

УДК 579.63

ВЫДЕЛЕНИЕ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

**Вальба М.А., Говачаев С.Г., студенты 2 курса ФВМиБ,
margarita_burova73@mail.ru
Научный руководитель – Пульчеровская Л.П., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновская ГАУ**

Ключевые слова: *Escherichia coli*, питательные среды, бактериофаги, почва, объекты окружающей среды.

В работе описаны исследования по выделению *Escherichia coli* из почвы.

Кишечная палочка является довольно распространенным микроорганизмом, вызывающим многочисленные проблемы пищеварительного тракта, мочевыделительной и половой систем у человека, обладающая способностью присутствовать на кожных покровах и слизистых оболочках различных систем организма как вариант нормы.

E. coli впервые были выделены в 1885 году немецким педиатром Т. Эшерихом в клинике детских болезней в Граце (Австрия) из кала больного ребенка с признаками диареи и впоследствии были названы им *Bacterium coli commune* (EscherichT., 1885, 1886). В пятом издании «Определителя микробов» Д. Берджи (1939) род *Escherichia* был включен в состав семейства *Enterobacteriaceae*.

Большинство штаммов *E. coli* являются безвредными, однако серотип O157: H7 может вызывать тяжёлые пищевые отравления у людей. Безвредные штаммы являются частью нормальной флоры кишечника человека и животных. Кишечная палочка приносит пользу организму хозяина, например, синтезируя витамин К, а также предотвращая развитие патогенных микроорганизмов в кишечнике. [1-3]

Очагом возбудителя инфекции могут быть больные, когда-то переболевшие животные, также матки — является носителями вирулентных штаммов эшерихий. Животные, являющиеся источниками инфекции, выделяют эти микроорганизмы с каловыми массами, реже с мочой, заражая окружающую их среду.

Передача эшерихий может происходить через: спецодежду, руки обслуживающего персонала, объекты окружающей среды, имеющие контакт с фекалиями и мочой вирулентных животных.

Цель работы: идентификация бактерий вида *Escherichia coli* из почвы.

Перед нами были поставлены следующие задачи: выделить из почвы *Escherichia coli* и изучить тикториальные, культуральные и биохимические свойства.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужил 3 образца почвы, взятые с территории: проба 1- загона для лошадей, проба 2- газона около жилого дома и проба 3- около кафедры микробиологии. Пробы отбирали в стерильную посуду согласно ГОСТ 17.4.02-84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа».

Исследования проводили согласно СанПин 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы»

Пробы отбирали по типу конверта с исследуемого участка. Затем готовили среднюю пробу для приготовления суспензии 1:10 на стерильной водопроводной воде. Из отобранных проб почвы выполнили посев на индикаторную среду Кесслера, с целью обнаружения бактерий группы кишечной палочки. Посевы культивировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 часа.

После культивирования проб - БГКП были обнаружены в пробе почвы с загона для лошадей и почвы взятой около кафедры микробиологии. Далее пробы пересеяли на селективные и общепотребительские среды. Бактерии хорошо росли на простых питательных средах: мясопептонном бульоне (МПБ), мясопептонном агаре (МПА). На МПБ давали обильный рост при значительном помутнении среды; осадок небольшой, сероватого цвета, легкоразбивающийся. Образовывали пристеночное кольцо, пленка на поверхности бульона отсутствовала. По истечению суток наблюдали рост колоний микроорганизмов в S-форме на плотных средах. На МПА колонии прозрачные с серовато-голубым отливом, легко сливающиеся между собой.

На среде Эндо образуют плоские красные колонии средней величины. Красные колонии были с темным металлическим блеском (Рис.1); на висмут-сульфит агаре (по истечению 48 ч. инкубации) черные, колонии без окрашивания участка среды под колонией, при этом, рост колоний, сопровождающийся резким неприятным запахом.

Затем с каждой чашки со смешанными культурами выбирали колонии по культуральным свойствам сходных со свойствами кишечной палочки и пересеивали их в МПБ. Таким образом, для дальнейших исследований было отобрано 7 культур микроорганизмов. Посевы культивировали в условиях термостата при температуре 37°C в течение 24

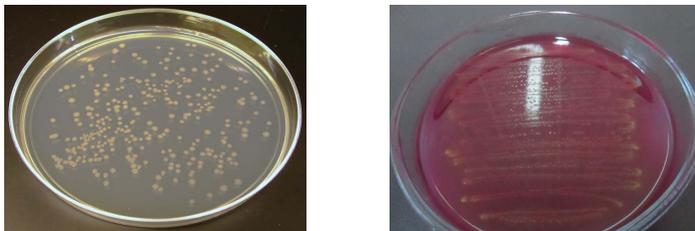


Рисунок 1 – Рост *Escherichia coli* на питательных средах



Рисунок 2 - Морфология выделенных микроорганизмов

часов в термостате.

