

УДК 619:615.33

АЙШПУР О.Є., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: olenaayshpur@gmail.com,  
САПОН Н.В., e-mail: natalinochka@ukr.net,  
МУШТУК І.Ю., канд. вет. наук, e-mail: i-mushtuk@ukr.net,  
ЗОЦЕНКО І.А., e-mail: vet@ivm.kiev.ua,  
ШЕРЕМЕТ Н.О., e-mail: vet@ivm.kiev.ua  
Інститут ветеринарної медицини НААН

## ЧУТЛИВІСТЬ БАКТЕРІЙ РОДУ *PROTEUS* ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

В статті наведені дані щодо порівняльної характеристики чутливості ізолятів протей, який є збудником асоційованих бактеріозів, до антибактеріальних препаратів різних груп. Широке розповсюдження збудників є слідством частого та не завжди раціонального використання антибактеріальних препаратів одночасно з високою стійкістю протей до більшості з них. Розвиток стійкості бактерій до антибіотиків обмежує їх застосування, тому важливим у лікувальній практиці за будь-якого запального процесу в організмі тварини є необхідність використовувати данні щодо антибіотикорезистентності.

**Ключові слова:** бактерії, рід *Proteus*, ізоляти, резистентність, чутливість, антибіотики.

**Вступ.** В останні роки увага інфекціоністів зосереджена на так званих «нових» інфекціях, виникнення яких обумовлене нетрадиційними мікроорганізмами, особливе місце серед яких займає протейна інфекція.

Бактерії роду *Proteus* належать до умовно-патогенних мікроорганізмів, досить стійкі у зовнішньому середовищі, здатні зберігати життєздатність у слабких розчинах фенолу та інших дезінфектантах. Крім того, у них виявлена резистентність до багатьох антибіотиків. У природі бактерії роду *Proteus* широко розповсюджені у водоймах, стічних водах, ґрунті, на поверхні овочів, в органічних речовинах, що розкладаються. Ці мікроорганізми є сапрофітними, нерідко живуть на шкірі, слизових оболонках, кишечнику людини й тварин.

Результати дослідницьких робіт з вивчення біології протей за останні роки, свідчать про їхню етіологічну за виникнення різних запальних та гнійних процесів в організмі тварин [1–3]. До того ж бактерії роду *Proteus* утворюють асоціації з патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, збільшуючи їх негативну дію на макроорганізм. Більшість науковців стверджують, що протей впливає на зростання токсичних властивостей інших збудників інфекційного процесу, знижує активність фагоцитозу, інгібує дію антибіотиків та підвищує стійкість до них асоційованих мікроорганізмів. Проте механізми цих явищ до цього часу залишаються вивченими недостатньо [4–6].

Бактерії роду *Proteus* вражують травний канал, органи дихання, слуху, сечовивідні шляхи, нервову систему та ін.

За систематичним положенням протеї належить до сімейства *Enterobacteriaceae*, роду *Proteus* та мають 4 види: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri* та *Proteus myxofaciens*. Деякі з них відносять до патогенних бактерій, хоча протей вважається умовно-патогенним мікроорганізмом.

Протей вперше був виділений Хаузером в 1885 р. За морфологічними ознаками це грам-негативні палички. В мазках розташовуються парно або ланцюжками, спор і капсул не утворюють, рухливі, добре ростуть на звичайних живильних середовищах.

Необхідно відзначити, що паличка протeya в асоціації з іншими патогенними збудниками спричиняє ускладнення хвороботворного процесу та важкий його перебіг. Доведено, що проникнення палички протeya з кишечника в кров спричиняють його ушкодження або присутність інших патологічних процесів в організмі. Тому, вивчення питань щодо застосування ефективних антибактеріальних препаратів за асоційованих бактеріозів різних видів тварин із участю бактерій роду *Proteus* є досить актуальним нині.

