

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КОРОВ, БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

Фирсов Г.М., кандидат ветеринарных наук, доцент

E-mail: firsovgm@yandex.ru

Ряднов А.А., доктор биологических наук, профессор

Ряднова Т.А., кандидат биологических наук, доцент

Морозова З.Ч., кандидат биологических наук, доцент

Будтуев О.В., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Волгоградский государственный аграрный университет»,

г. Волгоград, Россия

Аннотация. При изучении чувствительности к антибиотикам было установлено 3 788 штаммов стафилококка, 1 981 штамма стрептококка и 124 штамма кишечной палочки, выделенных от коров, больных маститом. Пробы молока были взяты на индивидуальных молочных фермах в Камышинском районе. В течение 6-летнего цикла исследования мы определили чувствительность выделенных бактерий к следующим антибиотикам: пенициллину, стрептомицину, тетрациклину, неомицину, ампициллину, амоксициллину и цефоперазону. Наибольшую чувствительность к цефоперазону проявили стрептококки (84,9-98,2% чувствительные штаммы) и амоксициллину (50,9-95,7%). Самый высокий процент чувствительности штаммов стафилококка был чувствительны к амоксициллину (со 100% в 2002 г. до 80,5% в 2006 г.) и к ампициллину (в среднем 92,3%). Кишечная палочка характеризовалась относительно низкой чувствительностью к исследуемым антибиотикам. Самый высокий процент чувствительности ее штаммов был к неомицину и стрептомицину (83,2 и 78,1% соответственно). Более того, штаммы кишечной палочки оказались 100% устойчивыми к пенициллину на протяжении всего периода исследования. В целом процент чувствительности штаммов к тестируемым антибиотикам значительно снизился, особенно в последний год наблюдений.

Ключевые слова: антибиотик, штамм, корова, мастит, чувствительность бактерий

ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF PATHOGENS ISOLATED FROM COWS WITH MASTITIS

Firsov G.M., candidate of veterinary sciences, associate professor

E-mail: firsovgm@yandex.ru

Ryadnov A.A., doctor of biological sciences, professor

Ryadnova T.A., candidate of biological sciences, associate professor



Morozova Z.Ch., candidate of biological sciences, associate professor
Budtuev O.V., candidate of agricultural sciences, associate professor
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
«Volgograd State Agrarian University», Volgograd, Russia

Annotation. When studying the sensitivity to antibiotics of 3788 strains of staphylococcus, 1981 strains of streptococcus and 124 strains of *Escherichia coli* isolated from cows with mastitis have been tested. Milk samples have been taken from individual dairy farms in Kamyshinsk district. During the 6-year study cycle, the authors have determined the sensitivity of isolated bacteria to the following antibiotics: penicillin, streptomycin, tetracyclines, neomycin, ampicillin, amoxicillin and cefoperazone. Streptococci (84.9-98.2% sensitive strains) and amoxicillin (50.9-95.7%) have shown the highest sensitivity to cefoperazone. The highest percentage of staphylococcus strains have been sensitive to amoxicillin (from 100% in 2002 to 80.5% in 2006) and to ampicillin (mean 92.3%). *E. coli* has been characterized by relatively low sensitivity to the studied antibiotics. The highest percentage of its strains has been sensitive to neomycin and streptomycin (83.2% and 78.1% respectively). What's more, *E. coli* has been found out to be 100% resistant to penicillin throughout the study period. In general, the percentage of strains sensitive to the tested antibiotics has decreased significantly, especially in the last year of observation.

Keywords: antibiotic, strain, cow, mastitis, bacterial susceptibility.

Мастит указывается многими авторами [1, 2, 4, 6] как одно из наиболее распространенных и дорогостоящих в лечении заболеваний молочного скота. Экономические потери связаны со снижением производства молока, его непригодностью для рынка в основном из-за льготного периода, снижением качества молока, затратами на лекарства и медико-ветеринарные услуги, а также дополнительными трудозатратами.

