

Т. І. ФОТІНА, докторветеринарних наук, професор

А. Г. ЛЕВЧЕНКО, аспірант

Сумський національний аграрний університет

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ «ЦЕФТИОКЛИН» ЩОДО ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ

Проведено дослідження по визначенню антибактеріальної активності експериментального препарату «Цефтіоклін» щодо збудників бактеріальних інфекцій. Встановлено, що даний препарат спричиняв зони затримки росту тест-мікроорганізмів Streptococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococci sagalactiae, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Fusobacterium necrophorum, Dichelobacter nodosus, Bacteroides fragilis, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium oedematiens.

Ключові слова: мастит, ендометрит, метрит мінімальна інгібуюча концентрація (МІК), збудники бактеріальних інфекцій.

Ендометрити, метрити та мастити великої рогатої худоби щорічно реєструють у господарствах Сумської, Чернігівської та Полтавської областей [1]. Тому проблема профілактики й лікування вражених патогенною мікрофлорою тварин є актуальною.

Нині ринок ветеринарних препаратів пропонує велику кількість протимікробних засобів, вітчизняних і зарубіжних виробників. Інструкції по застосуванню цих препаратів, аналіз літературних джерел та експериментальні дослідження свідчать про їх терапевтичну ефективність за ендометриту та метриту бактеріальної етіології, хронічного маститу тощо. Проте, ці ліки не є рекомендованими для лактуючих корів в зв'язку з тривалим періодом виведення метаболітів їх складових частин, зокрема з молоком, що складає в середньому 7–14 діб [2, 3].

Водночас слід відмітити, що літературні джерела містять дані про те, що дія більшості антибіотиків (амоксцилін, норфлуксацин, пеніцилін, стрептоміцин, еритроміцин, енрофлуксацин, лінкоміцин, поліміксин, гентаміцин) на організм тваринне завжди має позитивний ефект, завдяки набутої резистентності до них. Поряд з тим окремі препарати пригнічують імунологічні показники організму тварини [4, 5].

Враховуючи вище подані проблеми, в НВФ «Бровафарма» розроблено та виготовлено експериментальну серію нового антимікробного препарату у формі рідини для ін'єкцій з торговою маркою «Цефтіоклін». Після належних доклінічних й клінічних випробувань, його досьє направлено для державної реєстрації, по завершенню якої даний засіб буде запущено до серійного виробництва.

Активною діючою речовиною даного препарату є цефтіофургідрохлориду. Він належить до групи цефалоспоринових антибіотиків третього покоління.

Вибір даної хімічної сполуки був зумовлений тим, що цефтіофургідрохлорид володіє широким спектром бактерицидної дії відносно грампозитивних та грамне-

гативних бактерій включаючівиди, якіпродукують бета-лактамазу,а також окремиханаеробів: *Escherichia coli*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Salmonella cholerasuis*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Pasteurella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Actinomyces pyogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. bovis*, *Klebsiela spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacte r spp.*, *Bacillus spp.*, *Proteus spp.*, *Fusobacterium necrophorum* и *Porphiromonasas sacharolytica (Bacteroi desmelaninogenicus)*, котрі майже завжди являються причиною бактеріальних хвороборганівдихання, сечостатевоїсистеми, молочної залозитощо, і негативно впливають на імунну систему[6, 7]. Ця речовина належить до класу малотоксичних сполук і також швидко виводиться з організму тварини. Застосування препарату у вигляді засобудля ін'єкцій, дозволяє забезпечувати точніше індивідуальне дозування, відповідно зменшується токсичний вплив на організм тварини активно діючої речовини препарату.

Метою досліджень було з'ясування впливуантимікробної активності експериментальної серії препарату «Цефтіоклін»щодо референтних штамів, а також збудників ізольованих від корів хворих на ендометрити, метрити, мастити та із гнійно-некротичних уражень кінцівок у великої рогатої худоби.

Матеріали і методи досліджень. При вивченні чутливості мікрофлори до Цефтіоклінуметодом дифузії в агар використовували диски з антибіотиками: амоксицилін, гентаміцин, норфлуксацин, енрофлуксацин, лінкоміцин, поліміксин, пеніцилін, стрептоміцин, цефазолін. Усі вони були виробництва ТОВ «Аспект», Серія 36 (Україна). Привизначенні чутливості мікрофлори до препарату Цефтіокліну, його за допомогою мікрошприця на 100 мкл наносили на стерильні диски з фільтрувального паперу з розрахунку на активно діючу речовину (цефтіофур-агідрохлориду) в кількості 20 мкг/диск та підсушували. Результати антибіотичної активності оцінювали за діаметрами зон затримки росту культур мікроорганізмів навколо дисків через одну добу після культивування.

