

УДК 579.6

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА PROVIDENCIA STUARTII

**Барт Н.Г., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-47, bart1967@mail.ru**
**Большакова И.А., магистрант, тел. 8(8422) 55-95-47, irina-
8080@list.ru**
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: бактерии, энтеробактерии, провиденсии, индикация, микроорганизмы, медицина.

Работа посвящена исследованиям проб, полученных из различных источников медицинских учреждений и выделению бактерий семейства *Enterobactriae*, вида *Providencia stuartii*.

Введение. Представители семейства *Enterobacteriaceae* широко распространены в природе очень часто встречаются: по литературным данным данные бактерии были обнаружены в почве, воде, на растениях, в кишечнике человека и животных. Данные бактерии зачастую можно встретить при исследовании разного клинического материала. Энтеробактерии часто встречаются в медицинской практике [1] и в частности в бактериологии могут являться объектами большого внимания исследователей в микробиологии в практическом измерении.

Различные бактерии семейства энтеробактерий вызывают не только кишечные инфекции (мочевые (особенно циститы), респираторные, раневые, кровяные, инфекции ЦНС). Они чаще вызываются представителями нескольких видов: *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Providencia stuartii* и *Serratia marcescens* [2]. Все перечисленные инфекции нередко имеют угрозу жизни больных, поэтому необходимо быстро выделять, идентифицировать соответствующие возбудители и определять чувствительность их к антимикробным различным действиям.

И именно поэтому имеет огромное значение и предметом изучения при диагностике инфекционных болезней, идентификация культур [3], которые изолируются у микроорганизмов.

В таксономическом положении патогенных и условно-патогенных бактерий одно из важных значений имеет разработка ускоренных и наиболее доступных способов изучения свойств, которые их характеризуют. Важно быстро и безошибочно ставить и определять диагнозы по этиологии – это и

может являться и снижением себестоимости различных исследований, и во время должно быть назначено терапевтическое лечение, которое направлено на уничтожение внутрибольничных инфекций, а также минимизировать длительность пребывания больных пациентов в больничных стационарах.

Материалы и методы исследования. Материалом для бактериологических исследований могут являться гной, различные экссудаты и пунктуаты, биоптаты, ткани, образцы ран, моча, смывы из уборных медицинских учреждений.

В рамках исследований нами были использованы штаммы бактерий, которые были получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ [4], а также нами выделенные из объектов медицинских учреждений.

- 2 референс штамма *Providencia stuartii* 104а и 175, полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского государственного аграрного университета;

- 6 полевых штаммов *Providencia stuartii*: А 101, Н 20, М 45, С 17, Н 5, Н 11, которые были выделены нами из объектов медицинских учреждений.

Исследуемые образцы были: моча, смывы из уборных, содержимое гнойных ран.

При взятии жидких материалов проводили при помощи шприца. Отбор материала тампоном производили только при невозможности осуществления объемного метода; при этом параллельно готовили мазок-отпечаток для бактериоскопического исследования [5]. При аспирации закрытых полостей кожу в месте прокола дезинфицировали антисептиком в течение 1-2 мин. Свищи и фистулы первоначально очищались от отделяемого и забирали материал из глубины. Жидкий материал из открытых ран при хирургическом вмешательстве отбирается также при помощи объемного шприца. Все что отделялось из дренажей также берется шприцем или используются концы дренажных трубок, которые удалены.

Биоптаты ран мы получали при помощи рассечения участков тканей (весом 0,2-1 г) из глубочайших слоев ран после обильной ее обработки физиологическим раствором и 70° этиловым спиртом, при уничтожении поверхностной вегетирующей микрофлоры, а также антисептических и антибактериальных препаратов [6].

