Антибиотикорезистентность возбудителя риермереллеза водоплавающей птицы. Antibiotic resistance of pathogen of rimerelelles of waterfowl

Якимова Э.А./Yakimova E.A.
аспирант лаборатории
микологии и антибиотиков
имени А.Х. Саркисова
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН,
г. Москва
e-mail: elaishevceva@bk.ru

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-7-10
УДК 619:616.98:579.845

Ключевые слова: продовольственная безопасность, биобезопасность, антибактериальная терапия, инфекционные патологии птиц, инфекционный серозит, септицемия уток, инфлюэнция гусей.

Key words: food safety, biosafety, antibacterial therapy, infectious diseases of birds, infectious serositis, duck septicemia, geese influenzae.

Резюме. В работе приведены результаты определения антибактериальной чувствительности изолятов возбудителя риермереллеза водоплавающей птицы (*Riemerella anatipestifer*) выделенных в период 2016–2019 годы на территории различных регионов Российской Федерации. Проведенные исследования показали, что в большинстве случаев инфекционного процесса в неблагополучных по риермереллезу предприятиях хороший терапевтический эффект можно получить благодаря использованию препаратов на основе рифампицина, клиндамицина, амоксициллина, доксициклина, линкомицина, хлорамфеникола, цефуроксима и цефтриаксона, что было установлено в ходе определения антибиотикограммы.

Summary. The paper presents the results of the determination of the antibacterial sensitivity of isolates of the pathogen *riemerellosis* of waterfowl (*Riemerella anatipestifer*) isolated during the period 2016–2019 in the various regions of the Russian Federation. Studies have shown that in most cases of an infectious process in enterprises unfavorable for *riemerellosis*, a good therapeutic effect can be obtained through the use of drugs based on rifampicin, clindamycin, amoxiclav, amoxicillin, doxycycline, lincomycin, chloramphenicol, cefuroxime and ceftriaxone. These results have been obtained during antibiogram testing.

Введение

Риермереллёз ("инфекционный серозит", "новое заболевание уток", "септицемия уток", "инфлюэнция гусей", "экссудативная септицемия гусей") заразная болезнь уток, гусей, индеек и других видов домашней и дикой птицы характеризующаяся острым или хроническим сепсисом, фибринозным перикардитом, перигепатитом, аэросаккулитом, казеозным сальпингитом и менингитом. Возбудителем заболевания является микроорганизм вида *Riemerella anatipestifer*, который распространён во всём мире и приводит к существенным экономическим потерям для производителя и государства в целом за счёт высокой смертности, снижения темпов роста, плохой конверсии кормов, высоких затрат на лечебно-оздоровительные мероприятия и т.д. По данным Kardos G. и соавт., а также Bisgaard M. риермереллёз птиц преимущественно проявляется в форме инфекционного серозита, сальпингита, артритов и септицемии [1, 4]. Иностранцами специалистами, такими как Munday BL., с

соавт., Pierce RL., и др., Helfer DH, Hemboldt F. и т.д., подчёркивается, что наиболее восприимчивыми является птица в возрасте 3–4 недель, а в некоторых случаях до 8 недель. Взрослая птица является хронически больной, без каких-либо клинических проявлений заболевания, но при этом является основным источником распространения возбудителя [2, 3, 7, 8, 10]. По сообщению Sarver CF. смертность среди молодняка утят в неблагополучных предприятиях может достигать 75%, что говорит о высокой значимости данного заболевания для промышленного птицеводства [9].

