

УДК 579.6

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ ВИДА *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: микроорганизмы, патогенность, провиденсии, идентификация, вирулентность, бактериология.

Работа посвящена изучению биологических свойств бактерий вида *Providencia stuartii*, полученных из различных источников медицинских учреждений. Проведению идентификации названных бактерий.

Введение. Патогенное действие на организм людей условно-патогенных энтеробактерий иногда оказывает при попадании в среду внутреннюю в обычно больших дозах, а также при быстром снижении общего и местного иммунитета. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* являются разным по признакам экологии и патогенности для людей [1].

Является важным то что, когда условно-патогенные энтеробактерии внедряются в симбиотическую связь и формируют смесь микробных смешанных инфекций. Встречаются данные в литературных источниках о характеристике при сравнении монокультур и различных смесей по морфологии, а также и по заразности [2].

Одним из основных методов в лабораторной диагностике различных инфекций, которые вызываются энтеробактериями, является один из многих это бактериологический. *Providencia stuartii* является оппортунистическим патогеном [3], его выделяют из мочи больных людей, которые долго применяли мочевые катетеры. *P. stuartii* хорошо образует колонии мочевыводящих путей если применяли катетеры, и где он находился в течение нескольких месяцев.

P. stuartii может являться причиной источников заражения в медицинских учреждениях если пациент долго находится там. До 51% бактерий *P. stuartii* являются многомикробными, что и позволяет предположить, что многомикробные взаимодействия *P. stuartii* развивают инфекции [4]. Огромное клиническое значимое образование данного организма, не было еще

исследованно по генам *P. stuartii*, при росте *in vitro*, нет данных о факторах вирулентности *P. stuartii*. *P. stuartii* является главным видом, который присутствует при инфекциях мочевыводящих путей у больных пациентов, которые находятся в медицинских учреждениях.

Материалы и методы исследования. Образцами проб для выделения бактерий вида *Providencia stuartii* являются моча, фекалии, рвотные массы, пищевые продукты, кровь, отделяемое ран, генитального тракта и др. Материал для исследований (кроме стерильных в норме жидкостей организма) сеется одним из методов, который является количественным, после гомогенизации образцов и проб готовятся разведения деситикратно в буферных фосфатных растворах. При бактериологическом исследовании существует стандартная схема

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.

Бактерии вида *Providencia stuartii* как и другие представители семейства *Enterobacteriaceae* не образуют оксидазу, продуцируют каталазу. Глюкоза и другие сахара проводят ферментирование и образуют лишь кислоту (без газа), но есть штаммы которые не делают этого; лактоза не сбраживается, образуется индол, за исключением вида *P. heimbachae*; реакция с метилротом всегда положительная, а Фогес-Проскауэра отрицательная; есть виды, которые могут расти на среде Симмонса; мочевины не гидролизуются (за исключением *P. rettgeri*), образуется сероводород [5].

Ключевыми признаками являются: для рода *Escherichia* - подвижность (+/-), цитратный признак (-), метиловый красный (+); для рода *Klebsiella* - подвижность (-), цитратный признак (+), орнитиндекарбоксилаза (-), метиловый красный (-); для рода *Enterobacter* - подвижность (+), цитратный признак (+), орнитиндекарбоксилаза (+), метиловый красный (-); для рода *Citrobacter* - подвижность (+), цитратный признак (+), метиловый красный (+); для родов *Providencia* - подвижность (+), фенилаланиндезаминаза (+); для

рода *Serratia* - подвижность (+), цитратный признак (+), ферментация рамнозы [24].

Вторым этапом идентификации условно патогенных энтеробактерий (проводится по эпидемическим показаниям) - определение их видовой принадлежности по 11 тестам [6].

