

ОЦІНКА ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ВЕТЕРИНАРНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ ЇХ СТЕРИЛЬНОСТІ

Кушнір І.М., Музика В.П., Патерега І.П., Семен І. С.

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів

*У статті висвітлено питання дослідження стерильності ветеринарних лікарських засобів, що проявляють антимікробну дію. При дослідженні антимікробних препаратів однієї групи один і той самий мікроорганізм проявляв різну чутливість. Так, до бензилпеніциліну чутливим виявився тільки штамп *S. aureus* ATCC 6538, а до цефотаксиму – *E. coli* ATCC 25922, МІК становила 0,95 мкг/см³.*

При перевірці придатності методики випробування на стерильність ветеринарних лікарських засобів, що проявляють антимікробну дію, необхідно враховувати чутливість тест-штамів мікроорганізмів до досліджуваного препарату.

Одним з мікробіологічних показників якості ін'єкційних та інфузійних лікарських засобів є стерильність. Саме поняття стерильність передбачає відсутність мікроорганізмів, здатних до відтворення, тобто досліджуваний препарат повинен бути деконтамінований і не містити мікроорганізмів, які б знаходилися на будь-яких стадіях розвитку [1, 2].

Хоча термін стерильність означає відсутність у препараті життєздатних мікроорганізмів, довести абсолютну їх відсутність у досліджуваній серії неможливо [3, 4].

Проведення тесту на стерильність є, по суті, доведенням відсутності життєздатних мікроорганізмів у пробі препарату з максимально можливою вірогідністю. Оскільки всі одиниці серії піддаються однакової обробці, в результаті якої всі мікроорганізми видалені чи знищені тим або іншим способом, тому результати мікробіологічного аналізу переносяться на всю серію [5].

При проведенні контролю ветеринарних лікарських засобів (ВЛЗ), що проявляють протимікробну дію виникає складність, оскільки не завжди можна отримати вірогідні результати досліджень. Як відомо, Державна фармакопея України (ДФУ) чітко не вказує необхідні тест-штами мікроорганізмів, які потрібно використовувати для перевірки придатності методики випробувань.

Тому метою нашої роботи було визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) різних груп протимікробних ВЛЗ з використанням рекомендованих ДФУ тест-штамів мікроорганізмів для перевірки придатності методики випробувань на стерильність певних груп протимікробних препаратів.

Матеріали і методи. З 18-24 годинної культури мікроорганізмів, що вирости на м'ясо-пептонному агарі (МПА) готували завесь за оптичним стандартом мутності, яку розводили стерильним ізотонічним розчином натрію хлориду до концентрації 500 млн. КУО у 1 см³. Визначення МІК проводили методом серійних розведень. З цією метою в пробірку з відповідним розведенням протимікробного препарату у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) вносили тест-штами мікроорганізмів з розрахунку 50 тис. колонієутворюючих організмів (КУО)/см³. Як тест-штами використовували музейні та польові мікроорганізми: *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Bac. subtilis* і антимікробні препарати різних груп: бензилпеніцилін, цефотаксим, гентаміцин, стрептоміцин, офлоксацин, норфлоксацин, тетрацикліну гідрохлорид.

Пробірки інкубували в термостаті за температури 37 °С упродовж 18-20 год. Результати досліджень враховували за відсутністю росту культури в досліджуваних пробірках.

Результати досліджень. Результати визначення МІК офлоксацину та норфлоксацину відносно музейних і польових штамів мікроорганізмів, наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Визначення МІК фторхінолонів до музейних і польових штамів мікроорганізмів, мкг/см³

Культури	Офлоксацин	Норфлоксацин
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0,95	1,95
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	3,9	7,8
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,12	0,48
<i>Bac. subtilis</i> ATCC 6633	0,24	0,95
<i>S. aureus</i>	1,95	3,9
<i>Ps. aeruginosa</i>	15,6	15,6
<i>E. coli</i>	0,48	0,95
<i>Bac. subtilis</i>	0,95	1,92

Як видно з даних таблиці 1, досліджувані тест-штами мікроорганізмів проявляли неоднакову чутливість до препаратів фторхінолонового ряду. Найчутливішим музейним штамом до офлоксацину виявився *E. coli* ATCC 25922, а найстійкішим – *Ps. aeruginosa* ATCC 9027, МІК становили, відповідно, 0,12 та 3,9 мкг/см³. МІК норфлоксацину відносно музейних штамів мікроорганізмів були вищими, у порівнянні з офлоксацином. Так, МІК відносно *E. coli* ATCC 25922 та *Ps. aeruginosa* ATCC 9027 становили, відповідно, 0,48 та 7,8 мкг/см³. При визначенні МІК офлоксацину та норфлоксацину відносно польових штамів мікроорганізмів було встановлено, що вони проявляють інгібуючу дію у значно вищих концентраціях. Проте, необхідно відмітити, що найчутливішим мікроорганізмом виявився штам *E. coli*.

