

ОСТАННІ НАДХОДЖЕННЯ

УДК 619:616.98:579.869.1

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ БАКТЕРІЙ РОДУ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ДО ЦЕФТІОКУРА

Ю.Є. ДВОРСЬКА, к.вет.н., доцент, Сумський НАУ

Метою дослідження було вивчення бактерицидної активності антибіотика групи цефалоспоринових антибіотиків третього покоління «Цефтіокура» щодо лістерій. Встановлено, що найменший ступінь розведення препарату "Цефтіокур", що має бактерицидні властивості по відношенню до циркулюючих штамів *L.monocytogenes*, ізольованих із м'яса птиці складає 1:100.

Ключові слова: лістерія, «Цефтіокур», чутливість, антибіотики.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Лістеріоз є зооантропонозною інфекцією з природною стійкою вогнищевістю, що перебігає з ураженням практично всіх систем організму, має суттєвий вплив на нервову, імунну та ендокринну системи. Захворювання спричиняє серйозні соціальні та економічні збитки через загибель тварин, аборти, зниження продуктивності, вибраковування продукції, вилучення з продажу продуктів, контамінованих *Listeria monocytogenes*, обмеження їх ввезення та вивезення, призупинення виробництва, що оцінюється у сотні мільйонів доларів [1].

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. В 2010 році в країнах ЄС було зареєстровано 1601 випадки захворювання людини на лістеріоз, що на 3,2% нижче в порівнянні з 2009 роком. При цьому показник склав смертності складав 17% від загальної кількості випадків захворювання на лістеріоз [6].

В Україні понад 70% зареєстрованих інфекційних хвороб проявляються груповими захворюваннями, пов'язаними з вживанням в їжу недоброякісних (контамінованих патогенними видами лістерій) харчових продуктів [3].

Майже всі види домашніх тварин чутливі до збудника лістеріозної інфекції, а найбільш сприйнятливими є вівці, свині, велика рогата худоба, птиця. Розвиткові даного захворювання сприяє порушення санітарно-гігієнічних правил утримання, транспортування та експлуатації тварин, що призводить до змін фізіологічних потреб та адаптаційних можливостей їх організму [2].

Збудник - рухома неспорутворюючих грам-положительная паличка *Listeria monocytogenes* - типовий вид роду *Listeria*. Може утворювати капсулу, трансформуватися в L-форми і паразитувати всередині клітин, обумовлюючи повільне латентне розвиток інфекції. Лістерії - мікроаерофіли, невибагливі й ростуть на звичайних середовищах навіть при кімнатній температурі. Мають набір соматичних і джутикових антигенів, що дозволяє виділити серед них 7 основних сероварів, багато з яких підрозділяються на підтипи. Найбільш поширені лістерії 1-4-го сероварів. Бактерії є вираженими сапрофіти і високоустойчиві у зовнішньому середовищі. Добре переносять низькі

температури, як психрофільні мікроорганізми здатні розмножуватися при 4-6 ° С в різних об'єктах (грунті, воді, на рослинах, в трупах і харчових продуктах). Чутливість лістерії до відомих антибіотиків є різною в залежності від штаму та групи антибактеріальних препаратів [5]. Останнім часом спостерігаються випадки резистентності бактерій до дії антибіотиків.

Постановка завдання. Метою роботи було вивчення бактерицидної активності антибіотика групи цефалоспоринових антибіотиків третього покоління «Цефтіокура» щодо лістерій.

Матеріал і методика дослідження. «Цефтіокур» належить до групи цефалоспоринових антибіотиків третього покоління і характеризується широким спектром бактерицидної дії відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій включаючи види, які продукують бета-лактамазу, а також окремих анаеробів, в тому числі: *Pasteurella (Mannheimia) haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus suis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides melaninogenicus (Porphyromonas assacharolytica)*, *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus spp.*, *Bordetella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Bacillus spp.*, *Proteus spp.* Механізм дії антибіотика полягає в пригніченні синтезу клітинної стінки бактерій.