Среди бактерий, которые принадлежат к роду *Providencia*, *P. Stuartii*, являются одними из быстрых причин, которые распространяют катетерные инфекционные изменения мочевыводящих путей, и особенно у немолодых людей, которые долгое время пользуются мочеиспускательными

катетерами. Сами виды провиденсий редко могут вызывать сильные инфекции мочевыводящих путей, а также различные бактериемии, при присутствии данных бактерий, летальность от бактериемий из-за видов провиденсий иногда бывает очень высокая, а особенно у людей более немолодого возраста с различными сопутствующими заболеваниями, которые часто бывают у людей и самой разной этиологии. Бактерии вида *Providencia stuartii* часто можно выделить из самых разных источников, они являются оппортунистическими патогенами у больных пациентов, находящихся на медицинском лечении в больницах, и у немолодого населения, которые находятся в медицинских учреждениях и ухаживают за больными людьми. Большое количество различных инфекций из-за бактерий вида провиденсия могут быть связаны с долгим применением приемного катетера для мочи, и главное, что выделенные урологические патогены являются устойчивыми к большому количеству антибиотиков, и у больных людей часто мы видим многомикробные инфекции [7]. Чтобы предотвратить борьбу с этими инфекциями, которые вызваны названными микроорганизмами, нужно глубочайшее знание всех видов провиденсий. Виды провиденсий часто являются урологическими патогенами у больных пациентов с долгим временным применением мочеиспускательных катетеров, они возможно были привезены или же проживали в специальных учреждениях по уходу за больными пациентами. *Providencia stuartii* это уреазоположительный вид, а уреазная активность один из множественных факторов, которые способствуют развитию мочекаменных заболеваний у людей. В данном случае именно *Providencia stuartii* дает возможность для увеличения заболеваний мочекаменной болезнью и бактериемией при синергетической индукции уреазной активности при коинфекции [8]. Также бактериальная уреазы для видов *Proteus*, *Providencia* и *Morganella*, трех очень близких по родству, катализируется гидролизом мочевины, это может приводить к выделению углекислого газа и аммиака. Вследствие чего, виды провиденсий являются грамотрицательными бактериями, которые продуцируют бактериальную уреазу, важнейший факт вирулентности, он связан с образованием камней в мочевыводящих путях, обструкцией долге время применяемых мочевыводящих катетеров или появления острого пиелонефрита. *Providencia stuartii* часто находится в мочевых катетерах, а колонизация *P. stuartii* внутри мочевых катетеров приводит к инфекциям различной этиологии мочевыводящих каналов, и к нарушениям в применении мочевых катетеров. *Providencia stuartii* также является этиологическим фактором при наблюдении синдрома пурпурного мешка с мочой, который характеризуется фиолетовым цветом внутреннего мочевого катетера. Виды провиденсии деаминируют ароматические аминокислоты, в том числе

и триптофан и фенилаланин, а также влияют на образование индола и индоксилсульфата, они потом и могут являться метаболитами триптофана. Микроорганизмы с индоксилсульфатазной активностью или индоксилфосфатазной активностью, такие как *Providencia stuartii*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, продуцируют индоксилсульфатазу или индоксилфосфатазу, и эти ферменты приводят к конверсии [9].

Выделение бактерий вида *Providencia stuartii* проводили в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями».

Первый день. Исследуемый материал заседали в пробирки с МПБ, на скошенный МПА и на плотные дифференциально-диагностические среды среду Эндо или Левина, среду Плоскирева и (висмут-сульфитный агар), ss-агар, агар Мак Конки.

Чашки и пробирки с посевами на жидких и плотных питательных средах инкубировались при температуре 37-38⁰С в течение 24-48 часов и нами проводились осмотры на наличие и характер роста наблюдаемых культур.

Второй день. После инкубации в течение 18-24 часов при 37⁰С чашки с посевами просматривались и отмечались колонии, которые подлежали дальнейшему использованию. Если рост 18-24 часовой культуры однороден, то для дальнейших исследований использовали не менее 3-х колоний. При росте разных колоний мы брали больше колоний, которые различались по внешнему виду.

На МПБ бактерии вида *Providencia stuartii* образовывали колонии серовато-белого цвета.

При наличии в составе питательных средах солей желчных кислот (среда Плоскирева, висмут-сульфитный агар и др.) провиденсии образовывали выпуклые, серые, бесцветные колонии (О-формы).

На среде Плоскирева провиденсии формировали изолированные, крупноватые, правильной формы, иногда немного выпуклые, полупрозрачные колонии беловато-розового цвета. В зонах роста среда подщелачивается и немного имеет желтоватый цвет. При более долгом хранении чашек с посевами колонии могут мутнеть, а центр их приобретает буроватую окраску.

На висмут-сульфитном агаре через 48 часов культивирования образуются черные или зеленые колонии, а под ними иногда может формироваться черно-коричневая редукционная зона.

