

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ЭНТЕРОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ МАСТИТАХ КОРОВ

Макавчик Светлана Анатольевна, д-р.ветеринар.наук, доц., orcid.org/ 0000-0001-5435-8321,
Павлова В.С., студент
Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Для успешной фармакотерапии животных важным является видовая идентификация возбудителей *Enterococcus faecalis*, выделенных из молока при инфекционных маститах коров, анализ антибиотикограммы и интерпретация результатов, лабораторный контроль за механизмами антибиотикорезистентности. Это необходимо ветеринарным врачам для осуществления рационального подбора антибактериальных препаратов и прогнозировании их клинической эффективности.

Цель исследования – изучение устойчивости к антибиотическим препаратам бактерий *Enterococcus faecalis*, выделенных из молока при инфекционных маститах коров.

В период с 2021 по 2022 год из маститного молока коров было выделено 100 штаммов микроорганизмов. Полученные штаммы были идентифицированы грамотрицательные бактерии в 32% случаев выделения, грамположительные бактерии - 68 %, из них 14% *Enterococcus faecalis*.

При интерпретации антибиотикограммы большинство изолятов *Enterococcus faecalis* чувствительны к тетрациклину в 21,4% случаев выделения, ампициллину, амоксициллину в 100%. Отмечена резистентность к тетрациклину в 78,6% случаев выделения, гентамицину, цефалексину, цефотаксиму, эритромицину, клиндамицину, линкомицину, тобрамицину, цефтриаксону и стрептомицину в 100%.

Антибиотикорезистентность коррелирует с клинической неэффективностью антибиотических препаратов в ветеринарной медицине.

Полирезистентность *Enterococcus faecalis* к различным группам антибактериальных средств приводит к ограниченному применению антибиотиков, что существенно сокращает возможности терапии и оказывается на экономическом состоянии сельского хозяйства.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, антибиотики, антибиотикорезистентность, бета-лактамазы, вирулентность, мастит.

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии рода *Enterococcus* являются облигатными представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта млекопитающих, однако также они являются условно-патогенными микроорганизмами, играющими важную роль в этиологии и патогенезе болезней животных: маститов, инфекций мочевыводящих путей, септических инфекций и эндокардитов. Способность энтерококков вызывать инфекционный процесс обусловлена наличием широкого спектра факторов патогенности [1, 3, 9, 10, 11].

Энтерококки обладают антагонистическими свойствами. Они обусловлены образованием молочной кислоты и снижением pH, что подавляет рост многих микроорганизмов. Также энтерококки синтезируют энteroцины – антибиотические вещества, регулирующие численность популяции бактерий. К энteroцинам относится гемолитический энteroцин (цитолизин), *Enterococcus faecalis* синтезирует энteroцин B, AS-48, EFS2, энteroцин 4 и бактериоцин 21, энteroцин A [2, 4, 5].

Патогенность *E. faecalis* обусловлена генетически рядом свойств данных бактерий. К ним относится наличие цитолизина, который способен разрушать эпителиальные клетки кишечника, эритроциты и лейкоциты. Другим фактором патогенности *E. faecalis* является наличие адгезинов, которые обуславливают проникновение *E. faecalis* в энteroциты, что способствует переме-

щению бактерий через стенку кишечника. Также фактором патогенности считается наличие ряда ферментов. Так, фермент желатиназа специфичен в отношении биологически активных белков и коллагена, продукция желатиназы является одним из факторов образования биопленки [6, 7].

Биопленка является фактором персистенции и патогенности *E. faecalis*. Также к факторам персистенции относится наличие антилизоцимной, антикомплémentарной, антиинтерфероновой, антитурбобоцитарной, катионно-белковой и антибетализиновой активности, что обеспечивает выживание *E. faecalis* в пищеварительном тракте [1, 3].

Важным фактором вирулентности энтерококков является их природная устойчивость к широкому спектру антибактериальных препаратов. Энтерококки устойчивы к цефалоспоринам, пенициллинам, гликопептидам (ванкомицину), к действию пенициллаз, аминогликозидов в низких концентрациях, хинолонов, линкозамидов [1, 3, 4, 5].

