

ВИДОВОЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Пензурова С. А., Мулюкова Л. С., Пашинин Н. С., Нурғалиева Р. М.

ФГБОУ ВПО Оренбургский ГАУ, Оренбург, Россия (460014, Оренбург, ул. Челюскинцев, д. 18), e-mail: olga25mikro@mail.ru

Изучен таксономический состав микроорганизмов при пиометре, отитах и конъюнктивитах с определением доминирующих видов. Доминирующими возбудителями пиометры являлись представители семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *E. cloacae*), отита – *S. aureus*, конъюнктивита – *E. coli*. Выделенные микроорганизмы характеризовались наличием факторов патогенности и персистенции. Штаммы, изолированные при всех изученных заболеваниях, характеризовались наличием антилизосимной активности, способствующей длительному нахождению патогена в организме хозяина, а микроорганизмы, выделенные при конъюнктивитах и пиометре, – способностью гемолизировать эритроциты. Определен спектр антибиотикорезистентности и чувствительности выделенных патогенов к различным антимикробным препаратам. Полученные данные могут быть использованы при выборе эффективных антибиотиков для терапии изученных гнойно-воспалительных заболеваний.

Ключевые слова: микроорганизмы, антилизосимная активность, гемолиз, антибиотикорезистентность.

RANGE OF SPECIES AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM ANIMALS AT PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES

Penzurova S. A., Mulyukova L. S., Pashinin N. S., Nurgalieva R. M.

Orenburg State Agricultural University, Orenburg, Russia (460014, Orenburg, st. Chelyuskintsev, 18), e-mail: olga25mikro@mail.ru

Taxonomic structure of microorganisms in otitis, conjunctivitis and pyometra and the definition of the dominant species are studied. Enterobacteriaceae (*E. coli*, *E. cloacae*) were the dominant pathogens of pyometra, *S. aureus* – of otitis, *E. coli* – of conjunctivitis. Microorganisms were characterized by pathogenic and persistent factors. Strains isolated in all studied diseases were characterized by the presence of antilysozyme activity that promotes long-term presence of pathogen in a host organism, and microorganisms isolated in conjunctivitis and pyometra had the ability to hemolyze erythrocytes. The spectrum of antimicrobial resistance and susceptibility of pathogens to various antimicrobial agents was defined. The data obtained can be used in the selection of effective antibiotics for the treatment of the studied chronic inflammatory diseases.

Key words: microorganisms, antilysozyme activity, hemolysis, antibiotic resistance.

Введение

В настоящее время широко распространены гнойно-воспалительные заболевания у собак. При этом большую актуальность приобретают гинекологические заболевания, среди которых часто встречается воспаление слизистой оболочки матки, проявляющееся в виде симптомокомплекса: эндометрит, метрит, пиометра. Пиометра – одна из наиболее распространенных болезней у сук, средний возраст которых составляет 7–8 лет, с колебаниями от 3 до 13 лет [4]. Заболевание развивается в результате гормональных расстройств, бактериального обсеменения и является одной из часто встречающихся причин болезни и гибели сук среднего и старшего возраста [6]. Кроме того, данная патология приводит к полной потере репродуктивной функции животного вследствие существования единственно возможного метода лечения – хирургического вмешательства – овариогистерэктомии [4].

У собак также нередко встречаются отиты и конъюнктивиты, которые составляют 20 % всех заболеваний, встречающихся в ветеринарной практике [2, 3].

В связи с этим актуальным является изучение видового состава микрофлоры, выделенной при данных заболеваниях и определение ее чувствительности к антимикробным средствам, что и явилось целью нашего исследования.

Цель работы

Изучение видового состава и биологических свойств микроорганизмов, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях (пиометра, отит, конъюнктивит) собак.

Материалы и методы

Объектами для исследования послужили 16 собак с закрытой формой пиометры, по шесть – с отитом и конъюнктивитом. Выделение микроорганизмов и определение у них гемолитической активности проводили на 5 % кровяном агаре [5, 7, 8]. Идентификацию микроорганизмов до рода и вида осуществляли при помощи аппарата Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция). Антилизоцимную активность (АЛА) определяли фотометрическим методом [1].