На агаре Мак Конки и Эндо провиденсия формирует практически бесцветные колонии. Наличие характерного в виде тонкого муарообразного налета, который поднимается вверх от конденсата на свежескошенном

агаре, резкого неприятного запаха, неспорообразующих граммотрицательных палочек в мазках указывает на присутствие бактерий вида *Providencia stuartii*.

Третий день. При постановке реакции Фогес-Проскауэра к 2,5 мл культуры бактерий, которые были выращены на среде Кларка, добавляли в начале 1 мл 6%-ного спиртового раствор альфа-нафтола, а затем 0,4 мл 40%-ного водного раствора КОН, пробирка тщательно встряхивалась, а через 5 минут учитывался результат. При наличии в культуре ацетилметилкарбинола она окрашивалась в розовый цвет. Положительная реакция, если окраска культуры приобретает желтый цвет, то это говорит об отрицательной реакции, при сомнительной реакции культура должна окраситься в светло-оранжевый цвет.

Культуры в бульоне, которые нами были получены при пересеве колоний с ДДС, мы окрашивали по Граму и микроскопировали. При обнаружении в мазках однородных мелких граммотрицательных палочек с закругленными концами, располагающиеся по одному, парами или маленькими цепочками, мы идентифицировали культуры по свойствам ферментации.

Родовую и видовую принадлежность культуры мы устанавливали на основе определения культурально-морфологических и биохимических свойств.

В результате наших исследований бактерии вида *Providencia stuartii* были обнаружены в 6 из 18 проб, которые были взяты в медицинских учреждениях Ульяновской области.

Заключение. В результате проведенных исследований по данной теме были выделены условно-патогенные микроорганизмы семейства *Enterobacteria* вида *Providencia stuartii* в количестве 6 штаммов из 18 взятых и происследованных образцов из медицинских учреждений различных объектов. Данные бактерии могут являться как самостоятельными, так и вместе с другими возбудителями разных инфекций.

Данные исследования из объектов в медицинских учреждениях Ульяновской области не проводились, или внимание им не уделялось. По литературным данным отечественных и в основном зарубежных авторов *Providencia stuartii* является главным в этиологии возникновения внутрибольничных инфекций. Она чаще встречается в основном у пациентов, проходивших лечение в стационарных отделениях больниц. Это зачастую приводит к инфекциям мочевыводящих путей, а также может вызывать и респираторные, и кожные инфекции.

Патогенное действие на организм человека условно-патогенные энтеробактерии оказывают при проникновении во внутреннюю среду в значительных количествах, и при быстром снижении общего и местного

иммунитета. Бактерии названного семейства являются разнообразными по особенностям экологии и патогенности для людей.

Библиографический список

1. Галушко, И.С. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* из объектов внешней среды и патологического материала/ И.С. Галушко., Т.А. Еремина, Н.Г. Барт // Студенческий научный форум -2014. VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. - 2014.

2. 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. - 2014. - № 5-1. - С. 50-54.

3. Барт, Н.Г. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* и изучение их биологических свойств/ Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. - 2011. - № 4 (59). - С. 47-48.

4. Барт, Н.Г. Определение устойчивости бактериофагов и бактерий рода *Providencia* к воздействию хлороформа/ Н.Г. Барт Н.Г., С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Молодежь и наука XXI века. материалы II Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. - 2007. - С. 36-38.

5. Акимов, Д.Ю. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* из объектов внешней среды и патологического материала / Д.Ю. Акимов, В.Р. Сайфулина, Н.Г. Барт и др. // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия, кафедра МВЭВСЭ. - 2012.- С. 12-14.

6. 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.

7. 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. - 2008. - С. 91-93.

8. Барт, Н.Г. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий рода *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Актуальные вопросы аграрной науки и

образования. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. - 2008. - С. 22-24.

9. Васильев, Д.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Providencia* / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Алёшкин, и др. // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. Ульяновск. - 2013. - С. 45-61.

ISOLATION OF BACTERIA OF THE GENUS PROVIDENCIA STUARTII

Bart N.G., Bolshakova I.A.

Keywords: *bacteria, enterobacteria, providencia, indication, microorganisms, medicine.*

The work is devoted to the research of samples obtained from various sources of medical institutions and the isolation of bacteria of the Enterobactriae family, the species Providencia stuartii.