В связи со способностью передачи антибиотикорезистентности, особое значение приобретает устойчивость энтерококков к ванкомицину, так как гены устойчивости к ванкомицину способны передаваться более вирулентным видам бактерий [1].

Антибиотикорезистентность *E. faecalis* является актуальной проблемой, так как продукты животного происхождения часто контаминированы резистентными энтерококками, что способ-

ствует передаче генов устойчивости к антибактериальным препаратам энтерококкам организма человека или плотоядных животных [8].

Также существуют данные, согласно которым резистентные энтерококки могут передаваться человеку от домашнего животного вследствие тесного контакта с ним [11, 12, 13].

Цель исследования – изучение устойчивости к антимикробным препаратам бактерий *Enterococcus faecalis*, выделенных из молока при инфекционных маститах коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 2021 по 2022 год из маститного молока коров было выделено 100 штаммов микроорганизмов. Полученные штаммы были идентифицированы грамотрицательные бактерии в 32% случаев выделения, грамположительные бактерии - 68 %, из них 14% *Enterococcus faecalis*.

Чувствительность к антибиотикам определяли при помощи диско-диффузионного метода. Результаты антибиотикорезистентности интерпретировали с учетом рекомендаций EUCAST (Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам [14,15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения антибиотикорезистентности клинических изолятов *Enterococcus faecalis* показали, что большинство из них (n=14) обладают полирезистентностью к более чем 2 группам антимикробных препаратов (табл.1).

Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecalis* коррелирует с клинической неэффективностью антимикробных препаратов в ветеринарной медицине.

Enterococcus faecalis обладает природной резистентностью к ряду антибиотиков, включая цефалоспорины, аминогликозиды, макролиды, сульфаниламиды, фузидиевую кислоту, клиндамицину.

При интерпретации антибиотикограммы большинство изолятов *Enterococcus faecalis* чувствительны к тетрациклину (n=3), ампициллину (n=14), амоксициллину (n=14), а также резистентны к тетрациклину (n=11), гентамицину (n=14), цефалексину (n=14), цефотаксиму (n=14), эритромицину (n=14), клиндамицину (n=14), линкомицину (n=14), тобрамицину (n=14), цефтриаксону (n=14) и стрептомицину (n=14).

Полирезистентность *Enterococcus faecalis* к

различным группам антибактериальных средств приводит к ограниченному применению антибиотиков, что существенно сокращает возможности терапии и сказывается на экономическом состоянии сельского хозяйства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам лабораторного исследования получены новые данные о этиологической структуре, возникновении и распространении возбудителей гнойно-септических болезней животных *Enterococcus faecalis* с целью коррекции лечебно-диагностических и противоэпизоотических мероприятий в ветеринарной практике.

Полирезистентность микроорганизмов *Enterococcus faecalis* к различным группам антибактериальных средств приводит к ограниченному применению антибиотиков, что существенно сокращает возможности терапии и сказывается на экономическом состоянии сельского хозяйства.

Работа выполнена в соответствии с тематическим планом-заданием на выполнение НИР по заданию Минсельхоза России за счет средств федерального бюджета в 2023 году.

ЛИТЕРАТУРА

- Баркова, А.С. Микробная экология кожи и секрета вымени у лактирующих коров/Баркова А.С., Шурманова Е.И./ В сборнике: Проблемы репродуктивного здоровья животных и пути их решения. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры акушерства, гинекологии и биотехнологии размножения животных и 45-летию ветеринарной и научно-практической деятельности профессора Р. Г. Кузьмича. Витебск, 2022. С. 12-16.
- Макавчик С.А., Сухинин А.А., Енгашев С.В., Кротова А.Л. Лабораторные методы контроля полирезистентных возбудителей бактериальных болезней животных и рациональное применение антимикробных препаратов: монография - Санкт-Петербург: изд-во ВВМ, 2021.с. 152.: ил.
- Макавчик, С.А. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от крупного рогатого скота/ Макавчик С.А., Кротова А.Л., Баргман Ж.Е., Сухинин А.А., Приходько Е.И./ Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2020; 4: 41–46. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2020.4.41.
- Макавчик, С.А. Рациональная фармакотерапия

Таблица 1.