**Мета роботи.** Провести дослідження чутливості бактерій роду *Proteus*, ізолюваних із біоматеріалів прижиттєво від хворих та загиблих тварин до антимікробних препаратів.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проведено в лабораторії бактеріальних хвороб тварин та контролю ВІЗ Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України. Для тестування використані культури мікроорганізмів роду *Proteus*, ізолювані з біоматеріалів прижиттєво від хворих та від загиблих тварин. Морфологічні, культуральні, біохімічні та патогенні властивості виділених культур мікроорганізмів визначали за загальноприйнятими в мікробіології методиками з використанням звичайних та селективних живильних середовищ.

Для виділення культур протейів використовували середовища Ендо, Плоскірєва, Левіна та ін. З метою виявлення роящих Н-форм бактерій роду *Proteus* посів робили у конденсаційну рідину у пробірці з МПА, де спостерігався повзучий ріст колоній по стовпчику агару. Нероящі (О-форми) бактерій виявляли шляхом посіву культур на середовище Плоскірєва. При цьому росли прозорі колонії із жовтуватим відтінком.

З рідких середовищ використовували МПБ (м'ясо-пептонний бульон), соя-трипказний бульон. За росту на таких середовищах протейі утворювали поверхневу плівку та мали неприємний запах. За мікроскопії мазків фарбованих за Грамом виявляли грам-негативні поліморфні палички розміром 1–4 x 0,4–0,6 мкм. Оптимальна температура культивування бактерій роду *Proteus* складала 36±1°C.

Для вивчення біохімічних властивостей мікроорганізмів роду *Proteus* використовували тест-систему API 20 E<sup>®</sup> фірми BioMerieux, France. Система має пластикові стріпи по 20 мікропробірок у кожному, що містять сухі субстрати для дослідження біохімічної активності. Дослідження проводили згідно настанови по застосуванню набору.

Для дослідження чутливості культур мікроорганізмів до антимікробних препаратів використовували диско-дифузійний метод. Інокульоване бактеріальною суспензією агарове середовище з нанесеним на поверхню агарової поверхні стандартними дисками з антибіотиками інкубували упродовж 16–18 год за температури  $36 \pm 1$  °С. Після культивування вимірювали діаметри зон пригнічення росту навколо дисків, включаючи діаметр самих дисків з точністю до 1 мм [7–9].

Застосовувались диски з 24 препаратами: амоксициліном, ампіциліном, бацитрацином, ванкомицином, гентаміцином, енрофлоксацином, еритроміцином, канаміцином, кліндоміцином, колістином, лінкоміцином, неоміцином, поліміксином, пеніциліном, рифампіцином, стрептоміцином, сульфатіазолом, тетрацикліном, тіамуліном, тілозином, фуразолідонем, хлорамфеніколом, цефазоліном, цефтіофуrom.

**Результати досліджень та їх обговорення.** За проведених досліджень культури мікроорганізмів роду *Proteus* були ізольовані від тварин хворих на мастити – із проб молока; ендометрити – із вагінальних змивів; копитну гниль – із проб гнійного ексудату у корів; респіраторний синдром у телят - виділення із носа та із патматеріалів від мертвонароджених телят.

Культури протеїв були ізольовані із патматеріалів від свиней, що загинули від респіраторних хвороб (із легенів, паренхіматозних органів) та шлунково-кишкових хвороб (із кишечників, шлунку, мезентеріальних лімфовузлів, селезінок); із плодів абортів свинюматок. Прижиттєво культури протея були ізольовані із фекалій свиней із ураженнями шлунково-кишкового каналу; із вагінальних змивів від свинюматок хворих на ендометрити. Були виділені штами протея від кролів, загиблих від гнійної пневмонії.

Отже, результати проведених бактеріологічних досліджень засвідчили участь бактерій роду *Proteus* в асоціаціях мікроорганізмів, що ускладнюють перебіг захворювань різної етіології, що наносить значні збитки тваринництву.

