

УДК 619:579

ЛАБОРАТОРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *PROVIDENCIA*

Благодерова В.В., студентка 2 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии

Научный руководитель - Барт Н.Г., кандидат биологических наук,
старший преподаватель
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

Ключевые слова: бактерий рода *Providencia*, энтеробактерии, диагностика, культуры, колонии, бактериология.

Статья посвящена лабораторной диагностике энтеробактерий. Изучены биологические свойства бактерий рода *Providencia* по всем биохимическим тестам.

Лабораторная диагностика в ветеринарной практике основывается, преимущественно, на бактериологическом методе исследования. Бактериологическое исследование включает выделение культуры возбудителя из патологического материала или суспензии фекалий и идентификацию культуры по биохимическим свойствам. В литературе представлено несколько схем выделения бактерий рода *Providencia*. Схема выделения представителей рода *Providencia* предложенная Б.С. Киселевой (1985), аналогичная схема у В.И. Покровского, О.К. Поздеева (2007). В ветеринарии используется схема бактериологической диагностики смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями, утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ и П 11 октября 1999 года. Общий срок исследования 7 суток.

Для прижизненной диагностики отбирают пробы фекалий, взятых от 5 – 6 больных диареей животных одной фермы, не подвергнутых лечению антибактериальными препаратами. Для посмертной диагностики в лабораторию направляют 2 – 3 свежих трупа погибших от диареи или убитых в предагональном состоянии больных животных. При отсутствии возможности доставки цельных трупов посылают следующий материал: голову, трубчатую кость; сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза аорты; селезенку, долю печени с желчным пузырем, почку.

Одновременно с указанным материалом в отдельном целлофановом пакете направляют пораженный участок тонкого или толстого отдела кишечника, перевязанный с обоих концов лигатурой на расстоянии 1,5-2 см от места разреза, обязательно с регионарными брыжеечными лимфатическими узлами. Материал от каждого трупа животного маркируют и вместе с сопроводительной запиской доставляют нарочным в лабораторию.

Согласно схеме В.И. Покровского, О.К. Поздеева (1999, 2007) для выделения бактерий рода *Providencia* из исследуемого материала следует проводить посев на дифференциально-диагностические среды (ДДС): Плоскирева, Эндо, висмут-сульфит агар бактерии рода *Providencia* хорошо растут на МПА, агаре Хоттингера, в МПБ, пептонной воде.

Чашки с посевами на ДДС инкубировали в термостате при 37° С, через 18 – 24 часа чашки просматривают и отбирали колонии. На средах Эндо, Плоскирева колонии бактерии рода *Providencia* полупрозрачные бледно-серого цвета, через 48 часов культивирования колонии мутнеют и приобретают серый цвет с более ярким оттенком в центре, на висмут-сульфитном агаре образуют колонии различных цветов: от бесцветных до оливково-зеленых. Культуры, выросшие на средах с фенилаланином, могут иметь миндальный запах.

Чаще на средах бактерии рода *Providencia* образуют мелкие и средние по размеру округлые, выпуклые колонии с ровными краями и гладкой поверхностью сероватого цвета.

В схеме В.И. Покровского, О.К. Поздеева (2007) отобранные с ДДС колонии пересеивали на комбинированные среды: Клигlera, Олькеницкого. Затем получив соответствующие для данного рода результаты: H₂S (-), мочевины (+/-), глюкоза (+), лактоза (-), делали бактериоскопию (грамотрицательные палочки) и засевают на среды с тестами для изучения биохимических свойств бактерий.

Предложены основные тесты: сероводород (-), мочевины (+/-), лактоза (-), глюкоза (+), подвижность (+), индол (+/-), среда Симмонса (+/-), реакция с метилротом (+/-), реакция Фогеса-Проскауэра (-), желатина (-), фенилаланин (+). Заключительный результат идентификации устанавливают после проведения дополнительных тестов: маннит (+/-), инозит (+), сорбит (-), адонит (+/-), рамноза (+/-), сахароза (+/-), трегалоза (-), дульцит (-), арабиноза (-), мальтоза (-/+), образование каталазы (+).

В методических указаниях по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой

патогенными энтеробактериями, материал засеивали на среду Эндо или Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар на скошенный МПА и в МПБ. Надосадочную жидкость при разведении содержимого тонкого отдела кишечника и фекалий засеивали на ДДС: Эндо или Левина, среду Плоскирева, висмут-сульфит агар. Материал вносили пастеровской пипеткой на поверхность питательной среды. Посевы на плотные среды в чашках из внутренних органов делают путем отпечатков разрезанной поверхностью кусочка органа из профламбированного участка на подсушенную питательную среду или вносят материал пипеткой на поверхность питательной среды, а затем равномерно растирают его шпателем. Посев материала в МПБ и на скошенный МПА проводили пастеровской пипеткой.

