

## **ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ И УСТОЙЧИВЫЕ К АНТИБИОТИКАМ И БАКТЕРИОФАГУ ФОРМЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ АМЕРИКАНСКОГО ГНИЛЬЦА**

Е. К. ХРИПУНОВ

Вопросу изучения биологических свойств лекарственноустойчивых форм возбудителей инфекционных болезней посвящено значительное число работ. В них указывается, что у резистентных к лечебным препаратам микроорганизмов изменяются морфологические, культуральные и биохимические свойства, а также отношение к физико-химическим факторам (Лебедева, Воропаева, 1960; Филиппосьян, 1959; Шершевская, 1959).

Измененные формы микробов часто вызывают рецидивы болезни; повышенная устойчивость к химическим веществам снижает эффективность дезинфекции. Однако отношение антибиотико- и фагоустойчивых вариантов бактерий к дезинфицирующим веществам неодинаковое. По данным Э. Г. Набиева (1964) и Л. Н. Ульянищевой (1959), выживаемость резистентных к антибиотикам дизентерийных бактерий во внешней среде и под действием дезинфицирующих растворов выше, чем чувствительных. Вместе с тем А. С. Дгольдина (1961) сообщает, что антибиотикоустойчивые штаммы дезинтерийной и брюшнотифозной палочки не обладают повышенной устойчивостью к действию дезинфицирующих веществ.

В опытах И. Е. Колуканова (1961) при нагревании и действии дезинфицирующих растворов на кишечнотифозных микробов результаты получены разные, хотя в большинстве случаев антибиотикоустойчивые штаммы были менее жизнеспособны, чем исходные культуры.

Противоречивость данных в литературе указывает на необходимость дальнейшего изучения биологических свойств лекарственнорезистентных форм микробов, в том числе и длительности их сохранения во внешней среде. В связи с этим мы решили установить влияние

некоторых физико-химических факторов на лекарственно-резистентные и чувствительные формы *Bac. larvae* в сравнительном аспекте.

С этой целью в опытах *in vitro* и *in vivo* адаптировали *Bac. larvae* к ряду антибиотиков: стрептомицину, мицерину, тетрациклину, эритромицину, сочетанию стрептомицина с тетрациклином и эритромицина с мицеринном. В результате 10 пассажей *Bac. larvae* на питательных средах с нарастающими дозами указанных антибиотиков устойчивость этого микроорганизма к стрептомицину увеличилась в 403 раза, к мицерину — в 16, тетрациклину — в 4, эритромицину — в 2, к сочетанию эритромицина с мицеринном — в 4, стрептомицина с тетрациклином — в 2 раза. Во всех случаях чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли методом серийных разведений.

Фагоустойчивые формы *Bac. larvae* получили в процессе взаимодействия ларвейного бактериофага с чувствительным штаммом *Bac. larvae* после появления вторичного роста в пробирках с полным фаголизисом.

В итоге адаптации *Bac. larvae* к антибиотикам *in vivo* на пчелиных семьях, пораженных американским гнильцом, в процессе лечения установили, что резистентность возбудителя к стрептомицину возросла в 4, к тетрациклину, эритромицину и мицерину — в 2 раза. При использовании сочетаний антибиотиков и бактериофага образования антибиотико- и фагоустойчивых вариантов *Bac. larvae* не наблюдалось.

У антибиотико- и фагорезистентных форм *Bac. larvae* отмечена изменчивость некоторых морфологических (увеличение палочек, отсутствие цепочек, ослабление подвижности), культуральных (диссоциация и образование S-форм) биохимических свойств (не изменяют глюкозу и молоко).

Электронномикроскопическое исследование позволило установить некоторые изменения в морфологии вариантов *Bac. larvae*, устойчивых к стрептомицину и сочетанию стрептомицина с тетрациклином: снижение электроннооптической плотности цитоплазмы, бугристость оболочки (рис. 1, 2, 3, 4).

После получения антибиотико- и фагоустойчивых вариантов *Bac. larvae* было изучено их отношение к нагреванию (при разной температуре) и действию химиче-



Рис. 1. Чувствительный к антибиотикам вариант *Bac. larvae* под электронным микроскопом.  $\times 25\ 000$ .



Рис. 2. Снижение электрооптической плотности цитоплазмы у стрептомициноустойчивых вариантов *Bac. larvae*.  $\times 25\ 000$ .



Рис. 3. Изменение морфологии оболочки *Bac. larvae*, устойчивой к сочетанию стрептомицина с тетрациклином.  $\times 25\ 000$ .



Рис. 4. Изменение структуры *Bac. larvae* после адаптации к стрептомицину и тетрациклину:

1 — снижение плотности цитоплазмы; 2 — участок оболочки с повышенной электрооптической плотностью.  $\times 25\ 000$ .

ских веществ: 5%-ному раствору карболовой кислоты, 3%-ному раствору едкого натра, 4%-ному раствору формалина и спирта. При этом обращали внимание на ха-

рактер устойчивости вариантов *Bac. larvae*, полученных *in vitro* и *in vivo*.

