

1. Valerie, J. Wiebe; Drug Therapy for Infectious Diseases of the Dog and Cat 327 стр. .

2. Николаев В.С. Сравнительная эффективность различных схем лечения собак, больных парвовирусным энтеритом / В.С.Николаев; науч.рук. В.А.Герасимчик // Студенты-науке и практике АПК: материалы 106-1 Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов г.Витебск, 21 мая 2021 г./ Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: ВГАВМ, 2021.-С.175-176.

3. Дифференциальная диагностика болезней сельскохозяйственных животных / А. И. Ятусевич, П. А. Красочко, В. В. Максимович [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. – 808 с. – ISBN 978-5-907430-77-8. – EDN KEMFFU.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* К ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРЕПАРАТУ «ФЛОРФЕНИКАМ»

КРАСОЧКО И.А., КРАСОЧКО П.П., КИРПАНЕВА Е.А., КОШНЕРОВ А.Г.

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

Вероятность развития резистентности у чувствительных штаммов Streptococcus agalactiae в процессе постоянного воздействия терапевтической концентрации низкая, т.к. ветеринарный препарат «Флорфеникам» обладает бактерицидным эффектом и при его воздействии в терапевтической концентрации размножения изучаемых микроорганизмов не наблюдается. Данный препарат можно применять для лечения молодняка крупного рогатого скота с заболеваниями органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, заболеваниями копыт и другими инфекционными болезнями бактериальной этиологии, вызванными микроорганизмами чувствительными к флорфениколу.

Ключевые слова: антибиотик, флорфеникол, флорфеникам, бактерии, стрептококки, резистентность.

FORMATION OF RESISTANCE IN BACTERIA *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* TO THE VETERINARY DRUG “FLORPHENICAM”

KRASOCHKO I.A., KRASOCHKO P.P., KIRPANYOVA E.A., KOSHNEROV A.G.

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

The likelihood of developing resistance in sensitive strains of Streptococcus agalactiae during constant exposure to therapeutic concentrations is low, because the veterinary drug "Florfenicol" has a bactericidal effect and, when exposed to it in a therapeutic concentration, the reproduction of the studied microorganisms is not observed. This drug can be used to treat young cattle with diseases of the respiratory system, gastrointestinal tract, hoof diseases and other infectious diseases of bacterial etiology caused by microorganisms sensitive to florfenicol.

Keywords: antibiotic, florfenicol, florfenicol, bacteria, streptococci, resistance.

Введение. К настоящему времени учеными открыто большое количество антибактериальных веществ, но в силу токсичности, биодоступности или сложности получения в практике ветеринарии и медицины используется не более сотни. В ходе приспособляемости микроорганизмы вырабатывают механизмы устойчивости, которая не позволяет проводить успешную антибактериальную терапию. Выходом из сложившейся ситуации было открытие новых продуцентов антибиотиков, групп антибиотиков, молекул антибиотиков и модификация химическим путем имеющихся. Но проблема антибиотикорезистентности никуда не ушла, а

наоборот, усугубилась. Бесконтрольное применение антибиотиков, нарушение схем лечения, использование одинаковых антибиотиков в ветеринарии и медицине привело к появлению полирезистентных штаммов, которые крайне устойчивы к разным классам антибиотиков и могут быть инактивированы только при комбинированной терапии [4, 5].

На современном этапе медицина, в том числе и ветеринарная, и наука развиваются в направлении ограничения применения антибиотиков, грамотного их назначения и обязательных предварительных тестов на антибиотикочувствительность микроорганизмов перед лечением. Во многом это обусловлено тем, что открытие новых молекул антибактериальных веществ происходит крайне медленно, а вывод их на рынок после предклинических и клинических испытаний занимает несколько лет [2].

Целью работы явилась оценка скорости формирования резистентности микроорганизмов *Streptococcus agalactiae* к ветеринарному препарату «Флорфеникам», производства ЧП «Белветфарма» для ООО «Эсбер Фарма».

