

Тези Британської конференції з проблем маститів 2004, Стоунлей, Нова Зеландія

# Резистентність збудників маститів до антибіотиків

➔ За матеріалами С.Дж. Тіл і Дж.П. Девід Лабораторний центр Шрусбері, Великобританія

Звіт щодо дослідження чутливості мікроорганізмів-збудників маститів до антибіотиків представлений групою офіційних лабораторій Великобританії, що входять до Ветеринарної Лабораторної Агенції (VLA). Завданням VLA було створення національної бази даних, отриманих при тестуванні чутливості до антибіотиків різних ізолятів мікроорганізмів-збудників маститів *in vitro*. У статті також проводиться аналіз отриманих даних і порівняння їх з результатами попередніх досліджень.

## Вступ

Виникнення і розповсюдження резистентних форм мікроорганізмів-збудників маститів значно ускладнює лікування хворих тварин. При споживанні непастеризованого молока, контамінованого такими мікроорганізмами, виникає небезпека для споживачів. Звичайно, більша частина молока проходить пастеризацію, численні перевірки на мікробне забруднення, що попереджує вживання маститного молока споживачами. Здорова молочна залоза вважається вільною від мікроорганізмів, а у випадку застосування внутрішньоцистернальних засобів їх дія обмежується лише цільовими мікроорганізмами, тоді як при системному застосуванні, окрім патогенних мікроорганізмів, вибірково пригнічуються і мікроорганізми-коменсали. Резистентність може виникати і серед коменсальної флори, чому значно сприяє обмін генетичною інформацією [1]. Відсутність резидентної внутрішньоцистернальної флори мінімізує вірогідність розвитку резистентності.

Слід зазначити, що єдиного міжнародного методу тестування чутливості мікроорганізмів *in vitro* досі не прийнято. В більшості європейських країн, в тому числі і британській мережі лабораторій VLA використовується метод дифузії в агар (метод дисків) [2], причому пороговим значенням вважається зона пригнічення 13 мм (зони пригнічення до 13 мм не вважають достовірною ознакою пригнічення бактеріального росту. У 1999 була створена національна база даних щодо чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, куди надходила інформація зі всіх осередків VLA.

У даному клінічному звіті наведено останні дані щодо чутливості мікроорганізмів, пов'язаних з виникненням маститів, до антибіотиків, проведено порівняння з попередніми даними, а також з результатами лабораторних тестів з інших країн. До аналізу останніх слід

ставитися з обережністю, так як використані методи не завжди відповідали загальноприйнятим у Великобританії вимогам. Серед досліджуваних груп мікроорганізмів – стрептококи, стафілококи та коліформні бактерії.

Цікаво, що у гуманній медицині полірезистентність *Streptococcus pneumoniae* до пеніциліну, тетрациклінів і макролідів у різних країнах Європи значно звузила спектр препаратів вибору і актуальними на сьогодні залишаються ванкомицин і нові фторхінолони з розширеним спектром активності щодо грам-позитивної мікрофлори [3, 4]. Також новим став факт, що для *Str. dysgalactiae*, який має більш широкий спектр сприйнятливих хазяїв серед жуйних, ніж *Str. agalactiae*, властива більш виражена резистентність. Причина цього явища не зовсім зрозуміла, можливо, це пов'язано з особливостями фізіології мікроорганізмів, а також з більшою кількістю контактів з коменсалами, які можуть передавати фактори резистентності *Str. dysgalactiae*.

Резистентність до еритроміцину відзначалась у незначній кількості ізолятів *Str. dysgalactiae*, тоді як ізоляти *Str. agalactiae* були чутливими. Відомо, що дія еритроміцину, як і інших макролідів полягає у блокуванні синтезу білку бактеріальною клітиною. Механізм резистентності визначається геном *erm*. На сьогодні розшифровано і описано більше 30 різновидів *erm*, експресія яких призводить до метилування однакових аденінових залишків. В результаті знижується інтенсивність зв'язування 50S-субодиниці рибосоми з антибіотиками макролід-лінкозамід-стрептограмінової природи. *Streptococcus agalactiae*, *Str. dysgalactiae* і *Str. uberis* можуть бути носіями гену *erm-F* у поєднанні з іншими різновидами: В, С або Q [5]. З 71 ізолятів стрептококів, ізольованих від корів з клінічним маститом, резистентність до еритроміцину і/або лінкоміцину виявили у 7,1 % проб, а ген *erm* – в дев'яти випадках [6].