Главными признаками в данных случаях являются:

для *Citrobacter freundii* - индол (-);

для *Citrobacter diversus* - орнитиндекарбоксилаза (+), H₂S (-), индол (+);

для *Klebsiella pneumonia* - ацетоин (-);

для *Enterobacter aerogenes* - орнитиндекарбоксилаза (+), лизиндекарбоксилаза (+), аргининдегидролаза (-), ферментация инозита (+);

для *Enterobacter cloacae* - орнитиндекарбоксилаза (+), аргининдегидролаза (+);

для *Enterobacter agglomerans* - орнитиндекарбоксилаза (-), аргининдегидролаза (-);

для *Serratia liquefaciens* - орнитиндекарбоксилаза (+), ферментация сорбита (+), арабинозы (+);

для *Serratia marcescens* - орнитиндекарбоксилаза (+), ферментация сорбита (-), арабинозы (-), желатиназная активность (+);

для *Serratia rubidaea* - орнитиндекарбоксилаза (-);

для *Proteus mirabilis* - уреаза (+), H₂S (+), индол (-), мальтоза (+);

для *Proteus vulgaris* - уреаза (+); H₂S (+), индол (+), мальтоза (+);

для *Morganella morganii* - уреаза (+), H₂S (-), индол (+);

для *Providencia alcalifaciens* - уреаза (-), адонит (+), инозит (-);

для *Providencia stuartii* - уреаза (-), адонит (-), инозит (+). Определение данных признаков мы осуществляли при помощи дифференциально-диагностических питательных сред [7].

Отрицательные по Граму бактерии, оксидирующие и ферментирующие глюкозу, происходит изменение зеленого цвета среды OF в желтый. В данном случае результаты нужно учитывать как +/- и эти бактерии мы определяем к семейству *Enterobacteriaceae* и далее идентифицируем [8].

Отрицательные по Граму микроорганизмы, которые оксидируют, но не ферментируют глюкозу (+/-) или не оксидируют и не ферментируют ее (-/-), мы относим к группам бактерий, которые могут не ферментировать и далее идентифицируем.

Важным признаком при дифференциации, который отличает бактерии вида *Providencia stuartii* от протеев и морганелл, мы наблюдали покраснение скоса лизино-железного агара, это и может являться причиной дезаминирования лизина и образования кетокислоты, они определяют оранжевую красную окраску, а в этом случае обязательно присутствие хлорида железа.

Дифференциальными признаками бактерий вида *Providencia stuartii* являются:

- способность у 25-40% выявленных бактерий образовывать полиморфные структуры в виде отдельных изолированных колоний, но не классических круглых, а иногда и неправильной формы, свойственных для данного вида бактерий;
- образование иногда бесцветных, иногда бело-серого цвета до темно-зеленых колоний при росте на висмут-сульфитном агаре и желтеньких колоний на селективной среде с колистином (100мкг/мл) и инозитом (1%);
- для выделения провиденций было предложено Сениором на РАМ-агаре. За принцип выделения принимается отсутствие у провиденсий, способность ферментации ксилоры, галактозы и маннита. Появление на среде после роста колоний провиденсий могут иметь окраску красного цвета, другие отрицательные по оксидазе бактерии образуют лимонные часто желтые колонии.

Биохимическое подтверждение бактерий вида *Providencia stuartii* проводили следующим образом: из 24-часовой культуры делали высев штрихами на поверхность скошенного в пробирке агара (среда для расщепления финилаланина), культивировали при (37+0,5) гр.С. в течение 48 ч., после этого на поверхность агара пипеткой наносили 3-5 капель раствора хлорного железа, в этом случае если появлялась интенсивная зеленая окраска среды, это и свидетельствовало о положительной реакции. При отрицательной реакции цвет питательной среды не изменялся. Бактерии вида *Providencia stuartii* дают положительную реакцию.

Для определения образования сероводорода мы делали посев методом укола в столбик и штрихами по поверхности агаризованной среды (агар тройной сахарный с цитратом железа). Посевы инкубировали при (37+0,5) гр.С. в течение 48 ч. При образовании сероводорода столбик имеет черный цвет. Бактерии вида *Providencia stuartii* образуют сероводород, при этом в столбике среды обязательно появляется газ, это и указывает на ферментацию глюкозы с образованием кислоты и газа.