Терапия мастита у коров при реализации профилактических программ и новых методов лечения по-прежнему базируется преимущественно на применении антибиотиков, несмотря на многие негативные стороны их использования и не всегда удовлетворительную эффективность. Успех лечения мастита зависит от времени его возникновения, клинического течения заболевания, этиологического фактора, работоспособности иммунной системы и чувствительности бактерий к применяемым антибиотикам. Одна из причины



неэффективности лечения видится в иммунодепрессивном действии антибиотиков [7] и резистентности бактерий [6, 7]. Также одной из основных причин нечувствительности к антибиотикам является способность бактерий продуцировать β -лактамазу – фермент, нейтрализующий действие, например, пенициллинов и цефалоспоринов [6, 7].

В последние годы все более очевидной становится необходимость ограничения применения антибиотиков при лечении и профилактике болезней животных, что также относится к коровам, которые дают основное сырье для производства продуктов питания. Это выражается, в том числе, во введении все более жестких правовых норм в отношении остатков антибиотиков в тканях и молоке животных. Один из способов повышения эффективности терапии и профилактики мастита – подбор наиболее эффективных антибиотиков. Эффект может быть получен путем идентификации микроорганизма, вызывающего мастит, и определения его чувствительности к доступным антибиотикам. Эти исследования также могут быть полезны при лечении так называемых острых случаев, когда антибиотик вводят «вслепую» и для ограничения потерь в результате сохранения достаточно длительного льготного периода. Постоянно меняющаяся восприимчивость бактерий к антибиотикам оправдывает проведение мониторинговых исследований в этой области. Целью исследования было определение чувствительности к выбранным антибиотикам микроорганизмов, выделенных при клинических и субклинических формах мастита у коров.

Материал исследования составили 3 788 штаммов стафилококков, 1 981 штамм стрептококков и 124 штамма *E. coli*, выделенных от коров, больных маститом. Бактерии были выделены из проб молока в хозяйствах Камышинского района Волгоградской области в 2018-2023 гг. Воспалительный секрет собирали выездные ветеринарные врачи, согласно общепринятым правилам асептики, в стерильные пробирки в количестве около 2-4 мл, охлаждали и доставляли в лабораторию. Бактериологические исследования



проводились общепринятыми методами.

Чувствительность бактерий к антибиотикам оценивали методом диффузии на среде Мюллера-Хинтона по ТУ 9385-006-83805215-2008. В группу восприимчивых штаммов входят чувствительные и среднечувствительные штаммы. В исследовании использовались следующие бумажные диски Компании СИМАС (Россия, Москва): пенициллин (10 МЕ), стрептомицин (10 мкг), тетрациклин (30 мкг), неомицин (30 мкг), ампициллин (10 мкг), амоксициллин (10 мкг) и цефоперазон (30 мкг).

Результаты определения чувствительности стафилококков к избранным антибиотикам представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Чувствительность к избранным антибиотикам стафилококков, выделенных от больных маститом коров

Антибиотики	2001 г. (n = 695)		2002 г. (n = 701)		2003 г. (n = 562)		2004 г. (n = 460)		2005 г. (n = 570)		2006 г. (n = 800)		Итого (n = 3788)	
	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %
Пенициллин	80,3	19,7	90,0	10,0	74,4	15,6	67,0	33,0	61,4	38,6	53,4	46,6	71,1	28,9
Стрептомицин	95,2	4,8	98,6	1,4	98,0	2,0	89,1	10,9	72,6	27,4	34,7	65,3	81,4	18,6
Тетрациклин	79,4	20,6	71,3	18,7	58,9	41,1	52,4	47,6	61,9	38,1	33,9	66,1	59,4	40,6
Неомицин	95,7	4,3	99,4	0,6	95,2	4,8	95,0	5,0	89,6	10,4	50,9	49,1	87,6	13,4
Ампициллин	85,0	15,0	93,9	6,1	85,4	14,6	83,9	16,1	78,4	21,6	64,6	35,6	81,7	18,3
Амоксициллин	94,2	5,8	97,1	2,9	90,7	9,3	90,9	9,1	88,6	11,4	79,6	20,4	90,2	9,8
Цефоперазон	90,9	9,1	96,1	3,9	93,0	7,0	98,2	1,8	94,6	5,4	84,9	15,1	93,0	7,0