Після парентерального введення, «Цефтіокур» швидко метаболізується з утворенням десфуроілцефтіофура, який володіє аналогічною бактерицидною дією. Цей метаболіт нестійко зв'язується з білками плазми і накопичується у вражених збудником ділянках тканин не знижуючи своєї активності навіть у некротизованих тканинах.

Після парентерального введення, його максимальне накопичення в плазмі крові сягає через одну годину і утримується на терапевтичному рівні до 24 годин в залежності від виду тварин. Виведення антибіотика та його метаболітів з організму тварин відбувається головним чином че-

рез нирки із сечею (55-70%) та фекаліями (біля 30 %).

Чутливість ізолятів *Listeria monocitogenes* до антибактеріального препарату «Цефтіокур» (НВП «Бровафарма») вивчали за методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі [4]. З цією метою використовували МПБ з рН 7,2-7,4. Для дослідження використовували основний розчин – нативний препарат. Концентрації препарату в пробірках на першому етапі досліджень готували методом послідовних десятикратних розведень. В ході досліджень використовували бульон Фрейзера для культивування лістерій та МПБ. Культури *Listeria monocitogenes*, що були ізольовані із тушок птиці, висівали на агар для культивування лістерій (PALCAM), інкубували у термостаті при 42° С 18-24 години. Із добових культур мікроорганізмів готували завись за оптичним стандартом до концентрації 500 млн. мікробних тіл в 1 мл зависі.

Приготування десятикратних розведення цефтикуру: в першу пробірку ряду вносили нативний препарат в кількості 10,0 мл. В другу і кожну наступну стерильну пробірку ряду вносили по 9,0 мл стерильного МПБ; в другу пробірку ряду вносили 1,0 мл нативного препарату і суміш старанно перемішали. Після цього 1,0 мл суміші з препаратом переносили із другої пробірки в третю і т.д. до 13 пробірки ряду включно. Чотирнадцята пробірка, яка не містить препарат, є контролем росту культури. Додатково робили висіви з МПБ для контролю якості поживного середовища.

Після приготування ряду розведень препарату у кожну з 14 пробірок додавали по 0,5 мл приготовленої зависі мікроорганізмів. Пробірки інкубували в термостаті за температури 37° С впродовж 20-24 години. Після цього проводили облік реакції. Переглядали вміст всіх пробірок. Відмічали наявність або відсутність в них росту мікроорганізмів. Бактеріостатичну концентрацію

встановлювали за схемою: концентрацію препарату в пробірці з відсутністю росту додавали до кількості препарату в 1 мл суміші подальшої пробірки, де відмічали ріст культури і виводили середнє арифметичне число, яке показувало мінімальну концентрацію препарату, який затримував ріст культур. Бактерицидну концентрацію визначали шляхом висіву з пробірок із відсутністю видимого росту на чашки Петрі з на агар для культивування лістерій (PALCAM) фірми "HiMedia". Інкубацію посівів проводили в термостаті за температури 37° С протягом 48 годин. За найменшу бактерицидну концентрацію приймали за концентрацію препарату в тій пробірці, крапля з якої не давала росту на чашці Петрі.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Встановлено, що найменший ступінь розведення препарату "Цефтіокур", що має бактерицидні властивості по відношенню до циркулюючих штамів *L.monocytogenes* складає 1:100 (табл. 1).

Підтвердження результатів отримали шляхом реізоляції культур при контрольному пересіві на чашки Петрі з агаром для культивування лістерій (PALCAM).

Результати визначення бактерицидної дії препарату "Цефтіокур" щодо ізолятів *L.monocytogenes* представлені на рис.1.

Встановлено, що препарат "Цефтіокур" має бактерицидну дію по відношенню до *Listeria monocitogenes*. В серії послідовних десятикратних розведень бактерицидну дію по відношенню до досліджуваних культур *L.monocytogenes* препарат проявляв в розведенні 1:100.

