

плазм С-4, использованный для экспериментального заражения этих животных.

Патогенной микрофлоры из легких и других паренхиматозных органов подопытных животных не выделено.

Проведенный опыт показал, что выделенная культура микоплазм (штамм С-4) патогенна для поросят раннего возраста. При экспериментальном заражении поросят 8-дневного возраста была воспроизведена неосложненная форма энзоотической пневмонии.

Выводы

1. От поросят, больных энзоотической пневмонией, наряду с непатогенной бактериальной флорой (пастереллы и кокки) выделяются микоплазмы.

2. Выделенные в Витебской области штаммы микоплазм являются родственными в антигенном отношении *Mycoplasma hyorhinis* — возбудителю энзоотической пневмонии свиней.

3. Местные штаммы микоплазм патогенны для поросят. При экспериментальном заражении ими у поросят воспроизведена неосложненная форма пневмонии.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕКОТОРЫХ СЕРОТИПОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ В ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ, К АНТИБИОТИКАМ И ИХ СОЧЕТАНИЯМ

КОЛЬЦОВА Т. Г., МЯКИНЧИК М. Н.,
КОЗЛОВ С. Е.

За последние годы в ветеринарной практике при лечении инфекционных болезней антибиотики нашли широкое применение благодаря их высокой терапевтической эффективности. Однако нередко отмечаются случаи, когда они не дают положительных результатов. Это до некоторой степени объясняется тем, что у микробов появляется привыкание к антибиотикам, которое приводит к образованию антибиотикоустойчивых форм бактерий. Приобретая устойчивость к антибиотикам, микробы могут сохранить вирулентность и, попадая в организм здоровых животных, вызывать заболе-

вания, трудно поддающиеся лечению антибиотическими препаратами. Н. С. Егоров (1969) считает, что основным фактором в возникновении приобретенной устойчивости микробов к антибиотикам является «отсутствие чувствительности к антибиотику реакций метаболизма». Это значит, что в процессе обмена микробной клетки исчезают реакции, на которые могли бы оказать определенное влияние антибиотики.

Антибиотикоустойчивые формы выявлены у стафилококков, энтерококков, у кишечной палочки и других микроорганизмов (З. В. Ермольева, 1965 и др.). Поэтому во всех случаях в целях повышения эффективности лечебных мероприятий следует до лечения определять чувствительность микроорганизмов — возбудителей болезней — к ряду антибиотиков. Кроме того, целесообразно применять два или более антибиотика в сочетании. При этом уменьшается доза каждого из них и соответственно токсическое действие на организм животных. На эффективность терапевтического действия некоторых сочетаний антибиотиков при колибактериозе телят и отечной болезни поросят сообщают В. И. Антонов (1968), М. Н. Еремеев, И. И. Тетерев (1968), Я. Е. Коляков с соавторами (1970) и др. авторы.

Задача нашей работы заключалась в определении чувствительности местных штаммов *E. coli* к ряду антибиотиков и их антибактериального действия при комбинированном применении (в двойных сочетаниях) с учетом серотипа, патогенности и гемолитических свойств.

Для исследования использовали 20 штаммов кишечной палочки, выделенных из патологического материала от поросят. Материал поступил в лабораторию кафедры микробиологии из различных хозяйств Витебской области. Изученные штаммы кишечной палочки по своим морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам были типичны. В процессе изучения биологических свойств *E. coli* провели их серотипирование по O-антигену, определяя патогенность и гемолитические свойства.

Серотипы определяли путем постановки реакции агглютинации в соответствии с «Методикой бактериологической диагностики колибактериоза», разработанной сотрудниками кафедры микробиологии Московской ветеринарной академии. Монорецепторные сыворотки были приготовлены в Государственном научно-контрольном

институте ветпрепаратов и предоставлены нам А. Г. Малавиным. Из 20 изученных штаммов было серотипировано по 0-антигену 18, из них 7 относилось к серотипу 0139; 5 — к 044, 4 штамма — к 0117, 1 штамм — к серотипу 026 и 1 — к серотипу 08.