В работе были использованы антибиотики следующих групп: β-лактамы (бензилпенициллин, ампициллин, оксациллин, имипенем, эратпенем), фторхинолоны (ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), амфениколы (хлорамфеникол), аминогликозиды (гентамицин, амикацин, тобрамицин), цефалоспорины (цефуроксим, цефтазидим, цефокситин, цефтриаксон, цефепим), линкозамиды (клиндамицин), тетрациклины (тетрациклин), макролиды (эритромицин), гликопептиды (ванкомицин), ансамицины (рифампицин) и антибактериальные средства: сульфаниламиды (триметоприм) и нитрофураны (нитрофурантоин). Чувствительность к антибиотикам выделенных микроорганизмов определяли с помощью аппарата Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция).

Результаты и обсуждение

При изучении видового разнообразия выделенных микроорганизмов при данных гнойно-воспалительных заболеваниях установлено, что наиболее частыми возбудителями при пиометре являлись представители семейства *Enterobacteriaceae*, среди которых доминировала *E. coli* (31,3 %), реже встречались: *E. cloacae* (25 %), *E. aerogenes* (6,3 %), *M. morgani* (6,3 %), *S. plymuthica* (6,3 %). Кроме того, из исследуемого материала были выделены стафилококки следующих видов: *S. hominis* (6,3 %), *S. aureus* (6,3 %), *S. epidermidis* (6,3 %), *S. lentus* (6,3 %).

Наиболее частым возбудителем отитов явился *S. aureus* (66,7 %), *S. epidermidis* выделялся в 33,3 % случаев.

При конъюнктивитах в 75 % случаев были выделены *E. coli*, в 25 % случаев *Enterobacter agglomerans*.

Далее нами были изучены вирулентные (гемолитическая активность) и персистентные свойства (АЛА) выделенных штаммов. Было обнаружено, что штаммы, выделенные при отитах, способностью гемолизировать эритроциты не обладали. Среди всех видов микроорганизмов, выделенных при конъюнктивитах, способностью гемолизировать эритроциты характеризовались *E. coli* и *E. agglomerans*, причем для них был характерен α -гемолиз. Что же касается микроорганизмов, выделенных при пиометре, то способностью гемолизировать эритроциты характеризовалось большинство изученных штаммов, за исключением всех штаммов *E. aerogenes* и *S. epidermidis*, 20 % штаммов *E. coli*, 50 % – *E. cloacae*. Было установлено, что штаммы *M. morgani*, *S. lentus*, а также 60 % штаммов *E. coli*, 50 % – *E. cloacae* обладали β -гемолизом. Для 20 % штаммов *E. coli* и всех штаммов *S. plymuthica*, *S. hominis*, *S. aureus* был характерен α -гемолиз.

На следующем этапе при изучении АЛА микроорганизмов, выделенных при данных заболеваниях, отмечено, что способностью инактивировать лизоцим обладали все изученные микроорганизмы. Установлено, что среди всех микроорганизмов, выделенных при отитах, наиболее высокими значениями АЛА обладали штаммы *S. epidermidis* со средним значением признака равным $1,9 \pm 0,02$ мкг/мл, а у *S. aureus* – $1,5 \pm 0,2$ мкг/мл. При конъюнктивитах средние значения АЛА штаммов *E. coli* составляли $1,5 \pm 0,2$ мкг/мл, а у *E. agglomerans* – $1,04 \pm 0,01$ мкг/мл.

Что касается микроорганизмов, выделенных при пиометре, то наиболее высокими значениями АЛА обладали штаммы *E. coli* со средним значением признака, равным $1,6 \pm 0,04$ мкг/мл, способность инактивировать лизоцим убывала в ряду *S. lentus* – $1,5 \pm 0,01$ мкг/мл, *S. aureus* – $1,3 \pm 0,02$ мкг/мл, *M. morgani* – $1,3 \pm 0,1$ мкг/мл, *E. aerogenes* – $1,1 \pm 0,04$ мкг/мл, *S. hominis* – $1 \pm 0,01$ мкг/мл, *E. cloacae* – $0,9 \pm 0,8$ мкг/мл, *S. plymuthica* – $0,5 \pm 0,1$ мкг/мл, *S. epidermidis* – $0,2 \pm 0,01$ мкг/мл.

