

О.І. Касяненко, Т.І. Фотіна

ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ CAMPYLOBACTER JEJUNI ДО АНТИБІОТИКІВ ДИСКО- ДИФУЗІЙНИМ МЕТОДОМ

Сумський національний аграрний університет

Рецензент – доктор ветеринарних наук Кассіч В.Ю.

Ключові слова: *антибіотики, антибактеріальні препарати, антимікробна чутливість, бактерії, диски з антибіотиками, живильні середовища, зона затримки росту, культивування, мікроорганізми, метод дифузії в агар, тест, чутливість мікроорганізмів.*

Вступ. Ефективність лікування бактеріальних інфекцій у тварин та птиці визначається раціональністю та обґрунтованістю застосування антибіотиків. Вчені-бактеріологи відзначають широке розповсюдження серед мікробної популяції антибіотикорезистентних штамів та множинну опірність більшості збудників бактеріальних інфекцій до традиційних антимікробних засобів. Тому визначення чутливості бактерій до дії антибактеріальних препаратів має важливе значення [2, 4, 6].

Серед методів визначення антимікробної чутливості мікроорганізмів у мікробіологічних лабораторіях найчастіше застосовують метод дифузії в агар з використанням дисків з антибіотиками. Цей метод дозволяє встановити лише факт чутливості чи резистентності збудника до антимікробного агента. Він є доступнішим та простим у виконанні, і за його допомогою можна відносно швидко та достовірно встановити чутливість виділеного збудника до широкого спектру антибіотиків. Достовірні результати антимікробної чутливості мікроорганізмів роду *Campylobacter* за допомогою диско-дифузійного методу можна отримати лише у випадку дотримання всіх умов постановки тесту: спектр поживних середовищ, які можна використовувати для визначення антимікробної чутливості даних бактерій, посівна доза бактерій (впливає значення рН середовища), контроль якості середовищ і дисків з антибіотиками [1, 5-8].

Метою роботи було дослідити придатність середовищ для визначення чутливості кампілобактерій до антибіотиків диско-дифузійним методом та вивчити чутливість мікроорганізмів *Campylobacter jejuni* до антибактеріальних препаратів.

Матеріали і методи досліджень. Використовували комерційне поживне середовище *Campylobacter Agar Base M 994* фірми „Hi Media” (Індія), МПА та поживне середовище для культивування кампілобактерій до складу якого входить 0,5% (5,0 г/л) рістзабезпечуючої домішки сукцинату натрію. Розплавлені та охолоджені до температури 48-50 °С середовища розливали у чашки Петрі, діаметром 90 мм, у кількості 15 мл. Для контролю стерильності середовищ чашки поміщали на 24 години в термостат при температурі 37 °С. В якості тест-мікроорганізму використовували *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* C.2008. При визначенні діаметрів затримки росту тест-культури використовували диски з наступними антибіотиками: левоміцитін (лев), амоксицилін (амо), гентаміцин (ген), норфлуксацин (нор), рифампіцин (риф), еритроміцин (ери), триметоприм (трм), тетрациклін (тет), лінкоміцин (лін), цефазолін (цфз), пеніцилін (пен), ципрофлоксацин (цип), цефтріаксоном (цфа), стрептоміцин (стр), цефалексин (цфл) виробництва ТОВ «Аспект», Серія 32 (Україна). Результати оцінювали за діаметрами зон затримки росту тест-мікроорганізму навколо дисків, виміряних з точністю до 1 мм. Мікробну суспензію готували за оптичним стандартом мутності 5 ОД ГІСКУ імені Тарасевича. Бактеріальні зависі вносили в кількості 1-2 мл та рівномірно розподіляли по поверхні середовищ, надлишок суспензії видаляли піпеткою. Поверхні засіяних середовищ підсушували при кімнатній температурі протягом 10-15 хвилин. На кожен агарову пластину накладали по 5 дисків з антибіотиками. Чашки інкубували в термостаті протягом 24 годин при температурі 37 °С. Дослідження проводили паралельно на всіх середовищах у трьох повторностях.

Для дослідження придатності середовищ *Campylobacter Agar Base M 994* фірми „Hi Media” (Індія), МПА та модифікованого поживного середовища для культивування кампілобактерій з 0,5% рістзабезпечуючою домішкою – сукцинат натрію для визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів використовували мікроорганізми *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* C.2008., а в якості антибактеріального препарату — диски з еритроміцином. Готування чашок з середовищами та мікробної суспензії, накладання дисків та інкубацію чашок проводили аналогічно. Кожна постановка тесту на антимікробну чутливість супроводжувалася контролем якості середовища та дисків з антибіотиками.

