

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ
ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ**

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

**по определению чувствительности к антибиотикам
возбудителей инфекционных болезней
сельскохозяйственных животных**

Москва — 1972

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ
ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению чувствительности к антибиотикам
возбудителей инфекционных болезней
сельскохозяйственных животных

*(Утверждены Главным управлением ветеринарии
Министерства сельского хозяйства СССР 30 октября 1971 года)*

Москва—1972

Методические указания разработаны Всесоюзным ордена Ленина институтом экспериментальной ветеринарии на основе работ лаборатории антибиотиков и микологии ВИЭВ и данных отечественных и зарубежных исследователей. Методические указания рассмотрены и одобрены Научно-техническим Советом Министерства сельского хозяйства СССР 25 февраля 1971 года и доработаны с учетом поступивших замечаний и предложений комиссией в составе: тт. Грезина В. Ф., Колякова Я. Е., Окунькова П. С., Тришкиной Е. Т., Фортунного В. А.

1. Одним из основных элементов рационального применения антибиотиков в ветеринарии при инфекционных болезнях является определение чувствительности возбудителя болезни к этим препаратам. Это необходимо для того, чтобы избрать наиболее эффективный препарат из числа рекомендованных при данном заболевании и для своевременной замены длительно применяемого в животноводстве антибиотика другим, если установлена резистентность к нему патогенных микроорганизмов.

Систематическое определение уровня чувствительности возбудителей инфекционных болезней к антибиотикам позволяет прогнозировать результативность антибиотикотерапии в конкретных хозяйствах и зонах.

2. Установленная лабораторией чувствительность патогенных микроорганизмов к антибиотику позволяет применять этот препарат для лечения животных в течение 1—2 месяцев. При отсутствии терапевтического эффекта определение чувствительности культур возбудителя болезни следует повторить независимо от длительности применения антибиотика в хозяйстве.

3. Чувствительность микроорганизмов к антибиотику дает основание использовать для лечения другие антибиотики одной группы. Возбудитель болезни, чувствительный к окситетрациклину, будет чувствителен и к хлортетрациклину, тетрациклину, биоветину и другим тетрациклиновым препаратам.

4. Среди микроорганизмов отмечают перекрестную устойчивость к антибиотикам, родственным по химической структуре. Возбудитель болезни, устойчивый к пенициллину, будет резистентен и к бициллину, феноксиметилпенициллину и другим препаратам этой группы, за исключением полусинтетических пенициллинов.

5. Чувствительность микроорганизмов определяют минимальной концентрацией антибиотика (*мкг, ЕД/мл*), которая задерживает рост или убивает их в течение 16—18 часов. Для этой цели используют два наиболее распространенных метода:

— метод серийных разведений на жидкой или плотной питательной среде;

— метод диффузии в агар с применением дисков, содержащих антибиотики.

6. При определении чувствительности патогенных микроорганизмов к антибиотикам необходимо соблюдать следующие основные условия:

— определять чувствительность возбудителя болезни к тем антибиотикам, которые рекомендованы при этом заболевании методическими указаниями по применению антибиотиков в ветеринарии;

— использовать 5—10 колоний чистой культуры каждого вида микроорганизмов в отдельности, выделенных из патологического материала;

— применять питательные среды, одинаковые по составу, проценту агара, аминного азота, рН;

— антибиотики, диски, количество посевного материала (микробных клеток), контрольные тест-культуры должны отвечать определенным стандартам;

— не применять метод дисков и метод серийных разведений на плотной питательной среде для исследования микроорганизмов, дающий скудный или обильный, быстро распространяющийся на поверхности агара рост;

— плотно закрывать и парафинировать вскрытые ампулы и флаконы после извлечения части антибиотиков или дисков;

— для контроля определения чувствительности испытуемых микробов и проверки новых партий питательных сред параллельные исследования вести с соответствующими для каждого антибиотика тест-микробами, чувствительность которых указана в приложении 1;

— при выявлении устойчивых штаммов методом диффузии в агар с применением дисков заключительное исследование проводить методом серийных разведений.

МЕТОД СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

Основные элементы метода:

- выбор питательных сред;
- приготовление растворов антибиотиков;
- подготовка культур для исследования;
- учет результатов.

7. Выбор питательных сред.

