

Н.В. Морозова, Т.М. Пашкова, М.В. Сычёва, О.Л. Карташова

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПАТОЛОГИИ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ПЛОТОЯДНЫХ

**Ключевые слова:** микроорганизмы, цистит, мочекаменная болезнь, антибиотикорезистентность.

Статья посвящена изучению видового состава и антибиотикорезистентности микрофлоры, выделенной при патологии мочевого выделительной системы у плотоядных. Опыты *in vitro* проведены на 42 штаммах микроорганизмов разных видов, изолированных общепринятыми методами из мочи собак и кошек, при мочекаменной болезни и цистите. Идентификацию бактерий проводили на основании морфологических, тинкториальных и биохимических свойств, которые выявляли с использованием биохимических тест-систем «Lachema» («Erba Lachema s.r.o.», European Union). Резистентность микроорганизмов к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики и с использованием программы Biostat. Результаты бактериологического исследования свидетельствуют о наличии широкого спектра бактерий в моче плотоядных с мочекаменной болезнью и циститом: *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Pseudomonas* sp., *Enterococcus* spp., *Morganella* spp., *Proteus* sp., *Bacillus* sp., с преобладанием стафилококков при обеих изученных патологиях. Отмечена высокая устойчивость выделенных микроорганизмов к использованным антимикробным препаратам. В частности, все выделенные уропатогены были резистентны к бензилпенициллину, *Proteus* sp. – ко всем изученным препаратам, за исключением неомицина и энрофлоксацина, *Enterobacteriaceae* spp. и неферментирующие бактерии – преимущественно к тилозину и ампициллину, *Staphylococcus* spp. – к ампициллину, тетрациклину, левомецитину. Полученные результаты указывают на необходимость выделения микрофлоры при заболеваниях мочевого выделительной системы и определения у нее чувствительности к антибиотикам последнего поколения.

N. Morozova, T. Pashkova, M. Sycheva, O. Kartashova

## SPECIES COMPOSITION AND RESISTANCE TO ANTIBIOTICS OF MICRO- ORGANISMS IDENTIFIED DURING THE URINARY SYSTEM PATHOLOGY IN CARNIVORES

**Keywords:** microorganisms, cystitis, urolithiasis, antibiotic resistance.

The article is devoted to the study of the species composition and antibiotic resistance of microflora isolated in the pathology of the urinary system in carnivores. *In vitro* experiments were conducted on 42 strains of microorganisms of various species, isolated by conventional methods from the urine of dogs and cats, with urolithiasis and cystitis. Identification of bacteria was carried out on the basis of morphological, tinctorial and biochemical properties, which were detected using biochemical test systems “Lachema” (“Erba Lachema s.r.o.”, European Union). The resistance of microorganisms to antibacterial drugs was determined by the disk diffusion method. The data obtained were processed by methods of variation statistics and using the Biostat program. The results of bacteriological studies indicate the presence of a wide range of bacteria in the urine of carnivores with urolithiasis and cystitis: *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Pseudomonas* sp., *Enterococcus* spp., *Morganella* spp., *Proteus* sp., *Bacillus* sp., With a predominance of staphylococci with both pathologies studied. High resistance of the isolated microorganisms to the used antimicrobial agents was noted, in particular, all the isolated uropathogens were resistant to benzylpenicillin, *Proteus* sp. - to all studied drugs, with the exception of neomycin and enrofloxacin, *Enterobacteriaceae* spp. and non-fermenting bacteria - mainly to tylosin and

*ampicillin, Staphylococcus spp. - to ampicillin, tetracycline, chloramphenicol. The results indicate the need to isolate microflora in diseases of the urinary system and determine its sensitivity to the latest generation of antibiotics.*

<sup>1,2</sup>**Морозова Наталья Викторовна**, аспирант кафедры микробиологии и заразных болезней; научный сотрудник; e-mail: [natascha210994@mail.ru](mailto:natascha210994@mail.ru)

*Natalya V. Morozova, graduate student, Chair of Microbiology and Infectious Diseases; e-mail: [natascha210994@mail.ru](mailto:natascha210994@mail.ru)*

<sup>2,1</sup>**Пашкова Татьяна Михайловна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник; доцент кафедры микробиологии и заразных болезней; e-mail: [pashkova070782@mail.ru](mailto:pashkova070782@mail.ru)

*Tanyana M. Pashkova, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher; Associate Professor of the Chair of Microbiology and Infectious Diseases e-mail: [pashkova070782@mail.ru](mailto:pashkova070782@mail.ru)*