Антибиотикорезистентные профили *Enterococcus faecalis*

| | Ампициллин | Амоксициллин | Цефалоспорины I (цефалексин) | Цефалоспорины III (цефотаксим) | Цефалоспорины III (цефтриаксон) | Эритромицин | Клиндамицин | Линкомицин | Тетрациклин | Гентамицин | Стрептомицин | Банкомицин |
|--|------------|--------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|--------------|------------|
| <i>Enterococcus faecalis</i> (n=11) | Ч | Ч | Р | Р | Р | Р | Р | Р | Р | Р | Р | Ч |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (n=3) | Ч | Ч | Р | Р | Р | Р | Р | Р | Ч | Р | Р | Ч |

Примечание: Р – резистентность, Ч- чувствительность.

- животных с основами ранжирования антимикробных препаратов в ветеринарных лабораториях/ Макавчик С.А// Ветеринария.- 2022. -№ 2. -С. 9-12.
5. Макавчик, С.А. Бактериальные болезни крупного рогатого скота, вызванные полирезистентными микроорганизмами (диагностика, лечение и профилактика): автореферат дис.... доктора ветеринарных наук: 06.02.02 , 06. 02.03/ Макавчик Светлана Анатольевна- 2021 -39 с.
6. Макавчик, С.А.Этиологическая структура возбудителей мастита коров и их характеристика чувствительности к антибактериальным препаратам в Северо-Западном регионе/ Макавчик С.А., Сухинин А.А., Кротова А.Л., Селиванова Л.В., Приходько Е.И. //Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2020. - № 1. - С. 66-71.
7. Миронова А.В., Коршукова О.А. Факторы вирулентности энтерококков // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2015. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/faktory-virulentnosti-enterokokkov-1> (дата обращения: 23.02.2023).
8. Смирнова Л.И., Макавчик С.А. Клиническая ветеринарная микробиология - Санкт-Петербург: изд-во ВВМ, 2022.с. 228.: ил.
9. Ручко, Е.Н. Гены антибиотикорезистентности как проблема XXI века/ Ручко Е.Н., Плещакова В.И// В сборнике: Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии. Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Гл. редактор Е.И. Антонова. Чебоксары, 2022.- С. 90-93.
10. Manson JM, Keis S, Smith JM, Cook GM. Characterization of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (VREF) isolate from a dog with mastitis: further evidence of a clonal lineage of VREF in New Zealand. *J Clin Microbiol.* 2003 Jul;41(7):3331-3. doi: 10.1128/JCM.41.7.3331-3333.2003. PMID: 12843085; PMCID: PMC165302.

11. Pomba C, Couto N, Moodley A. Treatment of a lower urinary tract infection in a cat caused by a multi-drug methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* and *Enterococcus faecalis*. *J Feline Med Surg.* 2010 Oct;12(10):802-6. doi: 10.1016/j.jfms.2010.04.006. Epub 2010 Jul 6. PMID: 20609607.
12. Soheili S, Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Sadeghifard N, Ramli R, Hamat RA. Wide distribution of virulence genes among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:623174. doi: 10.1155/2014/623174. Epub 2014 Jul 15. PMID: 25147855; PMCID: PMC4124215.
13. Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielny S, Gordon JI, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *eLife.* 2013 Apr 16;2:e00458. doi: 10.7554/eLife.00458. PMID: 23599893; PMCID: PMC3628085.
14. EUCAST. Экспертные правила определения чувствительности к антибиотикам EUCAST. Доступно по адресу: https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.

