

Вивчення бактерицидної та бактеріостатичної дії деяких антибіотиків  
на мікрофлору молока корів

*В.О. Калашніков, кандидат ветеринарних наук*  
Інститут тваринництва НААНУ

*Наведено результати дослідження чутливості деяких штамів мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), виділених з молока корів хворих на мастити до антибіотиків. Визначали мінімальні інгібуючі та бактерицидні концентрації антибіотиків до досліджуваних культур мікроорганізмів методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі. Бактерій толерантних до комбінацій антибіотиків не виявлено, за винятком деяких штамів *P. vulgaris*, які були толерантними до комбінації пеніциліну й стрептоміцину.*

**Ключові слова:** мікроорганізми, антибіотики, мастити.

У молочному тваринництві значні збитки виникають за рахунок захворювань вимені у корів, основна частка яких належить маститам. Для їх лікування існують різні методи, серед них загальнофізіологічної дії, які нормалізують нервово-ендокринну регуляцію статевих органів, такі як патогенетична терапія, з використанням новокаїну, тканинна, гемо- й протеїнова терапія та інші. Також широко використовуються антибактеріальні препарати [6].

Відомо, що лікування гінекологічних захворювань має бути комплексним. Раціональне поєднання місцевого лікування із засобами, що діють на весь організм, зумовлює найвищий терапевтичний ефект [4]. Однак місцеве лікування (введення препарату в середену цистерни), спрямоване на знищення збудника інфекційного патологічного процесу в молочній залозі корови не втратило свого значення й широко застосовується у ветеринарній практиці. Тим часом, з літературних даних відомо, що бактеріостатична й бактерицидна дія деяких з них відносна як *in vitro*, так й *in vivo* [6], тому застосування їх малоефективне і при такому лікуванні досить часто гострий процес переходить у хронічний [5].

У ветеринарній гінекологічній практиці все частіше стали використовувати антибіотики й засоби із широким спектром антибактеріальної дії, оскільки існує проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Ця проблема виникає, як правило, при тривалій хіміотерапії інфекцій антибіотиками, до яких не була визначена чутливість мікроорганізмів. У результаті, при дослідженні патологічного матеріалу в лабораторії спостерігається відсутність сануючої дії бактерицидних антибіотиків на фоні виділення бактерій чутливих до використаного антибіотика за мінімальної інгібуючої рідкості концентрації. Таким чином,

мікрофлора стає толерантною до антибіотика, тобто бактерії втрачають чутливість до його бактерицидної дії при збереженні її до бактериостатичної. При значеннях де мінімальні бактерицидні концентрації (МБК) антибіотика, перевищують мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) в 32 рази і більше, можна говорити про толерантність цього виду бактерій до антибіотика [5].

**Метою досліджень** було вивчення бактерицидної й бактериостатичної дії антибіотиків на бактерії, виділені з молока корів хворих на мастит.

**Матеріали і методи досліджень.** У роботі використовували культури бактерій *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, виділені з молока корів хворих на мастит. Ідентифікацію культур проводили за загальноприйнятими методами [1, 3].

Методом серійних розведень на м'ясопептонному бульйоні визначали мінімальну інгібуючу ріст концентрацію антибіотиків для виділених мікроорганізмів. Концентрація антибіотиків у першій пробірці, де візуально не було росту мікроорганізмів, дорівнювала МІК антибіотика. Мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК) антибіотика визначали за першою пробіркою з антибіотиком, висів з якої не дав росту колоній бактерій. Для цього з усіх пробірок з антибіотиком, в яких був візуально відсутній ріст мікроорганізмів, робили посіви на м'ясопептоний агар і інкубували їх 24 години при температурі 37<sup>0</sup>С. Для виявлення толерантності мікроорганізмів до антибіотика порівнювали його МБК та МІК.

**Результати дослідження.** З даних, наведених у табл. 1 видно, що не виявлено універсального антибіотика, здатного інгібувати всі випробовані штами мікроорганізмів у мінімальних концентраціях.

