

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРУПОВ ПЧЕЛ

Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент  
М.А. Лыдина, кандидат биологических наук  
Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор  
К.В. Белова, студент  
К.В. Шокина, студент  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»  
8(8244) 55-95-47, feokna@yandex.ru

**Ключевые слова:** бактерии *Raenibacillisu Bacillus*, антибиотики, метод диффузии.

Описаны результаты изучения антибиотикорезистентности штаммов бактерий *Raenibacillisu Bacillus*, выделенных из трупов пчел. Максимально широкие зоны лизиса были зафиксированы при применении дисков с эритромицином. Установлено, что выделенные микроорганизмы чувствительны в разной степени ко всем исследованным антибиотикам (тетрациклину, цефотаксиму, левомецетину, гентамицину, линкомицину, ампициллину, цефалексину, бензилпенициллину, тобрамицину, оксациллину, эритромицину, ампициллину).

**Введение.** В России американский и европейский гнильцы встречаются повсеместно, за исключением Хабаровского и Приморского краев. На крупных пасеках, если не проводить оздоровительных мероприятий, американский и европейский гнильцы быстро распространяются и наносят большие потери. Так, экономический ущерб, наносимый гнильцами, значительно выше, чем от всех остальных болезней расплода. Большая гнильцами семья не добывает в год от 5 до 40 кг меда и 0,5 кг воска, опылительная деятельность снижается на 30 %, а в некоторых случаях до 80%. Но самое главное то, что американский и европейский гнильцы нередко приводит к гибели семей вместе с ульями и сотами [6-11].

Проеденные нами ранее исследования показали, что из 7 исследованных проб трупов пчел, полученных на частных пасеках Приволжского Федерального округа, было выделено 7 штаммов микроорганизмов, которые при изучении их биологических свойств были отнесены к родам *Raenibacillisu Bacillus* [2, 4-5]

Цель исследований - определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам. Степень чувствительности выделенных культур возбудителей к антимикробным препаратам необходимо знать для рационального подбора средств эффективной антимикробной терапии и профилактики

возникновения и распространения гнильцовых инфекций среди пчел. Другой стороной этих исследований является получение данных (резистогрaмм), которые могут служить удобным инструментом-маркером в эпизоотологических исследованиях.

### Материалы и методы исследований.

Диски с антибиотиками (тетрациклином, цефотаксимом, левомецетином, гентамицином, линкомицином, ампициллином, цефалексином, бензилпенициллином, тобрамицином, оксациллином, эритромицином, ампициллином), изготовлены НИЦФ (г. Санкт-Петербург).

Для определения чувствительности к воздействию антибиотиков использовали культуры бактерий в 16-ти часовой временной экспозиции.

**Результаты и их обсуждение.** Метод диффузии в мясо-пептонный агар с применением стандартных дисков, пропитанных различными антибиотиками в определенных концентрациях (зависят от терапевтической дозы и соответствуют рекомендациям ВОЗ), основан на использовании стандартных питательных сред, дисков и методов. Оценка результатов связана с существованием зависимости между размером зоны подавления роста исследуемых культур вокруг дисков и значениями минимальных подавляющих концентраций (МПК) соответствующих антибиотиков (чувствительностью микроорганизмов).

**Таблица 1 – Результаты исследований**

Название антибиотиков	Зона лизиса, мм							
	Номера культур							
	1	2	3.1	3.2	4	23	У-5	И-1
Ампициллин (АМП)	11	-	-	16	8	11	13	10
Бензилпенициллин (ПЕН)	11	9	-	15	9	12	19	-
Гентамицин (ГЕН)	13	27	27	23	23	27	28	19
Левомецетин (ЛЕВ)	25	15	29	27	22	30	25	-
Линкомицин (ЛИН)	20	8	23	16	20	26	11	17
Оксациллин (ОКС)	10	-	-	10	8	10	21	-
Тетрациклин (ТЕТ)	23	22	20	20	23	12	18	27
Тобрамицин (ТОБ)	20	22	19	16	15	20	18	18
Цефазолин (ЦЗ)	20	10	24	24	25	8	15	16
Цефалексин (ЦФЛ)	25	26	24	23	24	17	19	18
Цефотаксим (ЦТК)	18	15	13	12	17	9	23	20
Эритромицин (ЭРИ)	27	32	30	26	32	27	11	11

Через 20 минут после нанесения газона исследуемой культуры на поверхность питательной среды наносили диски с антибиотиками. Аппликацию дисков проводили с помощью стерильного пинцета. Расстояние от диска до края чашки и между дисками было 15-20 мм. На одну чашку помещали по 6 дисков. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью мясо-пептонного агара, для чего их аккуратно прижимали пинцетом. Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри помещали в термостат вверх дном и инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч. После окончания инкубации чашки помещали вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом в 45-50 ° (учет в отраженном свете). Диаметр зон задержки роста измеряли с точностью до 1 мм штангенциркулем.