Гемолитические свойства изучали путем посева чистой культуры бактерий на кровяной агар. Гемолиз эритроцитов типа β наступал через 18—24 часа после посева. Колонии *E. coli* были окружены широким светлым ободком — зоной гемолиза эритроцитов.

Чтобы определить патогенность изучаемых культур, ими заражали белых мышей. Суточную бульонную культуру в дозе 0,2 мл вводили белым мышам внутрибрюшинно, животные гибли через 9—24 часа после заражения.

Чувствительность кишечной палочки к антибиотикам определяли методом серийных разведений и методом диффузии в агар. Для большей достоверности полученных данных в том и другом случае с каждым из изучаемых штаммов *E. coli* ставили два параллельных опыта.

При определении чувствительности *E. coli* методом бумажных дисков руководствовались указаниями, имеющимися в «Инструкции по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков», утвержденной Минздравом СССР в 1963 г. Методом диффузии в агар было испытано 9 антибиотиков: мономицин, неомицин, левомицетин, эритромицин, стрептомицин, тетрациклин, окситетрациклин, хлортетрациклин, тетрациклин.

Характеристика изученных штаммов кишечной палочки и их чувствительность к антибиотикам представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из данных табл. 1, у нечувствительных штаммов зоны угнетения роста вокруг диска не было, у слабочувствительных штаммов зона угнетения роста составила до 15 мм, у умеренно чувствительных — от 16 до 25 мм, у высокочувствительных штаммов диаметр зоны был от 26 до 38 мм.

Методом диффузии в агар установлено, что изученные штаммы *E. coli* высокочувствительны к мономицину, неомицину и левомицетину, менее чувствительны к стрептомицину, эритромицину и тетрацицину, слабочувствительны или нечувствительны — к тетрациклину, хлортетрациклину, тетрамицину, окситетрациклину.

Таблица 1

Характеристика некоторых биологических свойств местных штаммов *E. coli* и их чувствительность к антибиотикам, установленная методом бумажных дисков

Штамм <i>E. coli</i>	О-сера- типы	Гемолиз крася- ного агара	Патогенность для белых мышей	Диаметр зоны угнетения роста, мм								
				Мономицилин	Неомицин	Левомецетил	Стрептомицин	Тетрациклин	Окситетра- циклин	Хлортетра- циклин	Террамицин	Эритромицин
1	044	—	—	30	27	22	12	10	15	10	15	15
7	044	—	—	30	28	22	15	10	13	10	15	12
96	0139	—	+	32	30	30	15	12	15	12	15	15
139	08	—	—	28	25	28	15	12	15	10	15	12
182	0139	—	—	35	30	22	17	12	15	15	17	15
192*	—	+	+	38	32	30	17	15	17	13	17	12
225	0139	—	—	22	20	10	—**)	10	8	—	—	15
232	044	+	+	25	22	25	15	15	15	15	17	15
236	044	+	+	—	—	—	17	—	—	—	—	18
404	0117	—	+	30	30	30	20	18	20	10	12	20
600	0117	—	—	22	22	27	17	—	15	15	15	17
1047	0139	+	+	30	30	20	18	12	12	12	17	—
1052	0139	+	+	32	30	28	15	10	10	10	15	17
1071	0117	+	+	35	32	25	20	—	—	—	—	18
1081	—	+	+	35	32	25	17	10	—	15	17	18
1084	0117	—	+	32	30	22	18	15	15	15	13	17
1116	026	+	+	—	—	—	15	8	8	+	—	17
1140	044	+	+	25	23	—	13	—	—	+	—	—
1142	0139	—	—	33	32	30	15	15	25	14	17	10
1145	0139	+	—	30	30	25	20	7	8	—	—	17

* Два штамма *E. coli* (92 и 1081) нетипированы.