Состав питательной среды выбирают в зависимости от вида испытуемых микроорганизмов и метода, используемого при определении чувствительности. Среда должна обеспечивать оптимальный рост культуры. В основном следует применять следующие питательные среды:

а) Жидкие питательные среды для аэробных бактерий:

- мясо-пептонный бульон (рН 7,2—7,4);
- бульон Хоттингера с содержанием 180—200 мг% аминного азота (рН 7,4—7,6).

- б) Плотные питательные среды для аэробных бактерий:
 2%-ный агар на мясо-пептонном бульоне;
 2%-ный агар на переваре Хоттингера с содержанием 120—140 мг% аминного азота;
 2%-ный мясо-пептонный агар с добавлением 5% крови или сыворотки крови.

Питательные среды готовят с рН 7,2—7,4.

- в) Питательная среда для анаэробных бактерий. Среда Китт—Тароци без кусочков печени с добавлением 0,5% глюкозы (рН 7,4—7,6), которую перед исследованием следует прокипятить 5—10 минут и быстро охладить.

Для каждого штамма микроорганизмов, при определении чувствительности к одному антибиотику, необходимо: 6 пробирок с питательной средой по 2 мл (для анаэробов по 9 мл) для серийного разведения антибиотика, две пробирки по 9—10 мл питательной среды для разведения культуры и питательная среда в колбе для приготовления рабочего раствора антибиотика.

8. Приготовление растворов антибиотиков. Применяют два раствора — основной и рабочий. Для приготовления их используют стандарты антибиотиков с определенной активностью. Стандарты выпускает Государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов расфасованными в ампулы. Срок годности 2—3 года при температуре хранения 2—8°.

Основной раствор готовят из расчета 1000 мкг (ЕД) антибиотика в 1 мл растворителя. При определении чувствительности анаэробных микроорганизмов или при использовании в работе агаровой среды основной раствор готовят из расчета 10 000 ЕД/мл.

Навеску стандарта антибиотика (не менее 10 мг) взвешивают в стерильных бюксах на аналитических весах и растворяют. В таблице указаны растворители и сроки хранения основных растворов антибиотиков.

Стандарты	Растворители	Срок хранения (дней)
Хлортетрациклин	0,01 н. раствор соляной кислоты	7
Окситетрациклин	То же	7
Тетрациклин	»	7
Олеандомицин	Фосфатный буфер	рН 6,0—6,2 7
Стрептомицин серноокислый	То же	рН 6,0—6,2 30
Левомецетин	»	рН 6,0—6,2 30
Полимиксин сульфат	»	рН 6,0—6,2 30
Пенициллины	»	рН 6,8—7,0 3
Эритромицин основание	»	рН 7,8—8,0 7
Неомицин (мицерин, колимицин), мономицин	Дистиллированная вода	рН 6,0—6,2 15

Приготовление фосфатных буферных растворов приведено в приложении 2.

- Примечания:
1. Навески стандартов эритромицина и левомицетина предварительно растворяют в 96° этиловом спирте из расчета 10 мг антибиотика на 1 мл спирта, затем добавляют соответствующий фосфатный буфер до нужного объема.
 2. Основные растворы можно готовить и на дистиллированной воде, которые хранят в стеклянной посуде с притертой пробкой при температуре 2—8° и используют не более 3—15 дней.

Пример: приготовление основного раствора эритромицина с концентрацией 1000 мкг/мл.

Навеска стандарта эритромицина составила 18,5 мг. Зная активность антибиотика (940 ЕД в 1 мг), определяем общее количество действующего начала в навеске (ЕД или мкг): $940 \text{ ЕД} \times 18,5 = 17390 \text{ ЕД}$. Для получения раствора с содержанием 1000 мкг/мл растворителя необходимо — $17390 : 1000 = 17,4 \text{ мл}$. Вначале в бюкс наливают 2 мл этилового спирта. После растворения эритромицина добавляют 15,4 мл фосфатного буфера.

Рабочие растворы по активности должны быть приближены к ожидаемой чувствительности исследуемых культур. Их готовят из основного раствора непосредственно перед опытом, применяя для разведения питательную среду. При этом необходимо учитывать используемый метод, количество штаммов, подлежащих исследованию, и предполагаемую чувствительность микроорганизмов. В таблице приложения 3 приведены показатели чувствительности к 9 антибиотикам 19 видов патогенных для животных микроорганизмов.

