

УДК 615.281.8 + 57.021 + 546.655 + 546.05-06

У. М. ЯНЕНКО, кандидат ветеринарних наук

Н. В. ГУДЗЬ, кандидат ветеринарних наук

Н.І. КОСЯНЧУК*, кандидат ветеринарних наук

С. М. ТЕРЕЩЕНКО, О. В. ДОРОФЕЄВА

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

**Національний університет біоресурсів і природокористування України*

ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ КУЛЬТУР *B. ANTHRACIS* ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

У статті наведені результати з визначення чутливості збудників сибірки до поширених антибактеріальних препаратів. Ефективність антибіотиків до сліджували диско-дифузним методом та визначенням мінімальної інгібуючої дози.

*Ключові слова: *B. anthracis*, чутливість, антибіотики.*

З моменту винаходу пеніциліну і ряду інших антибактеріальних засобів людство, здавалося, святкувало перемогу над інфекціями. Однак реальність виявилася набагато складнішою – зростання лікарської стійкості бактерій привів до зміни спектра збудників, грам-позитивні бактерії змінилися на грамонегативні і навпаки, патогенні – на умовно патогенні, а інфекційні захворювання так само складають основну причину смертності у світі в країнах з різним рівнем розвитку [1]. Проте антибактеріальна терапія залишається провідною у лікуванні більшості гострих і хронічних бактеріальних інфекцій.

На даний момент існує близько 6000 антибіотичних речовин [2].

Успіх хіміотерапії залежить від правильно підібраних для лікування хворого, антибіотиків або їх комбінацій. Однак, варто пам'ятати про те, що після певного періоду успішного лікування антибіотики, які приймав хворий, втрачають лікувальну ефективність. Це трапляється в результаті розвитку стійкості мікроорганізмів до даного антибіотичного препарату [3, 4].

Важливим фактором при підборі антибіотиків для хворого є чутливість або стійкість збудника хвороби. Тому перед початком лікування необхідно провести бактеріологічне обстеження. Воно виявить чутливість збудника хвороби до різних антибіотиків [5].

Більшість природних культур *B. anthracis* чутливі до багатьох антибіотиків, що використовуються у практиці. Однак зустрічаються й природні ізоляти, які проявляють стійкість до деяких груп даних препаратів, що ускладнює проведення лікувальних заходів у разі зараження чинником інфекції. Визначення чутливості референтних штамів *B. anthracis* є необхідним заходом для вибору найбільш ефективного препарату для лікування важких форм сибірки

Мета – визначення чутливості трьох штамів *B. anthracis* до антибактеріальних препаратів.

Матеріали та методи.

У роботі використовували:

– референтні штами капсульний *B. anthracis* М-71, без капсульний *B. anthracis* СТІ, надані Херсонською біофабрикою, та безкапсульний *B. anthracis* UA-07. Використовували спорову суспензію даних штамів у концентрації $2,8 \pm 0,05 \times 10^6$ на см³;

- антибіотики у флаконах (виробник ВАТ «Київмедпрепарат», корпорація «Артеріум», Україна);
- комерційні диски з антибактеріальними препаратами (виробник «НИЦФ», Санкт-Петербург, Росія).

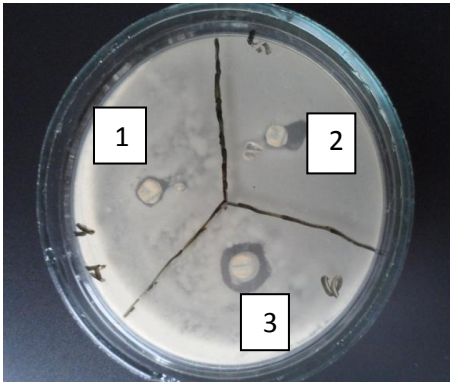
Чутливість бактерій до антибіотиків виявляли диско-дифузійним методом (ДДМ) та визначенням мінімальної інгібуючої концентрації (МІК)

МІК визначали застосовуючи метод серійних розведень. Це найбільш точний метод, який дає можливість визначити мінімальну концентрацію антибіотиків, при якій затримується ріст мікроорганізмів [6, 7].