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях кафедры микробиологии и вирусологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Ветеринарный препарат «Флорфеникам», производства ЧП «Белветфарма» для ООО «Эсбер Фарма», применяют для лечения молодняка крупного рогатого скота с заболеваниями органов дыхания (бронхопневмония, плевропневмония в том числе вызванные пастареллами и микоплазмами), желудочно-кишечного тракта (гастроэнтерит, энтерит), заболеваниями копыт и другими инфекционными заболеваниями бактериальной этиологии, вызванными микроорганизмами чувствительными к флорфениколу. Препарат представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до желтого цвета, без механических включений. В 1 мл препарата содержится: - 400 мг флорфеникола; - 5 мг мелоксикама, (вспомогательные вещества: - пропиленгликоль, N-метил-гамма-бутиролактан, спирт бензиловый).

В работе была использована тест-культура *Streptococcus agalactiae* (штамм ATCC 13813), для выращивания которой использовали питательный агар и бульон (HiMedia, Индия).

В диско-диффузионном методе оценки чувствительности культур к ветеринарному препарату «Флорфеникам» использовали агар Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия). Диски с препаратом готовили путем нанесения 10 мкл раствора с 100-кратной терапевтической концентрацией препарата «Флорфеникам».

При подготовке питательной среды с ветеринарным препаратом «Флорфеникам» руководствовались терапевтической дозой для крупного рогатого скота из инструкции по применению – 1 мл на 10 кг живой массы тела животного. Соответственно 100-кратная терапевтическая концентрация составляет 1 мл на 100 мл. Для приготовления раствора со 100-кратной терапевтической концентрацией 1,0 мл препарата доводили до 100 мл стерильным физиологическим раствором. 1 мл концентрированного раствора «Флорфеникам» вносили в 99 мл расплавленного и остуженного до 50°C питательного агара с последующим перемешиванием.

Для оценки вероятности развития резистентности микроорганизмов в ходе лечения животных планировали провести 5 последовательных пассажей исходной культуры микроорганизмов на среде с антибиотиком, что соответствует максимальному сроку лечения животных согласно инструкции по применению препарата. После каждого пассажа проводили контроль жизнеспособности микроорганизмов, проводя пересев на среду без антибиотика.

Результаты исследований. Флорфеникол оказывает бактерицидный эффект на культуру стрептококков. Динамика плотности роста стрептококков при выращивании на питательной среде с терапевтической концентрацией ветеринарного препарата «Флорфеникам» приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Интенсивность роста *Streptococcus agalactiae* при выращивании на МПА с терапевтической концентрацией ветеринарного препарата «Флорфеникам»

Номер пассажа	Характеристика роста микроорганизмов	
	МПА с «Флорфеникам»	Контрольный пересев на МПА без «Флорфеникам»
1	Рост отсутствует	Единичные колонии
2	Рост отсутствует	Рост отсутствует

Таким образом, терапевтическая концентрация ветеринарного препарата «Флорфеникам» при постоянном воздействии на культуру *S. agalactiae* проявляет бактерицидный эффект, и в течение 2 суток не остается жизнеспособных микроорганизмов, что делает маловероятным развитие резистентности к действующим веществам препарата при лечении животных.

Для определения скорости формирования резистентности при дозировках ниже терапевтической был проведен эксперимент с использованием субингибирующей дозы препарата, как индуктора стимуляции развития резистентности. Теоретическим обоснованием такого подхода является гипотеза о том, что низкая концентрация антибиотика (ниже минимально ингибирующей) позволяет размножиться микроорганизму, но скорость его размножения ниже, чем без действия антимикробного вещества, и для восстановления исходной скорости роста происходят мутации, которые позволяют микроорганизму не испытывать ингибирующего действия антибиотика. Происходит индуцированный отбор более устойчивых штаммов, которые с каждым последующим пассажем будут преобладать в питательной среде.