Стрептококи (за виключенням *Streptococcus uberis*)*Streptococcus agalactiae*

Загальна кількість ізолятів: 8

Кількість полірезистентних ізолятів: 0

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Пеніцилін 10 МО	0	0
Ампіцилін 10 мкг	0	0
Амоксицилін/клавуланова кислота 2/1 мкг	0	0
Тетрациклін 10 мкг	0	0
Еритроміцин 5 мкг	0	0
Неоміцин 30 мкг	5	63

*Streptococcus dysgalactiae*

Загальна кількість ізолятів: 56

Кількість полірезистентних ізолятів: 0

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Пеніцилін 10 МО	0	0
Ампіцилін 10 мкг	0	0
Амоксицилін/клавуланова кислота 2/1 мкг	0	0
Тетрациклін 10 мкг	20	36
Еритроміцин 5 мкг	2	4
Неоміцин 30 мкг	31	55

Стафілококи

*Staphylococcus aureus*

Загальна кількість ізолятів: 211

Кількість полірезистентних ізолятів: 5

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Пеніцилін 10 МО	98	47
Ампіцилін 10 мкг	96	46
Амоксицилін/клавуланова кислота 2/1 мкг	7	3
Тетрациклін 10 мкг	11	5
Еритроміцин 5 мкг	8	4
Неоміцин 30 мкг	0	0

Коліформні мікроорганізми

*E. coli*

Загальна кількість ізолятів: 598

Кількість полірезистентних ізолятів: 39

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Ампіцилін 10 мкг	74	12
Амоксицилін/клавуланова кислота 2/1 мкг	23	4
Цефалексин 30 мкг	33	5
Неоміцин 10 мкг	36	6
Тетрациклін 10 мкг	78	13
Триметоприм/сульфонамід 25 мкг	30	5

Резистентність стрептококів до стрептоміцину, новобіоцину і тетрациклінів у *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* і *Str. uberis* також описана в США [7, 8]. При тестуванні ізолятів *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* і *Str. uberis* в польських лабораторіях, чутливість до пеніциліну встановлена у 86,7, 84,6 % і 88,5 % ізолятів [9]. За повідомленням канадських фахівців, жоден з 68 ізолятів *Str. agalactiae*, відібраних від корів, не виявляв резистентності до пеніциліну і еритроміцину [10]. Про резистентність до *Str. uberis* і *Str. dysgalactiae* повідомляється у лабораторних звітах Нової Зеландії [11]. Вважається, що мутації рибосомальних білків стрептококів і ентерококів можуть призвести до розвитку високорезистентних до стрептоміцину і пеніциліну форм [12].

Вперше про використання пеніциліну для лікування корів, хворих на мастит, повідомляється у другій половині 40-х рр. С тих пір, значного розповсюдження в більшості країн Європи, зокрема і в Великобританії, набули  $\beta$ -лактамазо-продукуючі *Staphylococcus aureus* [13]. Протягом 70-80-х рр. частота виділення пеніцилін-резистентних стафілококів значно зросла, особливо у Бельгії, Швейцарії та Великобританії, проте, в наступні декади, спостерігалась зворотна динаміка [13]. Вважається, що це пов'язано з введенням в практику лікування маститів інших засобів [13]. Проте, дана гіпотеза не узгоджується з даними Норвегії і Швеції, де рівень розповсюженості резистентних стафілококів залишався стабільним 10-15% [13].

Серед *S. aureus*, виділених від корів хворих на мастит, резистентних до метициліну (MRSA) практично не відзначалось протягом 80-90-х рр. [14, 15]. Дослідження на предмет виявлення MRSA проводилося у Великобританії в 1986 р., жодного випадку виділення MRSA з 106 проб не зареєстровано. З них 69,8% виявилися  $\beta$ -лактамазо-позитивними і резистентними до пеніциліну [16]. За повідомленням P.G. Francis і P.J. Carroll, із 186 ізолятів *S. aureus*, не виявлено резистентних до неоміцину, еритроміцину чи новобіоцину [17]. За повідомленням французької лабораторії Rhone-Alpes, 60% ізолятів стафілококів продукували  $\beta$ -лактамази [1]. У звіті Martel і Vandaele [14] наводяться дані, що 60% з 1157 коагулазо-позитивних стафілококів були резистентними до пеніциліну, і 5 % з 411

*E. coli*/коліформні бактерії від телят молодших 1 місяця  
Загальна кількість ізолятів: 764  
Кількість полірезистентних ізолятів: 300

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Ампіцилін 10 мкг	561	73
Амоксицилін/клавуланова кислота 20/10 мкг	184	24
Тетрациклін 10 мкг	604	79
Неоміцин 10 мкг	332	44
Триметоприм/сульфонамід 25 мкг	323	42

*E. coli*/коліформні бактерії від телят старших 6 місяців  
Загальна кількість ізолятів: 44  
Кількість полірезистентних ізолятів: 5

Концентрація діючої речовини антибіотика у диску	Резистентних	%
Ампіцилін 10 мкг	10	23
Амоксицилін/клавуланова кислота 20/10 мкг	0	0
Тетрациклін 10 мкг	11	25
Неоміцин 10 мкг	5	11
Триметоприм/сульфонамід 25 мкг	9	21

ізолятів виявилися метицилін-резистентними. Devriese і Hommeз вдалося виділити 68 ізолятів метицилін-резистентних *S. aureus* з декількох молочних ферм у Бельгії [15]. Встановлено, що всі ці ізоляти мали антропогенне походження.