Чашки с посевами на ДДС инкубировали при температуре 37° С в течение 18-24 часов. При наличии в МПБ помутнения среды культуру микроскопировали и в случае обнаружения мелких грамтрицательных палочек пересеивали ее на агар Эндо или Левина, среду Плоскирева, висмут-сульфит агар в чашках, которые помещали в термостат на 18-24 часа. Пересев производили в том случае, если отсутствует рост колоний на этих средах в первичных посевах.

Отобранные с ДДС высевали на скошенный МПА, после инкубирования в термостате при 37 °С, суточные культуры микроскопировали и при наличии мелких грамтрицательных палочек не образующих спор и капсул, изучали биохимические свойства.

В указанной схеме в качестве основных тестов предложены: глюкоза, лактоза, сахароза, маннитол, мальтоза, цитрат Симмонса, индол, сероводород, расщепление мочевины, разжижение желатины, фенилаланин и дополнительных тестов: определение подвижности, реакция с метилротом, реакция Фогеса-Проскауэра, всего 14 тестов.

По результатам, полученным при изучении биохимических свойств, культуру относили к соответствующему виду.

Была предложена дифференциальная питательная среда SPM для *Providencia*, *Protea*, *Morganella*. SPM содержит tryptose fosfat agar с phenolphthalein monofosfatом и солей желчи. Данная среда дает рост бактерий *Providencia* на 40% больше, чем на обычных средах.

В дальнейшем была усовершенствована питательную среду MacConkey среду (MCP среда), для идентификации бактерий рода *Providencia*. В 97,5% бактерии выросшие на данной среде принадлежали бактериям рода *Providencia*.

Применялась питательная среда Silfide-indole-motility (СИМА) для выделения *Providencia*, *Protea*, *Morganella*. Было проверено 328

проб, из них: 156 *Proteus mirabilis*, 62 *Morganella morganii*, 31 *Proteus vulgaris*, 57 *Providencia rettgeri*, 14 *Providencia stuartii* и 8 *Providencia alcalifaciens*.

Трудоемкость и длительность изучения биологических свойств бактерий не позволяет быстро идентифицировать бактерии рода *Providencia*, поэтому возникает необходимость изыскания эффективных и доступных для ветеринарных лабораторий методов индикации и идентификации указанных бактерий.

Библиографический список

1. Барт Н.Г. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* из объектов внешней среды и патологического материала / Н.Г.Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Труды Всероссийского совета молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений. – Москва, 2008. – С. 92-95.
2. Барт Н.Г. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* и изучение их биологических свойств / Н.Г.Барт, С.Н. Золотухин, Д.А.васильев // Вестник ветеринарии. № 4 (59), 2011. – С. 47-48.
3. Барт Н.Г., Выделение бактериофагов рода *Providencia* / Н.Г.Барт, С.Н. Золотухин, Д.А.васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2012. Т.1. – С. 236-239.
4. Барт Н.Г. Разработка методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний с использованием биопрепарата на основе бактериофагов *Providencia* / Н.Г.Барт А.С.Мелехин // Ветеринарная медицина XXIвека: инновации, опыт, проблемы и пути их решения. Международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменовании 250-летия профессии ветеринарного врача. – Ульяновск, 2011. – С. 46-48
5. Васильев Д.А.. Детекция *Aeromonas hydrophila* в пищевой продукции из гидробионтов с применением биосенсоров на основе гомологичных бактериофагов/ Д.А.Васильев, Д.А. Викторов, И.Р. Насибуллин, и др. // Фундаментальные исследования. № 5-1, 2014. – С. 50-54.
6. Васильев Д.А. Выделение, селекция и изучение некоторых биологических свойств бактериофагов *Providencia* / Д.А. Васильев, Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных: Материалы Международной научно-практической

конференции посвященной 50-летию ВНИИВВиМ. – Покров, 2008. – С. 91-93.

7. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия / Д.М. Гольдфарб // М.: Медгиз. – 1961.
8. Покровский В.И. Медицинская микробиология. / В.И. Покровский, О.К. Поздеев – М.: Медицина. – 1999.

LABORATORY IDENTIFICATION OF BACTERIA SORTS *PROVIDENCIA*

Blagoderova V. V.

Keywords: bacteria of the sort *Providencia*, enterobakteriya, diagnostics, cultures, colonies, bacteriology.

Article is devoted to laboratory diagnostics of enterobakteriya. Biological properties of bacteria of the sort *Providencia* according to all biochemical tests are studied.