Несмотря на то, что в России в последние годы активно развивается направление уководства и гусеводства рассматриваемая инфекция (риермереллёз) не контролируется на уровне государственного эпизоотического мониторинга, что в условиях отсутствия соответствующих средств специфической профилактики патологии может привести к печальным последствиям для отрасли. Безусловно эпизоотический мониторинг требует соответствующих финансовых вложений, но они будут в полной мере оправданы, так как дополнительной задачей такого мониторинга может быть обеспечение продовольственной безопасности и независимости страны [5, 6]. Кроме того, сложность борьбы с распространением риермереллёза на территории Российской Федерации обосновывается тем, что инкубационное яйцо зачастую поступает из-за границы, где риермереллёз также активно циркулирует. Так, заболевание широко распространено в странах с высокими темпами развития уководства и гусеводства, а именно Китае, Тайланде. Дополнительно стоит отметить, что существенное значение в распространении заболевания по всему миру имеет миграция диких водоплавающих птиц, при этом не только гусей и уток, но и лебедей, журавлей, аистов, крякв и т.д. В этом случае передача возбудителя может происходить при непосредственном контакте дикой птицы и домашней на выпасах полях и водоёмах. Нами ранее уже были описаны зафиксированные случаи риермереллеза в различных регионах РФ поэтому данная работа является логичным продолжением, описывающим результаты определения и подбора наиболее эффективных антибактериальных препаратов, пригодных для борьбы с инфекцией, что на фоне отсутствия зарегистрированных в стране вакцин повышает актуальность настоящего исследования [13, 14].

Материалы и методы

В работе были использованы 9 штаммов риермереллы выделенных в период 2016–2019 годы от птицы, принадлежащей предприятиям Оренбургской, Ростовской, Рязанской и Курганской областей, Краснодарского и Алтайского края, Республике Башкортостан и Татарстан.

Определение антибиотикочувствительности выделенных из патологического и/или клинического материала изолятов бактерий *Riemerella anatipestifer* проводили диско-диффузным методом (ДДМ) в соответствии с МУК 4.2.1890-04 "Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам". При реализации работы использовались антибактериальные препараты различных групп, в частности: аминогликозиды – неомицин, стрептомицин, гентамицин, амикацин, канамицин; карбапенемы – меропенем, имипенем; линкозамиды – линкомицин, клиндамицин; пенициллины – ампициллин, амоксилав, карбенициллин; сульфаниламиды – ко-тримоксазол; тетрациклины – доксициклин, тетрациклин; фторхинолоны – норфлоксацин, ципрофлоксацин, пefлоксацин, эрффлоксацин; цефалоспорины – цефалексин, моксифлоксацин, цефепим, цефоперазон, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефазолин; макролиды – кларитромицин, эритромицин; полимиксины – полимиксин В, а также другие антибиотики – фосфомицин, триметоприм. Результаты учитывали спустя 18 часов термостатирования по диаметру зон задержки роста бактерий, интерпретация результатов проводилась в соответствии с рекомендациями CLSI и EUCAST в зависимости от антибактериального средства.

Таблица 1 – Результаты определения антибиотикочувствительности штаммов реймерелл выделенных от водоплавающей птицы в различных регионах Российской Федерации.