С этой целью двухсуточные агаровые культуры исходных и лекарственноустойчивых вариантов *Bac. larvae* смывали физиологическим раствором, и после получения достаточной концентрации (2 млрд/мл) микробную взвесь подвергали нагреванию или воздействию химических веществ. Нагревали культуры в пробирках, помещенных в водяную баню, при температуре 60, 80 и 90° в течение 5, 10, 60 и 90 минут.

При изучении влияния дезинфицирующих веществ взвесь микробов смешивали с их растворами в соотношении 1 : 1 и оставляли при комнатной температуре на 5, 10, 20 минут и на 12, 24 и 48 часов.

После окончания нагревания или воздействия химическим веществом культуры высевали на сывороточный мясо-пептонный агар и наблюдали за посевами в течение 7 суток. Появление роста на агаре указывало на жизнеспособность *Bac. larvae*.

Исходный вариант *Bac. larvae* оставался жизнеспособным при нагревании до 60° в течение 90 минут, при 90° — в течение 5 минут; вариант, устойчивый к стрептомицину, погибал при 60° в течение 60 минут, а через 90 минут теряли жизнеспособность все остальные устойчивые формы *Bac. larvae*. При нагревании до 90° все устойчивые варианты *Bac. larvae* погибали в течение 5 минут.

При воздействии 5%-ным раствором карболовой кислоты, 3%-ным раствором едкого натра и 4%-ным раствором формалина гибель антибиотико- и фагоустойчивых форм *Bac. larvae*, полученных в опытах *in vitro*, наблюдалась в течение 5 минут. Исходные культуры сохраняли жизнеспособность значительно дольше: в первых двух случаях они погибали через 20, в последнем — через 10 минут.

В 96%-ном спирте стрептомициноустойчивые варианты сохранялись 20 минут, мицериноустойчивые — 12 часов, устойчивые к эритромицину, тетрациклину, сочетанию стрептомицина с тетрациклином, эритромицина с мицерином и к бактериофагу — 24 часа; чувствительные варианты оставались жизнеспособными в течение 48 часов.

Варианты *Bac. larvae*, адаптированные к отдельным антибиотикам в условиях *in vivo*, при нагревании до 80 и

90° погибали соответственно через 10 и 5 минут. Антибиотикочувствительные варианты в течение этого времени оставались жизнеспособными.

Под действием 5%-ного раствора карболовой кислоты, 3%-ного раствора едкого натра и 4%-ного раствора формалина устойчивые формы, полученные *in vivo*, погибали в течение 10 минут, тогда как чувствительные варианты полностью сохраняли жизнеспособность. В 96°-ном спирте гибель устойчивых вариантов наступала через 48 часов; исходные варианты в течение этого времени не погибали.

Сравнительная оценка полученных данных показывает, что устойчивые формы *Bac. larvae*, образовавшиеся *in vivo*; более устойчивы к физико-химическим факторам, чем полученные *in vitro*.

Анализируя результаты опытов, следует отметить, что при образовании антибиотико- и фагорезистентных штаммов возбудителя американского гнильца не происходит одновременного увеличения их устойчивости к физико-химическим факторам. Это указывает на возможность использовать на пасеках общепринятые средства дезинфекции (формалин, щелочь, карболовая кислота), несмотря на выявление антибиотикорезистентных форм возбудителя американского гнильца.

## Выводы

1. В опытах *in vitro* получены антибиотико- и фагорезистентные формы возбудителя американского гнильца пчел. Возрастание устойчивости возбудителя к отдельным антибиотикам происходит в 2—100 раз быстрее, чем к их сочетаниям.

2. В результате адаптации *in vivo* (в пчелиных семьях) повышение устойчивости возбудителя наблюдалось только при раздельном применении антибиотиков. Использование бактериофага и сочетаний антибиотиков не привело к образованию устойчивых форм *Bac. larvae*.

3. Антибиотико- и фагорезистентные штаммы *Bac. larvae* менее устойчивы к физико-химическим факторам, чем их исходные, чувствительные варианты.

ЛИТЕРАТУРА

Дгольдина А. С. Чувствительность к дезинфекционным препаратам лекарственно-устойчивых форм возбудителей кишечной инфекции. Мат-лы научн. конференции Киевского научн.-исслед. ин-та эпидемиологии и микробиологии. Киев, 1961.

Колуканов И. Е. Устойчивость микробов кишечнотифозной группы, чувствительных и адаптированных к антибиотикам, к воздействию физико-химических факторов. «Антибиотики», 1961, № 8.

Лебедева М. Н., Воропаева С. Д. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. М., Медгиз, 1960.

Набиев Э. Г. О выживаемости синтомицинорезистентных дизентерийных бактерий во внешней среде. «ЖМЭИ», 1964, № 3.

Ульянищева Л. Н. Выживаемость антибиотикоустойчивых палочек дизентерии в дезинфицирующих растворах, воде и при высушивании. Уч. зап. Горьковского мед. ин-та, вып. 7. Горький, 1959.

Филиппосьян С. Т. Наследственная изменчивость некоторых микроорганизмов под действием антибиотиков. «Ж. общ. биол.», 1959, № 6.

Шершевская Р. С. Изменчивость дизентерийных бактерий в процессе адаптации их к антибиотикам. «ЖМЭИ», 1959, № 6.