RESISTANCE TO ANTIMICROBIAL PREPARATIONS OF ENTEROCOCCUS ISOLATED FROM MILK DURING INFECTIOUS MASTITIS IN COWS

Svetlana A. Makavchik, Dr. Habil. in Veterinary Sciences, Docent, orcid.org/ 0000-0001-5435-8321
V.S. Pavlova, student
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

For successful pharmacotherapy of animals, it is important to identify species of *Enterococcus faecalis* pathogens isolated from milk in infectious mastitis of cows, analyze the antibiogram and interpret the results, and laboratory control over the mechanisms of antibiotic resistance. This is necessary for veterinarians to rationally select antibacterial drugs and predict their clinical effectiveness.

The purpose of the study was to study the resistance to antimicrobial drugs of *Enterococcus faecalis* bacteria isolated from milk in infectious mastitis of cows.

In the period from 2021 to 2022, 100 strains of microorganisms were isolated from the mastitis milk of cows. The obtained strains were identified as gram-negative bacteria in 32% of isolation cases, gram-positive bacteria - 68%, of which 14% were *Enterococcus faecalis*.

When interpreting the antibiogram, most isolates of *Enterococcus faecalis* are sensitive to tetracycline in 21.4% of isolation cases, ampicillin, amoxicillin in 100%. It was noted resistant to tetracycline in 78.6% of cases of isolation, gentamicin, cephalexin, cefotaxime, erythromycin, clindamycin, lincomycin, tobramycin, ceftriaxone and streptomycin in 100%.

Antibiotic resistance correlates with the clinical failure of antimicrobials in veterinary medicine.

Multi-resistance of *Enterococcus faecalis* to various groups of antibacterial agents leads to limited use of antibiotics, which significantly reduces the possibilities of therapy and affects the economic condition of agriculture.

Key words: *Enterococcus faecalis*, antimicrobials, antibiotic resistance, beta-lactamases, virulence, mastitis.

REFERENCES

1. Barkova, A.S. Microbial ecology of skin and udder secretion in lactating cows/Barkova AS, Shurmanova EI// In the collection: Problems of reproductive health of animals and ways to solve them. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 95th anniversary of the Department of Obstetrics, Gynecology and Biotechnology of Animal Reproduction and the 45th anniversary of the veterinary and scientific and practical activities of Professor R. G. Kuzmich. Vitebsk, 2022, pp. 12-16.
2. Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Engashev S.V., Krotova A.L. Laboratory methods for the control of multiresistant pathogens of bacterial animal diseases and the rational use of antimicrobial drugs: monograph - St. Petersburg: VVM, 2021. p. 152.: ill.
3. Makavchik, S.A. Mechanisms of resistance to antimicrobial drugs in microorganisms isolated from cattle / Makavchik S.A., Krotova A.L., Bargman Zh.E., Sukhinin A.A., Prikhodko E.I// Legal regulation issues in veterinary medicine. - 2020; 4:41–46. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2020.4.41.
4. Makavchik, S.A. Rational pharmacotherapy of animals