Для *E. coli* характерний значний набір соматичних антигенів [18]. За даними М. Hinton, у 7 з 30 корів, від яких відбирали проби молока і фекалій для культурального дослідження, мікроорганізми серогрупи О виявлені і зразках молока і в фекаліях [18]. Головним дже-

релом *E. coli* вважається шлунково-кишковий тракт дорослої худоби [18]. За деякими даними, резистентність штамів *E. coli*, виділених від маститних корів, невисока і відповідає такій мікроорганізмам, ізольованих з ШКТ [18]. У таблиці наводиться порівняння показників резистентності ізолятів від молодняку віком до 6 місяців і старших (ізоляти отримані з фекалій).

Як видно з таблиці, кишкова мікрофлора телят виявилась більш резистентною, ніж дорослих тварин [18]. Слід зазначити, що дані VLA головним чином стосуються польових випадків маститу, а ізоляти, можливо, отримані від тварин з захворюваннями ШКТ, яким застосовували антибіотики, тому резистентних серед них більше, ніж від здорових тварин. Резистентні до амоксициліну клавуланату ізоляти частіше виділялися з проб молока корів, хворих на мастит, аніж з фекальних змивів, що відображає наслідки внутрішньоцистернальної терапії, які обумовила селекцію резистентних штамів [19].

### Висновки

Лабораторні мережі типу VLA необхідні для моніторингових і експериментальних досліджень маститів ВРХ. Створення загальної бази даних чутливості мікроорганізмів-збудників маститів до антибіотиків забезпечить підґрунтя для моніторингу і своєчасного виявлення резистентних форм певних видів мікроорганізмів.

### Література

1. J.L. Martel, E. Chaslus-Dancla, M. Coudert, F. Poumarat & J.P. Lafont (1995) *Microb. Drug Resist.* 1, 273-283.
2. I. Phillips (1991). *A Guide to Sensitivity Testing, A Report of the Working Party on Antibiotic Sensitivity Testing of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy*, London, Academic Press.
3. O. Manzor, J. Pawlak & L. Saravolatz (1999) *J. Antimicrob. Chemother.* (1999) 43, 31-36.
4. R.R. Reinert, J.J. Schlaeger & R. Lutticken (1998) *J. Antimicrob. Chemother.* 42, 803-806.
5. W.O. Chung, C. Werckenthin, S. Schwarz & M.C. Roberts (1999) *J. Antimicrob. Chemother.* 43, 5-14.
6. M.C. Roberts & M.B. Brown (1994) *Vet. Micro.* 40, 253-261.
7. B.M. Jayarao & S.P. Oliver (1990) *J. Dairy Sci.* 73, Supplement 1, 272.
8. M.B. Brown & A.E. Scasserra (1990) *Amer. J. Vet. Res.* 51, 2015-2018.
9. E. Malinowski, K. A. Klossowska, K. Kuzma & H. Krukowski (1992) *Medycyna wet.* 48, 366-367.
10. S. Messier, M. Nadeau & R. Higgins (1994) *Med. Vet. Quebec* 24, 70-72.
11. M. Carman & E. Gardner (1997) *Surveillance-Wellington* 24, 13-15.
12. T. Whittem & D. Hanlon (1997) *N. Z. Vet. J.* 45, 223-229.
13. F. Aarestrup & N.E. Jensen (1998) *Microb. Drug Resist.* 4, 247-256.
14. J-L. Martel & E. Vandaele (1990) *Le Point Vet.* 30, 195-202.
15. L.A. Devriese & J. Hommeз (1975) *Res. Vet. Sci.* 19, 23-27.
16. N. Craven, J.C. Anderson & T.O. Jones (1986) *Vet. Record* 118, 290-291.
17. P.G. Francis & P.J. Carroll (1986) *Vet. Record* 118, 361-363.
18. M. Hinton (1986) *Vet. Record* 119, 420-426.
19. D.W. Johnston, J. Bruce & J. Hill (1983) *J. Appl. Bact.* 54, 77-83.