За дослідженнями ферментативної активності ізолятів встановлена відсутність ферментації лактози та маніту з утворенням кислоти та глюкози з утворенням кислоти і газу. Одержані штами протеїв розщеплювали сечовину з утворенням аміаку. Внутрішньовидову диференціацію протеїв проводили за здатністю утворювати сірководень, індол та орнітіндекарбоксілазу. Так ізолят *Pr.vulgaris* утворював індол, *Pr.mirabilis* орнітіндекарбоксілазу, 50 % культур *Pr.mirabilis* утилізували цитрати. Всього ізольовано і досліджено 20 культур мікроорганізмів.

Ізоляти протея вивчали щодо чутливості їх до антибактеріальних препаратів. Результати досліджень представлені в таблиці 1.

Результати досліджень свідчать про мінливість резистентності досліджуваних ізольованих культур мікроорганізмів до антибіотиків. Аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок, що найбільш чутливими виявились культури протеїв до групи аміноглікозидів, цефалоспоринів, глікопептидів, поліпептидів, макролідів; менш чутливі – до

пеніцилінів, сульфаніламідів, малочутливі до лінкоміцину. Встановлена стійкість до тіамуліну (табл. 2).

Таблиця 1

**Чутливість бактерій роду *Proteus* до антибактеріальних препаратів, n = 20**

Антибіотики	Концентрація антибіотика у диску, мкг	Чутливі			
		<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Proteus mirabilis</i>	
		№	%	№	%
Амоксицилін	20	11	18,2	7	0,0
Ампіцилін	10	7	42,9	6	16,7
Бацитрацин	10	9	33,3	5	20,0
Ванкоміцин	30	7	57,1	5	80,0
Гентаміцин	10	12	66,7	7	100,0
Енрофлоксацин	5	7	57,1	6	100,0
Ерітроміцин	10	9	33,3	4	57,1
Канаміцин	30	9	66,7	7	85,7
Кліндаміцин	2	8	37,5	6	50,0
Колістин	100	9	77,8	7	57,1
Лінкоміцин	10	5	20,0	4	25,0
Неоміцин	30	9	100,0	8	100,0
Пеніцилін	10	4	0,0	3	0,0
Поліміксин	300	9	88,9	4	75,0
Рифампіцин	5	9	33,3	7	71,6
Стрептоміцин	30	8	37,5	5	60,0
Сульфатіазол	300	7	14,3	5	0,0
Тетрациклін	30	11	45,5	8	37,5
Тиамулін	30	3	0,0	2	0,0
Тилозин	15	7	14,3	5	60,0
Триметоприм	1,25/23,75	6	16,7	5	20,0
Фуросолідон	50	6	16,7	2	50,0
Хлорамфенікол	30	9	55,6	6	83,3
Цефазолін	30	8	87,5	8	87,5
Цефтіофур	30	6	100,0	6	66,7

Отже, згідно даних таблиці 2 не виявлено культур мікроорганізмів, які б стовідсотково були чутливі до антибактеріальних препаратів певної групи. Тому, лікувальні препарати за будь-якого запального процесу в організмі тварини необхідно використовувати згідно даних про антибіотикорезистентність, а також використовувати комплексне лікування.

**Чутливість бактерій роду *Proteus* до різних груп антибіотиків, n = 20**

Групи антибіотиків	Антибіотики	Чутливість, %
Аміноглікозиди	Гентаміцин	66,7–100,0
	Канаміцин	66,7–85,7
	Неоміцин	100,0
	Стрептоміцин	37,5–60,0
Цефалоспорини	Цефазолін	87,5
	Цефтіюфур	66,7–100,0
Глікопептиди	Ванкоміцин	57,1–80,0
Пеніциліни	Амоксицилін	0,0–18,2
	Ампіцилін	16,7–42,9
	Пеніцилін	0,0
Поліпептиди	Бацитрацин	20,0–33,3
	Колістин	57,1–77,8
	Поліміксин	75,0–88,9
Квінолони	Енрофлоксацин	57,1–100,0
Сульфаніламід	Сульфатіазол	0,0–14,3
	Триметапрім	16,7–20,0
Тетрацикліни	Тетрациклін	37,5–45,5
Макролід	Ерітроміцин	33,3–57,1
	Тілозин	14,3–60,0
Лінкозамід	Лінкоміцин	20,0–25,0
	Кліндоміцин	37,5–50,0
Інші	Тіамулін	0,0
	Ріфампіцин	33,3–71,6
	Фуросолідон	16,7–50,0

**Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. За наших досліджень бактерії роду *Proteus* беруть участь в запальних процесах за різних симптомокомплексів та захворювань у різних видів промислових тварин, зокрема: при маститах, ендометритах, копитній гнілі у корів; при респіраторному синдромі у телят; при респіраторному комплексі та шлунково-кишкових хворобах свиней; при ендометритах та викиднях невиясненої етіології у свиноматок; при гнійній пневмонії у кролів.

2. Протеї більш чутливі до групи аміноглікозидів (37,5–100% досліджених ізолятів), цефалоспоринів (66,7–100%), глікопептидів (57,1–80,0%), поліпептидів (20,0–88,9%), макролідів (33,3–45,5%); менш чутливі до пеніцилінів (0,0–42,9%), сульфонамідів (0,0–20,0%), малочутливі до лінкоміцину (20,0–25,0%), а також стійкі до тіамуліну, що свідчить про мінливість явища резистентності.

3. Враховуючи те, що не виявлено культур мікроорганізмів, які б стовідсотково були чутливі до антибактеріальних препаратів певної групи, лікувальні препарати за будь-якого запального процесу в організмі тварини необхідно використовувати згідно даних про антибіотикорезистентність, та комплексно в залежності від їх сумісності.

Перспектива подальших досліджень полягає у поглибленому вивченні проблеми резистентності бактерій роду *Proteus* до антимікробних препаратів та причин цього явища.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ультраструктурные особенности микробных клеток *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*, различающихся по способности к роению / В.М. Бондаренко, В.В. Гостева, Н.В. Клицунова и др. // Журнал микробиол., эпидемиол., и иммунобиол. – № 1. – 1987. – С. 3–6.
2. Зуев О.Е. Рациональная антибиотикотерапия респираторных заболеваний свиней и птицы / О.Е. Зуев // Российский ветеринарный журнал. – 2009. – № 2. – С. 18–20.
3. Габидуллин З.Г. Морфологические свойства и адгезивность бактерий рода *Proteus* / З.Г. Габидуллин, И.Б. Ишкильдин // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1989. – № 6. – С. 83–86.
4. Керашева С.И. Антибиотические и ингибирующие свойства протеев / С.И. Керашева, Е.П. Рахманова, Н.М. Зверева // Антибиотики. – 1973. – Т. 18. – № 3. С. 236–239.
5. Навашин.С.М. Рациональная антибиотикотерапия. (Справочник) / С.М. Навашин., И.Л. Фомина– Москва. – «Медицина». – 1982. – 496 с.
6. Перес Куевас А. Комплексные лекарственные средства при бактериальных инфекциях / Перес Куевас А. // Ветеринария – 2006. – № 3. С. 6–9.
7. Стецько Т.І. Антимікробна активність амоксициліну відносно до збудників респираторних захворювань у свиней / Т.І. Стецько // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 112–118.
8. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007. Офіційне видання. – Київ, – 2007.
9. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Биргер М.О. – Москва: «Медицина», 1982. – 454 с.

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *PROTEUS* К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ** / Айшпур Е.Е., Сапон Н.В., Муштук И.Ю., Зоценко И.А., Шеремет Н.А.

*В статье наведены данные о сравнительной характеристике чувствительности изолятов протеев, который является возбудителем ассоциированных бактериозов, к антибактериальным препаратам различных групп. Широкая распространенность возбудителей является следствием частого и, не всегда рационального, использования антибактериальных препаратов одновременно с высокой стойкостью протеев к большинству из них. Развитие стойкости бактерий к антибиотикам ограничивает их применение, потому является важным в лечебной практике при любом воспалительном процессе в организме животного необходимость использования данных об их антибиотикорезистентности.*

**Ключевые слова:** бактерии, род *Proteus* изоляты, резистентность, чувствительность, антибиотики.

**SENSITIVITY OF BACTERIA OF GENUS *PROTEUS* TO ANTIBACTERIAL PREPARATIONS** / Ayshpur O.Y., Sapon N.V., Mushtuk I.Y., Zozenko I.A., Sheremet N.O.