№	Группа антибиотиков	Антибиотик	Сокр. обозн.	Устойчивы (мм)	Промежуточное значение (мм)	Чувствительны (мм)	Зона задержки роста (мм)									
							478- ВИЭВ	490- ВИЭВ	512- ВИЭВ	513- ВИЭВ	549- ВИЭВ	566- ВИЭВ	571- ВИЭВ	602- ВИЭВ	617- ВИЭВ	
1.	Аминогликозиды 1 поколения	Канамицин	K30	13	14-17	18	14	18	-	16	-	-	15	16	11	
2.	Аминогликозиды 1 поколения	Стрептомицин	S10	11	12-14	15	9	12	14	10	13	10	11	9	12	
3.	Аминогликозиды 2 поколения	Гентамицин	CN10	12	13-14	15	16	15	15	18	14	12	-	17	14	
4.	Аминогликозиды 3 поколения	Сизомицин	SS10	14	15-16	17	22	28	27	32	21	26	29	28	26	
5.	Амфениколы	Хлорамфеникол	C30	12	13-17	18	17	20	19	18	14	21	23	26	19	
6.	Ансамицины	Рифампицин	RD5	16	17-19	20	34	29	33	28	30	31	28	35	28	
7.	Другие антибиотики	Бацитрацин	B100	8	9-12	13	11	9	14	13	10	14	-	14	16	
8.	Другие антибиотики	Фузидиевая кислота	FC30	28	29-34	35	18	16	21	19	20	20	19	22	18	
9.	Карбапенемы	Дорипенем	DOR10	19	20-22	23	23	19	24	27	23	25	18	21	22	
10.	Линкозамиды	Клиндамицин	CD2	14	15-20	21	24	28	23	25	21	26	29	25	24	
11.	Линкозамиды	Линкомицин	ЛИН	12	13-16	17	18	14	22	20	19	20	23	21	19	
12.	Макролиды	Азитромицин	AT15	13	14-17	18	11	9	-	10	-	12	11	9	-	
13.	Макролиды	Кларитромицин	CLR15	10	11-12	13	-	11	9	-	9	-	10	12	11	
14.	Макролиды	Пристиномицин	PM15	15	16-18	19	14	17	16	18	12	16	14	18	17	
15.	Макролиды	Спирамицин	SR30	21	22-29	30	-	-	-	9	-	10	11	-	9	
16.	Макролиды	Тилозин	TL30	13	14-17	18	16	11	12	15	11	14	13	14	11	
17.	Монобактамы	Азтреонам	ATM30	15	16-21	22	-	-	10	-	-	-	9	12	-	
18.	Оксазолидиноны	Линезолид	LZ30	20	21-23	24	24	20	20	19	23	21	22	18	21	
19.	Пенициллины полусинтетические	Амоксиклав	AMC30	13	14-17	18	23	23	24	25	27	21	26	23	24	
20.	Пенициллины полусинтетические	Амоксициллин	AM25	13	14-16	17	26	31	30	29	27	28	29	32	27	
21.	Пенициллины полусинтетические	Ампициллин	AMP10	13	14-16	17	18	15	16	13	19	16	14	13	18	
22.	Пенициллины полусинтетические	Оксациллин	OX5	10	11-13	14	-	9	12	10	13	12	8	11	10	
23.	Пенициллины природные	Пенициллин	P10	11	12-19	20	13	15	12	16	13	14	11	14	12	
24.	Сульфаниламиды	Ко-тримоксазол	COT25	10	11-15	16	11	10	-	-	9	12	-	9	11	
25.	Сульфаниламиды	Триметроприм	TR5	10	11-15	16	13	11	9	12	10	12	14	11	13	
26.	Тетрациклины	Доксициклин	DXT30	12	13-15	16	29	26	28	24	31	27	29	29	26	
27.	Тетрациклины	Тетрациклин	TE30	25	26-28	29	24	27	22	28	24	26	25	30	27	
28.	Фторхинолоны 2 поколения	Ломефлоксацин	LO30	21	22	23	21	17	17	20	19	18	14	21	16	
29.	Фторхинолоны 2 поколения	Норфлоксацин	NOR10	12	13-16	17	14	16	-	-	15	-	11	14	12	
30.	Фторхинолоны 2 поколения	Пефлоксацин	PF5	18	19-21	22	13	11	14	11	10	12	13	9	12	
31.	Фторхинолоны 2 поколения	Ципрофлоксацин	CIP5	15	16-20	21	16	19	-	18	17	-	-	-	17	
32.	Фторхинолоны 3 поколения	Энрофлоксацин	EX5	16	17-21	22	20	17	-	23	21	14	19	-	17	
33.	Цефалоспорины 2 поколения	Цефуроксим	CU30	14	15-22	23	24	27	22	31	29	28	27	30	26	
34.	Цефалоспорины 3 поколения	Цефоперазон	CFP75	15	16-20	21	22	17	20	19	21	19	22	18	20	
35.	Цефалоспорины 3 поколения	Цефтазидим	CAZ30	14	15-17	18	22	-	-	-	14	-	9	11	13	
36.	Цефалоспорины 3 поколения	Цефтриаксон	CE30	13	14-20	21	22	26	24	19	25	23	24	25	18	

Результаты исследований и их обсуждение

Для назначения адекватной антибактериальной терапии, направленной на лечение риимереллёза, необходимым условием является определение антибиотикограммы. Нами, в рамках выполняемой работы, была определена антибиотикочувствительности штаммов *Riemerella anatipestifer* по отношению к 36 антибактериальным препаратам, различных фармакологических групп и поколений, диско-диффузным методом. Результаты данного этапа исследования приведены в таблице №1.

