

УДК 579.62

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *PROTEUS*, *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA* ИЗ ПАТМАТЕРИАЛА

В.С. Маланина, аспирант, vlada240535@mail.ru
Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,
feokna@yandex.ru
Н.И. Молофеева, кандидат биологических наук, доцент,
nadezhda.molofeeva.67@mail.ru
А.И. Калдыркаев, кандидат биологических наук, доцент,
usxa@ya.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, фагоидентификация, метод, физиолого-биохимические свойства.

В статье описаны результаты выделения из патматериала поросят с ООО «Свинокомплекс «Волжский» бактерий рода *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* и сравнения двух методов дифференциации - фагоидентификации (22 ± 2 часа) и метод изучения физиолого-биохимических свойств. Выделено 3 культуры, которые идентифицировали двумя методами.

Введение. В настоящее время существует 2 метода идентификации бактерий: физиолого-биохимическая идентификация бактерий и фагоиндикация. Фагоиндикация является наиболее быстрым и менее трудоемким методом. В данной статье мы сравним 2 метода и выделим наиболее подходящий.

Цель работы. Идентификация бактерий, выделенных из патматериалов поросят, полученных с ООО «Свинокомплекс «Волжский» с применением специфических бактериофагов.

Материалы и методы исследований. Для выделения и идентификации бактерий использовали схему дифференциации бактерий [6,7]. Исследуемые пробы вносились в физиологический раствор и прогревались на водяной бане при $70 \pm 50^\circ\text{C}$ в течение 30 минут, затем высевались на элективные среды для выделения бактерий *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*. Через 24 часа культуры, выросшие на элективной среде для выделения бактерий *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*. Отсеивали в пробирки с мясо-пептонным бульоном и термостатировали посевы в течение 24 часов при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$. При наличии однотипных ко-

лоний анализировали не менее трех колоний. Если колонии были разнообразными, то анализу подлежали по три колонии каждого типа. Далее делались посевы на агаризованные среды – время инкубирования 21 ± 3 часа при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$. При наличии роста на агаризованных средах готовили мазки выросших культур, окрашивали их по Граму. Производили высев каждой культуры на определенные питательные среды и изучали их физиолого-биохимические свойства [1].

Алгоритм фаготипирования: чашку Петри поделили на сектора, пронумеровали. На поверхность МПА засеянного газоном исследуемой культуры пипеткой в намеченный сектор нанесли каплю фага, дали ей впитаться в поверхность газона. В каждой чашке оставили сектор, на который аналогичным образом наносили мясопептонный бульон для контроля. Результат учитывали по лизису исследуемой культуры через 18 ± 2 часов культивирования при 36°C [2,4].

Результаты исследований. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что из патматериалов поросят было выделено 3 культуры, которые характеризовались следующими свойствами: бактерии рода *Proteus* прямые грамтрицательные палочки с закругленными концами ($0,4-0,8 \times 1-3$ мкм). На среде Плоскирева образовывали изолированные, полупрозрачные колонии желтоватого оттенка, с ровными краями, кремообразной консистенции. Диаметр колоний 2-3 мм. На средах Левина, Эндо, Вильсон-Блера, кровяном агаре, слабощелочном МПА растет в виде нежного полупрозрачного налета. На жидких средах дает однородное помутнение среды. Оптимум роста 37°C , оптимум pH 7,2-7,4. Бактерии рода *Escherichia coli* прямые грамтрицательные палочки с закругленными концами ($0,6-1 \times 2,0-6,0$ мкм) хорошо растут на обычных питательных средах при слабощелочной реакции среды и оптимальной температуре 37°C . Рост и размножение бактерий возможны при довольно значительных колебаниях pH среды и температурного режима. Кишечная палочка обладает наиболее высокой ферментативной активностью. Бактерии рода *Salmonella* грамтрицательные, факультативные анаэробы. На плотных питательных средах образуют круглые колонии серовато-белого цвета, при росте на бульоне - помутнение и осадок. Оптимальными для роста являются температура 37°C , pH среды 7,2-7,4. Они неприхотливы и растут на простых питательных средах. Ультрафиолетовое излучение и тепло ускоряет их смерть, они погибают при нагревании до 55°C за полтора часа или до 60°C в течение 12 минут. При проведении фагоидентификации было подтверждено, что штаммы бактерий идентифицированные как *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*[3,5].

Заключение. Фагоиндикация бактерии представляет собой ускоренный метод обнаружения возбудителей болезней сельскохозяйственных животных с помощью специфических фагов. Методика исследования занимает 22 ± 2 часа. Физиолого-биохимическая идентификация бактерий родов *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* – это материалоемкое и трудоемкое исследование в течение 192 часа (8 суток).

Библиографический список

1. Адамс М. Бактериофаги (перевод с англ.) // М., 1961.-521 С.
2. Ганюшкин В.Я. Реакция нарастания титра фага при диагностике паратифа поросят // Ветеринария. № 3, 1967, с. 69-71.
3. Ляшенко Е.А. Разработка и применение фагового биопрепарата для диагностики клебсиеллезной инфекции/ Е.А.Ляшенко, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. Том 59, Ставрополь. 2011. С. 90-92.
4. Васильев Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus*/ Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. № 2. С.70-75.
5. Молофеева Н.И. Изучение биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* o157 при хранении/ Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев, С.В. Мерчина // Материалы VIII международной научно-практической конференции. Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина. 2017. С.222-225.
6. Молофеева Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* o157/ Н.И. Молофеева // Бактериофаги зооантропонозных и фитопатогенных бактерий. – Ульяновск, 2017. – с. 118-124 (176 с).
7. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. – с. 171-185 (315с).

THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF THE GENUS PROTEUS, ESCHERICHIA COLI, SALMONELLA FROM PATHOLOGICAL MATERIAL

Malanina V.S., Feoktistova N.A., Molofeeva N.I., Kaldyrkaev A. I.

Key words: *Proteus, Escherichia coli, Salmonella, vasodentinal, method, physiological and biochemical properties.*

The article describes the results of the allocation from pathological material of pigs bacteria of the genus Proteus, Escherichia coli, Salmonella and comparison of two methods of differentiation - vasodentinal (22 ± 2 hours) and method for the study of physiological and biochemical properties. There were 3 crops that were identified by two methods.