**Introduction.** *In recent years, the attention of infectionists focused on so-called "new" infections, which are caused by nonconventional microorganisms among which a special place is occupied by proteus infection. The results of research on the study of Proteus biology in recent years suggest etiologic role of these microorganisms in the course of various inflammatory and purulent processes. In addition, Proteus bacteria form association with pathogenic and opportunistic bacteria, increasing their negative effect on the macroorganism. Most authors*

considering that *Proteus* against increases the toxic properties of infection pathogens, reduces performance leukocytes phagocytosis indices delaying the action of antibiotics or increases resistance of associated bacteria to them, but the mechanisms of these effects have not been studied. *Proteus* genus bacteria affects the digestive tract, and respiratory, hearing, organs, urinary tract, nervous system and others.

**The goal of the work.** To conduct a study of *Proteus* bacteria sensitivity to antimicrobial preparations, isolated from biomaterials of a live and dead animals.

**Materials and methods of research.** The study was conducted in laboratory of the bacterial animals diseases and control of VIP of the Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine. The bacterial cultures of *Proteus* genus, isolated from biomaterials of alive and dead animals were tested. The morphological, cultural, biochemical and pathogenic properties of isolated cultures of microorganisms were determined by conventional methods in microbiology using conventional and selective growth media.

**Results of research and discussion.** Our results indicate that of *Proteus* bacteria involved in inflammatory processes at different course of diseases in different species of productive animals, which complicates the course of disease and causes considerable damage to livestock. The data indicate variability of isolated cultures resistance against antibiotics. Analyzing the results, we can conclude that the *Proteus* more susceptible to aminoglycoside, cephalosporins, glycopeptides, polypeptides, macrolides; less sensitive to penicillin, sulfonamides, insensitive to lincomycin and resistant to tiamulinum. According to the research results were found microbial cultures that have been completely susceptible to all antibiotics defined group. Therefore, therapeutic drugs for any inflammation in the animals organism must be used according to data on antibiotic resistance and use comprehensive treatment.

**Conclusions and prospects of further research:**

1. According to our research *Proteus* bacteria are involved in inflammatory processes at different symptom and diseases in different species of productive animals, including: mastitis, endometritis, hoof rot in cows; respiratory syndrome in calves; the complex of respiratory and gastrointestinal diseases of pigs; at endometritis and abortions of unexplained etiology in sows; at purulent pneumonia in rabbits.

2. *Proteus* bacteria are more sensitive to aminoglycoside (37.5–100% isolates), cephalosporins (66.0–100%), glycopeptides (57.1–80.0%), polypeptides (20.0–88.9%) macrophytes (33.3–45.5%); less susceptible to penicillin (0.0–42.9%), sulfonamides (0.0–20.0%), insensitive to lincomycin (20.0–25.0%) and resistant to tiamulinum indicating changes of resistance.

3. Given that cultures of microorganisms were found that would have been completely susceptible to antibiotics of certain groups of medicines for any inflammation in the animal organism must be used according to data on antibiotic resistance, and in complex, depending on their compatibility.

The phenomenon of antimicrobial resistance of *Proteus* bacteria and what determines this property is need of further research.