Результати визначення МІК бензилпеніциліну та цефотаксиму відносно музейних і польових штамів мікроорганізмів наведено у таблиці 2.

Таблиця 2 – Визначення МІК бета-лактамів до музейних і польових штамів мікроорганізмів, мкг/см³

Культури	Безилпеніцилін	Цефотаксим
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0,24	1,95
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	-	3,9
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	0,95
<i>Bac. subtilis</i> ATCC 6633	-	-
<i>S. aureus</i>	0,48	3,9
<i>Ps. aeruginosa</i>	-	31,2
<i>E. coli</i>	-	1,96
<i>Bac. subtilis</i>	-	-

Примітка: у цій і наступних таблицях МІК вище 31,2 мкг/см³ не подані.

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, з музейних тест-штамів мікроорганізмів до бензилпеніциліну чутливим виявився тільки штам *S. aureus* ATCC 6538, а до цефотаксиму найбільш чутливим – *E. coli* ATCC 25922, МІК становили 0,95 мкг/см³. Тест-штам *Ps. aeruginosa* ATCC 9027 до цефотаксиму виявився найстійкішим, МІК становили 3,9 мкг/см³. Щодо польових штамів мікроорганізмів, то встановлена така ж тенденція, як і при визначенні МІК бензилпеніциліну та цефотаксиму, з різницею в тому, що досліджувані мікроорганізми були стійкішими до дії антибіотиків. Так, МІК цефотаксиму відносно *Ps. aeruginosa* становили 31,2 мкг/см³.

Результати визначення МІК гентаміцину та стрептоміцину відносно музейних і польових штамів мікроорганізмів подано у таблиці 3.

Таблиця 3 – Визначення МІК аміноглікозидів до музейних і польових штамів мікроорганізмів, мкг/см³

Культури	Гентаміцин	Стрептоміцин
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1,5	15,6
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	3,1	31,2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,1	3,9
<i>Bac. subtilis</i> ATCC 6633	1,5	15,6
<i>S. aureus</i>	3,1	31,2
<i>Ps. aeruginosa</i>	6,2	-
<i>E. coli</i>	6,2	31,2
<i>Bac. Subtilis</i>	3,1	-

Як видно з даних, наведених у таблиці 3, чутливішим мікроорганізмом до гентаміцину був тест-штам *Bac. subtilis* ATCC 6633, МІК становили 1,5 мкг/см³, а до стрептоміцину – *E. coli* ATCC 25922, при цьому МІК становили 3,9 мкг/см³. Тест-штам *Ps. aeruginosa* ATCC 9027 був стійкішим до стрептоміцину, МІК становили 31,2 мкг/см³, а *E. coli* ATCC 25922 був чутливішим (МІК становили 3,9 мкг/см³). Щодо польових штамів мікроорганізмів, то ми відзначали чутливість *S. aureus* та *Bac. subtilis* до гентаміцину, МІК становили 3,1 мкг/см³. До стрептоміцину чутливими виявилися *S. aureus* та *E. coli*, МІК становили 31,2 мкг/см³. Штами *Ps. aeruginosa* та *Bac. subtilis* виявилися досить стійкими, МІК були вище за 31,2 мкг/см³.

Результати визначення МІК тетрацикліну гідрохлориду відносно музейних і польових штамів мікроорганізмів подано у таблиці 4.

Таблиця 4 – Визначення МІК тетрациклінів до музейних і польових штамів мікроорганізмів, мкг/см³

Культури	Тетрацикліну гідрохлорид
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1,9
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	15,6
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,4
<i>Bac. subtilis</i> ATCC 6633	0,2
<i>S. aureus</i>	3,9
<i>Ps. aeruginosa</i>	31,2
<i>E. coli</i>	1,9
<i>Bac. Subtilis</i>	1,9

Як видно з даних, наведених у таблиці 4, чутливішим тест-штамом мікроорганізмів до тетрацикліну гідрохлориду був *Bac. subtilis* ATCC 6633 (МІК становили 0,2 мкг/см³), а стійкішим *Ps. aeruginosa* ATCC 9027 (МІК становили 15,6 мкг/см³). Щодо польових штамів мікроорганізмів, то ми відзначали стійкість *Ps. aeruginosa* (МІК – 31,2 мкг/см³), а чутливішими були *E. coli* та *Bac. subtilis*, МІК становили 1,9 мкг/см³.