** Зона угнетения роста отсутствует.

Методом серийных разведений определяли чувствительность местных штаммов кишечной палочки к мономицину, неомицину, олететрину и тетрациклину. После установления бактериостатических и бактерицидных единиц действия (ед/мл) отдельных антибиотиков определяли активность антибактериального действия антибиотиков в двойном сочетании. Для этого в ряд пробирок стерильно наливали по 2 мл МПБ, затем в первую пробирку вносили 2 мл основного разведения антибиотика. Смесь тщательно перемешивали и переносили 2 мл жидкости из 1-й пробирки во 2-ю, затем из 2-й в 3-ю и т. д. Из последней пробирки 2 мл смеси выливали в дезраствор. После приготовления ряда последовательных разведений антибиотика во все пробирки

Таблица 2

Чувствительность к антибиотикам местных штаммов *E. coli*, установленная методом серийных разведений

Штамм	Бактериостатическая доза, ед/мл				Бактерицидные дозы, ед/мл				Сочетания антибиотиков		
	моно-мицина	неомицина	олететрина	тетра-циклина	мономицина	неомицина	олететрина	тетра-циклина	Бактерицидные дозы, ед/мл		
									мономицина + олететрина	мономицина + тетрациклина	
1	44,0	57,0	120,0	187,5	52,0	76,0	160,0	250,0	4,3+13=17,3*	9	+41=50,0
7	44,0	57,0	120,0	187,5	52,0	76,0	160,0	250,0	4,3+13=17,3	9	+41=50,0
96	22,5	47,2	90,0	131,2	30,0	63,0	120,0	175,0	3,0+12=15,0	5	+29=34,0
139	44,0	57,0	120,0	187,5	52,0	76,0	160,0	250,0	4,3+13=17,3	9	+41=50,0
182	44,0	57,0	120,0	187,5	52,0	76,0	160,0	250,0	4,3+13=17,3	9	+41=50,0
192	22,5	45,0	120,0	187,5	30,0	60,0	160,0	250,0	5+26=31,0	5	+41=46,0
225	44,0	57,0	172,5	225,0	52,0	76,0	230,0	340,0	6,5+28=34,5	9	+56=65,0
232	56,2	70,5	90,0	131,0	75,0	94,0	120,0	175,0	12+20=32,0	12	+29=41,0
236	237,0	198,7	360,0	405,0	316,0	265,0	480,0	540,0	80+53=133,0	79	+135=214,0
404	44,0	57,0	172,5	225,0	52,0	76,0	230,0	340,0	6,5+28=34,5	6	+42=48,0
600	60,0	70,5	225,0	360,0	80,0	94,0	340,0	480,0	13+57=70,0	13	+80=93,0
1047	44,0	57,0	90,0	131,5	52,0	76,0	120,0	175,0	12+20=32,0	9	+29=38,0
1052	44,0	57,0	90,0	131,5	52,0	76,0	120,0	175,0	12+20=32,0	12	+20=32,0
1071	21,0	36,5	225,0	405,0	28,0	48,7	340,0	540,0	4+13=17,0	4	+90=94,0
1081	21,0	36,5	120,0	187,5	28,0	48,7	160,0	250,0	4+13=17,0	4,5	+41=45,5
1084	21,0	36,5	120,0	187,5	28,0	48,7	160,0	250,0	3+12=15,0	4,5	+41=45,5
1116	237,0	198,7	360,0	405,0	316,0	265,0	480,0	540,0	80+53=133,0	79	+135=214,0
1140	56,2	70,5	90,0	131,0	75,0	94,0	120,0	175,0	12+20=32,0	12	+29=41,0
1142	44,0	60,0	172,5	225,0	52,0	80,0	230,0	340,0	5+25=30,0	6,5	+46=52,5
1145	44,0	60,0	172,5	225,0	52,0	80,0	230,0	340,0	5+25=30,0	6,5	+46=52,5

* При комбинированном применении антибиотиков в таблице указаны бактерицидные ед/мл.