В таблице 1 представлены результаты изучения антибиотикочувствительности 7 культур бактерий родов *Paenibacillisi Bacillus*, выделенных из трупов пчел, полученных на частных пасеках Приволжского Федерального округа. Установлено, что выделенные микроорганизмы чувствительны в разной степени ко всем исследованным антибиотикам (тетрациклину, цефотаксиму, левомецетину, гентамицину, линкомицину, ампициллину, цефалексину, бензилпенициллину, тобрамицину, оксациллину, эритромицину, ампициллину). Однако, максимально широкие зоны лизиса были зафиксированы при применении дисков с эритромицином. Только в отношении четырех антибиотиков была выяв-

лена резистентность изучаемых культур – ампициллина, бензилпенициллина, оксаллицина и левомецетина.

**Заключение.** Установлено, что штаммы родов *Paenibacillisi Bacillus*, выделенные нами из трупов пчел и типированные по двум схемам дифференциации бактерий (по методикам GordonR. и R.A.Slepecky, H.T. Hemphill), показали высокие показатели антибиотикочувствительности в отношении широкого спектра данных лекарственных препаратов.

Диск-диффузионный метод достаточно информативен; полученные с его помощью результаты могут служить основой для выбора адекватного лекарственного средства при лечении гнильцовых заболеваний пчел. Известно, что в отечественном мёде зарубежные лаборатории обнаруживают остатки антибиотиков - следы лечения пчел от патогенных микроорганизмов.

Кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина» начала активную работу по разработке биопрепаратов на основе фагов бактерий, возбудителей американского и европейского гнильцов пчел, над созданием бактериологической и молекулярно-генетической схем, которые будут в дальнейшем применяться для мониторинга, профилактики и ликвидации возбудителей гнильцовых карантинных инфекций [1-5].

### Библиографический список:

1. Райчинец, Ю.А. Перспективы применения бактериофагов для биоиндикации возбудителя американского гнильца пчел / Ю.А. Райчинец, Е.И. Климущкин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // В сборнике: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экология родного края: проблемы и пути их решения». - Киров, 2014. - С. 344-346.
2. Райчинец, Ю.А. Методика выделения *Paenibacilluslarvae*/ Ю.А. Райчинец, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – С. 599.
3. Райчинец, Ю.А. Разработка antimicrobных биопрепаратов на основе специфических бактериофагов/ Ю.А. Райчинец, Феоктистова Н.А., Климущкин, Е.И., [и др.] // Проблемы медицинской микологии.- 2014. – Т. 16. № 2 – С. 139-140.
4. Райчинец, Ю.А. Методика изучения ареала распространения бактерий *Paenibacilluslarvae*/ Ю.А. Райчинец, Е.И. Климущкин, Н.А. Феоктистова [и др.] // В сборнике: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию ВНИИВВиМ «Актуальные вопросы контроля инфекционных болезней животных». – Покров, 2014.- С. 53-58.
5. Райчинец, Ю.А. Апробация схемы выделения возбудителя американского гнильца пчел/ Ю.А. Райчинец, Е.И. Климущкин, М.А. Лыдина [и др.] // В сборнике: VI Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». - Ульяновск, 2015.-С.102-106.
6. Феоктистов, А.А., Бактерии вида *Bacilluslarvae* – возбудители болезни пчел / А.А. Феоктистов, Д.А. Васильев Д.А., Н.А. Феоктистова [и др.]. / В сборнике: Материалы Международной научно-практической конференции «Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения», посвящённой Всемирному году ветеринарии в ознаменование 250-летия профессии ветеринарного врача. - Ульяновск, ГСХА, 2011.– Т. 1. - С. 35-38.
7. Интернет-ресурс «Мировое пчеловодство» - URL:<http://www.apeworld.ru/apimondiya/> - дата обращения 13.12.2014.
8. Интернет-ресурс «Агропрофессионал» - URL: [www.agprofessional.com](http://www.agprofessional.com) - дата обращения 13.12.2014.
9. Интернет-ресурс «Защита растений» - URL: [www.fsvps.ru](http://www.fsvps.ru)- дата обращения 13.12.2014.
10. Интернет-ресурс «Интерфакс» - URL: <http://www.interfax.ru/business/390414> - дата обращения 13.12.2014.
11. Интернет-ресурс «Общественная электрогазета.рф» - URL: <http://igazeta.com/news/nauka> - дата обращения 13.12.2014.

## ANTIBIOTIKOCHUVSTVITELNOSTI'S STUDYING STRAINS OF THE BACTERIA ALLOCATED FROM CORPSES OF BEES

N. A. Feoktistova, M. A. Lydina, D. A. Vasilyev, S. N. Zolotukhin, K.V. Belova, K.V. Shokina

**Keywords:** *bacteria of Paenibacillus and Bacillus, antibiotics, diffusion method.*

*Summary: results of studying of an antibiotikorezistentnost of strains of bacteria of Paenibacillus and Bacillus allocated from corpses of bees are described. The widest zones of a lizis were recorded at application of disks with erythromycin. It is established that the allocated microorganisms are sensitive in different degree to all studied antibiotics (tetratsiklin, tsefotaksim, levomitsetin, gentamycin, lincomycin, ampicillin, cefalexin, benzilpenitsillin, tobramitsin, oksatsillin, erythromycin, ampicillin).*