

УДК 602.3:579.63

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ ВИДА *S. MARCESCENS* В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Е.О. Ефрейторова, аспирант  
тел. 8(8422)55-95-47, pulcherovskaya.lidia@yandex.ru  
Л.П. Пульчеровская, кандидат биологических наук, доцент  
тел. 8(8422)55-95-47, pulcherovskaya.lidia@yandex.ru  
Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422)55-95-47, dav\_ul@mail.ru  
С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422)55-95-47, fvm.zol@yandex.ru  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

**Ключевые слова:** песок песочниц речных пляжей и детских песочниц, вода открытых водоемов и пищевые продукты, бактерии вида *S. marcescens*, бактериофаги, питательные среды, биологические свойства.

В статье представлены результаты исследований по выявлению бактерий вида *S. marcescens* и их бактериофагов в песке речных пляжей и детских песочниц, воде открытых водоемов и пищевые продукты.

**Введение.** Бактерии рода широко распространены в природе: их обнаруживают в почве, воде, пищевых продуктах, а в последние десятилетия они часто стали выделяться от здоровых и больных людей, животных.

В связи с ухудшением экологической ситуации и нерациональным применением антибактериальных препаратов в практике, в последнее время наблюдается тенденция увеличения частоты выделения условно-патогенных грамотрицательных бактерий, в частности бактерий рода *Serratia*, при инфекциях различной локализации [1-4].

Представители вышеуказанных микроорганизмов в ходе эволюции приобрели способность при попадании в организм человека не только выживать, но и наносить ему вред [5,6].

Биологические особенности бактерий рода *Serratia* размножаться в макроорганизме и вызывать инфекционный процесс зависит от

наличия у бактерий ряда факторов, определяющих их адгезивную, колонизирующую, цитотоксическую и энтеротоксическую активности возбудителя. В связи с этим изучение этих факторов может позволить разработать критерии этиологической значимости, основанные на изучении указанных биологических характеристик возбудителей и улучшить диагностику инфекций, вызванных бактериями рода *Serratia* [7]. К сожалению, недостаточно изучена роль отдельных поверхностных структурных элементов бактериальной клетки *Serratia* и факторов, обуславливающих патогенность клинических изолятов, в частности их адгезивная, энтеротоксигенная, гемолитическая, ДНК-азная, лецитин

Согласно литературным данным бактерии рода *Serratia* часто являются причиной гнойно-воспалительных, урологических, гинекологических и кишечных заболеваний. Также инфекционные процессы, вызванные этими бактериями, нередко развиваются у детей раннего возраста, онкологических больных, и являются причиной внутрибольничных инфекций [8,9].

Согласно литературным данным в распространенности бактерий рода *Serratia* активное участие принимают насекомые (пчелы и др.), эти микроорганизмы часто присутствуют в организме пчел и являются причиной их заболевания [10], а также как и «условно-патогенные микроорганизмы не оказывают значительного воздействия на организм хозяина и, как правило, не приводят к быстрой гибели насекомых. К этой группе относят и бактерии рода *Serratia*. В связи с этими обстоятельства мы решили провести исследования объектов окружающей среды (песок речных пляжей и детских песочниц, вода открытых водоемов и пищевые продукты) с целью выделения бактерий вида *S. marcescens* и их бактериофагов.

**Материалы и методы.** Материалом для исследований послужили песок детских песочниц, расположенных около жилых домов и детского сада, вода открытых водоемов Ульяновской области (заболоченных мест, озер, рек) и пищевые продукты (сырое молоко коровье, детское фруктовое пюре, мороженое) с признаками микробиологической порчи. Всего было отобрано 28 проб.

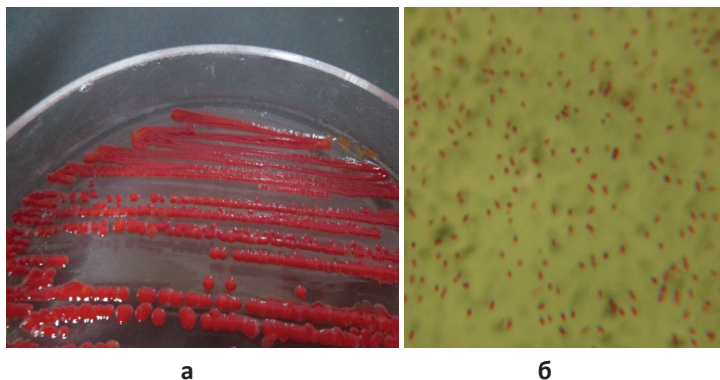
Выделение бактерий проводили бактериологическим методом. В первой серии опытов при индикации бактерий вида *S. marcescens* использовали общепотребительские среды, индикаторные и селективные среды для энтеробактерий [11, 12]. Посев проводили на среды КУДА, МПА, Эндо, Плоскирева и Левина. Посевы инкубировали при температуре 30 °С и pH - 7,2. Через 18-20 ч инкубации учитывали изменения в комбинированной среде, изучали морфологию микроор-

ганизмов, тинкториальные свойства, чистоту культуры и образование пигмента, который появлялся на свету через сутки или практически с ростом культуры. Изучали культуральные свойства бактерий на жидких и плотных средах и отсевали подозрительные колонии на МПБ с целью получения чистых культур микроорганизмов.

