * конт - контроль, ** тил - тилозин, гент - гентамицин

Одной из причин увеличения бактерицидной активности антибиотиков в отношении микроорганизмов при их совместном культивировании с AgNPs является эффлюкс-эффекты, играющие роль в регуляции работы специфических биомолекул, влияющих на чувство кворума и ответственных за образование биопленок. Транзитное движение чувствительных молекул внутри или снаружи бактериальных клеток может быть прервано из-за нарушения функционирования эффлюкс-насосов. Таким образом AgNPs блокируют эффлюкс эффект бактериальных клеток, что способствует восстановлению бактериальных свойств антибиотиков, а так же снижению биопленкообразующей способности микроорганизмов. Результаты исследований позволяют разрабатывать новые комбинации лекарственных средств с ранее известными препаратами для терапии инфекционных болезней животных.

Литература. 1. Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности: распоряжение Правительства РФ № 2045-р от 25.09.2017 (ред. от 11.09.2021).

2. Сидоренко С.В. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам / С.В. Сидоренко, В.И. Тишков // Успехи биологической химии. - 2004. - Т. 44. - С. 263 - 306.

3. Антибиотикорезистентность и способы её преодоления: Монография / Н.Н. Шкиль, Е.В. Нefeldова // - Новосибирск: СФНЦА РАН, 2022. - 410с.
4. Nefedova E. AgNPs Targeting the Drug Resistance Problem of *Staphylococcus aureus*: Susceptibility to Antibiotics and Efflux Effect / E. Nefedova, N. Shkil, R.L. Vazquez-Gomez, D. Garibo, A. Pestryakov, N. Bogdanchikova // *Pharmaceutics*. – 2022, № 14. - P. 763.
5. Perfilova A.I. The current aspects of using chemically synthesized compounds of silver nanoparticles in animal husbandry and agrochemistry / A.I. Perfilova, I.A. Graskova, O.A. Nozhkina, N.S. Zabanova, B.G. Sukhov, N.N. Shkil, E.V. Nefyodova // *Nanotechnologies in Russia*. - 2019. - Vol. 14, № 9-10. - P. 489-496.
6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2. 1890-04, - ЦНИИЭ. - М., - 2004. - 101с.

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РЕСПИРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

НЕФЕДЧЕНКО А.В., КОТЕНЕВА С.В., ГЛотова Т.И., ГЛОТОВ А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН). Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСИДВ), Россия

Приведены результаты разработки и оценки диагностической эффективности тест-системы на основе мультиплексной полимеразной реакции для выявления возбудителей респираторного комплекса крупного рогатого скота. Установлено, что реакция осуществляется с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с использованием синтетических олигонуклеотидных праймеров и зондов SEQ ID NO:1 – 28. Обратную транскрипцию для синтеза кДНК проводили непосредственно в ходе мультиплексной ПЦР. Исследование каждой пробы биологического материала осуществляли в двух независимых реакциях с целью обнаружения восьми вирусов (BPIV, BRSV, BHV-1, BHV-4, BCoV, BVDV1, BVDV2, BVDV3). При исследовании 115 проб биологического материала, отобранного от 23 телят в возрасте 2-4-х мес. с признаками респираторной патологии, было выявлено 56,5% положительных проб. В исследованных пробах внутренних органов выявили все анализируемые возбудители респираторного комплекса КРС, но чаще всего – BHV-4 и BHV-1, реже BVDV2 и BVDV3. **Ключевые слова:** респираторный комплекс, вирусы, полимеразная цепная реакция, крупный рогатый скот

DETECTION OF CATTENTS OF THE RESPIRATORY COMPLEX OF CATTLE WITH THE HELP OF MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION

NEFEDCHENKO A.V., KOTENEVA S.V., GLOTOVA T.I., GLOTOV A.G.

Federal State Budgetary Institution of Science Siberian Scientific Center for Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences. Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Russia

The results of the development and evaluation of the diagnostic efficiency of a test system based on the multiplex polymerase reaction for the detection of pathogens of the respiratory complex in cattle are presented. It was established that the reaction is carried out with real-time hybridization-fluorescence detection using synthetic oligonucleotide primers and probes SEQ ID NO: 1 - 28. Reverse transcription for cDNA synthesis was performed directly during multiplex PCR. The study of each sample of biological material was carried out in two independent reactions in order to detect eight viruses (BPIV, BRSV, BHV-1, BHV-4, BCoV, BVDV1, BVDV2, BVDV3). Of the 115 studied samples of biological material taken from 23 calves aged 2-4 months. with signs of respiratory pathology, 56.5% of positive samples were detected. In the studied samples of internal organs, all analyzed pathogens of the bovine respiratory complex were detected, but most often - BHV-4 and BHV-1, less often BVDV2 and BVDV3. **Keywords:** respiratory complex, viruses, polymerase chain reaction, cattle

Введение. Возбудители респираторного комплекса крупного рогатого скота (КРС) оказывают серьезное влияние на производство животноводческой продукции во всем мире. Экономические потери от них включают гибель и снижение массы тела животных, затраты на средства терапии и профилактики, снижение продуктивности животноводства. Чаще болеет молодняк, чем взрослые животные. В развитии респираторного комплекса принимают участие несколько возбудителей вирусной и бактериальной природы, при этом вирусы играют наиболее важную роль, запуская весь каскад реакций,