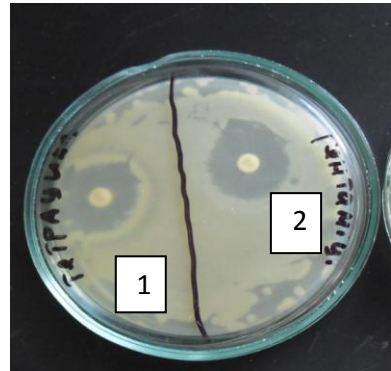
Результати досліджень та їх обговорення.

Найбільш ефективними антибіотиками за ДДМ по відношенню до штаму *B.anthrax* М-71 виявились доксіциклін та гентаміцин, зона затримки росту яких становила $31,2 \pm 0,4$ та $30,6 \pm 0,3$ мм відповідно (табл. 1). Також гарний результат показав ампіцилін – $25,6 \pm 0,3$ мм. Найменш ефективними показали себе офлоксацин ($10,6 \pm 0,3$ мм) та цефінель ($5,4 \pm 0,3$ мм). Зовсім ніякого результату не продемонстрував цефазолін (0 мм). Решта антибіотиків проявила помірний ефект – зона затримки росту становила від $12,2 \pm 0,5$ до $22,0 \pm 0,4$ мм.

Найбільшу чутливість *B.anthrax* штаму СТІ проявив до доксіцикліну, гентаміцину та ампіциліну – зона затримки росту становила в середньому $23,3 \pm 0,09$ мм (рис. 1). Також гарний результат продемонстрували стрептоміцин – $22,4 \pm 0,3$ мм, амікацин, бензилпеніцилін та тетрациклін – $21,4 \pm 0,13$ мм. Трохи меншим цей показник був зафіксований при дії лінкоміцину, фузидину та фурозолідону – в середньому $20,33 \pm 0,22$ мм. Найслабший ефект продемонстрував цефазолін та цефінель $5,0 \pm 0,5$ мм та $4,2 \pm 0,4$ мм відповідно. Зона затримки росту від впливу інших антибіотиків демонстрували помірний ефект, який коливався від $13,2 \pm 0,3$ до $19,6 \pm 0,3$ мм.



B. anthracis СТІ: 1– цефазолін;
2 – цефінель; 3 – офлоксацин



B. anthracis UA-07: 1 – тетрациклін;
2 – гентаміцин

Рис. 1. Визначення чутливості штамів *B. anthracis* до антибіотиків диско-дифузійним методом

Найкращий вплив на *B.anthrax* UA-07 проявив тетрациклін, зона затримки росту якого становила $25,2 \pm 0,2$ мм. Також ефективними виявились амікацин, бензилпеніцилін та доксіциклін – в середньому цей показник становив $24,4 \pm 0,27$ мм. Менш чутливим збудник сибірки виявився до ампіциліну, стрепто-

міцину – в середньому $23,2 \pm 0,2$ мм та лінкоміцину – $21,4 \pm 0,03$ мм. Зовсім нечутливим мікроорганізм був до цефазоліну та цефінелю – по 0 мм. Інші антибіотики демонстрували помірний ефект – зона затримки росту коливалась в межах $14,4 \pm 0,2$ та $19,8 \pm 0,4$ мм (табл. 1).

Ефективним по відношенню до всіх трьох штамів сибірки виявились доксициклін, гентаміцин та ампіцилін. Найменшу чутливість дослідні штами проявили до цефазоліну та цефінелю.