Перспективи подальших досліджень.

Нами планується проведення подальших досліджень дії антибактеріального препарату відносно інших патогенів, включаючи сальмонелу та кампілобактер.

Таблиця 1. Бактерицидні властивості препарату «Цефтіокур» відносно *L.monocytogenes*.

№ пробірки ряду	Ступінь розведення препарату	Дослід	Контроль		
			МПБ	агар для культивування лістерій (PALCAM)	<i>L.monocytogenes</i> + МПБ
1	нативний препарат	–	–	–	+
2	1×10 ¹	–	–	–	+
3	1×10 ⁰	–	–	–	+
4	1×10 ⁻¹	–	–	–	+
5	1×10 ⁻²	–	–	–	+
6	1×10 ⁻³	+	–	–	+
7	1×10 ⁻⁴	++++	–	–	+
8	1×10 ⁻⁵	++++	–	–	+
9	1×10 ⁻⁶	++++	–	–	+
10	1×10 ⁻⁷	++++	–	–	+

Примітка: 1. "–" – ріст колоній лістерій відсутній; 2. "+" – ріст від 10 до 30 колоній бактерій на поверхні поживного середовища; 3. "++++" – ріст більше ніж 50 колоній бактерій на поверхні поживного середовища.



Рис.1. Вивчення бактерицидних властивостей препарату «Цефтіокур» - відсутність росту лістерій при розведенні до 1:10

Висновки.

1. Антибіотик групи цефалоспоринів третього покоління «Цефтіокур» має виражену бактерицидну дію по відношенню до циркулюючих штамів *Listeria monocitogenes*, ізольованих із м'яса птиці.

2. В серії послідовних десятикратних розведень бактерицидну дію по відношенню до досліджуваних культур *L.monocitogenes* препарат проявляв в розведенні 1:100.

Список використаної літератури:

1. Бондар (Гаркавенко) Т. О. Роль лістерій у патології тварин і людини / Т. О. Бондар (Гаркавенко) // Ветеринарна біотехнологія. – 2005. – № 7.– С. 13–17.
2. Ковтун В.А., Ушкалов В.О., Виговська Л.М., Мачуський О.В. Епізоотична та епідеміологічна характеристика лістеріозу / В.А. Ковтун і др.// Ветеринарна Медицина України – 2012. - № 6(196) – С.11-15.
3. Красовский В.В. Итоги пятилетнего изучения листериоза на Украине
4. [Текст] / В.В. Красовский и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2000. – № 3. – С. 80–85
5. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине. Справочное пособие / А.Н.Головка, В.А.Ушкалов, В.Г.Скрыпник, Б.Г.Стегний и др.; Под ред. А.Н.Головка – Х. «НТМТ» – 2007. – 512 с.
6. Aureli P, Ferrini AM, Mannoni V, et al. Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics. /Aureli et al.// Int J Food Microbiol - 2003. –Vol. 83:325–30.
7. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2010 [Text] // The EFSA Journal. – 2012; 10 (3):2597 – P. 133–160

Целью исследования было изучение бактерицидной активности антибиотика группы цефалоспориновых третьего поколения «Цефтиокура» относительно листерий. Установлено, что наименьшая степень разведения препарата "Цефтиокур", что обладает бактерицидными свойствами

ми по отношению к циркулирующим штаммам *L.monocytogenes*, изолированных из мяса птицы, составляет 1:100.

Ключевые слова: листерия, «Цефтиокур», чувствительность, антибиотики.

The aim of the study was to investigate the antibacterial activity of the cephalosporin antibiotic third generation "Tseftiokur" against Listeria. It was established that the lowest dilution of the drug "Tseftiokur", which has antibacterial properties against circulating strains of L.monocytogenes, isolated from poultry was 1:100.

Keywords: *Listeria*, "Tseftiokur", sensitivity, antibiotics.

Дата надходження в редакцію: 12.02.2013 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Т. І.Фотіна