Далее мы изучили отношение выделенных штаммов к антибиотикам и антимикробным препаратам. При изучении антибиотикорезистентности было установлено, что *S. aureus*, выделенные при пиометре, резистентны к β -лактамам пенициллинового ряда в 33 % случаев и к аминогликозидам в 100 % случаев; при этом все штаммы чувствительны к фторхинолонам, эритромицину, клиндамицину, рифампицину, в 67 % случаев β -лактамам пенициллинового ряда. Штаммы коагулазоотрицательных стафилококков (КОС): *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. lentus* были резистентны к β -лактамам пенициллинового ряда в 33 % случаев, фторхинолонам в 27 % случаев, эритромицину в 17 % случаев, ванкомицину в 83 % случаев, рифампицину в 17 % случаев; изученные штаммы были чувствительны к аминогликозидам, тетра-

циклину, клиндамицину, в 83 % случаев к эритромицину и рифампицину, β -лактамам пенициллинового ряда в 67 % случаев, фторхинолонам в 73 % случаев, ванкомицину в 17 % случаев.

Штаммы *E. coli* проявляли устойчивость к фторхинолонам и β -лактамам пенициллинового ряда в 40 % случаев; и соответственно были чувствительны к фторхинолонам в 60 % случаев, цефалоспорином в 84 % случаев, карбопенемам в 90 % случаев, β -лактамам пенициллинового ряда в 40 % случаев, тетрациклину и хлорамфениколу в 100 % случаев.

У других представителей сем. *Enterobacteriaceae* (*E. cloacae*, *E. aerogenes*, *M. morgani*, *S. plymuthica*) была выявлена резистентность к цефалоспориному в 30 % случаев, карбопенему в 33 % случаев, β -лактамам пенициллинового ряда и хлорамфениколу в 17 % случаев. К цефалоспорином были чувствительны в 60 % случаев, β -лактамам карбопенема и пенициллинового ряда в 67 % случаев, фторхинолонам и хлорамфениколу в 83 % случаев, тетрациклину в 100 % случаев.

S. aureus, выделенные при отитах, были резистентны к аминогликозидам в 50 % случаев и β -лактамам пенициллинового ряда в 15 % случаев; все штаммы были чувствительны к фторхинолонам, клиндамицину, эритромицину, тетрациклину, рифампицину, к β -лактамам пенициллинового ряда в 85 % случаев, ванкомицину – 50 % случаев.

Среди КОС, выделенных при отитах, резистентных штаммов выявлено не было, все штаммы были чувствительны к фторхинолонам, эритромицину, клиндамицину, ванкомицину, тетрациклину, рифампицину, к β -лактамам пенициллинового ряда в 67 % случаев.

Все штаммы *E. coli*, выделенные при конъюнктивитах, проявляли резистентность к β -лактамам пенициллинового ряда, а чувствительность к фторхинолонам, цефалоспорином, хлорамфениколу, к β -лактамам карбопенема (84 %), тетрациклину (67 %).

Среди других представителей сем. *Enterobacteriaceae* была отмечена устойчивость всех штаммов к хлорамфениколу и абсолютная чувствительность к цефалоспорином, тетрациклину, β -лактамам карбопенема и пенициллинового ряда.

Все штаммы *E. coli*, выделенные при пиометре, были чувствительны к нитрофурантоину, тогда как выделенные при конъюнктивитах в 67 % случаев. Другие представители сем. *Enterobacteriaceae*, выделенные как при пиометре, так и при конъюнктивитах в 100 % случаев были чувствительны к данному препарату.