<sup>1,2</sup>**Сычёва Мария Викторовна**, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии и заразных болезней; старший научный сотрудник; e-mail: [sycheva\\_maria@mail.ru](mailto:sycheva_maria@mail.ru)

*Mariya V. Sycheva, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Chair of Microbiology and Infectious Diseases; Senior Researcher; e-mail: [sycheva\\_maria@mail.ru](mailto:sycheva_maria@mail.ru)*

<sup>2,1</sup>**Карташова Ольга Львовна** доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией; профессор кафедры микробиологии и заразных болезней; e-mail: [labpersist@mail.ru](mailto:labpersist@mail.ru)

*Olga L. Kartashova, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory; Professor of the Chair of Microbiology and Infectious Diseases; e-mail: [labpersist@mail.ru](mailto:labpersist@mail.ru)*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный аграрный университет», Оренбург, Россия

*Orenburg State Agrarian University, Orenburg, Russia*

<sup>2</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB RAS, Orenburg, Russia*

**Введение.** По данным ветеринарной статистики, заболевания почек и мочевыводящих путей у мелких домашних животных диагностируются достаточно часто [2]. Так, цистит регистрируется ветеринарными специалистами в 10–15 % [5], а мочекаменная болезнь – в 19,5 - 20% случаев [9,10].

Вместе с тем, в патогенезе обоих заболеваний ведущая роль принадлежит микрофлоре: так, при проведении бактериологических исследований мочи больных циститом кошек установлена контаминация микрофлорой, представленной микроорганизмами родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia* в количестве 3-9,2\*10<sup>3</sup> КОЕ/мл [4]. Показано, что инфекция сопровождается мочекаменной болезнью в 20 % случаев, при этом наиболее часто выделяется кокковая микрофлора (60 % случаев), тогда как кишечная палочка – в 18 % случаев [1].

Кроме того, доказана роль микроорганизмов (стафилококки, стрептококки, протей) в образовании камней у собак и кошек [7]. В связи с этим антимикробная терапия является обязательной при любом виде и локализации конкрементов, а также при проведении манипуляций на органах мочевого выделения (катетеризация, цистоцентез, уретростомия и др.) в качестве профилактики бактериальной инфекции. При лечении цистита ветеринарным специалистом приходится применять длительные курсы антибиотикотерапии в ударных дозах, причем эффективность подобного лечения не всегда приводит к положительному результату [5].

При выборе антибиотика следует руководствоваться, в первую очередь, чувствительностью к нему микрофлоры, населяющей органы мочевого выделения [6].

В связи с тем, что исследования, касающиеся изучения бактериальной микрофлоры, выделенной из мочи при патологии мочевого выделительной системы, а также ее антибиотикорезистентности, крайне малочисленны, нами была поставлена цель охарактеризовать видовой состав и антибиотикорезистентность микроорганизмов, выделенных из мочи плотоядных при патологии мочевого выделительной системы.

**Условия и методы исследования.** Выделено 42 штамма бактерий разного вида из мочи плотоядных (22 представителя кошачьих и 10 собак разных пород и возрастов, пола, типа содержания) при мочекаменной болезни (МКБ) и цистите. Животные находились на лечении в ветеринарном центре «ВЕТДОКТОР» (главный врач Шатунов А.В.) и ветеринарной клинике ООО «НПЦ «Инновационная ветеринария» (директор к.б.н. Сорокин В.И.).

При обследовании пробы мочи из мочевого пузыря ветеринарные специалисты отбирали в стерильные пробирки с соблюдением правил асептики для проведения бактериологического исследования. Пробы доставляли в бактериологическую лабораторию в течение 1-2 часов.

Микроорганизмы выделяли с использованием классических микробиологических методик. Исследуемый материал микробиологической петлей методом секторных посевов [8] засеивали на поверхность селективных сред, в качестве которых использовали желточно-солевой агар для выделения стафилококков; Enterococcusel-Agar (CONDA, Испания) и желчно-эскулиновый агар с азидом натрия (HiMedia, Индия) – для энтерококков; *Сабуро и Кандида агар* (Дагестанский НИ-

*ИПС, Махачкала)* – для грибов рода *Candida*, кровяной агар и среду Эндо – для энтеробактерий и неферментирующих бактерий.

Посевы бактерий инкубировали при 37°C в течение 18-24 часов, грибов рода *Candida* – при 37 °C в течение 48 часов.