**Keywords:** bacteria, genus *Proteus*, isolates, resistance, sensitivity, antibiotics.

**REFERENCES**

1. Bondarenko, V.M., Gosteva, V.V., & Klitsunova, N.V. (1987). Ultrastrukturnyie osobennosti mikrobnnyih kletok *Proteus vulgaris* i *Proteus mirabilis*, razlichayuschihsya po sposobnosti k roeniyu [The ultrastructural features of the microbial cells *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis*, which differ in the ability to swarm]. *Zhurnal mikrobiol., epidemiol., i immunobiol – Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*, 1, 3–6 [in Russian].
2. Zuev, O.E. (2009). Ratsionalnaya antibiotikoterapiya respiratornih zabollevaniy sviney i ptitsi [Rational antibiotic therapy of respiratory diseases in pigs and poultry]. *Rosiyskiy veterinarniy zhurnal. – Russian veterinary journal*, 2, 18–20 [in Russian].
3. Gabidullin, Z.G. & Ishkildin, I.B. (1989). Morfologicheskie svoystva i adgezivnost bakteriy roda *Proteus* [Morphological properties and adhesiveness of bacteria of the genus

*Proteus*]. *Zhurnal mikrobiol., epidemiol. i immunobiol. – Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*, 6, 83–86 [in Russian].

4. Kerasheva, S.I., Rahmanova, E.P. & Zvereva, N.M. (1973). Antibioticheskie i ingibiruyushchie svoystva proteev [Antibiotic and inhibitory properties of *Proteus*]. *Antibiotiki – Antibiotics*, Vol.18, 3, 236–239 [in Russian].

5. Navashin, S.M. & Fomina, I.L. (1982). *Ratsionalnaya antibiotikoterapiya [Rational antibiotic therapy]*. Sumi: Meditsina [in Russian].

6. Peres Kuevas, A. (2006). Kompleksnyie lekarstvennyie sredstva pri bakterialnyih infektsiyah [Complex medicines for bacterial infections]. *Veterinariya – Veterinary science*, 3, 6–9 [in Russian].

7. Stec'ko, T.I. (2014). Antymikrobnaya aktyvnost' amoksytsylinu vidnosno do zbudnykiv respiratornyh zahvorjuvan' u svynei [Antimicrobial activity relative to amoxicillin agents of respiratory diseases in pigs]. *Biologiya tvaryn – Biology of animals*, Vol. 16, 2, 112–118 [in Ukrainian].

8. Vyznachennja chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterial'nyh preparativ, [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics]. (2007). *Guidelines 9.9.5-143-2007*. Kiev [in Ukrainian].

9. Birger, M.O. (1982). *Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniya [Handbook of microbiological and virological research methods]* Moskva: Sumi: «Meditsina» [in Russian].

**УДК: 619:616.98:579.852.13:636 (477)**

**ГАЛКА І.В.**, канд. вет. наук, e-mail: ptica2005@ukr.net

**РУДОЙ О.В.**, канд. вет. наук, e-mail: rudspass@gmail.com

**МУЗИКІНА Л.М.**, e-mail: loramuzykina2005@i.ua

**ЧЕХУН А.І.**, e-mail: 30ohotnik@mail.ru

**СИДОРЕНКО Т.В.**, e-mail: ptica2005@ukr.net

*Інститут ветеринарної медицини НААН*

## **ІЗОЛЯЦІЯ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* З КЛІНІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ВІД СВИНЕЙ**

У статті висвітлена роль *Clostridium difficile* в патології людей і сільськогосподарських тварин, можливі причини виникнення та шляхи його передачі. Дослідженнями підтверджено циркуляцію цього патогену в одному господарстві Київської області, який був виділений від клінічно здорових та свиней з ознаками діареї. За морфологічно-культуральними ознаками ізолювано на кров'яному агарі з додаванням цифокситиму, циклосерину і фруктози три ізоляти *C. difficile* з фекалій тварин. Доведена необхідність проведення постійного моніторингу дифісіліозу та розробки вітчизняних тест-систем.

**Ключові слова:** *Clostridium difficile*, метод індикації, антибактеріальна терапія, токсини.

*Clostridium difficile* – грампозитивний анаеробний мікроорганізм, який є основною причиною виникнення кишкової (госпітальної) діареї, коліту чи псевдомембранозного коліту, частіше внаслідок лікування антимікробними препаратами. У людей це, так звана, CDI інфекція, антибіотикоасоційована