**Результаты исследований и их обсуждение.** На МПА искомые бактерии образовывали круглые ровные плоско-выпуклые гладкие S-колонии диаметром 1-2 мм (рис.1а); на селективных средах Эндо, Левина и Плоскирева – прозрачные бесцветные и цвета среды колонии диаметром 2 мм, напоминающие колонии сальмонелл. При комнатной температуре через 18-24-48 ч колонии серратий становились красными.

По морфологическим свойствам отбирали мелкие палочковидные микроорганизмы, располагавшиеся беспорядочно и окрашивающиеся – грамтрицательно (рис.1б).

Выделенные культуры искомым микроорганизмов издавали ароматный запах, напоминающий запах карамели [13]. Идентификацию проводили на основании изучения биологических свойств, с этой целью пересекали выделенные культуры на минимальный дифференцирующий ряд. Подвижность определяли методами «укола в полужидкий агар» и «висячая каля». Все выделенные штаммы бактерий были подвижны. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.



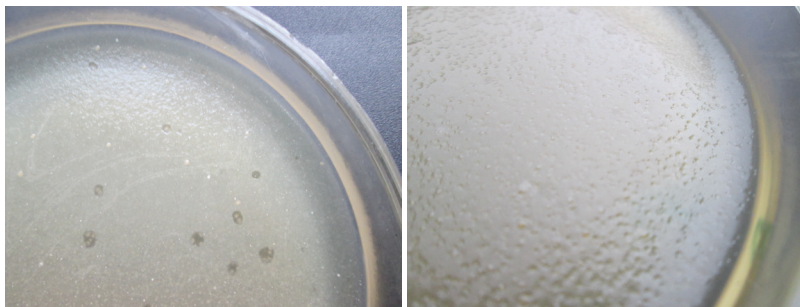
**Рисунок 1 - Морфология выделенных микроорганизмов.**  
а- рост бактерий вида *S. marcescens* на МПА; б- морфология  
выросших микроорганизмов

Таблица 1- Биологические свойства выделенного штамма бактерий вида *S. marcescens*

Тест	Выделенные культуры												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ацетоин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Мочевина	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Желатина	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Малонат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Образование к-ты из α-метил-D-глюкозида	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Дезокси-рибонуклеаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Липаза (кукурузное масло)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
D-глюкоза, образование к-ты в присутствии иодацетата, 0,001 M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
реакция Форгеса-Проснауэра	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Образование к-ты из сахарозы	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d-сорбитола	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
рафинозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-арабинозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Пигмент	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Присутствие бактериофагов также свидетельствует о недавнем присутствии названных бактерий в исследуемых объектах. Бактериофаги выделяли из тех же объектов окружающей среды параллельно бактериологическим исследованиям по выделению полевых штаммов *S. marcescens*.

Исследуемые пробы песка и воды вносили в стерильные колбы, заливали МПБ из расчета 10 мл бульона на 1 г/мл исследуемого объекта. В опытные колбы вносили индикаторные культуры бактерий вида *S.marcescens*. Выдерживали в термостате в течение 7 дней. Исследование проводили методом агаровых слоев. Использовали



а

б

**Рисунок 2 - Морфология негативных колоний**  
а- 1-й тип – полупрозрачные негативные колонии до 2-3 мм с неровным краем (фаг 1), б- 2-й тип – мелкие прозрачные негативные колонии до 1 мм в диаметре (фаг 2)

МПА, содержащий 1,5%-0,7% агара. Допустимо вместо 1,5% МПА использовать агар на рыбном гидролизате. Мясопептонный агар разливали в чашки по 25-30 мл. Для подавления роста воздушной микрофлоры перед разливом добавляли к расплавленному МПА 0,04%-ный спиртовой раствор генцианвиолета (0,1 мл на каждые 100 мл МПА). Чашки подсушивали в боксе или термостате в течение 3 часов [14, 15].

Индикаторные культуры бактерий вида *S. marcescens* выращивали на скошенном МПА в течение 16 часов и смывали физиологическим раствором (в количестве 10 мл).

Фаги выделяли из исследуемых проб классическими методами с предварительным прогреванием и центрифугированием исследуемого материала [16,17, 18]. При проведении нескольких анализов ставили один контроль. Через 20-30 минут после застывания верхнего слоя агара чашки помещали в термостат на 18-24 часа.

В результате проведенных исследований нами всего было выделено 7 бактериофагов, обладающих способностью на индикаторных культурах образовывать негативные колонии 2-х типов: 1-й тип – мелкие прозрачные негативные колонии до 1 мм в диаметре; 2-й тип – полупрозрачные негативные колонии до 2-3 мм с неровным краем (фаг 1);

**Заключение.** В результате проведенных исследований из исследуемых объектов было выделено 13 штаммов бактерий *S. marcescens* и 7 бактериофагов искомым микроорганизмов. Практически все ис-

следуемые пробы песка были контаминированы бактериями вида *S. marcescens*.