Идентификацию бактерий проводили общепринятыми методами на основании морфологических, тинкториальных и биохимических свойств. Биохимические свойства микроорганизмов выявляли с использованием биохимических тест-систем «Lachema» («Erba Lachema s.r.o.», European Union).

Чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом [3]. В работе использовали набор стандартных дисков промышленного производства (ЗАО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Санкт-Петербург) для ветеринарных лабораторий. Набор включает диски с 10 противомикробными препаратами: бензилпенициллин для стафилококков, бензилпенициллин для энтерококков, ампициллин для грамотрицательных бактерий, ампициллин для энтерококков, неомицин, стрептомицин для энтеробактерий, канамицин, левомицетин, полимиксин, тетрациклин, энрофлоксацин, тилозин.

Учет результатов проводили, измеряя диаметр зоны задержки роста культуры.

**Результаты исследований и их обсуждения.** В составе микрофлоры, выделенной из мочи плотоядных при заболеваниях мочевой системы, установлено преобладание стафилококков разных видов и *Escherichia coli* (табл. 1).

**Таблица 1** – Виды микроорганизмов, выделенных из мочи плотоядных при МКБ и цистите

Микрофлора мочи	Число микроорганизмов (абс/%)	
	МКБ	Цистит
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b>	<b><u>12</u></b> <b>44,4</b>	<b><u>6</u></b> <b>40,0</b>
<i>S. aureus</i>	<u>9</u> 33,3	<u>2</u> 13,3
<i>S. epidermidis</i>	<u>2</u> 7,4	<u>3</u> 20
<i>S. saprophyticus</i>	<u>1</u> 3,7	<u>1</u> 6,7
<b><i>Escherichia coli</i></b>	<b><u>5</u></b> <b>18,5</b>	<b><u>4</u></b> <b>26,7</b>
<b><i>Pseudomonas spp.</i></b>	<b><u>3</u></b> <b>11,1</b>	<b><u>2</u></b> <b>13,3</b>
<i>P. aeruginosa</i>	<u>2</u> 7,4	<u>2</u> 13,3
<i>P. luteola</i>	<u>1</u> 3,7	-
<b><i>Proteus mirabilis</i></b>	<b><u>1</u></b> <b>3,7</b>	<b><u>3</u></b> <b>20,0</b>
<b><i>Enterococcus faecalis</i></b>	<b><u>4</u></b> <b>14,9</b>	-
<b><i>Morganella morganii</i></b>	<b><u>1</u></b> <b>3,7</b>	-
<b><i>Bacillus subtilis</i></b>	<b><u>1</u></b> <b>3,7</b>	-
Всего	<u>27</u> 100	<u>15</u> 100

В видовой структуре микроорганизмов, выделенных из мочи плотоядных при МКБ, лидирующее место среди уропатогенов занимали стафилококки: 9 штаммов *Staphylococcus aureus*, две культуры *S. epidermidis* и одна *S. saprophyticus*; реже выделялись *E. coli* (5 штаммов) и псевдомонады, среди которых 2 штамма идентифицированы как *Pseudomonas aeruginosa* и 1 штамм *P. luteola*; а также 4 штамма *Enterococcus faecalis*; в единичных случаях были выделены *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* и *Bacillus subtilis*.

У 7 животных (41,2%) микроорганизмы выделялись в монокультуре и у 10 - в ассоциации из 2 или 3 видов (58,8%). В монокультуре у 3 животных были выделены золотистые стафилококки, у 2 - *E. coli*, у одного - *P. luteola* и у одного - *M. morganii*. В двухкомпонентных ассоциациях доминировали золотистые стафилококки, которые выделялись совместно с *E. coli* в 30,0% случаев, с *P. aeruginosa* - в 20,0%, и в 10,0% - с *E. faecalis*. Эн-

терококки изолировали совместно с *S. epidermidis* в 20,0% случаев и в 10,0% - с *P. mirabilis*. Ассоциация из трех компонентов была представлена *E. coli*, *B. subtilis* и *S. saprophyticus*.

При исследовании мочи у 2 из 14 животных с циститом микроорганизмы бактериологическим методом не выделялись. В видовой структуре микрофлоры доминировали также стафилококки: 3 штамма *S. epidermidis*, один *S. aureus* и один *S. saprophyticus*; реже выделялись *E. coli* (4 штамма); а также *P. mirabilis* (3 штамма) и *P. aeruginosa* (2 штамма).