а) Приготовление рабочего раствора для исследования чувствительности аэробных микроорганизмов на жидкой питательной среде

Растворы антибиотиков готовят в пробирках методом последовательных серийных разведений с таким расчетом, чтобы предполагаемая чувствительность культуры приходилась на середину ряда. С этой целью исходный рабочий раствор готовят в объеме достаточном, чтобы добавить по 2 мл в первую пробирку каждого ряда, взятых по числу исследуемых культур. Концентрация антибиотика в этом растворе должна быть в два раза выше концентрации, намеченной для первой пробирки ряда. В случае, если чувствительность культур, взятых для определения, находится в пределах 0,01—0,1 мкг/мл, для получения необходимой концентрации антибиотика вначале в пробирках и колбе готовят стерильный рабочий раствор с активностью 0,5 мкг/мл.

В первую пробирку ряда, в котором предварительно была разлита питательная среда по 2 мл, вносят из колбы 2 мл рабочего раствора антибиотика с концентрацией 0,5 мкг/мл. Содер-

жимое пробирки тщательно перемешивают. Из первой пробирки 2 мл среды с антибиотиком переносят во вторую, из второй 2 мл в третью и так до последней пробирки ряда. Таким образом будет получена питательная среда с концентрацией 0,25; 0,12; 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 мг антибиотика в 1 мл.

Рабочие растворы антибиотиков готовят для определения чувствительности салмонелл и кишечных палочек на мясо-пептонном бульоне; для возбудителей рожи, пастереллеза, листериоза — на бульоне Хоттингера.

б) Приготовление рабочих растворов для исследования чувствительности аэробных микроорганизмов на плотной питательной среде

Для получения соответствующих рабочих разведений одного антибиотика берут 6 стерильных пробирок и 6 бактериологических чашек. Предполагаемая чувствительность штаммов 2—4 мг/мл. В этом случае следует взять 6 чашек, содержащих 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 мг/мл антибиотика. Учитывая, что общий объем питательной среды в чашке будет составлять 20 мл, в первую чашку нужно добавить 1 мл МПБ, содержащего 400 мг/мл антибиотика.

Для приготовления рабочих растворов берут одну пробирку с 2,4 мл и пять пробирок, содержащих по 2 мл МПБ или дистиллированной воды.

Из основного раствора активностью 1000 мг/мл отмеряют 1,6 мл (1600 мг) и вносят в первую пробирку с 2,4 мл растворителя, в которой, таким образом, концентрация будет доведена до 400 мг/мл. Из этой пробирки 2 мл переносят во вторую, 2 мл из второй в третью и так далее. Количество антибиотика в пробирках будет составлять 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 мг/мл. Из каждой пробирки, начиная с меньшего разведения, берут по 1 мл, вносят в соответствующую чашку и добавляют из колбы 19 мл расплавленной (55—65°) агаровой среды. Содержимое вращательным движением смешивают и оставляют остывать. Концентрация антибиотика в бактериологических чашках будет в 20 раз ниже, чем в МПБ пробирок, в которых предварительно разводили антибиотик.

в) Приготовление рабочих растворов для исследования чувствительности анаэробных микроорганизмов

Рабочие растворы антибиотиков готовят на среде Китт—Тароцци без кусочков печени и масла в пробирках или небольших колбах, число которых должно соответствовать числу пробирок ряда, взятого для каждого штамма.

После разведения антибиотика из этих пробирок или колб по 1 мл среды вносят в соответствующие пробирки опыта,

начиная с меньших концентраций препарата, и содержимое перемешивают.

9. Подготовка культур для исследования. В зависимости от вида микроорганизма для посева используют 16—18-часовую бульонную или агаровую культуру. В ряды пробирок или бактериологических чашек с питательной средой, содержащей соответствующие разведения антибиотиков, испытуемую культуру засевают мерной пипеткой или бактериологической петлей.