Зависі мікроорганізмівеквівалентні 0,5 одиницям за стандартом мутності McFarland в кількості 0,2 мл вносили та рівномірно розподіляли по поверхні твердих поживних середовищ. Поверхні засіяних середовищ підсушували при кімнатній температурі протягом 10–15 хвилин. На поверхню агару в одній чашці Петрі рівномірно за допомогою мікропінцета розкладали по 5 дисків з антибіотиками. Чашки інкубували в термостаті протягом 18–20 годин за температури $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Дослідження проводили у трьох повторностях.

Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) препарату Цефтіоклін досліджували методом серійних розведень в рідкому поживному середовищі.

В якості тест-культур використовували *Escherichia coli* (сировар O_2 штам № 1257), отриманий з ВДНКІВП (м. Москва) та мікроорганізмів ізольованих від корів господарствхворих наендометрит, метрит, мастит та із гнійно-некротичних уражень дистального відділу кінцівок.

МІК визначали методом серійних розведень Цефтіокліну в рідкому поживному середовищі – м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) при культивуванні аеробів та середовищі Кітта-Тароцці– дляанаеробів. Для інокуляції використовували стандартну суспензію мікроорганізмів, які досліджувались еквівалентну 0,5 за стандартом мутності McFarland (біля 10^6 КУО/мл). По 1,0 млінокулному вносили в кожную пробірку з відповідним розведенням препарату Цефтіоклін та в

одну пробірку поживного середовища без антибіотику (контроль активності росту дослідженої культури). Кінцева концентрація мікроорганізму в кожній пробірці складала біля 5×10^5 КУО/мл. Пробірки із засіяним середовищами, які містили різні розведення препарату інкубували при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом біля 20 годин.

Мінімально інгібуючою концентрацією експериментального препарату вважали ту мінімальну концентрацію, яка викликала повне інгібування росту мікроорганізму, що досліджувався (прозорий бульйон).

Результати досліджень. Аналіз показників активності антибіотиків до мікроорганізмів (табл. 1), свідчать, що усі культури мікроорганізмів, які досліджувались, були чутливі до препарату Цефтіоклін.

Таблиця 1

Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків з антибіотиками, мм

Препарати	Види мікроорганізмів													
	<i>Fusobacterium</i> <i>necrophorum</i>	<i>Dichelobacter nodosus</i>	<i>E. coli</i> (O ₂ , № 1257)	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium septicum</i>	<i>Clostridium oedematiens</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichiacoli</i>	<i>Streptococcus agalactae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Амоксицилін	18 ++	17 ++	21 ++	18 ++	18 ++	20 ++	20 ++	14 +	20 ++	8 +	10 +	9 +	18 ++	21 ++
Норфлоксацин	18 ++	20 ++	18 ++	16 ++	10 +	12 +	18 ++	10 +	8 +	12 +	19 ++	20 ++	19 ++	22 ++
Пеніцилін	10 +	16 ++	18 ++	19 ++	21 ++	13 +	26 +++	14 +	16 ++	20 ++	17 ++	20 ++	21 ++	26 +++
Стрептоміцин	12 +	8 +	12 +	12 +	11 +	16 ++	18 ++	12 +	32 +++	30 +++	28 +++	10 +	16 ++	29 +++
Еритроміцин	6 +	13 +	11 +	16 ++	18 ++	12 +	22 ++	19 ++	22 ++	16 ++	19 ++	24 ++	26 +++	32 +++
Енрофлоксацин	10 +	8 +	10 +	18 ++	12 +	22 ++	21 ++	20 ++	26 +++	19 ++	20 ++	20 +++	21 +++	22 ++
Лінкоміцин	12 +	16 ++	18 ++	19 ++	20 ++	24 ++	14 +	16 ++	22 ++	13 +	20 ++	16 ++	10 +	22 ++
Поліміксин	6 +	22 ++	14 +	10 +	19 ++	10 +	12 +	18 ++	14 +	10 +	19 ++	10 +	12 +	16 ++
Гентаміцин	12 +	8 +	12 +	26 +++	18 ++	24 ++	14 +	12 +	20 ++	8 +	20 ++	15 +	14 +	15 +
Цефазолін	22 ++	26 +++	22 ++	27 +++	32 +++	32 +++	29 +++	18 ++	17 ++	28 +++	24 ++	30 +++	30 +++	26 +++
Цефтіоклін	34 +++	36 +++	28 +++	30 +++	30 +++	30 +++	34 +++	35 +++	30 +++	28 +++	28 +++	32 +++	28 +++	28 +++

Препарат Цефтіокліну кількості 20 мкг/диск спричиняв зони затримки росту мікроорганізмів діаметром 28–36 мм.