Поскольку интерпретация результатов определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводится согласно стандартам CLSI и EUCAST, которые в свою очередь имеют стандарты исключительно для энтеробактерий, энтерококков, пастерелл и нейссерий, псевдомонад, стафилококков и стрептококков, то перед нами возникла сложность, интерпретации результатов чувствительности штаммов реймерелл. Тем не менее, для выполнения данного этапа работы нами было принято решение использовать энтеробактериальные стандарты.

Как видно из данных, представленных в таблице № 1 изучаемые культуры реймерелл, имеют различную степень антибиотикочувствительности. Статистические данные, характеризующие частоту развития резистентности, по отношению к различным антибактериальным препаратам, приведены в таблице №2.

Для наглядности полученных данных ниже на рисунке № 1 приведены графическое отображение антибиотикорезистентности культур реймерелл.

Как видно из представленных в таблице №2 и графике №1 данных, штаммы реймерелл выделенные на территории Российской Федерации, имеют различную степень чувствительности к антибиотикам группы аминогликозидов. В частности, нами было установлено, что к канамицину и стрептомицину, относящимся к аминогликозидам 1-ого поколения, подавляющее количество культур имели резистентность или проявляли промежуточную чувствительность. При этом гентамицин, относящийся к аминогликозидам 2-ого поколения, и сизомицин – 3-го поколения аминогликозидов, продемонстрировали положительный эффект, ингибируя 56% и 100% культур реймерелл соответственно. Амфениколы, представленные хлорамфениколом, были эффективны в отношении 78% изолятов реймерелл, а 22% культур имели промежуточную чувствительность к данному АБП.

Рифампицин, относясь к ансамицинам, продемонстрировал 100%-ную эффективность в отношении всех культур.

Сульфаниламиды, в виде котримоксазола и триметроприма, не смогли продемонстрировать высокую эффективность, при том, что 67 и 22% культур были резистентны, а также 33 и 78% штаммов имели промежуточную чувствительность к данным антибиотикам соответственно.

В отношении антибиотиков тетрациклинового ряда, мы столкнулись с интересной ситуацией, так 100% штаммов были чувствительны к доксициклину, в то время как к тетрациклину были чувствительны лишь 11% штаммов.

Макролиды, представленные азитромицином, кларитромицином, пристиномицином, спирамицином, тилозином, ни в одном из случаев не были активны в отношении

Таблица 2 – Результаты определения структуры резистентности среди штаммов реймерелл выделенных на территории Российской Федерации.

Федерации.									
№	Группа антибиотиков	Антибиотик	Сокр. обозн.	Количество	Соотношение (%)	Количество	Соотношение (%)	Количество	Соотношение (%)
1.	Аминогликозиды 1 поколения	Канамицин	K30	4	44	4	44	1	11
2.		Стрептомицин	S10	5	56	4	44	0	0
3.	Аминогликозиды 2 поколения	Гентамицин	CN10	2	22	2	22	5	56
4.	Аминогликозиды 3 поколения	Сизомицин	SS10	0	0	0	0	9	100
5.	Амфениколы	Хлорамфеникол	C30	0	0	2	22	7	78
6.	Ансамицины	Рифампицин	RD5	0	0	0	0	9	100
7.	Другие антибиотики	Бацитрацин	B100	1	11	3	33	5	56
8.		Фузидиевая кислота	FC30	9	100	0	0	0	0
9.	Карбапенемы	Дорипенем	DOR10	2	22	2	22	5	56
10.	Линкозамиды	Клиндамицин	CD2	0	0	0	0	9	100
11.		Линкомицин	ЛИН	0	0	1	11	8	89
12.	Макролиды	Азитромицин	AT15	9	100	0	0	0	0
13.		Кларитромицин	CLR15	6	67	3	33	0	0
14.		Пристиномицин	PM15	3	33	6	67	0	0
15.		Спирамицин	SR30	9	100	0	0	0	0
16.		Тилозин	TL30	5	56	4	44	0	0
17.	Монобактамы	Азтреонам	ATM30	9	100	0	0	0	0
18.	Оксазолидиноны	Линезолид	LZ30	4	44	4	44	1	11
19.	Пенициллины полусинтетические	Амоксиклав	AMC30	0	0	0	0	9	100
20.		Амоксициллин	AM25	0	0	0	0	9	100
21.		Ампициллин	AMP10	2	22	4	44	3	33
22.		Оксациллин	OX5	5	56	4	44	0	0
23.	Пенициллины природные	Пенициллин	P10	1	11	8	89	0	0
24.	Сульфаниламиды	Ко-тримоксазол	COT25	6	67	3	33	0	0
25.		Триметроприм	TR5	2	22	7	78	0	0
26.	Тетрациклины	Доксициклин	DXT30	0	0	0	0	9	100
27.		Тетрациклин	TE30	4	44	4	44	1	11
28.	Фторхинолоны 2 поколения	Ломефлоксацин	LO30	9	100	0	0	0	0
29.		Норфлоксацин	NOR10	5	56	4	44	0	0
30.		Пефлоксацин	PF5	9	100	0	0	0	0
31.		Ципрофлоксацин	CIP5	4	44	5	56	0	0
32.	Фторхинолоны 3 поколения	Энрофлоксацин	EX5	3	33	5	56	1	11
33.	Цефалоспорины 2 поколения	Цефуроксим	CU30	0	0	1	11	8	89
34.	Цефалоспорины 3 поколения	Цефоперазон	CFP75	0	0	6	67	3	33
35.		Цефтазидим	CAZ30	9	100	0	0	0	0
36.		Цефтриаксон	CE30	0	0	2	22	7	78