а) При определении чувствительности методом серийных разведений на жидкой питательной среде салмонелл, кишечных палочек, стафилококков, стрептококков и ряда других микроорганизмов используют агаровые культуры, которые смывают стерильным 0,9%-ным водным раствором натрия хлорида (изотонический раствор). По стандарту мутности определяют концентрацию микробных клеток в 1 мл, затем методом последовательных разведений получают концентрацию 1 млн. микробных клеток в 1 мл. Для этой цели разведение культур проводят в двух пробирках с питательной средой. В первую пробирку, содержащую 10 мл, вносят 0,1 мл культуры с концентрацией 1 млрд. микробных клеток в 1 мл, содержимое перемешивают и 1 мл переносят во вторую пробирку с 9 мл питательной среды, из которой по 0,2 мл высевают в каждую пробирку ряда и дополнительно на МПА без антибиотика для контроля чистоты культуры. Пробирку, из которой проводили посев, используют для контроля качества питательной среды. В рабочих пробирках концентрация культуры будет составлять 100 тыс. микробных клеток в 1 мл среды.

Примечание. При определении спектра действия новых антибиотиков используют концентрацию культуры 1000 микробных клеток в 1 мл питательной среды. Для выявления устойчивых штаммов берут большее количество микробных клеток (100 тыс.), что увеличивает вероятность внесения в среду резистентных особей.

б) При определении этим методом чувствительности возбудителей рожи, пастереллеза, листериоза используют культуры, выращенные на бульоне Хоттингера, которые перед посевом разводят 1:10 000. Это разведение получают последовательно в двух пробирках, содержащих по 10 мл питательной среды. В первую пробирку вносят 0,1 мл бульонной культуры, содержимое перемешивают и 0,1 мл переносят во вторую пробирку, из которой высевают по 0,2 мл в каждую пробирку ряда.

в) Определение чувствительности аэробных микроорганизмов в агаровой среде проводят в бактериологических чашках, дно которых предварительно делят на сегменты и номеруют по числу исследуемых культур (до 10 штаммов).

Испытуемые культуры засевают петлей — агаровые смывают и разводят до концентрации 500 млн. микробных клеток в 1 мл,

бульонные культуры возбудителей рожи, пастереллеза и др. наносят на агар неразведенными. Перед посевом чашки подсушивают в термостате в течение 30 минут.

г) При определении чувствительности анаэробных микроорганизмов для засева среды с антибиотиком используют неразведенную суточную культуру, выращенную на обычной среде Китт—Тароци с кусочками печени, которую вносят в количестве 0,2 мл на пробирку. Штаммы Клостридиум перфрингенс перед посевом разводят 1:100 в питательной среде.

10. Результаты определения чувствительности к антибиотикам аэробных и анаэробных бактерий учитывают визуально через 16—18 часов инкубации при 37°. Отмечают пробирку или чашку, в которой отсутствует рост. Показатель концентрации антибиотика в ней складывают с количеством антибиотика в последующей пробирке, где отмечен рост культуры, и выводят среднее арифметическое число, которое показывает чувствительность испытуемого штамма к антибиотику. Так, в пробирке с содержанием антибиотика 2,5 мкг/мл нет роста, а в следующей, где концентрация препарата 1,25 мкг/мл, установлен рост культуры, в этом случае бактериостатическая концентрация будет соответствовать 1,8 мкг/мл.

Если среда помутнела во всех пробирках, то это указывает, что испытуемый микроб устойчив к максимально взятой концентрации антибиотика. Отсутствие роста во всех пробирках свидетельствует о том, что чувствительность микроба выше использованной в опыте минимальной концентрации. Исследования повторяют с другими концентрациями антибиотика.

Примечание. Если рост культур отдельных видов микробов появляется в более поздние сроки (бруцеллы, туберкулезные палочки, вибрионы и др.), то и результаты по чувствительности учитывают в соответствии с особенностями их роста.

При оценке результатов определения чувствительности микробов к антибиотикам следует учитывать материал, из которого выделена культура.

Антибиотики	Концентрация (мкг, ЕД/мл)
Пенициллин	Более 10
Эритромицин	» 10
Окситетрациклин	» 20
Хлортетрациклин	» 20
Тетрациклин	» 20
Неомицин (мицерин, колимицин)	» 20
Мономицин	» 50
Левомецетин	» 20
Стрептомицин	» 50
Полимиксин	» 50

В настоящее время патогенные микроорганизмы, выделенные из крови и паренхиматозных органов, считают резистентными в том случае, если рост их не подавляется антибиотиками в концентрациях, указанных в таблице.