вносили по 0,2 мл взвеси (2 млрд/мл) 24-часовой культуры испытуемых штаммов *E. coli*. Содержимое пробирок тщательно встряхивали и помещали в термостат при 37°. Опыт сопровождался необходимыми контрольными исследованиями: 1-е — контроль роста культуры в среде без антибиотиков; 2-е — контроль среды на стерильность. Учитывали результаты через 24 и 48 часов: определяли бактериостатическую и бактерицидную единицы действия антибиотиков. За бактериостатическую единицу принимали среднее арифметическое от концентрации антибиотиков в двух смежных пробирках: последней пробирки — с прозрачной и первой — с помутневшей средой.

Для определения бактерицидной единицы действия антибиотика из трех последних пробирок, в которых не было видимого роста микробов, производили посев на МПА и МПБ. Засеянные пробирки ставили в термостат при 37° и через 48 часов учитывали результаты. Бактерицидная единица антибиотиков соответствовала концентрации антибиотика (ед/мл) в пробирке, из которой не были выделены микроорганизмы.

После установления бактериостатических и бактерицидных единиц действия (ед/мл) мономицина, неомицина, олететрина и тетрациклина определяли их антибактериальную активность в двойном сочетании, сокращая дозу каждого антибиотика в два раза по сравнению с бактерицидной концентрацией при отдельном их применении. Далее делали их последовательные разведения в ряде пробирок с МПБ. В двойном сочетании определены бактерицидные и бактериостатические дозы мономицина и олететрина, мономицина и тетрациклина.

Из данных табл. 2 видно, что при определении чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений местные штаммы *E. coli* оказались наиболее чувствительными к мономицину и неомицину, слабочувствительными или нечувствительными — к олететрину и тетрациклину. В то же время показатели бактериостатических и бактерицидных единиц действия (ед/мл) указанных антибиотиков по отношению к различным штаммам бактерий значительно колебались. Так, минимальная бактериостатическая доза мономицина была равна 21 ед/мл, максимальная — 237 ед/мл, неомицина соответственно — 36,5 и 198,7, олететрина — 90 и 160, тетрациклина — 131 и 405 ед/мл. Методом серийных разведений было выявлено два нечувствительных к изуча-

емым антибиотикам штамма *E. coli* (№ 236 и 1116).

Результаты исследований, полученные методом диффузии в агар и методом серийных разведений, полностью совпадают.

При одновременном применении двух антибиотиков бактериостатические и бактерицидные дозы каждого антибиотика уменьшались в 6—10 и более раз.

Сравнение степени чувствительности к антибиотикам патогенных и непатогенных штаммов *E. coli* показало, что первые из них в 15,5% случаев оказались устойчивыми к мономицину, неомицину и левомецетину (антибиотикам, обычно действующим активно на *E. coli*), тогда как непатогенные были чувствительны к этим антибиотикам.

У штаммов *E. coli*, относящихся к различным 0-серотипам, закономерности в чувствительности и устойчивости к антибиотикам не установлено, так как различные штаммы *E. coli* одного и того же серотипа могли быть патогенными и непатогенными и имели различную чувствительность к антибиотикам.

В ы в о д ы

1. Местные штаммы *E. coli*, относящиеся к серотипам 0139, 0117, 044, 08, в большинстве случаев были высокочувствительны к мономицину, неомицину и левомецетину, менее чувствительны — к стрептомицину, эритромицину, олететрину и тетрациклину, слабочувствительны или нечувствительны к тетрациклину, хлортетрациклину, окситетрациклину и тетраамицину.

2. Патогенные штаммы *E. coli* в 15,5% случаев были устойчивы к мономицину, неомицину и левомецетину (непатогенные штаммы чувствительны к этим антибиотикам). У штаммов кишечной палочки, относящихся к разным серотипам, закономерностей в чувствительности и устойчивости к антибиотикам не установлено.

3. При одновременном применении двух антибиотиков активность их антибактериального действия возрастает в 6—10 и более раз.

4. Для лечения колибактериоза и отечной болезни свиней можно рекомендовать комбинированное применение сочетаемых антибиотиков: мономицина с олететрином или тетрациклина с мономицином в уменьшенных дозировках.