Минимальную ингибирующую концентрацию определяли микрометодом, производя двукратные разведения в МПБ ветеринарного препарата «Флорфеникам» с 4-кратной терапевтической концентрацией (0,4 мл/л). Соответственно в первой лунке конечная концентрация составила 100 нл/мл. До и после 20-часовой инкубации была измерена оптическая плотность. Средние значения для каждого разведения приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты измерения оптической плотности при определении минимальной ингибирующей концентрации «Флорфеникам» для *S. Agalactiae*

Оптическая плотность, о.е.	Контроль МПА	Контроль МПА+ <i>S. agalactiae</i>	Концентрация ветеринарного препарата в лунке, нл/мл											
			100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,2	0,1	0,05
До инкубации	0,052	0,046	0,041	0,043	0,051	0,046	0,047	0,045	0,053	0,041	0,041	0,045	0,049	0,042
После инкубации	0,062	0,215	0,054	0,049	0,047	0,05	0,051	0,052	0,145	0,149	0,14	0,159	0,168	0,199

Результаты измерений показали, что для *S. agalactiae* минимальной ингибирующей концентрацией является 3,13 нл/мл. Последующее разведение с концентрацией 1,56 нл/мл, показывает субингибирующие свойства – микроорганизмы сохраняют способность размножаться (оптическая плотность 0,145 о.е.), но не так интенсивно, как в контроле с культурой (оптическая плотность 0,215 о.е.). Таким образом, для проведения воздействия субингибирующей концентрации ветеринарного препарата «Флорфеникам» на *S. agalactiae* была определена концентрация 1,56 нл/мл.

Был подготовлен МПБ с концентрацией «Флорфеникам» 1,56 нл/мл и проведен эксперимент по воздействию данной концентрации на *S. agalactiae* в течение 5 суток при ежедневном пересеве в свежий МПБ с субингибирующей концентрацией препарата. По окончании воздействия произвели определение зон ингибирования исходной культуры и пассированной с субингибирующей дозой (результаты представлены в таблице 3), а также определение минимальной ингибирующей концентрации для пассированной культуры (таблица 4).

Таблица 3 – Диаметры зон ингибирования культур *S. agalactiae*

Наименование антимикробного вещества на диске	Зона задержки роста культуры <i>S. agalactiae</i> , мм	
	исходной	пассированной с субингибирующей дозой «Флорфеникам»
Флорфеникам	35	35

Таблица 4 – Результаты измерения оптической плотности при определении минимальной ингибирующей концентрации «Флорфеникам» для *S. agalactiae* пассированного с субингибирующей дозой препарата

Оптическая плотность, о.е.	Контроль МПА	Контроль МПА+ <i>S. agalactiae</i>	Концентрация ветеринарного препарата в лунке, нл/мл											
			100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,2	0,1	0,05
До инкубации	0,042	0,051	0,049	0,044	0,043	0,052	0,048	0,043	0,045	0,045	0,050	0,044	0,046	0,041
После инкубации	0,047	0,217	0,079	0,065	0,062	0,06	0,059	0,055	0,174	0,191	0,18	0,19	0,197	0,237

Как видно из приведенных данных, зона задержки роста *S. agalactiae* после пассирования с субингибирующей дозой препарата остается неизменной, как и минимальная ингибирующая концентрация (3,13 нл/мл).

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что ветеринарный препарат «Флорфеникам» производства ЧП «Белветфарма» для ООО «Эсбер Фарма» обладает бактерицидным эффектом в отношении изучаемой культуры микроорганизмов. Флорфеникол в терапевтической концентрации при постоянном воздействии не оставляет жизнеспособных *Streptococcus agalactiae* в течение 2 суток.

Снижение концентрации до субингибирующей (один порядок ниже минимально ингибирующей концентрации) и воздействие ее в течение 5 суток на культуру микроорганизмов приводит к выработке у них механизмов резистентности.

Минимальная ингибирующая концентрация пассированных культур с субингибирующей концентрацией «Флорфеникам» для *Streptococcus agalactiae* остается неизменной (3,13 нл/мл). При этом минимальная ингибирующая концентрация остается значительно ниже терапевтической.

На основании проведенных исследований, можно сделать вывод о том, что вероятность развития резистентности у чувствительных штаммов микроорганизмов в процессе постоянного воздействия терапевтической концентрации низкая, т.к. ветеринарный препарат «Флорфеникам» обладает бактерицидным эффектом и при его воздействии в терапевтической концентрации размножения изучаемых микроорганизмов не наблюдается.