исследуемых культур. Клиндамицин и линкомицин, являясь линкозамидами, продемонстрировали высокую степень антибактериальной эффективности в отношении *Riemerella anatipestifer*, а именно ингибируя рост 100 и 89% культур соответственно. Монобактамы, представленные азтреонамом, в 100 % случаев были не эффективными. Линезолид, имея принадлежность к оксазолидинонам, был активен лишь в отношении одного штамма реймерелл, что соответственно составило 11%. Дорипенем, оказался эффективен в отношении 56% культур реймерелл, в 22% случаев была зафиксирована промежуточная чувствительность. Штаммы реймерелл имели 100%-ную резистентность к фузидиевой кислоте. Бацитрацин проявил эффективность в отношении 56% культур, в то время как 33% имели промежуточную чувствительность, а 11% были резистентны.

Среди полусинтетических пенициллинов 100%-ную эффективность в отношении испытуемых культур реймерелл имели амоксилав и амоксициллин, при том, что ампициллин был активен в отношении 33% культур, а оксациллин в 56% случаях был неэффективен и 44% случаев имел промежуточную эффективность. Пенициллин, относящийся к природным пенициллинам, не продемонстрировал высокую эффективность, но в 89% случаях была определена промежуточная чувствительность.

Фторхинолоны 2 и 3-го поколения оказались малоэффективными, так клемофлораксину и пефлоксацину в 100% случаях была установлена резистентность. Норфлоксацин и ципрофлоксацин в 56–44% случаях соответственно имели промежуточную чувствительность, при полной резистентности оставшихся культур. К энрофлоксацину чувствительны оказались лишь 11% штаммов. Среди цефалоспоринов 2 и 3 – го поколения наибольшая эффективность наблюдалась у цефуроксима, цефтриаксона и цефоперазона которые ингибировали 89, 78 и 33% культур соответственно, при том, что к цефтазидиму 100% штаммов были резистентны.

Заключение

Заключением реализованного этапа исследования по изучению риермереллезы водоплавающей птицы на территории РФ стоит считать определение наиболее эффективных антибактериальных средств в отношении культур возбудителя циркулирующих на территории РФ. В частности, было установлено что наибольшей эффективностью будут обладать препараты на основе сизомицина, рифампицина, клиндамицина, амоксилава, амоксициллина, доксициклина, линкомицина, цефуроксима, хлорамфеникола и цефтриаксона.