Результати досліджень та їх обговорення. У табл. 1 наведені результати порівняльного визначення чутливості *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* C.2008 навколо диску з еритроміцином диско-дифузійним методом з використанням середовищ *Campylobacter Agar Base M 994* фірми „Hi Media”, поживного середовища для кампілобактерій з 0,5% сукцинатом натрію та м'ясо-пептонного агару МПА. Як впливає з результатів, наведених у табл. 1, на середовищах *Campylobacter Agar Base M 994* фірми „Hi Media” та

щільному поживному середовищі для кампілобактерій з 0,5% сукцинатом натрію відмічено затримку росту тест-культур, отримані чітко окреслені зони інгібіції відповідних розмірів. Це можна пояснити відповідністю складу середовища *Campylobacter Agar Base M 994* фірми „Hi Media” та щільного поживного середовища для кампілобактерій з 0,5% вмістом рістзабезпечуючої домішки сукцинату натрію вимогам Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) до поживних середовищ для визначення антимікробної чутливості мікроорганізмів, оскільки, вміст катіонів Ca_2^+ , Mg_2^+ у даних середовищах відповідає рекомендаціям ВООЗ і становить, відповідно, <50 ; <25 мг/л.

Таблиця 1

Чутливість *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* C.2008 навколо диску з еритроміцином при використанні різних середовищ, мм

Мікроорганізми	Середовища		
	<i>Campylobacter Agar Base M 994</i> фірми „Hi Media”	Поживного середовище для кампілобактерій з 0,5% сукцинатом натрію	МПА
<i>Campylobacter jejuni</i> spp. <i>jejuni</i> C.2008.	25±02	25±03	відсутність ознак росту мікроорганізмів

Слід зазначити, що в чашках Петрі з МПА через 24 години культивування в термостаті при температурі 37°C росту культур не виявили як дослідних чашках (з дисками антибіотиків), так і в контролі. Дані, наведені у таблиці 1, свідчать, що незалежно від середовища розміри зон затримки росту досліджуваних ізолятів *Campylobacter j.* відповідали діапазонам контролю якості для даного референтного штаму мікроорганізму.

Результати визначення чутливості ізолятів *Campylobacter jejuni* до антибіотиків з використанням різних середовищ, засіяних бактеріальною суспензією, наведені у табл. 2.

Ізоляти *C. jejuni* високочутливі були до еритроміцину та левоміцетину. Чутливість ізолятів кампілобактерій виявлено до гентаміцину, норфлуксацину, лінкоміцину, ципрафлуксацину, стрептоміцину, цефалексину. До амоксициліну, рифампіцину, тетрацикліну, пеніциліну, цефтріаксону та цефазоліну досліджувані культури були слабо чутливі (табл. 2).

Результати визначення чутливості ізолятів *Campylobacter*
jejuni spp. *jejuni* до антибактеріальних препаратів (n=5) $M \pm m$

Антибактеріальні препарати	Діапазон контролю якості	Campylobacter Agar Base M 994 фірми „Hi Media”	Поживного середовище для кампілобактерій з 0,5% сукцинатом натрію
Левоміцитін (лев)	26,0-27,0	26,0±0,2	27±0,3
Амоксицилін (амо)	9,0-11,0	9±0,7	9±0,3
Гентаміцин (ген)	14,0 -16,0	15 ±0,2	15 ±0,3
Норфлуксацин (нор)	19-22	21±0,3	20±0,3
Рифампіцин (риф)	7,0-9,0	8±0,2	9,0±0,1
Ерітроміцин (ери)	24-26	25±0,2	25±0,3
Тетрациклін (тет)	8,0±9,0	9±0,1	8,0±0,2
Лінкоміцин (лін)	19,0-21,0	20±0,2	21±0,1
Цефазолін (цфз)	11,0±14,0	11±0,2	11±0,7
Пеніцилін (пен)	7,0-10,0	8±0,5	8,0±0,1
Ципрофлоксацин (цип)	19,0-21,0	21±0,2	20±0,1
Цефтріаксоном (цфа)	8,0-11,0	9±0,1	9,0±0,3
Стрептоміцин (стр)	17,0-19,0	18±0,2	18±0,3
Цефалексин (цфл)	15,0-16,0	15±0,3	16,0±0,2

Примітка: (0) мікроорганізми не чутливі до даного антибіотика.

Різниця у діаметрах зон інгібіції росту культури при проведенні тесту на її антимікробну чутливість з використанням середовищ *Campylobacter* Agar Base M 994 фірми „Hi Media” (Індія) та модифікованого поживного середовище для культивування кампілобактерій з 0,5% сукцинату натрію достовірно невірогідні ($P < 0,5$), що свідчить про можливість застосування обох середовищ для дослідження чутливості мікроорганізмів до антибіотиків.

Висновки:

- Чутливість *Campylobacter* spp. зареєстровано до гентаміцину, норфлуксацину, лінкоміцину, ципрофлоксацину, цефалексину та стрептоміцину.
- Високу чутливість ізолятів зареєстровано до еритроміцину та левоміцетину; малу чутливість досліджувані культури проявляли до амоксициліну, рифампіцину, тетрацикліну, цефазоліну, пеніциліну, цефтріаксоному.
- Середовище МПА не рекомендуємо використовувати для визначення чутливості мікроорганізмів роду *Campylobacter* до антибактеріальних препаратів.