#### 1. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків, виділених з молока корів

Антибіотик	Вид мікроорганізму			
	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>
Цефазолін, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,25 - 8</u> 4 - 256	<u>0,5 - 16</u> 8 - 80	<u>0,5 - 16</u> 16 - 50	<u>4 - 32</u> 4 - 128
МБК / МІК	16 - 32	5 - 16	3,1 - 32	1 - 4
Пеніцилін, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,5 - 80</u> 16 - 256	<u>0,25 - 50</u> 32 - >256	<u>0,25 - 80</u> 50 - >128	<u>0,5 - 150</u> 32 - >256
МБК / МІК	3,2 - 32	5,1 - 128	1,6-200	1,7 - 64
Норфлуксацин, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,5 - 16</u> 0,5 - 64	<u>0,5 - 32</u> 4 - 32	<u>1 - 16</u> 16 - 32	<u>0,25 - 16</u> 4 - 128
МБК / МІК	1 - 4	1 - 8	2 - 16	8 - 16
Тетрациклін, мкг/см <sup>3</sup>	<u>4 - 32</u> 16 - >256	<u>4 - 50</u> 32 - >256	<u>0,25 - 50</u> 8 - >128	<u>0,25 - 16</u> 16 - >256
МБК / МІК	4 - 8	5,1 - 8	2,5 - 32	16 - 64
Стрептоміцин, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,25 - 16</u> 32 - 256	<u>0,25 - 50</u> 64 - >256	<u>1 - 32</u> 4 - 128	<u>0,25 - 100</u> 32 - >256
МБК / МІК	16 - 128	5,1 - 256	4	2,5 - 128
Гентаміцин, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,25 - 32</u> 16 - >256	<u>0,25 - 50</u> 16 - 128	<u>4 - 64</u> 32 - 100	<u>0,25 - 128</u> 32 - >256
МБК / МІК	8 - 64	2,5 - 64	1,5 - 8	2 - 128

Примітка: У чисельнику - МІК; у знаменнику - МБК.

Найменші МІК щодо *E. coli* виявили у цефазоліну, стрептоміцину й гентаміцину – 0,25 мкг/см<sup>3</sup>. При цьому їх мінімально інгібуючі концентрації були у 2 рази менші, ніж норфлораксацину та пеніциліну, і у 16 разів менші, ніж у тетрацикліну. Найменші МБК для *E. coli* виявили в норфлораксацину - 0,5 мкг/см<sup>3</sup>. Це у 8 разів менше МБК цефазоліну, в 32 рази пеніциліну, тетрацикліну й гентаміцину, і в 64 рази стрептоміцину.

Найменші МІК для *P. vulgaris* виявили у пеніциліну, стрептоміцину та гентаміцину – 0,25 мкг/см<sup>3</sup>. При цьому вони нижчі ніж у цефазоліну й норфлораксацину в 2 рази, а тетрацикліну в 16 разів. Найменші МБК антибіотиків для *P. vulgaris* спостерігали у норфлораксацину – 4 мкг/см<sup>3</sup>, що менше МБК цефазоліну у 2, гентаміцину в 4 рази, пеніциліну та тетрацикліну у 8 разів.

Найменші МІК для *E. faecalis* виявляли у тетрацикліну та пеніциліну (0,25 мкг/см<sup>3</sup>). Вони були у 2 рази менші МІК цефазоліну, у 4 рази норфлораксацину й стрептоміцину і у 16 разів гентаміцину. Найменші МБК для *E. faecalis* було відмічено у стрептоміцину – 4 мкг/см<sup>3</sup>. Це менше МБК цефазоліну та норфлораксацину у 4 рази, в 12,5 раза пеніциліну, тетрацикліну – в 2 рази, гентаміцину – в 8 разів.