У выделенных микроорганизмов изучали морфологию, тинкториальные и биохимические свойства с целью их идентификации.

Морфологию и тинкториальные свойства выделенных микроорганизмов изучали при окраске по методу Грама. В результате исследования обнаружили грамотрицательные палочки, располагающиеся одиночно и попарно. (См.рис.2)

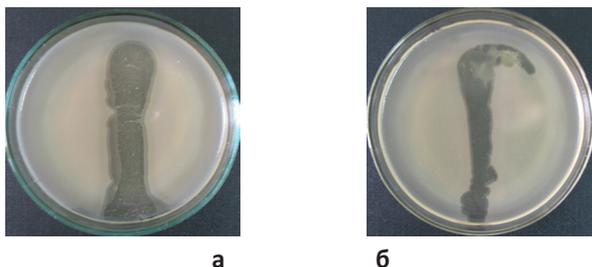
Биохимические свойства изучали при посеве выделенных микроорганизмов в дифференциально-диагностические среды (См. рис.3). Из 7 отобранных штаммов к виду *Escherichia coli* было отнесено только 2 штамма исследуемых бактерий. Искомые микроорганизмы ферментировали углеводы: глюкозу, лактозу, маннит, арабинозу, галактозу с образованием кислоты и газа, образовывали индол, но не образовывали сероводород, не разжижали желатин.

Остальные 5 штаммов принадлежали к другим родам семейства *Enerobacteriaceae*.

После определения биохимических свойств проводили также фаготипирование двух штаммов выделенных микроорганизмов с использованием специфических бактериофагов методом «стекающая капля», которое подтвердило наши результаты.



Рисунок 3 - Рост исследуемых культур на средах Гиса (Пестрый ряд)



а б
Рисуно 4 - Метод стекающая капля

Заключение. В результате проведенных исследований было обнаружено и выделено из почвы два вирулентных штамма микроорганизмов вида *Escherichia coli*. Для подтверждения полученных результатов была проведена фагоидентификация выделенных микроорганизмов. Проба почвы, отобранная с манежа лошадей, содержала патогенные штаммы кишечной палочки, что свидетельствует о санитарном неблагополучии данного объекта и требует проведение профилактических мероприятий. [1-10]

Библиографический список

1. Пульчеровская, Л.П. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике/ Пульчеровская Л.П. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук/ Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина. Ульяновск, 2004
2. Ефрейторова Е.О. Индикация и идентификация бактерий вида *serratia marcescens*, в водопроводной хозяйственно-питьевого водоснабжения Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VI Международной научно-прак-

- тической конференции. 2015. С. 68-70.
3. Пульчеровская, Л.П. Мониторинг объектов окружающей среды на наличие бактерий рода *Citrobacter* и их фагов/ Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Ефрейторова Е.О. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VII Международной научно-практической конференции. 2016. С. 253-260.
 4. Ефрейторова Е.О. Распространенность бактерий вида *S. marcescens* в объектах окружающей среды и пищевых продуктах/ Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VII Международной научно-практической конференции. 2016. С. 204-211
 5. Ефрейторова, Е.О. Контаминация пищевых продуктов инфекционным объектом *Serratia marcescens*.// Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Актуальные вопросы контроля инфекционных болезней животных / Всерос. науч.-исслед. ин-т. ветеринар. вирусологии и микробиологии, Покров, 2014.-Ч. 2.- С. 270-275.
 6. Орешникова А.Р. Острые кишечные инфекции/ Орешникова А.Р., Шмакова Е.В., Пульчеровская Л.П. В сборнике: СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ - 2017 IX Международная студенческая электронная научная конференция. 2017.
 7. Шапирова, Д.Р. Микробиологическое исследование орхидей с признаками бактериальной гнили/ Шапирова Д.Р., Зиятдинова А.Р., Ценева Е.Д., Ефрейторова Е.О., Садртдинова Г.Р., Пульчеровская Л.П., Карамышева Н.Н., Сверкалова Д.Г. В сборнике: Студенческий научный форум - 2016 VIII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. 2016.
 8. Пульчеровская, Л.П. Изучение литической активности выделенных бактериофагов бактерий рода *Citrobacter*/ Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. 2012. Т. 1. С. 315-319.
 9. Пульчеровская, Л.П. Бактериофаги *Citrobacter* в окружающей среде/ Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Ефрейторова Е.О. Агробизнес и экология. 2015. Т. 2. № 2. С. 183-185.
 10. Выделение фагов бактерий рода *Citrobacter* из объектов внешней среды и патологического материала/ Золотухин С.Н., Пульчеровская Л.П., Кирьянова Н.А., Васильев Д.А. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2002. № 8. С. 29-32.

SELECTION OF ESCHERICHIA COLI FROM ENVIRONMENTAL OBJECTS

Valba M. A., Kovachev S. G.

Key words: *Escherichia coli*, nutrients, bacteriophages, soil, environmental objects.

The paper describes the research on the allocation of Escherichia coli from the soil.