Исследуемый материал высевали на дифференциально-диагностические среды (ДДС): Эндо, Плоскирева, Левина, Висмут-сульфит агар и

инкубировали при температуре 37 °С в течение 18 – 24 часов. На среде Эндо отбирали пышные лактозоположительные, колонии серо-белого, в диаметре 2-4 мм, или бледно-розовые, мелкие (1-1,5 мм в диаметре). На агаре Плоскирева бледно-желтые или бежевые колонии. На висмут-сульфит агаре – темно-зеленые колонии размером от 4 до 8 мм. Для дальнейшей идентификации по 4-6 колоний пересевали с чашек на МПБ. Культуры микроорганизмов инкубировались при 37 °С 6-18 часов пока не появится выраженное помутнение питательной среды.

Культуры в бульоне, которые были получены после пересева колоний с ДДС, окрашивали по Граму и микроскопировали. При обнаружении в мазках однородных мелких грамтрицательных палочек с закругленными концами, располагающихся одиночно, парами или короткими цепочками, идентифицировали культуру по ферментативным свойствам.

Родовую и видовую принадлежность культур устанавливали на основе определения культурально-морфологических и биохимических свойств [9].

При снижении трудоемкости бактериологического метода, идентификацию бактерий проводили по следующим тестам (в скобках указаны результаты тестов, характерные для бактерий вида *Providencia stuartii*): образование сероводорода (–), расщепление мочевины (+/–), определение подвижности (–), усвоение цитрата (на среде Симмонса) (+), реакция с метиленовым красным (–/+), Фогеса-Проскауэра (+/–). Указанные тесты позволяли нам дифференцировать провиденции от других родов семейства *Enterobacteriaceae*. При получении соответствующих результатов продолжали изучение ферментативных свойств на средах с углеводами: глюкозой (+), лактозой (+), мальтозой (–), малонатом (+/–), ставили тесты на образование индола (–/+), утилизации ацетата (+/–) и ферментации сорбита (+).

Заключение. В результате проведенных нами исследований были выделены условно-патогенные микроорганизмы вида *Providencia stuartii* в количестве 6 штаммов из 18 взятых из медицинских учреждений, а также изучены их биологические свойства. Данные бактерии могут являться возбудителями инфекции, а также и вместе с другими возбудителями различных инфекционных патологий.

Все болезни, которые вызываются определенными видами бактерий они имеют угрозу жизни больных пациентов, поэтому имеется необходимость в более быстром выделении указанных бактерий, быстрой идентификации всех инфекционных возбудителей и в определении их чувствительности к антимикробным воздействиям.

Именно поэтому одним из важных моментов в диагностике инфекционных болезней является идентификация выделенных культур микроорганизмов.

В таксономическом положении патогенных и условно-патогенных бактерий огромное значение имеет разработка быстрых и доступных способов изучения всех их свойств. Вовремя поставленный диагноз по этиологическим признакам – это является снижением стоимости лабораторных исследований, а также и вовремя назначенное целенаправленное лечение, уменьшение внутрибольничных инфекций, снижение длительности нахождения больного в стационаре медицинского учреждения.

Таким образом, проведенные исследования обусловлены тем, что выделение и точная идентификация энтеробактерий в исследуемом материале очень важны для постановки точного диагноза и назначения своевременного необходимого лечения больному, приносящего необходимый эффект.

По результатам, которые мы получили при изучении биологических свойств, культуры мы отнесли к искомому виду, *Providencia stuartii*. Все выделенные штаммы бактерий вида *Providencia stuartii* обладали типичными для данного рода морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами.

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 МВЭиВСЭ. - 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.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIA *PROVIDENCIA STUARTII* SPECIES

Bart N.G., Bolshakova I.A.

Keywords: *microorganisms, pathogenicity, providences, identification, virulence, bacteriology.*

*The work is devoted to the study of the biological properties of bacteria of the species *Providencia stuartii*, obtained from various sources of medical institutions. Identification of said bacteria.*