Найменші МБК норфлораксацину, тетрацикліну, стрептоміцину та гентаміцину щодо *S. aureus* становили 0,25 мкг/см<sup>3</sup>. При цьому МБК цих антибіотиків були менші за МБК цефазоліну в 16 разів, а пеніциліну у 2 рази. Найнижчі МБК цефазоліну й норфлораксацину для *S. aureus* – 4 мкг/см<sup>3</sup>. Вони були менші за МБК пеніциліну, стрептоміцину і гентаміцину в 8 разів, тетрацикліну в 4 рази.

Вивчаючи дані табл. 1 можна відзначити, що до цефазоліну були толерантними деякі штами *E. coli* та *E. faecalis*; до тетрацикліну – штами *E. faecalis* та *S. aureus*; до гентаміцину – штами *E. coli*, *P. vulgaris* та *S. aureus*; до пеніциліну всі види мікроорганізмів. У виділеній мікрофлорі не виявлено толерантності до норфлораксацину.

## 2. Чутливість виділених мікроорганізмів до комбінацій антибіотиків

Антибіотик	Вид мікроорганізму			
	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>
Цефазолін+ норфлораксацин, мкг/см <sup>3</sup>	<u>0,25 - 4</u> 1 - 16	<u>0,5 - 8</u> 4 - 40	<u>0,5 - 8</u> 2 - 16	<u>2 - 16</u> 4 - 50
МБК / МІК	4	5 - 8	2 - 4	2 - 3,1
Пеніцилін- стрептоміцин, мкг/см <sup>3</sup>	<u>1 - 32</u> 8 - 40	<u>0,25 - 32</u> 8 - 50	<u>1 - 16</u> 4 - 80	<u>4 - 40</u> 32 - 80
МБК / МІК	1,2 - 8	1,5 - 32	4 - 5	2 - 8
Стрептоміцин+ тетрациклін, мкг/см <sup>3</sup>	<u>2 - 32</u> 8 - 50	<u>2 - 32</u> 16 - 80	<u>0,25 - 32</u> 4 - 40	<u>1 - 40</u> 16 - 60
МБК / МІК	1,5 - 4	2,5 - 8	0,8 - 16	1,5 - 16

Примітка: У чисельнику - МІК; у знаменнику - МБК.

Комбінації зазначених антибіотиків мали сильнішу бактерицидну і бактериостатичну дію порівняно з некомбінованими антибіотиками (табл. 2). Так, поєднання цефазоліну й норфлуксацину проявляло бактериостатичні властивості в концентраціях від 0,25 мкг/см<sup>3</sup> для *E. coli*, до 16 мкг/см<sup>3</sup> для *S. aureus*, а бактерицидні відповідно від 1 мкг/см<sup>3</sup> до 50 мкг/см<sup>3</sup>.

Комбінація пеніциліну й стрептоміцину володіла бактериостатичними властивостями у концентраціях від 0,25 мкг/см<sup>3</sup> для *P. vulgaris*, до 40 мкг/см<sup>3</sup> для *S. aureus*; бактерицидними від 4 мкг/см<sup>3</sup>, для *E. faecalis*, до 80 для *S. aureus* й *E. faecalis*, а стрептоміцину і тетрацикліну відповідно від 0,25 мкг/см<sup>3</sup> для *E. faecalis* до 40 мкг/см<sup>3</sup> для *S. aureus*; та від 4 мкг/см<sup>3</sup> для *E. faecalis* до 80 мкг/см<sup>3</sup> для *P. vulgaris*.

Вивчаючи толерантність мікроорганізмів до комбінацій антибіотиків можна відзначити, що бактерій толерантних до них не встановили, за винятком деяких штамів *P. vulgaris*, на які впливали поєднання пеніциліну й стрептоміцину.