Литература

1. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания МУК 4.2.1890-04, М. – 2014. – 33 с.
2. Принципы организации мониторинга устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения: Федеральные клинические рекомендации. – М., 2014. – 37 с.
3. Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии: справочник / сост. А.Э. Высоцкий, З.Н.Барановская. – Минск: Белтаможсервис, 2008. – 738-776 с.

4. Abebe E., Tegegne B. and Tibebe S. A Review on molecular mechanisms of bacterial resistance to antibiotics // *European Journal of Applied Sciences*. – 2016. – Vol. 8. – No. 5. – P. 301–310.

5. Fernández L., Hancock R. E. W. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance // *Clin Microbiol Rev*. – 2012. – Vol. 25. – No. 4. – P. 661–681.

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ И ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ АКТИНОБАЦИЛЛЯРНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИИ ПРИ ПРОМЫШЛЕННОМ ВЕДЕНИИ СВИНОВОДСТВА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

¹КРАСОЧКО И.А., ²ПУЛИШ А.В.

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

²ЗАО «Косул», г. Брест, Республика Беларусь

Актинобациллярная плевропневмония у свиней широко распространена в свиноводческих хозяйствах Беларуси. При сверхостром течение отмечают повышение температуры тела до 42⁰С, угнетение, отказ от корма, кратковременная диарея, жажда, затрудненное (тяжелое с хрипами) дыхание, цианоз кожи нижней части туловища и головы, - кровянистое истечение из носовых отверстий, судороги, гибель через 6-12 часов, признаки пневмонии с лихорадкой постоянного типа, конъюнктивит, одышка, кашель, истечения из носа (иногда кровянистые), животные лежат на животе, вытянув конечности, при отсутствии лечения гибель в течение 2-5 дней. При вскрытии у животных - хорошая упитанность (при сверхостром и остром течении), выраженный цианоз кожи головы и нижней части туловища, кровянистое пенистое истечение из носовой и ротовой полостей, отёк воспалённых лёгких, воспаление интерстиция, тёмные твёрдые участки лёгких переполнены кровью, которые выступают над поверхностью, выпот фибрина, фибринозный плеврит, некроз лёгочной ткани, множественные гнойные очажки в лёгких.

Ключевые слова: актинобациллярная плевропневмония, пневмония, поражение легких, носовые истечения, плеврит.

CLINICAL MANIFESTATION AND PATHOLOGICAL CHANGES IN ACTINOBACILLARY PLEUROPNEUMONIA IN INDUSTRIAL MANAGEMENT OF PIG BREEDING IN THE REPUBLIC OF BELARUS

¹KRASOCHKO I.A., ²PULISH A.V.

¹UO "Vitebsk Order" Badge of Honor "State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Republic of Belarus

²Cosul CJSC, Brest, Republic of Belarus

Actinobacillary pleuropneumonia in pigs is widespread in pig farms in Belarus. With superacute flow, an increase in body temperature to 42⁰S, depression, refusal to feed, short-term diarrhea, thirst, difficulty are noted (severe with wheezing) breathing, cyanosis of the skin of the lower torso and head, - blood discharge from the nasal openings, convulsions, death after 6-12 hours, signs of pneumonia with constant type fever, conjunctivitis, shortness of breath, cough, nasal discharge (sometimes bloody), the animals lie on their abdomen, stretching their limbs, untreated death within 2-5 days. At autopsy in animals - good fatness (with an ultra-acute and acute course), pronounced cyanosis of the scalp and lower body, bloody foamy discharge from the nasal and oral cavities, swelling of the inflamed lungs, inflammation of the interstitium, dark hard areas of the lungs are overflowing with blood that protrude above the surface, fibrin effusion, fibrinous pleurisy, lung tissue necrosis, multiple purulent foci in the lungs.

Keywords: actinobacillary pleuropneumonia, pneumonia, lung damage, nasal outflow, pleurisy.