

Представленные в таблице данные указывают на наличие высокой корреляционной связи между уровнями специфических к вирусу БН антител при их выявлении указанными серологическими методами.

Изучением активности полученных гипериммунных сывороток установлено, что средние титры антител у индюков составляли  $11,33 \pm 0,33 \log_2$  в РЗГА;  $3,00 \pm 0,67 \log_2$  в РНГА и  $7913 \pm 224$  в ИФА; у петухов – соответственно,  $10,78 \pm 0,44$ ;  $3,88 \pm 0,75 \log_2$  и  $15259 \pm 340$ .

**Заключение.** На основе полученных данных можно сделать вывод, что хотя реакция непрямой гемагглютинации не входит в число методов, рекомендуемых МЭБ для проведения серологических исследований в отношении болезни Ньюкасла, но при контролировании пассивной и активной иммунизации птицы, а также в качестве непрямого диагностического метода, наряду с иммуноферментным анализом и реакцией задержки гемагглютинации, ее использование целесообразно.

**Литература.** 1. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. *Ветеринарная вирусология*. – М.: Колос, 1984. – 376 с. 2. Дяченко Н.С. *Пассивная гемагглютинация и ее применение в вирусологии*. – К.: Наукова думка, 1979. – 147 с. 3. Gough P.M., Dierks R.E. *Passive Haemagglutination Test for Antibodies Against Rabie Virus //Bull. World Health Org.* – 1971. - Vol. 45. - P. 741-745. 4. *Adenovirus antibody measured by the passive hemagglutination test / S.S. Lefkowitz, J.A. Williams, B.E. Howard, M.M. Sigel // J. Bacteriol.* – 1966/ - Vol. 91. – P.205-212. 5. *Вивчення динаміки рівня антитіл при гіперімуназації птиці та кролів вірусом хвороби Ньюкасла / С.С. Драгуць, М.Ю. Стегній, В.О. Бреславець. А.Б. Стегній // Вісник аграрних наук.* – 2008, № 8. – С. 63-66.

УДК 619:579.852.11:615.33:638.1

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ PAENIBACILLUS ALVEI К АНТИБИОТИКАМ

Дунец Е.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

*Определение терапевтической эффективности антибактериальных средств в условиях in vitro позволяет быстро и правильно выбрать препарат для проведения лечебных мероприятий на пчелопасеках, неблагополучных по европейскому гнильцу, вызванному Paenibacillus alvei. В работе использовали 10 антибактериальных дисков, содержащих различные антибиотики. Наилучшим эффектом в отношении P. alvei обладал тилозин, диаметр зоны задержки роста возбудителя болезни составил в среднем  $47,2 \pm 3,43$  мм.*

*The use of disks with different antibacterial substances allows a fast and correct selection of the drug for preventive measures on bee-keeping farms affected with European Faulbrut caused by Paenibacillus alvei. During the experimental work 10 antibacterial disks have been used. The best result was shown by Tilozin, the diameter zone of the growth inhibition being about  $47,2 \pm 3,43$  mm.*

**Введение.** В последние годы среди заболеваний пчелосемей наибольшую актуальность приобретают инфекционные болезни. Распространение возбудителей болезней связано со снижением иммунного статуса пчелиной семьи, бесконтрольным применением антибиотиков, недостаточным взятком в природе и др. Широкому распространению болезней на пасеках способствует появление клеща *Varroa jacobsoni* [3, 5, 9].

Бактериальные болезни пчелосемей, особенно гнильцовые, вызывают серьезные опасения у пчеловодов. В Республике Беларусь среди гнильцовых болезней лидирующее место по распространению занимает европейский гнилец. Возбудителями болезни могут быть несколько видов микроорганизмов, однако чаще всего в пчелосемьи поражают бактерии *Paenibacillus alvei*.

Против возбудителей европейского гнильца существует большое разнообразие лекарственных препаратов [2, 5, 6]. Однако в связи с быстрой адаптацией микроорганизмов к некоторым из них необходимо изыскивать более эффективные лекарственные средства, в т. ч. и антибиотики.

Целью исследования данной работы явилось изучение чувствительности *Paenibacillus alvei* к различным антибактериальным средствам, нанесенным на диски.

Для исследования были выбраны антибактериальные средства, действующие на грамположительные микроорганизмы. Нами были исследованы следующие антибиотики: пенициллин, тетрациклин, неомицин, канамицин, ампициллин, полимиксин, левомецетин, энрофлоксацин, тилозин и стрептомицин.