Содержащиеся в нем данные показывают, что в исследуемый период наиболее активным антибиотиком был цефоперазон (84,9-98,2% чувствительных штаммов) и амоксициллин (79,6-94,2%). Чувствительность к



неомицину была несколько ниже (50,9-95,7%).

Аналогичная эффективность ингибирование роста *in vitro*. У большинства стафилококков обнаружены ампициллин и стрептомицин (в среднем 81,7 и 81,4%). Показатели чувствительности к пенициллину варьировали от 53,4 до 90,0%. Наименее чувствительны штаммы к тетрациклину (в среднем 59,4%). Эффективность этого антибиотика снизилась с 79,4% чувствительных штаммов в 2018 г. до 33,9% в 2023 г.

Таблица 2 – Чувствительность к отдельным антибиотикам стрептококков, выделенных от больных маститом коров

Антибиотики	2018 г. (n = 111)		2019 г. (n = 404)		2020 г. (n = 390)		2021 г. (n = 351)		2022 г. (n = 365)		2023 г. (n = 360)		Итого (n = 1981)	
	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный %	стойкий %
Пенициллин	91,9	8,1	99,3	0,7	96,7	3,3	91,7	8,3	86,6	13,4	65,8	34,2	88,7	11,3
Стрептомицин	64,0	36,0	14,4	85,6	32,6	67,4	13,7	86,3	12,6	87,4	5,0	95,0	23,7	76,3
Тетрациклин	72,1	27,9	87,9	12,1	74,1	25,9	30,8	69,2	39,2	60,8	16,1	83,9	53,4	46,6
Неомицин	43,2	56,8	16,6	83,4	35,9	64,1	17,1	82,9	23,6	76,4	6,1	93,9	23,7	76,3
Ампициллин	94,6	5,4	99,3	0,7	98,5	1,5	98,0	2,0	88,5	11,5	75,0	25,0	92,3	7,7
Амоксициллин	98,2	1,8	100,0	0,0	98,7	1,3	98,0	2,0	89,0	11,0	80,5	19,5	94,1	5,9
Цефоперазон	68,0	32,0	96,4	3,6	99,4	0,6	99,1	0,9	94,0	6,0	77,5	22,5	89,1	10,9

Чувствительность к антибиотикам выделенных штаммов стрептококков представлена в таблице 2. Наибольшая эффективность в подавлении роста стрептококков *in vitro* у амоксициллина (от 100% в 2018 г. до 80,5% в 2023 г.). Столь же высокий процент чувствительных штаммов был обнаружен для ампициллина. Результаты чувствительности для цефоперазона и пенициллина были схожими и варьировались от 65,8 до 99,1%. Тетрациклин был явно менее



эффективен. Антибиотиками с наименьшей эффективностью оказались стрептомицин и неомицин (в среднем 76,3% резистентных штаммов).

Таблица 3 – Чувствительность к отдельным антибиотикам кишечной палочки, выделенной от больных маститом коров

Антибиотики	2018 г. (n = 24)		2019 г. (n = 15)		2020 г. (n = 23)		2021 г. (n = 5)		2022 г. (n = 15)		2023 г. (n = 42)		Итого (n = 124)	
	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %	чувствительный, %	стойкий, %
Пенициллин	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0
Стрептомицин	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	80,0	20,0	60,0	40,0	28,6	71,4	78,1	31,9
Тетрациклин	45,8	54,2	33,3	66,7	8,7	91,3	40,0	60,0	26,7	73,3	23,8	76,2	29,7	70,3
Неомицин	100,0	0,0	93,3	6,7	91,3	8,7	100,0	0,0	93,3	6,7	21,4	78,6	83,2	16,8
Ампициллин	41,7	58,3	60,0	40,0	60,9	39,1	60,0	40,0	46,7	53,3	40,5	59,5	51,6	48,4
Амоксициллин	70,8	29,2	80,0	20,0	78,3	21,7	60,0	40,0	80,0	20,0	54,8	45,2	70,6	29,4
Цефоперазон	80,0	20,0	82,5	17,5	81,8	18,2	100,0	0,0	93,3	6,7	73,8	26,2	71,5	28,5