Література.

1. Методика визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень / Державний науково-контрольний інститут ветеринарних препаратів а кормових добавок; редкол.: М.В. Косенко [та ін.]. – Київ, 2003. – 6 с.
2. Авдеева А.В. Проблема резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / А.В. Авдеева // Лабораторная диагностика. — 1998. — № 3(5). — С. 35-38.
3. Определитель бактерий Берджи / Дж. Хоулт [и др.];. Под. общ. ред. Дж. Хоулта. — Т.1. — Москва: Мир, 1997. — С. 61-64.
4. Тараненко Л.А. / Кампилобактериоз и чувствительность *Campylobacter* к антибиотикам / Л.А. Тараненко // Антибиотики и химиотерапия. — 1988. - №11. — С.862-867.
5. Avrain L. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers / L. Avrain, F. Humbert, R. L'Hospitalier, P. Sanders // Brit. Poultry Science. — 2001. - Vol. 42, № 3. — P. 32–33.
6. Boothe D.M. Principles of Antimicrobial Therapy / D.M Boothe // Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. — 2006. — Vol.36, № 5. — P. 1003-1047.
7. Kardos G. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* species in broilers, eggs, chicken abattoir and human samples in a Hungarian county / G Kardos, J. Mészáros, Z. Galántai, I. Turcsányi [and all.] // International Journal of Antimicrobial Agents. — 2007. — Vol. 29, № 2. — P. 344.
8. Lee C.-Y. Occurrence of plasmids and tetracycline resistance among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from whole market chickens and clinical samples / C.-Y. Lee, C.L. Tai, S.-C. Lin, U.Y.-T Chien // Food Microbiological. — 1994. — Vol. 24, № 2. — P. 161–170.

УДК 619.5:6616-085.636.5

Визначення чутливості мікроорганізмів *Campylobacter jejuni* до антибіотиків диско-дифузійним методом

*В статті наведені і проаналізовані результати досліджень щодо вивчення особливостей визначення чутливості мікроорганізмів *Campylobacter jejuni*, які вперше було ізольовано із м'яса птиці, до антибіотиків диско-дифузійним методом. Встановлено антибіотики, до яких досліджувані культури мали високу та середню чутливість, а також були резистентні. Враховуючи культуральні властивості даних мікроорганізмів та особливості їх культивування були проведені дослідження щодо можливості використання поживних середовищ для визначення чутливості мікроорганізмів роду *Campylobacter* до антибіотиків диско-дифузійними методом.*

Ключові слова: антибіотики, антибактеріальні препарати, антимікробна чутливість, бактерії, диски з антибіотиками, живильні середовища, зона затримки росту, культивування, мікроорганізми, метод дифузії в агар, тест, чутливість мікроорганізмів.

УДК 619.5:6616-085.636.5

Определение чувствительности микроорганизмов *Campylobacter jejuni* к антибиотикам диско-дифузионным методом

*В статье представлены и проанализированные результаты исследований относительно изучения особенностей определения чувствительности микроорганизмов *Campylobacter jejuni*, которые были изолированы из мяса птицы, к антибиотикам диско-дифузионным методом. Впервые установлены антибиотики, к которым исследуемые культуры имели высокую и среднюю чувствительность, а также были резистентны. Учитывая культуральные свойства данных микроорганизмов и особенности их культивирования были проведены исследования относительно возможности использования питательных сред для определения чувствительности микроорганизмов рода *Campylobacter* к антибиотикам диско-диффузийным методом.*

Ключевые слова: антибиотики, антибактериальные препараты, антимикробная чувствительность, бактерии, диски с антибиотиками, питательные среды, зона задержки роста, культивирование, микроорганизмы, метод диффузии в агар, тест, чувствительность микроорганизмов.

УДК 619.5:6616-085.636.5

Determination of sensitiveness of microorganisms of *Campylobacter jejuni* to the antibiotics by a disk-diffuse method

*In the article resulted and analysed results of researches in relation to the study of features of determination of sensitiveness of microorganisms of *Campylobacter jejuni*, which it was first isolated from meat of bird, to the antibiotics by a disk-diffuse method. Antibiotics to which the explored cultures had high and middle sensitiveness are set, and also were resistance. Taking into account cultural properties of these microorganisms and feature of their cultivation in the article the results of researches are resulted in relation to possibility of the use of nourishing environments for determination of antimicrobial sensitiveness of microorganisms of sort of *Campylobacter*.*

Keywords: antibiotics, antibacterial preparations, antibiotic sensitivity, bacteria, disks with antibiotics, nutrient medium, area of delay of growth, cultivation, microorganisms, a disk-diffuse method, test.