Тетрациклина гидрохлорид (*Tetracyclini hydrochloridum*) представляет собой продукт жизнедеятельности стрептомицет – *Streptomyces aureofaciens*. Тетрациклина гидрохлорид действует бактериостатически на вне- и внутриклеточно расположенных возбудителей. Обладает широким противомикробным спектром действия, к нему чувствительны грамположительные и грамотрицательные виды микробов. Бактерицидное действие оказывает только при его высокой концентрации в организме. Молодые, быстро размножающиеся культуры микроорганизмов более чувствительны к действию препарата, чем находящиеся в фазе покоя.

Механизм антибактериального действия тетрациклинов связан с подавлением белкового синтеза – блокирует функции рибосом. С белками гемолимфы образует комплексы. Распределяется в организме неравномерно.

Устойчивость микроорганизмов к тетрациклину развивается медленно. Микробы, резистентные к одному из антибиотиков группы тетрациклинов, обладают перекрестной устойчивостью к другим этой же группы [10, 11].

Полимиксин (*Polymyxinum*) относится к антибиотическим соединениям, продуцируемым спорообразующими почвенными бактериями *Vac. polymixa*. Биологическая активность измеряется в ЕД. В 1 мг содержится 8 000 ЕД. К полимиксину чувствительны в основном грамотрицательные микроорганизмы. Медленно вызывает возникновение резистентных штаммов. Из организма выделяется медленно; распределяется неравномерно. Механизм противомикробного действия заключается в разрушении цитоплазматической мембраны бактерии.

Канамицин (*Kanamycinum*) представляет собой антибиотик, продуцируемый лучистым грибом *Streptomyces kanamyceticus*. Относится к аминогликозидам. Обладает бактерицидным действием в отношении большинства грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов.

Неомицин (*Neomycinum*) продуцируется *Streptomyces fradiae*. Имеет широкий противомикробный спектр действия на некоторые виды грамположительных и многие виды грамотрицательных микроорганизмов. В одном мкг неомицина содержится 1 ЕД. Механизм противомикробного действия заключается в ингибировании биосинтеза белков.

Стрептомицина сульфат (*Streptomycinum sulfatis*) продуцируется лучистым грибом *Streptomyces globisporus streptomycini*. В одном мкг содержится 1 ЕД. Оказывает бактерицидное действие на грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы. Механизм противомикробного действия заключается в ингибировании биосинтеза белка на рибосомах.

Пенициллин (*Penicillinum*) состоит из бензилпенициллиновой калиевой или натриевой соли. Обладает бактериостатическим и бактерицидным действиями на грамположительные микроорганизмы. Механизм противомикробного действия заключается в ингибировании биосинтеза биохимических компонентов стенки микробов.

Ампициллин (*Ampicillinum*) представляет собой полусинтетический препарат из группы пенициллинов. Обладает широким спектром действия: губительно действует на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы. Механизм действия на бактерию такой же, как и бензилпенициллиновых солей.

Левомецетин (*Levomecetinum*) является синтетическим веществом, полным аналогом природного антибиотика – хлорамфеникола. Антибиотик продуцируется *Streptomyces venezuelae*. Средство с широким противомикробным спектром действия. Механизм противомикробного действия аналогичен действию стрептомицина. Резистентность микроорганизмов к препарату развивается медленно.

Энрофлоксацин (*Enrofloxacinum*) относится к группе фторхинолонов. Активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [10, 11].

Тилозин (*Tylosinum*) представляет собой биосинтетический антибиотик макролидной группы. Продуцируется *Streptomyces fradiae*. К нему чувствительны грамположительные и некоторые виды грамотрицательных бактерий. Механизм противомикробного действия состоит в ингибировании биосинтеза белка на рибосомах [10, 11].

**Материал и методы.** Работа проводилась в лаборатории кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Материалом исследования явилась культура возбудителя европейского гнильца *Paenibacillus alvei*, выделенная из погибших пчелиных личинок пчелосемьи, находящейся в Лидском районе Гродненской области. Возбудитель болезни выделен с использованием классических методик, описанных в указаниях по лабораторной диагностике европейского гнильца пчел с исследованием морфологических, культуральных и биохимических свойств. Вид возбудителя европейского гнильца расплода пчелосемьи определяли с помощью краткого определителя бактерий Берги, 1980 [7, 8].

При определении чувствительности возбудителя *P. alvei* к антибиотикам руководствовались «Методическими указаниями по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных» (Утверждены Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 30 октября 1971 г.) [1, 12].

Определение чувствительности *P. alvei* определяли к антибактериальным средствам, нанесенным на диски: пенициллину, тетрациклину, неомицину, канамицину, ампициллину, полимиксину, левомецетину, энрофлоксацину, тилозину и стрептомицину.