При визначенні МІК антибіотиків до збудника *B.anthrax* штаму М-71, встановлено, що найбільш ефективними були бензилпеніцилін – $0,1 \pm 0,01$ мкг/см³, ампіцилін та гентаміцин – у середньому $0,15 \pm 0,01$ мкг/см³ (табл. 2). Також даний штам сибірки проявляв чутливість до лінкоміцину ($0,45 \pm 0,03$ мкг/см³), тетрацикліну ($0,55 \pm 0,07$ мкг/см³) та стрептоміцину ($0,7 \pm 0,1$ мкг/см³). Найгірші результати за МІК продемонстрували два антибіотики цефазолін ($57,6 \pm 4,2$ мкг/см³) та цефінель ($128,0$ мкг/см³). МІК решти антибіотиків коливався в межах $1,45 \pm 0,3$ мкг/см³ – $14,4 \pm 1,0$ мкг/см³.

Досліджуючи МІК антибіотиків до *B.anthrax* СТІ встановлено, що найсильніший вплив на даний штам мав бензилпеніцилін – $0,112 \pm 0,01$ мкг/см³, а також гентаміцин та лінкоміцин – в середньому $0,17 \pm 0,02$ мкг/см³. Збудник продемонстрував чутливість і до ампіциліну та стрептоміцину $0,22 \pm 0,01$ мкг/см³ та $0,23 \pm 0,01$ мкг/см³ відповідно. Найгірший результат спостерігався у цефазоліну та цефінелю, для знешкодження збудника цього штаму сибірки було застосовано $102,4 \pm 0,01$ мкг/см³ першого засобу та $115,2 \pm 8,5$ мкг/см³ другого. МІК інших антибіотиків реєструвалась в межах $1,8 \pm 0,1$ мкг/см³ – $17,6 \pm 2,4$ мкг/см³.

Збудник *B.anthrax* UA-07 за МІК проявив найбільшу чутливість до гентаміцину – $0,125 \pm 0,02$ мкг/см³. Чутливим цей штам був і до лінкоміцину ($0,15 \pm 0,01$ мкг/см³) та бензилпеніциліну ($0,175 \pm 0,02$ мкг/см³). Досить ефективними себе показали ампіцилін та стрептоміцин, МІК яких становила $0,25$ мкг/см³ та тетрациклін – $0,85 \pm 0,1$ мкг/см³. Найменш ефективними виявились цефазолін і цефінель $51,2 \pm 6,4$ мкг/см³ та $115,2 \pm 8,5$ мкг/см³ відповідно. Цей показник решти антибіотиків фіксувався в межах $1,6 \pm 0,2$ мкг/см³ – $17,6 \pm 2,4$ мкг/см³ (рис. 2).

Найбільш ефективними до всіх трьох штамів виявились за зростанням МІК бензилпеніцилін, гентаміцин та ампіцилін.

Аналізуючи отримані результати дослідження найкращі результати показали гентаміцин та ампіцилін, усі дослідні штами сибірки проявили високу чутливість як за ДДМ, так і за МІК.

Висновки

1. За результатами ДДМ усі дослідні штами *B. anthracis* проявили високу чутливість до доксицикліну, гентаміцину та ампіциліну. Низьку чутливість зазначені штами сибірки проявили до антибіотиків групи цефалоспоринові: цефазоліну та цефінелю.

2. Дослідження МІК антибіотиків на збудник сибірки показав високий рівень чутливості усіх дослідних штамів *B.anthraxis* до бензилпеніциліну, гентаміцину та ампіциліну, тоді як найменша чутливість була встановлена у цефазоліну та цефінелю.

3. На основі отриманих результатів можна зазначити, що найбільш ефективним антибіотиком по відношенню до всіх дослідних штамів сибірки став гентаміцин. Ці дані збігаються з настановами діючої інструкції та даних літератури.