Примечание. Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из материала, взятого из ран, вымени, мочевого тракта, может быть ниже, чем указано в таблице, поэтому выбор лекарственных форм антибиотиков должен соответствовать полученным показателям чувствительности.

11. Метод диффузии в агар с применением дисков, содержащих антибиотики.

а) Питательные среды:

2%-ный агар на мясо-пептонном бульоне;

2%-ный агар на переваре Хоттингера с содержанием 120—140 мг% аминного азота;

2%-ный МПА с добавлением 5% крови или сыворотки крови;

pH питательных сред 7,2—7,4.

Среду разливают по 20 мл в стерильные бактериологические чашки.

б) Исследуемые культуры, выращенные на агаровой среде, смывают стерильным 0,9%-ным водным раствором натрия хлорида и по бактериальному стандарту готовят одномиллиардную взвесь. На поверхность застывшей среды наливают 1 мл взвеси культуры и покачиванием чашки равномерно распределяют ее по всей поверхности. Излишек жидкости отсасывают пипеткой. Чашки подсушивают при 37° в течение 15—30 минут.

в) Диски раскладывают стерильным пинцетом на расстоянии 2 см от края чашки и слегка прижимают к агару. После окончания наложения дисков с одним антибиотиком пинцет протирают тампоном, смоченным этиловым спиртом, обжигают и приступают к раскладыванию дисков с другим антибиотиком. Каждая чашка может служить для испытания активности 4—5 антибиотиков.

Нельзя допускать длительные интервалы (более 45 минут) между посевом культуры и наложением дисков.

Чашки с дисками для лучшей диффузии антибиотика в агар выдерживают в течение 2 часов при комнатной температуре (не выше 20°), а затем помещают в термостат при температуре 37° вверх дном.

Стандартные диски с антибиотиками, выпускаемые заводами медицинской промышленности, хранят в закрытых флаконах, в сухом месте при комнатной температуре, срок годности указан на этикетке.

г) Результаты учитывают через 16—18 часов с помощью линейки или миллиметровой бумаги. Определяют диаметр зон задержки роста микробов вокруг бумажных дисков, включая и диаметр дисков. При диаметре зон в 15—25 мм микробы следует считать чувствительными к антибиотикам. При зонах величиной до 15 мм — микробы малочувствительны. Отсутствие зон задержки роста указывает на то, что исследуемая культура не чувствительна к данному антибиотику.

12. При установлении резистентных культур возбудителей инфекционных болезней животных к применяемым в хозяйстве антибиотикам следует немедленно эти препараты заменять другими лечебными средствами.

**Чувствительность эталонных тест-микробов к антибиотикам
в МПБ (рН 7,2—7,4)**

Тест-микробы	Антибиотики	Чувствительность мкг, ЕД/мл
Staph. aureus 209 P	Пенициллин	0,02—0,04
» »	Эритромицин	0,03—0,06
» »	Олеандомицин	0,04—0,09
» »	Тетрациклины	0,2—0,6
» »	Стрептомицин	0,2—0,4
Bac. subtilis L ₂	Тетрациклины	0,02—0,04
» »	Левомецетин	0,2—0,9
» »	Мономицин	0,05—0,1
» »	Стрептомицин	0,04—0,08
» »	Неомицин	0,02—0,04

Примечание. Иные результаты по чувствительности эталонных штаммов указывают на нарушения, допущенные в работе.

Готовят два исходных раствора из перекристаллизованных солей: однозамещенного фосфата калия (KH_2PO_4) и двузамещенного фосфата калия (K_2HPO_4).

Соответствующие навески солей (каждой отдельно) растворяют в 1000 мл прокипяченной или стерильной дистиллированной воды. Для получения рН буфера приготовленные исходные растворы соединяют в определенных объемных отношениях, указанных в таблице.

Приготовление фосфатных буферных растворов

рН фосфатного буфера	Количество соли в 1 л исходного раствора в г		Соотношение объемов (мл) смешиваемых исходных растворов	
	K_2HPO_4	KH_2PO_4	K_2HPO_4	KH_2PO_4
6,0—6,2	4	16	1	1
6,8—7,0	11,612	9,073	6,1	3,9
7,8—8,0	11,612	9,073	9,5	0,5

Буферные растворы стерилизуют в автоклаве при давлении 0,5 атм. (110—112°) в течение 30 минут.