Для определения чувствительности использовали питательный агар Мюллера-Хинтона, предназначенный для аэробных бактерий. Стерильную среду разливали в стерильные бактериальные чашки по 20 мл в каждую. Готовили исследуемую 18-часовую агаровую культуру *P. alvei*. Смыв с агара делали стерильным 0,9 %-ным водным раствором натрия хлорида. По бактериальному стандарту мутности готовили взвесь микроорганизмов. На поверхность застывшей среды наливали 1 мл взвеси культуры и покачиванием бактериологической чашки, равномерно распределяли ее по всей поверхности. Оставшуюся взвесь отсасывали с помощью стерильной пипетки. Затем чашки ставили в термостат при + 37 °С на 15 минут. После этого диски с различными антибиотиками (диаметр 6,5 мм) равномерно раскладывали стерильным пинцетом на расстоянии не менее 2 см от краев чашки, слегка прижимая к агару. Расстояние между дисками было около 3 см. После наложения диска с одним антибиотиком пинцет протирала стерильным спиртовым тампоном, обжигали над спиртовкой и приступали к дальнейшему раскладыванию дисков. В каждую чашку Петри на поверхность среды распределили 4 диска. Чашки с дисками для лучшей диффузии в агар выдерживали в течение 2-х часов при комнатной температуре (+ 18... + 20 °С), а затем поместили в термостат при температуре 37 °С вверх дном.

Результаты исследований определяли через 18 часов с использованием миллиметровой бумаги и компьютера. При определении зоны задержки роста испытуемой культуры учитывали диаметр зоны задержки, включая диаметр дисков. При использовании стандартных дисков диаметром 6,5 мм бактерии *P. alvei* считали чувствительными к препаратам, если зона задержки роста была 15 мм и более. Бактерии *P. alvei* считали высокочувствительными к тем антибактериальным средствам, которые давали диаметр зоны задержки роста микроорганизма более 25 мм; средне чувствительными – от 15 до 25 мм; слабочувствительными – до 15 мм в диаметре. Диаметр зоны задержки роста бактерий определяли с помощью миллиметровой линейки.

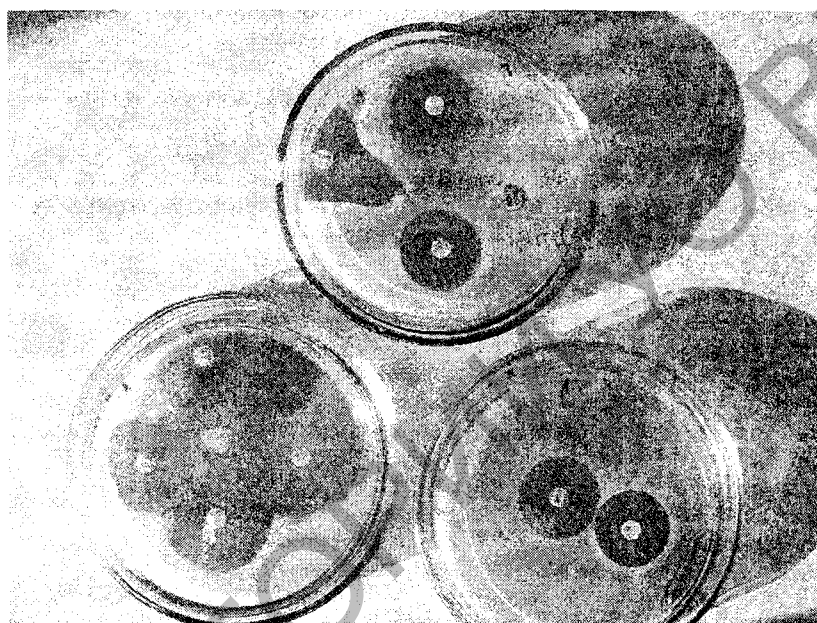
**Результаты исследований.** В результате исследований было выявлено, что большинство антибиотиков дают большой диаметр зоны задержки роста *P. alvei* (таблица 1).

Из всех испытанных антибиотиков лучше всего проявил себя тилозин, давший зону задержки роста микроорганизмов от 36,0 до 59,7 мм (в среднем 47,2±3,43 мм) в диаметре. Менее эффективным оказался энрофлоксацин, зона задержки роста которого составила от 26,0 до 27,3 мм в диаметре (в среднем 26,8±0,16 мм). *P. alvei* обладает средней чувствительностью к левомецетину – диаметр задержки роста варьирует в пределах от 24,0 до 26,0 мм (в среднем 24,9±0,26 мм).