Результаты определения чувствительности *E. coli* к выбранным антибиотикам представлены в таблице 3. Эти микроорганизмы в целом характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам *in vitro*. Относительно наибольшая эффективность действия в отношении этого микроорганизма отмечена у неомицина и стрептомицина (в среднем на 83,2 и 78,1% чувствительных штаммов). Однако в 2023 г. произошло резкое снижение доли штаммов кишечной палочки, чувствительных к этим антибиотикам, до 21,4% для неомицина и 28,6% для стрептомицина. Несколько меньшая эффективность отмечена у цефоперазона (в среднем 71,5% чувствительных штаммов) и амоксициллина (70,6%). В случае ампициллина и тетрациклина процент штаммов, устойчивых к этим антибиотикам, был явно выше и



колебался от 40 до 76,2%. Антибиотиком, к которому выделенные штаммы кишечной палочки оказались на 100% нечувствительными в течение всего периода исследований, был пенициллин. Как и в случае со стафилококками и стрептококками, так и в отношении бактерий *E. coli* в течение 6 лет наблюдалось отчетливое увеличение процента штаммов, устойчивых к антибиотикам.

Исследования чувствительности микроорганизмов, вызывающих воспаление молочной железы, показывают постоянные изменения процента штаммов, чувствительных к применяемым антибиотикам, которые периодически снижаются или увеличиваются в зависимости от фактора. Это подтверждается более ранними собственными наблюдениями [5] и другими авторами в России и за рубежом [3, 7].

По литературным данным и собственным наблюдениям в настоящее время на рынке отсутствует полностью эффективный антибиотик для лечения мастита у коров. В зависимости от фактора, вызывающего воспаление вымени, имеющиеся на рынке антибиотические препараты характеризуются разной эффективностью. Хотя оценка бактериальной чувствительности считается хорошим прогностическим параметром при терапии мастита, следует помнить, что применение антибиотика в соответствии с антибиотикопротипом не всегда гарантирует успех лечения.

Цефоперазон и амоксициллин показали наибольшую способность ингибировать рост *in vitro* в отношении всех выделенных бактерий. Это подтверждают и результаты, полученные другими авторами [3]. Высокая активность этих антибиотиков может быть связана с тем, что они были введены в интрамаммарную терапию относительно недавно и являются достаточно дорогими, а потому не очень часто используются в полевых условиях. Считается, что одним из условий приобретения резистентности является частота и распространенность применения антибиотиков в данной местности [1, 3]. Тетрациклин оказался наименее эффективным антибиотиком против всех бактерий.



В целом тестируемые антибиотики были более эффективны в отношении изолированных стафилококков и менее – в отношении стрептококков и грамотрицательных палочек. Аналогичная чувствительность к этим антибиотикам отмечалась и другими авторами [3, 6]. Чувствительность к антибиотикам также связана со способностью бактерий продуцировать β -лактамазу, что объясняет плохое действие β -лактамных антибиотиков, таких как пенициллины (100% резистентных штаммов) и ампициллины (48,4% резистентных штаммов) в группе *E. coli*.

Неомицин (83,2% восприимчивых штаммов) обладал неизменно высокой эффективностью против грамотрицательных бактерий, как и в предыдущих исследованиях [4]. Аналогичные наблюдения были сделаны и другими авторами [3, 6]

Анализируя результаты исследований, можно также заметить колебания процентного содержания бактерий, чувствительных к тем или иным антибиотикам. Считается, что причиной такого периодического повышения и потери чувствительности к антибиотикам может быть их различная интенсивность и частота применения в данной местности. Считается, что частый контакт микроорганизма со специфическим антибиотиком определяет повышение резистентности, а значит, и снижение эффективности лечения, особенно в ситуациях без проведения антибиотикограммы.