Фото 1 – Графическое отображение антибиотикочувствительности культур *Riemerella anatipestifer*

Полученные нами данные нельзя считать в полной мере соответствующим иностранным результатам. В частности, в работе Zhong, C.Y. с соавторами было обозначено, что что организмы *Riemerella* были наиболее чувствительны к пенициллину, цефтиофуру, цефалотину, хлорамфениколу, фламехину и канамицину [12]. В работе Sun N. и др. сообщается об чувствительности к энрофлоксацину, хлорамфениколу, линкомицину, стрептомицину и неомицину, и устойчивости к пенициллину G, ампициллину, тетрациклину, триметоприму/сульфаметоксазолу, канамицину и гентамицину [11]. Несмотря на такие расхождения в результатах, это является вполне ожидаемым, так как использование антибактериальных препаратов в разных странах находится на различном уровне, а, следовательно, и развитие антибиотикорезистентности может не совпадать. Тем не менее, описанные в настоящей работе результаты в полной степени характеризуют ситуацию на территории нашей страны, поэтому могут быть полезны птицеводческим предприятиям столкнувшимся с риермереллезом. В дальнейшем нами планируется продолжать изучать это заболевание для всестороннего расширения современных отечественных данных о нем, в том числе с учетом увеличения выборки исследуемых изолятов реймерелл и расширением списка антибактериальных препаратов.

Литература

1. Bisgaard M. Salpingitis in web-footed birds: prevalence, aetiology and significance. *Avian Pathol* 1995; 24:443±52.
2. Floren U, Wiedeking B, Kissel B, Kaleta EF. *Pasteurella anatipestifer* -infektion des WasseruE gels. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift* 1987; 94:525±34.
3. Helfer DH, Hemboldt F. Case report D *Pasteurella anatipestifer* infection in turkeys. *Avian Dis* 1977; 21:712±5.
4. Kardos G, Nagy J, Antal M, Bistyak A, Tenk M, Kiss I. Development of a novel PCR assay specific for *Riemerella anatipestifer*. *Lett Appl Microbiol* 2007; 44(2):145-8.
5. Laishchev A.I., Pimenov N.V., Kapustin A.V., Yakimova E.A. Microbial profile of the digestive canal of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) // *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016. № 5 (53). С. 76-82.
6. Lenev S., Laishchev A., Pimenov N., Semykin V., Pigorev I., Eremenko V., Sein O., Glinushkin A., Ali Shariati M. Improvement of allocation and identification of *Salmonella enterica* bacteria of *Arizonae* subspecies // *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*. 2016. № 5 (3). С. 342-348.
7. Munday BL, Corbould A, Heddlestone KL, Harry EG. Isolation of *Pasteurella anatipestifer* from black swan (*Cygnus atratus*). *Australian Vet J* 1970; 46:322±5.
8. Pierce RL, Vorhies MW. *Pasteurella anatipestifer* infection in geese. *Avian Dis* 1973; 17: 868±70.
9. Sandhu T, Rimler R. *Riemerella anatipestifer* infection. *Diseases of poultry*. 10th Ed London: Iowa State University Press, Ames /Mosby-Wolfe; 1997.
10. Smith JM, Frame DD, Cooper G, Bickford AA, Ghazikhanian GY, Kelly BJ. *Pasteurella anatipestifer* infection in commercial meat-type turkeys in California. *Avian Dis* 1987; 31:913±7.
11. Sun, N., Liu, J.H., Yang, F., Lin, D., Li, G., Chen, Z. and Zeng, Z. (2012) Molecular characterization of the antimicrobial resistance of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks. *Vet. Microbiol.* 158(3-4): 376-383.
12. Zhong, C.Y., Cheng, A.C., Wang, M.S., Zhu, D.K., Luo, Q.H., Zhong, C.D., Li, L. and Duan Z. (2009) Antibiotic susceptibility of *Riemerella anatipestifer* field isolates. *Avian. Dis.* 53(4): 601-607.
13. Лаишевцев А.И., Капустин А.В., Пименов Н.В., Илиеш В.Д. Клинико-морфологическое проявление риермереллезы водоплавающей птицы и биологические особенности возбудителя заболевания // *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2017. № 11 (71). С. 538-545.
14. Лаишевцев А.И., Якимова Э.А., Капустин А.В. Опыт разработки первой отечественной вакцины против риермереллезы // *Ветеринария*. 2018. № 8. С. 24-29.