Таблица 1 – Чувствительность монокультуры *Paenibacillus alvei* к антибактериальным средствам (антибактериальные диски)

Антибактериальные диски	Диаметр зоны задержки роста микроорганизма <i>Paenibacillus alvei</i> (бактерицидное действие), мм
Пенициллин	34±1,52
Ампициллин	31,1±0,23
Канамицин	27,3±0,32
Полимиксин	9,4±0,2
Тетрациклин	28,2±0,13
Неомицин	31,3±0,67
Левомецетин	24,9±0,26
Энрофлоксацин	26,8±0,16
Тилозин	47,2±3,43
Стрептомицин	31,8±0,53

Антибиотик полимиксин действует на испытуемый возбудитель болезни по сравнению с тилозином в 5 раз слабее и зона задержки роста микроорганизма в среднем составила 9,4±0,2 мм (рисунок 1).

Рисунок 1 – Зона задержки роста *P. alvei* вокруг дисков с антибиотиками

Антибиотики: пенициллин, стрептомицин, неомицин, канамицин, ампициллин, энрофлоксацин, тилозин и стрептомицин можно применять для лечения пчелосемей при европейском гнильце, вызванном *P. alvei*. Диаметр зоны задержки роста возбудителя болезни ко многим антибактериальным средствам составляет более 25 мм.

**Заключение.** *P. alvei*, выделенная из погибшего пчелиного расплода пчелосемьи, проявила высокую чувствительность ко многим антибактериальным средствам: пенициллину, тилозину, канамицину, ампициллину, тетрациклину, энрофлоксацину, неомицину и стрептомицину; среднюю чувствительность – к левомицетину и слабую – к полимиксину. Наибольший диаметр зоны задержки роста *P. alvei* оказал тилозин – 47,2±3,43 мм.

Следовательно, антибиотики: пенициллин, стрептомицин, неомицин, канамицин, ампициллин, энрофлоксацин, тилозин и стрептомицин можно широко использовать для лечения пчелосемей при европейском гнильце, вызванном *Paenibacillus alvei*.

**Литература.** 1. Антонов, Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник / Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина и др.; под ред. Б.И. Антонова // М.: Агропромиздат, 1991. – 287 с. 2. Буза, Л. Медикаменты, применяемые в профилактике болезней пчел в Венгрии / Л. Буза // Апиомондия. 22 Международный конгресс по пчеловодству (доклады). Мюнхен, 1–7 августа 1969. Бухарест-Румыния. – С. 73–75. 3. Кириевский, И.Р. Болезни пчел / И.Р. Кириевский // М.: САТ; Донецк. Сталкер, 2006. – 303 с. 4. Кокорев, Н. Болезни и вредители пчел / Н. Кокорев, Б. Чернов // М.: ТИД Континент-Пресс, Континенталь-Книга, 2006. – 352 с. 5. Куликов, Н.С. Лечение европейского гнильца пчел опрыскиванием и опыливанием сотов антибиотиками и норфазолнатрием / Н.С. Куликов // 18 Международный конгресс по пчеловодству. – М. – С. 174. 6. Махова, М. Чувствительность и реакция на различные антибиотики отдельных штаммов *Vasillus larvae* / М. Махова // Апиомондия. 22 Международный конгресс по пчеловодству (доклады). Мюнхен, 1–7 августа 1969. Бухарест-Румыния. – С. 125–126. 7. Солонько, А.А. Микробиология и иммунология: Учеб. пособие. Ч. 1. Общая микробиология и иммунология / А.А. Солонько, А.А. Гласкович, П.А. Красочко и др.; под общ. ред. А.А. Гласкович, П.А. Красочко // Мн.: НПООО «ПИОН», 2002. – 248 с. 8. Солонько, А.А. Практикум по микробиологии / А.А. Солонько, А.А. Гласкович, Ф.Е. Тимофеев // Мн.: Дизайн ПРО, 1998. – 192 с. 9. Тимофеев, Ф.Е. Болезни пчел / Ф.Е. Тимофеев // Мн.: «Ураджай», 2000. – 182 с. 10. Субботин, В.М. Ветеринарная фармакология / В.М. Субботин, И.Д. Александров // М.: Колос, 2004. – 720 с., ил. 11. Толкач, Н.Г. Ветеринарная фармакология / Н.Г. Толкач [и др.]; под ред. А.И. Ятусевича. – Минск: ИВЦ Минфина, 2008. – 686. 12. Маслій, І.Г. Порівняльна оцінка ефективності фармацевтичних препаратів відносно збудників інфекційних хвороб бджіл / І.Г. Маслій // Вет. медицина. – 2000. – Вип. 77. – С. 242–247.