- with the basics of ranking antimicrobial drugs in veterinary laboratories / Makavchik S.A. // Veterinary. - 2022. - No. 2. - S. 9-12.
5. Makavchik, S.A. Bacterial diseases of cattle caused by multidrug-resistant microorganisms (diagnosis, treatment and prevention): abstract of dissertation.... Doctors of Veterinary Sciences: 06.02.02, 06. 02.03 / Makavchik Svetlana Anatolyevna - 2021 -39 p.
6. Makavchik, S.A. Etiological structure of causative agents of mastitis in cows and their sensitivity to antibacterial drugs in the North-West region / Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Krotova A.L., Selivanova L.V., Prikhodko E. .AND. //Issues of legal regulation in veterinary medicine. - 2020. - No. 1. - S. 66-71.
7. Mironova A.V., Korshukova O.A. Virulence factors of enterococci // Health. Medical ecology. The science. 2015. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/faktory-virulentnosti-enterokokkov-1> (date of access: 02/23/2023).
8. Smirnova L.I., Makavchik S.A. Clinical veterinary microbiology - St. Petersburg: publishing house VVM, 2022.p. 228.: ill.
9. Ruchko, E.N. Antibiotic resistance genes as a problem of the XXI century/ Ruchko EN, Pleshakova VI// In the collection: Fundamental and applied research in priority areas of bioecology and biotechnology. Collection of materials of the V All-Russian scientific-practical conference with international participation. Ch. editor E.I. Antonova. Cheboksary, 2022.- S. 90-93.
10. Manson JM, Keis S, Smith JM, Cook GM. Characterization of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (VREF) isolate from a dog with mastitis: further evidence of a clonal lineage of VREF in New Zealand. *J Clin Microbiol.* 2003 Jul;41(7):3331-3. doi: 10.1128/JCM.41.7.3331-3333.2003. PMID: 12843085; PMCID: PMC165302.
11. Pomba C, Couto N, Moodley A. Treatment of a lower urinary tract infection in a cat caused by a multi-drug methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* and *Enterococcus faecalis*. *J Feline Med Surg.* 2010 Oct;12 (10):802-6. doi: 10.1016/j.jfms.2010.04.006. Epub 2010 Jul 6. PMID: 20609607.
12. Soheili S, Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Sadeghifard N, Ramli R, Hamat RA. Wide distribution of virulence genes among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:623174. doi: 10.1155/2014/623174. Epub 2014 Jul 15. PMID: 25147855; PMCID: PMC4124215.
13. Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielny S, Gordon LI, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife.* 2013 Apr 16;2:e00458. doi: 10.7554/eLife.00458. PMID: 23599893; PMCID: PMC3628085.
14. EUCAST. EUCAST Expert Rules for Antibiotic Susceptibility Testing. Available at: https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.

УДК 579.869:637.5.075

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.2.49

***BROCHOTHRIX THERMOSPHERACTA* КАК МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СРОКОВ ГОДНОСТИ МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ**

Смирнова Любовь Ивановна, канд.ветеринар.наук, доцент

Рыжакова Анастасия Михайловна, студент

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Микробная порча пищевых продуктов приводит к значительным потерям с негативными социальными и экономическими последствиями. Чтобы лучше контролировать загрязнение и микробиологическую порчу пищевых продуктов, введен в действие новый ГОСТ Р 70354-22. Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности (дата издания 29.09.2022 г). Большое значение придаётся выявлению и определению количества дополнительного микробиологического показателя *Brochothrix termosphacta* в мясе, мясных и мясосодержащих продуктах, упакованных с применением вакуума или модифицированной газовой атмосферы. *Brochothrix sp.* может стать доминирующим видом порчи мяса в упаковке с МГА и вакуумной упаковке при наличии достаточного количества кислорода. *Brochothrix* вызывает ослизжение и появление липкости поверхности мяса, неприятные запахи. В ГОСТ Р 70354-22 изложен метод выявления и подсчёта количества бактерий *Brochothrix sp.* Для их культивирования предложена плотная селективная среда STAA, позволяющая выделить, идентифицировать и определить количество *Brochothrix sp.* в пробах. Была испытана методика, изложенная в ГОСТ Р 70354-2022. Проведена дифференциация бактерий рода *Brochothrix* от сходных по культуральным свойствам бактерий рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Lactobacterium*, предложены тесты для дифференциации.

Ключевые слова: ГОСТ Р 70354-2022, *Brochothrix termosphacta*, микробиологическая порча; мясо; мясо птицы; микроорганизм; качество.

ВВЕДЕНИЕ

С 01.01.2023 г введен в действие новый ГОСТ Р 70354-2022. Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности (дата издания 29.09.2022 г)[1]. В соответствии с программой испытаний, регламентированной в ГОСТ Р 70354

-2022, при обосновании сроков годности мяса и мясных продуктов контролируют микробиологические, органолептические, физико-химические показатели и показатели пищевой ценности. При контроле микробиологических показателей определяют микробиологические критерии безопасности, а также дополнительные микробиологиче-