Результати визначення МІК тилозину тартрату відносно музейних і польових штамів мікроорганізмів подано у таблиці 5.

Таблиця 5 – Визначення МІК макролідів до музейних і польових штамів мікроорганізмів, мкг/см³

Культури	Тилозину тартрат
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	15,6
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-
<i>Bac. subtilis</i> ATCC 6633	-
<i>S. aureus</i>	31,2
<i>Ps. aeruginosa</i>	-
<i>E. coli</i>	-
<i>Bac. subtilis</i>	-

Як видно з даних, наведених у таблиці 5, тільки штам *S. aureus* як музейний, так і польовий, виявилися чутливими до тилозину тартрату. Решта досліджуваних штамів були стійкими і МІК були вище 31,2 мкг/см³.

Висновки. 1. Тест-штами мікроорганізмів проявляють різну чутливість у межах антибіотиків однієї групи. 2. При перевірці придатності методики випробування стерильності ветеринарних лікарських засобів ВЛЗ необхідно враховувати чутливість мікроорганізмів до діючих речовин досліджуваного препарату.

Перспективою подальших досліджень є підбір тест-штамів мікроорганізмів, рекомєнтованих ДФУ, для визначення ефективності відмивання мембранних фільтрів при дослідженні стерильності ВЛЗ.

Список літератури

1. Зеликсон, Ю. И. Кондратьева, Т. С. Развитие технологии инъекционных форм в конце XIX- первой половине XX века // Фармация. – 1998. – № 1. – С.42–44.
2. Державна фармакопея України. – 2001. – С.106.
3. Промышленная стерилизация, стерильность готовой продукции и методы ее контроля / Барашев П. П., Кивман Г. Я. Крылов Ю. Ф. и др. // Хим.-фарм.журн. – 1983. – № 6. – С.744–752.
4. Дебард, Ж., Боннель, П. Исследование по вопросам контроля стерильности биологических и фармацевтических препаратов // Бюллетень ВООЗ. – 1966. – № 1. – С.5–22.
5. Испытание лекарственных средств на стерильность (Обзор) / Крылов Ю.Ф., Кивман Г.Я., Каграманова К.Я. // Хим.-Фарм. журн. – 1983. – № 2. – С.109–116.

ESTIMATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF VETERINARY MEDICATIONS AT DETERMINATION OF THEIR STERILITY

Kushnir I.M., Muzyka V.P, Paterega I.P., Semen I.S.

State Research Control Institute of Veterinary Preparations and Fodder Additives, Lviv

*The question of research of sterility of veterinary medications which show an antimicrobial action is reflected in the article. At research of antimicrobial preparations, within the limits of one group at the same microorganism showed a different sensitiveness. So to benzilpenicillin a strain appeared sensible only to *S. aureus* ATCC 6538, but to cephotaxim – *E. coli* ATCC 25922, MIC was 0,95 mcg/cm³. At verification of fitness of method of test on sterility of veterinary medications which show an antimicrobial action it is necessary to take into account the sensitiveness of test-strain of microorganisms to the investigated preparation.*

УДК 619:616.98:579.841.11-078

ДИАГНОСТИКА ПСЕВДОМОНОЗА ХРЯКОВ-ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ И ПУТИ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ

Лемиш А.П., Андрусевич А.С.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

*В статье приводятся бактериологические исследования спермы хряков-производителей, выделение *Pseudomonas aeruginosa*, изучение ее культурально-морфологических, биохимических и патогенных свойств, а также определение чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам.*

Псевдомоноз (*Pseudomonosis*) – инфекционная болезнь, вызываемая синегнойной палочкой *Ps. aeruginosa*, характеризующаяся у молодняка сельскохозяйственных животных гастроэнтеритами, реже – бронхопневмонией, сепсисом, у взрослых животных – поражением половых органов. Шипицын А.Г. и др. (2001) указывают, что болезни подвержены также растения, животные, птицы и человек [1].

Заболевание факторное, чаще всего встречается в виде медленно распространяющейся энзоотии, широко распространено и встречается во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь.

Отличительной особенностью псевдомоны является относительно слабая биохимическая активность, в отношении отдельных углеводов активность различных