Таблиця 1

Визначення чутливості дослідних штамів *B. anthracis* до антибіотиків, $M \pm m$, $n=5$

Антибіотики культура	амікацин	ампіцилін	бензил- пеніцилін	гентаміцин	доксіциклін	еритроміцин	левоміцетин	лінкоміцин	неоміцин	олеандоміцин	офлоксацин	ріфампіцин	стрептоміцин	тетрациклін	флуکانазол	фузидін	фуразолідон	цефазолін	цефінель
	Зона заримки росту (мм)																		
<i>B. anthracis</i> : М – 71	19,6± 0,5	25,6± 0,3	21,0± 0,2	30,6± 0,3	31,2± 0,4	17,4± 0,8	20,0± 0,16	21,4± 0,03	18,4± 0,6	18,2± 0,03	10,6± 0,3	14,6± 0,8	12,2± 0,5	14,6± 0,8	21,2± 0,4	22,0± 0,4	21,4± 0,03	0	5,4± 0,3
<i>B. anthracis</i> CTI	21,4± 0,03	23,2± 0,9	21,6± 0,3	23,4± 0,3	23,4± 0,8	15,4± 0,3	19,6± 0,3	20,6± 0,3	16,2± 0,4	17,4± 0,3	15,8± 0,4	15,0± 0,2	22,4± 0,3	21,2± 0,5	13,2± 0,3	20,4± 0,5	20± 0,2	5,0± 0,5	4,2± 0,4
<i>B. anthracis</i> UA – 07	24,0± 0,5	23,4± 0,2	24,6± 0,3	22,4± 0,3	24,6± 0,3	15,6± 0,3	19,8± 0,4	21,4± 0,03	16,2± 0,1	15,8± 0,1	15,0± 0,6	14,4± 0,2	23± 0,1	25,2± 0,2	17,8± 0,3	15,2± 0,5	14,8± 0,2	0	0

Таблиця 2

Визначення МІК антибіотиків для дослідних культур *B. anthracis*, $M \pm m$, $n=5$

Антибіотики культура	амікацин	ампіцилін	бензил- пеніцилін	гентаміцин	доксіциклін	еритроміцин	левоміцетин	лінкоміцин	Неоміцин	олеандоміцин	офлоксацин	ріфампіцин	стрептоміцин	тетрациклін	флуکانазол	фузидін	фуразолідон	цефазолін	цефінель
	МІК антибіотика, мкг/см ³																		
<i>B. anthracis</i> М – 71	2,2± 0,3	0,15± 0,01	0,10± 0,01	0,15± 0,01	3,2± 0,4	14,4± 1,0	3,2± 0,4	0,45± 0,03	4,8± 0,5	7,2± 0,5	8	4,8± 0,5	0,7± 0,1	0,55± 0,07	4,4± 0,6	4	1,45± 0,3	57,6± 4,2	128
<i>B. anthracis</i> CTI	1,8± 0,1	0,22± 0,01	0,112± 0,01	0,17± 0,02	6,4± 0,8	17,6± 2,4	3,6± 0,2	0,17± 0,02	4	17,6± 0,5	7,2± 0,5	8,8± 1,2	0,23± 0,01	0,8± 0,1	4,4± 0,6	1,8± 0,1	2	102,4± 12,8	115,2± 8,5
<i>B. anthracis</i> UA – 07	1,6± 0,2	0,25	0,175± 0,02	0,125± 0,02	7,2± 0,5	17,6± 2,4	4,8± 0,5	0,15± 0,01	4,4± 0,6	8,8± 1,2	9,6± 1,0	8	0,25	0,85± 0,1	4,8± 0,5	2,2± 0,3	1,6± 0,2	51,2± 6,4	115,2± 8,5