Монокультуры были выделены в 75,0% наблюдений (9 животных) и в ассоциациях 2 видов в 25,0% (3 животных). В монокультуре изолированы бактерии видов *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* (каждый вид от 2 животных) и *S. saprophyticus* от одного животного. В ассоциациях доминировали стафилококки: так, *S. aureus* выделялись совместно с *E. coli*, а также с *P. mirabilis*, а *S. Epidermidis* - с *E. coli*.

При определении резистентности выделенных штаммов к изученным антибиотикам (табл. 2) оказалось, что они все характеризовались устойчивостью к бензилпенициллину и в пода-

вляющем большинстве – к ампициллину (исключение - *S. saprophyticus*, изолированный при обеих изученных патологиях, и *S. epidermidis* – при цистите).

**Таблица 2** – Резистентность микроорганизмов, выделенных из мочи плотоядных при МКБ и цистите, к антибактериальным препаратам, %

Микрофлора мочи Антибиотики	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>
	МКБ Цистит	МКБ Цистит	МКБ Цистит	МКБ Цистит	МКБ Цистит	МКБ Цистит
Бензилпенициллин	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$
Тилозин	$\frac{33,3}{0}$	$\frac{0}{33,3}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$
Неомицин	$\frac{16,6}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{100}$
Ампициллин	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{66,6^*}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{100}{100}$
Энрофлоксацин	$\frac{16,6^*}{100}$	$\frac{100}{33,3^*}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{50}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{0}$
Полимиксин	$\frac{16,6}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{100}$
Тетрациклин	$\frac{16,6}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{40}{25^*}$	$\frac{50}{0}$	$\frac{100}{100}$
Стрептомицин	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Левомецетин	$\frac{16,6}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{100}{100}$	$\frac{40}{25^*}$	$\frac{50^*}{100}$	$\frac{100}{100}$

Примечание: \* -  $p < 0,5$ ; достоверность различий АБ резистентности между штаммами, выделенными от животных с МКБ и циститом

Штаммы всех видов микроорганизмов, за исключением стафилококков, проявляли резистентность к тилозину. Все выделенные из мочи больных МКБ *E. faecalis*, наряду с описанными выше антибиотиками, были резистентны к полимиксину, стрептомицину и левомецетину.

*S. aureus*, изолированные из мочи при цистите, характеризовались также резистентностью к энрофлоксацину, а при МКБ – в 16,6% к неомицину, энрофлоксацину, полимиксину, тетрациклину и левомецетину; в 33,3% - к тилозину. Культуры *S. epidermidis* и *P. mirabilis*, выделенные при МКБ, в 100% случаев; а *S. epidermidis* и *E. coli*, изолированные при цистите, в 33,3% ( $p < 0,5$ ) и

50,0% случаев, соответственно, были резистентны к энрофлоксацину. Кишечные палочки и *P. aeruginosa* из мочи больных МКБ, в 40,0 и 50,0% случаев оказались нечувствительными к тетрациклину и левомецетину; тогда как *E. coli*, высеянные из мочи животных с циститом, в 25,0% ( $p < 0,5$ ) случаев.

Сравнение резистентности *P. mirabilis* к изученным антибиотикам показало, что из 9 использованных нами средств протей нечувствителен к 7, за исключением штаммов, выделенных из мочи при МКБ, которые проявляли чувствительность к неомицину и стрептомицину, а из мочи при цистите - к энрофлоксацину и стрептомицину.

Таким образом, сравнительный анализ структуры микробной флоры при бактериологическом анализе мочи при мочекаменной болезни и цистите у плотоядных показал наличие широкого спектра микроорганизмов с преобладанием стафилококков.

Полученные результаты свидетельствуют, что наибольшее видовое разнообразие (10 видов) представлено в моче при МКБ, чем при цистите (6 видов). Микрофлора в обоих случаях имела приблизительно одинаковый спектр, с преобладанием стафилококков разных видов. Показано, что штаммы микроорганизмов, изолированные из мочи при заболеваниях мочевыделительной системы, характеризуются высокой антибиотикорезистентностью, что необходимо учитывать при эмпирическом выборе препарата (-ов) для лечения данных заболеваний.

**Выводы.** 1. Доминирующим видом в структуре микрофлоры мочи, выделенной при МКБ и цистите у плотоядных, являются стафилококки.

2. Бактериологический анализ мочи при МКБ показал наличие более широкого спектра микроорганизмов, чем при цистите.