СПРАВОЧНАЯ ТАБЛИЦА

Чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, патогенных для животных и птиц на 1971 г. (ЕД, мкг/мл)

Микробы	Пенициллин	Эритромицин	Олеандомицин	Тетрацик- лины	Левоми- цетин	Стрепто- мицин	Неомицин, мицерин, колимицин	Моно- мицин	Полимиксин
<i>Erysipeloth. insidiosa</i>	0,01—0,1	0,02—0,04	0,1—0,4	0,04—3,0	0,4—5,0	0,2—7,5	0,4—2,0	2,0—50	>750
<i>Past. multocida</i>	0,02—0,2	0,07—3,0	2,0—10	0,06—0,8	0,1—0,9	1,8—10	0,9—5,0	0,4—4,6	1,5—5,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,1—0,9	0,02—0,5	0,5—1,0	0,2—5,0	1,0—5,0	0,5—15	0,5—2,5	0,7—3,0	37—>50
<i>Streptococcus equi</i>	0,01—0,03	0,02—0,03	0,1—2,5	0,5—0,8	1,0—5,0	1,2—3,0	0,4—2,5	0,8—10	9,0—18
<i>Bac. anthracis</i>	0,1—1,0	0,1—5,0	0,5—5,0	0,2—5,0	0,5—5,0	0,2—7,5	0,1—5,0	>100	>50
<i>Brucella abortus</i>	0,15—6,0	0,3—2,5	1,5—>100	0,1—7,0	1,0—7,0	0,5—5,0	0,5—10	1,3—3,0	0,5—5,0
<i>Vibrio fetus</i>	0,1—3,0	0,2—5,0	2,0—9,0	0,02—0,5	0,3—3,0	1,5—10	1,0—10	2,0—10	30—150
<i>Salm. pullorum</i>	2,3—18,6	50—200	>100	0,2—3,7	0,3—5,0	2,5—18	0,5—4,0	0,5—2,3	0,2—3,7
<i>S. cholerae suis</i>	4,6—50	50—200	>100	0,4—15	0,9—7,5	9,0—75	1,0—4,0	2,3—9,3	0,6—3,7
<i>S. dublin</i>	4,6—50	50—200	>100	0,4—7,5	0,9—7,5	9,0—37	0,1—5,0	4,7—9,3	0,4—3,7
<i>S. typhi murium</i>	9,3—50	50—200	>100	0,4—15	0,9—7,5	9,0—37	1,0—4,0	2,3—9,3	0,2—3,7
<i>S. abortus ovis</i>	4,7—18	50—200	>100	0,4—3,7	0,5—5,0	9,0—20	0,5—2,0	2,3—9,3	0,2—0,9
<i>E. coli</i>	10—100	25—100	>100	0,4—5,0	0,5—10	3,0—25	1,0—15	3,0—18	0,5—5,0
<i>Proteus vulgaris</i>	2,5—>100	>100	>100	>450	8—>250	1,0—50	5,0—15	3,0—25	>700
<i>Cl. perfringens</i>	0,07—1,0	0,4—4,0	0,5—6,0	0,2—10	1,0—10	50—500	50—500	>500	>50 тыс.
<i>Cl. septicum</i>	0,02—0,2	0,04—0,3	0,01—2,0	0,1—0,8	0,4—10	10—100	10—100	10—150	>50 тыс.
<i>Cl. chauvoei</i>	0,01—0,2	0,01—0,2	0,03—0,4	0,02—0,5	0,1—5,0	4—50	4—20	4—50	>50 тыс.
<i>Cl. oedematiens</i>	0,01—0,1	0,02—0,2	0,1—0,9	0,09—0,5	0,4—7,5	7—100	7—100	10—150	>50 тыс.
<i>B. necrophorus</i>	0,02—0,1	0,02—2,0	0,2—5,0	0,02—1,0	0,2—5,0	18—35	18—100	20—120	—

Сдано в набор 18/XI-71 г.
Тираж 5000 экз.

Подп. к печати 23/XII-71 г.
Л 69401.

Формат $60 \times 90^{1/16} = 1,0$ п. л.
Бесплатно

Зак. 854.

1-я тип. Профиздата, Москва, Крутицкий вал, 18.