Штаммы *E. coli*, а также другие представители сем. *Enterobacteriaceae*, выделенные при конъюнктивитах, были чувствительны к триметоприму. Тогда как *E. coli*, выделенные при пиометре, проявляли чувствительность в 80 % случаев, а другие представители сем. *Enterobacteriaceae* в 83 % случаев.

Все штаммы *S. aureus*, выделенные как при пиометре, так и при отитах, оказались чувствительными к нитрофурантоину и триметоприму. Все штаммы КОС при пиометре и при отитах проявляли чувствительность к триметоприму. КОС, выделенные при пиометре, в 100 % случаев характеризовались чувствительностью к нитрофурантоину, тогда как штаммы КОС, выделенные при конъюнктивитах, были умеренно-устойчивыми к данному препарату.

Подводя итог проделанной работе, следует заключить, что доминирующими видами при пиометре и конъюнктивитах явились штаммы *E. coli*, при отитах – *S. aureus*. При конъюнктивитах все микроорганизмы характеризовались α -гемолизом и способностью инактивировать лизоцим, тогда как штаммы, выделенные при отитах, гемолитической активностью не обладали, но при этом обладали самыми высокими значениями АЛЖ.

Микроорганизмы, выделенные при пиометре, обладали не только способностью гемолизировать эритроциты (α - и β -гемолиз), но и АЛЖ, что может свидетельствовать о высоком вирулентном и персистентном потенциале данных штаммов.

При отитах все выделенные микроорганизмы проявляли чувствительность к ципрофлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину, клиндамицину, эритромицину, ванкомицину, тетрациклину, рифампицину, при конъюнктивитах – к цефалоспоринолу. Большинство штаммов, выделенных при пиометре, были чувствительны к тетрациклину и клиндамицину, что позволяет рекомендовать данные препараты для использования в ветеринарной практике.

Вместе с тем отмечена абсолютная резистентность *S. aureus*, выделенных при пиометре, к аминогликозидам; *E. coli*, выделенных при конъюнктивитах, к β -лактамам пенициллинового ряда; представителей сем. *Enterobacteriaceae* к хлорамфениколу.

Таким образом, в результате проведенной работы определен таксономический спектр бактериальных патогенов с определенными доминирующими видами микроорганизмов с их биологическими свойствами, представлен региональный регистр антибиотикорезистентности и чувствительности к изученным антимикробным препаратам. Полученные данные могут быть использованы при выборе эффективных препаратов для терапии изученных гнойно-воспалительных заболеваний.

Список литературы

1. Бухарин О. В. Персистенция патогенных бактерий. – М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 1999. – 366 с.
2. Иванов Н. С., Храмов Ю. В. Болезни глаз домашних и сельскохозяйственных животных. – Оренбург: ОГАУ, 2009. – 148 с.

3. Кашин А. В. Болезни органов чувств у животных и оказание им помощи // Животноводство. – 1994. – №5. – С. 24-25.
4. Саженева, Е. В. Биологические свойства микроорганизмов, выделенных при синдроме эндометрит-пиометры у собак: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2005. – 20 с.
5. Скала Л. З., Сидоренко С. В., Нехорошева А. Г. Практические аспекты современной клинической микробиологии. – Тверь: Триада, 2004. – 312 с.
6. Старченков С. В. Болезни собак и кошек. – Санкт-Петербург: Специальная Литература, 2006. – 361 с.
7. Шуляк Б. В. Руководство по бактериальным инфекциям собак. Т. 1. Грамположительные бактерии. – М.: ОЛИТА, 2003. – 544 с.
8. Шуляк Б. В. Руководство по бактериальным инфекциям собак. Т. 2. Грамотрицательные бактерии. – М.: ОЛИТА, 2003. – 608 с.

Рецензенты:

Гриценко Виктор Александрович, д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточного симбиоза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской Академии наук (ИКВС УрО РАН), г. Оренбург.

Карташова Ольга Львовна, д.б.н., профессор, зав. лабораторией механизмов и регуляции персистенции бактерий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской Академии наук (ИКВС УрО РАН), г. Оренбург.