При дослідженні чутливості мікрофлори до Цефтіокліну методом серійних розведень встановлено, що препарат подавляв ріст всіх штамів мікроорганізмів у розведенні $1:10^7$ і не інгібував ріст жодного із штамів у розведенні $1:10^8$ (табл.2).

**Результати визначення мінімальної інгібуючої
концентрації препарату Цефтіоклину**

№ пробірки ряду	Ступінь розведення препарату	Метод десятикратних серійних розведень									Контроль
		Ріст колоній									
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i> (сировар О ₂ штам № 1257)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium septicum</i>	<i>Clostridium oedematiens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
1	Нативний	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	1:10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	1:10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	1:10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	1:10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	1:10 ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	1:10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	1:10 ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	1:10 ⁸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	1:10 ⁹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – видимий ріст бактерій; «-» – відсутність видимого росту бактерій

Встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація АДР для всіх досліджуваних штамів мікроорганізмів становить 0,049 мкг/мл.

Висновки:

1. Препарат Цефтіоклин експериментальної серії при нанесенні на антибіотичний диск з розрахунку на активно діючу речовину в кількості 20 мкг, спричиняв зони затримки росту тест-мікроорганізмів *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Fusobacterium necrophorum*, *Dichelobacter nodosus*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium oedematiens* діаметром 28–36 мм.

2. Мінімальна інгібуюча концентрація АДР (цефтіофурагідрохлориду) препарату Цефтіоклин експериментальної серії для всіх досліджуваних штамів мікроорганізмів *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Fusobacterium necrophorum*, *Dichelobacter nodosus*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium oedematiens* при кратності розведення 1:10 складала 0,049 мкг/мл.

Перспективи подальших досліджень. У наступних дослідженнях плануємо дослідити вплив антимікробного препарату «Цефтиоклін» на гематологічні та імунологічні показники корів, хворих на мастит бактеріальної етіології.

Список використаних літератури:

1. *Хомутов С. Л.* Лактаційний маститу корів бактеріальної етіології: діагностика, терапія і профілактика: Автореф. дис. ... к-та вет. наук. – Суми, 2011. – 19 с.
2. *Хомин С. П.* Роль мікробів в етіології маститу у корів / С. П. Хомин, О. Я. Дмитрів // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. – Львів, 1999. – Т. 1. – № 4. – С. 146–151.
3. Етіопатогенез маститів та засоби їх терапії у корів / А. Головка, В. Вечтомов, С. Гужвинська [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 11. – С. 20–21.
4. *Крижанівський Я. Й.* Профілактика маститів у корів безмедикаментозними екологічно безпечними методами: Автореф. дис. ... к-та вет. наук – Київ, 1994. – 24 с.
5. Prevalence of bovine mastitis amongst small holder dairy herds in Kenya / Anakalo Shitandi, Gathoni Anakalo, Tura Galgalo, Milcah Mwangi // Veterinary medicine. – 2004. – Vol. 59 (12). – P. 10–11.
6. Окремі аспекти патогенезу маститу в корів / С. Хомин, В. Стефанік, О. Дмитрів [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 10. – С. 27–29.
7. *Діброва О.* Догляд за вим'ям: використовуємо природний потенціал / О. Діброва // Здоров'я тварин і ліки. – 2008. – № 78. – С. 20–21.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЦЕФТИОКЛИН» В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ / Т. И. Фотина, А. Г. Левченко

Проведено дослідження по визначенню антибактеріальної активності препарату Цефтиоклін в відношенні возбудителів бактеріальних інфекцій. Установлено, що даний препарат викликає зони задержки росту тест-мікроорганізмів Streptococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Fusobacterium necrophorum, Dichelobacter nodosus, Bacteroides fragilis, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium oedematiens.

Ключевые слова: мастит, эндометрит, метрит минимальная ингибирующая концентрация (МИК), возбудители бактериальных инфекций.

DETERMINATION OF "CEFTIOKLIN" PREPARATION ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST BACTERIAL INFECTION CAUSATIVE AGENTS / T. I. Fotina, A. G. Levchenko

A research was carried out to determine "Ceftioklin" preparation antibacterial activity against bacterial infection causative agents. It was found that the preparation

caused growth delay areaof the test microorganisms Streptococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia, Fusobacterium necrophorum, Dichelobacter nodosus, Bacteroides fragilis, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium oedematiens.

Key words: mastitis, endometritis, metritis, minimum inhibitory concentration (MIC), the causative agents of bacterial infections.

Рецензент: доктор ветеринарнихнаук, професор **А. В. Березовський.**