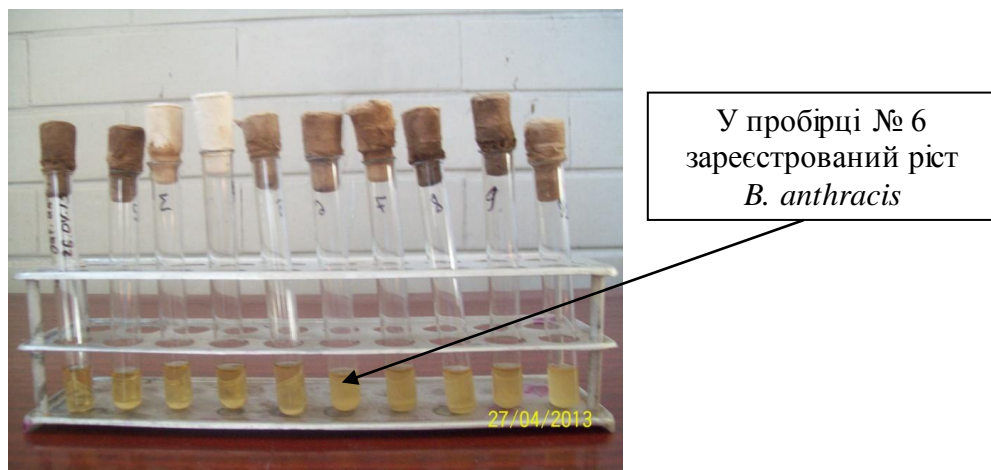


Рис. 2. Визначення мінімальної інгібуючої концентрації *B. anthracis* UA-07 до олеандоміцину

ПОДЯКА. Співробітники лабораторії з вивчення сибірки висловлюють подяку кандидату ветеринарних наук О. Є. Айшпур за участь у проведенні дослідів.

Список використаної літератури

1. Перес Куэвас А. Комплексные лекарственные средства при бактериальных инфекциях / Перес Куэвас А., Семенычев А. В. // Ветеринария № 3. – 2006.
2. The European ban on growth – promoting antibiotics and emerging consequences for human and animals health / M. Casewell, C. Frus, E. Marco [et al.]// G. Antimicrob. Chemother.– 2003.– Vol.51.– P. 159 – 161.
3. Рациональное использование лекарственных препаратов в ветеринарии/ О. З. Исхаков, А. С. Селиванова, В. С. Авсюкевич и др. – М.: Россельгосиздат, 1984.– 268 с.
4. Навашин.С. М. Рациональная антибиотикотерапия. // С. М. Навашин, И. Л. Фомина (Справочник). – Москва.– «Медицина». – 1982. – 496 с.
5. Markowska-Daniel I., Urbaniak K., Stepniewska K., Pejsak Z. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from respiratory tract of pigs in Poland between 2004 and 2008 // Pol. J. veter. Sc./ – 2010. – Vol. 13,N 1– P. 35-36.
6. Загальні методи лабораторних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини/ В. М. Івченко, Г. М. Денисенко, В. В. Шарандак, О. І. Горбатюк // Методичні рекомендації.– Видавництво БДАУ, 2007. – 65 с.
7. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Офіційне видання. – Київ. – 2007.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТУР *B. ANTHRACIS* К
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ** / У. М. Яненко, Н. В. Гудзь,
Н. І. Косьянчук, С. М. Терещенко, О. В. Дорофеева

В статье приведены результаты по определению чувствительности возбудителей сибирской язвы к распространенным антибактериальным препаратам. Эффективность антибиотиков исследовали диско-диффузным методом и определением минимальной ингибирующей дозы.

Ключевые слова: B. anthracis, чувствительность, антибиотики.

**DETERMINATION OF *B. ANTHRACIS* CULTURES SENSITIVITY TO
ANTIMICROBIALS** / U. Yanenko, N. Gudz, N. Kosianchuk, S. Tereshchenko,
O. Dorofeeva

The article presents the results of determination of anthrax agent sensitivity to common used antibiotics. The effectiveness of antibiotics was investigated by diffusion test and determination of minimal inhibitory concentration.

Keywords: B. anthracis, sensitivity, antibiotics.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **М. П. Ситюк**.

Рукопис надійшов 15.02. 2014 року.