Исследования также показывают, что в большинстве случаев за шестилетний цикл исследований было зафиксировано значительное снижение процента штаммов, чувствительных к широко применяемым антибиотикам. Резкое снижение чувствительности испытуемых штаммов бактерий, особенно ярко проявляющееся в последний год исследований, в литературе не отражено. Следует предположить, что это, вероятно, могло быть результатом предыдущего неэффективного лечения антибиотиками. Материалом для исследования послужили в основном многократно леченные коровы. Дальнейшие исследования в этой области должны дать ответ, в каком



направлении будут идти изменения в чувствительности к антибиотикам.

Результаты, полученные в данном исследовании, указывают на желательность проведения непрерывных исследований по отслеживанию изменений восприимчивости изолированных бактерий, вызывающих мастит у коров. Это способствует правильному подбору соответствующих препаратов для лечения острых воспалений молочной железы, в частности, когда препараты следует вводить немедленно, не дожидаясь результатов определения чувствительности к антибиотикам (не менее чем через 48 часов). Знания по этому вопросу также могут быть полезны для эффективной защиты коровьего вымени антибиотиками, используемыми при сухом кормлении. Однако следует помнить, что даже самая высокая активность данного антибиотика в исследованиях *in vitro* не полностью гарантирует терапевтический успех *in vivo*. Помимо чувствительности к антибиотикам существует ряд других факторов, влияющих на эффективность лечения воспаления вымени.

Список источников

1. Взаимосвязь между количеством соматических клеток и патогенных микроорганизмов в коровьем молоке / Г. М. Фирсов, А. А. Ряднов, З. Ч. Морозова [и др.] // Аграрная Россия. 2023. № 7. С. 31-35. – DOI 10.30906/1999-5636-2023-7-31-35.
2. Определение наличия энтеротоксических стафилококков в сыром молоке на молочных фермах / Г. М. Фирсов, А. А. Ряднов, С. А. Акимова [и др.] // Аграрная Россия. 2023. № 2. С. 45-48. DOI 10.30906/1999-5636-2023-2-45-48.
3. Определение взаимосвязи возникновения мастита у коров с различным количеством лактаций / Ж. Ш. Ушакова, В. Д. Кочарян, М. А. Ушаков, А. В. Филатов // Известия НВ АУК. 2022. №1 (65). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-vzaimosvyazi-vozniknoveniya-mastita-u-korov-s-razlichnym-kolichestvom-laktatsiy> (дата обращения:



24.07.2023).

4. Этиологические факторы, являющиеся пищевыми возбудителями болезней человека, вызывающие маститы у коров в Волгоградской области / Г. М. Фирсов, Ю. Г. Фирсова, А. А. Ряднов [и др.] // Современные научные исследования в АПК: актуальные вопросы, достижения и инновации : материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции, пос. Персиановский, 22 дек. 2022 года : в 3 т. Том 2. Персиановский : ФГБОУ ВО "Донской государственный аграрный университет", 2022. С. 150-154.
5. Bakterielle Infektion des uteruslichts bei Rindern / E. A. Rezyapkina, M. V. Nistratova, G. M. Firsov [et al.] // Проблемы научной мысли. 2021. Vol. 4, No. 2. P. 45-47.
6. Use of a product based on wood vinegar of Eucalyptus clone I144 used in the control of bovine mastitis / B. A. da Silva [et al.] // Veterinary Microbiology. 2023. T. 279. C. 109.
7. Combating bovine mastitis in the dairy sector in an era of antimicrobial resistance: ethno-veterinary medicinal option as a viable alternative approach / D. J. Ajose [et al.] // Frontiers in veterinary science. 2022. T. 9. C. 800.