Отже високі значення МІК свідчать про резистентність мікроорганізмів до антибіотика, яка зумовлювалась різноманітними механізмами, у тому числі "екрануванням" мембрани бактеріальної клітини й активним видаленням препарату із цитоплазми. Низькі значення МІК не завжди характеризують антибіотик як препарат із сильною специфічною дією на конкретний мікроорганізм. При значеннях МБК, що перевищують МІК у 32 рази і більше, варто говорити про толерантність до антибіотика, наявність якої належить до переліку рекомендацій до переходу від монотерапії до комбінованого лікування двома або трьома препаратами, що забезпечує синергійний бактерицидний ефект.

#### Висновки

1. При вивченні чутливості мікроорганізмів, виділених з молока корів, хворих на мастити, толерантність до антибіотиків виявлена в усіх штамів виділених мікроорганізмів до усіх застосованих нами антибіотиків, за винятком норфлуксацину.
2. Толерантність до антибіотиків у виділеної мікрофлори зникла при застосуванні їх у комбінації.

В перспективі будуть проведені аналогічні дослідження з використанням сучасних антибіотиків та інших видів мікроорганізмів для визначення оптимальних і найефективніших комбінацій.

#### ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО И БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ АНТИБИОТИКОВ НА МИКРОФЛОРУ МОЛОКА КОРОВ

*В.А. Калашников кандидат ветеринарных наук*

Приведены результаты исследования чувствительности некоторых штаммов микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), выделенных из молока коров больных маститами к антибиотикам. Определяли минимальные ингибирующие и бактерицидные концентрации антибиотиков для исследуемых культур микроорганизмов методом серийных разведений в жидкой питательной среде. Бактерий толерантных к комбинациям антибиотиков не выявлено, за исключением некоторых штаммов *P. vulgaris* которые были толерантны к комбинации пенициллина и стрептомицина.

Ключеві слова: микроорганизмы, антибиотики, маститы.

## THE STUDY BAKTERICIDY AND BAKTERIOSTATIC ACTIONS SOME ANTIBIOTIC ON MICROBE BACKGROUND MILKS COWS

*V. O. Kalashnikov*

In the article there are the resulted results of research of sensitiveness of some cultures of microorganisms (*Escherichia of coli*, *Proteus of vulgaris*, *Enterococcus of faecalis*, *Staphylococcus of aureus*) of the cows of patients with abstracted from milk mastitises to the antibiotics. Determined minimum ingibuyuchi and minimum bactericidal concentrations of antibiotics to the probed cultures of microorganisms by the method of the serial breedings in a liquid nourishing environment. Not found out the bacteria of tolerant to combinations antibiotics, except for some cultures of *P. vulgaris*, which were tolerant to combination of penicilinu and streptomycin.

Key words: microorganisms, antibiotics, mastitis.

### Список літератури

1. Бабникова Л.А. Микробиологические основы молочного производства. / Л.А. Бабникова, Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина / – М.: Агропромиздат. 1987. – 400 с.
2. Королюк А.М. Медицинская микробиология / А.М. Королюк, В.Б. Сбойчаков. – СПб: ЭЛБИ-СПб, 2002. – 266 с.
3. Санитарная микробиология / Под ред. Г.П. Калины и Г.Н. Чистовича. – М.: Медицина, 1969.
4. Owens, W.E. Antibiotic treatment of mastitis: Comparison of intramammary and intramammary plus intramuscular therapies./ W.E. Owens, J.L. Wats, R.L. Boddie, / J. Am. Vet. Med. Assoc. 169, . -1988. –P.1104-1109.
5. Walser K., Untersuchungen zur antibakteriellen Aktivitat und Pharmakokinetik von Enrofloxacin (Baytril) bei der laktierenden Kuh. Tierarztl.// K. Walser, B. Gandorfer, A. Steinberger, E. Treitinger, T. Winter/ Umschau 48. -1993 P. 414-419.
6. Ziv, G. Drug selection and use in mastitis: Systemic vs local therapy./ Ziv, G // J. Am. Vet. Med. Assoc. 176. -1980. – P. 1109-1115.