Выделенные культуры *S. marcescens* были грамположительны, подвижны, имели положительную реакцию Фогеса-Проскауэра, разжижали желатин; ферментировали D-глюкозу, мальтозу, D-маннит, сахарозу с образованием кислоты и газа; и были инертны в отношении дульцита и маннита, не образовывали индола, утилизировали цитрат Симмонса. Выделенные штаммы обладали патогенными свойствами, а следовательно, имеют клиническое значение.

### Библиографический список

1. Евтеева, Н. И. Циркуляция энтеробактерий в системе: пчелы – растения. Сборник научных трудов «Естествознание и гуманизм» (2007 год, Том 4, выпуск 3), под редакцией проф., д.б.н. Ильинских Н.Н.
2. Белокрысенко, С.С. Микробная экология и ретроспективная оценка возможности прогноза вспышки гнойных менингитов, вызванной штаммом *Serratia marcescens*, в стационаре для выхаживания недоношенных детей / С.С. Белокрысенко, Н.В. Шестопалов, В.П. Гераськина.
3. Абрикосова, Н.Ю. Сравнительное изучение биологических свойств *Serratia marcescens* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных при менингите и сепсисе новорожденных / Н.Ю. Абрикосова // Новосибирск. М.1990. Т.2.С.104-106.
4. Васильев Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 4 (24). С. 36-43.
5. Аталикова, Ж.Б. Бактериоцины в типировании серраций: автореф. дис. . канд. мед. наук / Ж.Б. Аталикова. Кабардина- Балкарская республика г. Нальчик, 2000.
6. Лукьянцев В., Чикин Ю.А., Лалетин И.В. Томский государственный университет, г.Томск, Россия, 2010
7. Barbers L.J. Molecular weight determination and partial characterization of *Klebsiella pneumoniae* haemolysins / L.J. Barbers, A.J. Eraso, M.C. Pajaro and J. Albasa // Can. J. Microbiol.- 1986.-v.32.-p.884-885.
8. Молофеева, Н.И.К вопросу о роли бактерий рода *Serratia* в патогенезе желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных/ Н.И.Молофеева, Д.А. Васильев, 1998.

9. Феоктистова, Н.А. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*/ Н.А.Феоктистова, Е.О.Бахаровская, Д.А.Васильев[др.]// Вестник Ульяновской ГСХА.- 2011. - №3(15).- с.61-68.
10. Karch // Int. J. Med. Microbiol.- 2000, 290.- P. 153-165
11. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных./ С.Н.Золотухин, , Ульяновск.-2004.-146с.
12. Садртдинова Г.Р.Повышение селективных и дифференциально-диагностических свойств плотной агаровой среды, предназначенной для выделения бактерий рода *Klebsiella*// Материалы IV Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и наука XXI века». – Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2014,т.1 – С. 122-127.
13. Кузнецова, О.В. Изучение биологических свойств бактерий вида *Serratia marcescens*/ О.В.Кузнецова, Л.П.Пульчеровская, Д.А.Васильев, Е.О.Бахаровская Материалы международной научно-практической конференции. «Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения» Том 1, Ульяновск 2011. - с.154-155 .
14. Ефрейторова, Е.О. Изучение биологических свойств бактерий *serratia marcescen* выделенных из пищевых продуктов и объектов окружающей среды / Е.О., Ефрейторова, Л.П.Пульчеровская, Д.А. Васильев Научный вестник Выпуск №13. г. Дмитровград. Технологический институт филиал ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина» 2014г.С. 175-180.
15. Пульчеровская, Л.П. Бактерии рода *Citrobacter* и их бактериофаги // Л.П.Пульчеровская, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев. - Вопросы микробиологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. Сборник научных трудов, Ульяновск, - 2000. - С. 53-58.
16. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновск, 2013. С. 178-185.
17. Садеева, Н.Т. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* / Н.Т. Садеева, Е.В. Меркулова, Н.А. Феоктистова [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск, 2012. С. 14-17.

18. Садртдинова Г.Р. Выделение бактериофага *Klebsiella oxytoca* методом индукции /Д.А.Васильев// АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ, БИОТЕХНОЛОГИИ, ЭКОЛОГИИ И БИОБЕЗОПАСНОСТИ. Международная научно-практическая конференция посвященная 80-летию заслуженного ученого, профессора В.Л. Зайцева. Киик-LTD.2015.С.258-260.

## **PREVALENCE OF BACTERIA OF THE GENUS S. MARCESCENS IN THE ENVIRONMENT AND FOOD**

*Efreitorova E.O., Pulcherovskaya L.P., Vasiliev D.A., Zolotukhin S.N.*

**Keywords.** Sand sandboxes river beaches and children's sandboxes, water open water and food, the bacteria type *S. marcescens*, bacteriophages, culture media, biological properties.

The article presents the results of studies on the identification of bacteria of the genus *S. marcescens* and bacteriophages in the sand river beaches and children's sandboxes, water, open water and food products.