3. Отмечена высокая устойчивость выделенных микроорганизмов к изученным антимикробным препаратам.

**Предложения.** Полученные данные по высокой частоте встречаемости антибиотикорезистентных штаммов указывают на необходимость выделения микрофлоры при заболеваниях мочевыделительной системы и определения у нее чувствительности к антибиотикам. Использовать для терапии современные антибиотики последнего поколения.

#### Библиографический список

1. Веревкина М.Н., Заерко В.И., Малышева Л.А. Инфекционные заболевания непродуктивных животных // Вестник КрасГАУ. – 2017. – №11. – С. 84–88.

2. Воронцова О.А., Пудовкин Н.А., Салутин В.В. Ретроспективный анализ заболе-

ваний мочевыделительной системы кошек в г. Пензе // Вестник КрасГАУ. – 2019. – №3. – С.109–115.

3. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – М.: Минздрав России, 2005. – 62 с.

4. Препарат на основе наночастиц серебра для лечения геморрагического цистита кошек / С.А. Боляхина, Г.Ф. Насартдинова, В.Ю. Коптев, И.С. Онищенко // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – №1. – С. 21–25.

5. Применение «Уроцистона» при экспериментальном моделировании цистита / С.Г. Глущенко, И.С. Коба, Ю.В. Козлов, С.П. Скляров, И.В. Зирук // Вестник АПК Ставрополя. – 2018. – №4. – С. 37–41.

6. Складнева Е.Ю. Терапия уролитиаза у домашних плотоядных: научно-методические рекомендации. – Черногоorsk: Издательство ООО «РИЦ», 2011. – 19 с.

7. Усольцева А.Н., Курочкина Н.Г. Диагностика и терапия мочекаменной болезни у плотоядных // Молодежь и наука. – 2017. – № 4. – С. 9.

8. Фельдман Ю.М., Маханева Л.Г., Шапиро А.В. Количественное определение бактерий в клиническом материале // Лабораторное дело. – 1984. – № 10. – С.616–619.

9. Штагер И.В. Частота встречаемости и клиническое проявление уролитиаза у домашних животных Республики Хакасия // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 12– 4 (66). – С.87–91.

10. Buffington T. Заболевания мочевыводящих путей у кошек и стерильный цистит // Waltham Focus. – 2013. – № 3. –Т. 13. – С. 21–22.

1. Verevkina M.N., Zaerko V.I., Malysheva L.A. Infectious diseases of unproductive animals. *Vestnik KrasGAU*. 2017. No 11. pp. 84-88 [in Russian].

2. Vorontsova O.A., Pudovkin N.A., Salautin V.V. Retrospective analysis of urinary system diseases in cats in Penza. *Vestnik KraSGAU*. 2019. No 3. pp. 109-115. [in Russian].

3. MOOK 4.2.1890-04 Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Moscow. Ministry of Health of the RF. 2005. 62 p. [in Russian].

4. Balyahina S.A., Nasartdinova G.F., Koptev V.Y., Onishchenko I.S. Preparation

on the basis of nanochastits of silver for the treatment of hemorrhagic cystitis cats. *Int. Journal of Veterinary Medicine*. 2017. No 1. pp. 21-25 [in Russian].

5. Glushchenko S.G., Koba I.S., Kozlov Y.V., Sklyarov S.P., Ziruk I.V. Application of urocystone at experimental modeling of cystitis. *Vestnik APK Stavropolya*. 2018. No 4. pp. 37-41 [in Russian].

6. Skladneva E.Yu. Therapy of urolithiasis in domestic carnivores: scientific and methodological recommendations. Chernogorsk. Publishing house OOO "RITS". 2011. 19 p. [in Russian].

7. Usoltseva A.N., Kurochkina N.G. Diagnosis and therapy of urolithiasis in carnivores. *Molodezh i nauka*. 2017. No 4.

pp.9 [in Russian].

8. Feldman J.M., Mahadeva L.G., Shapiro A.V. Quantitative determination of bacteria in clinical material. *Laboratornoye delo*. 1984. No 10. pp. 616-619 [in Russian].

9. Shtager I.V. Frequency of occurrence and clinical manifestation of urolithiasis in domestic animals of Republic of Khakassia. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2017. No12. 4(66). pp. 87-91 [in Russian].

10. Buffington T. Cat urinary disease and sterile cystitis. *Waltham Focus*. 2013. No3. Vol 13. pp. 21–22.