

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ,
ВЫЗЫВАЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ ВИДА *PROVIDENCIA*
*RUSTIGIANII***

Грезов Ю.Н. магистрант второго года обучения факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии
Несьматов У.А. магистрант второго года обучения факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии
Научный руководитель – Барт Н.Г., кандидат биологических наук
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: микроорганизмы, патогенность, провиденсии, идентификация, вирулентность, бактериология.

Работа посвящена изучению биологических свойств бактерий вида *Providencia rustigianii*, взятых с разных пунктов из медицинских объектов. Проведению идентификации названных бактерий.

Введение. Действие патогенных микроорганизмов на людей и условно-патогенных энтеробактерий часто оказывает при внедрении в среду внутреннюю в не маленьких дозах, а также при резком понижении общего и местного иммунитета. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* являются разными по экологическим признакам и заразности для людей [1].

Путем гибридизации ДНК штаммы *P. Rustigianii* были на 81–99% родственными друг другу при 60 градусах Цельсия, но только на 44–49% родственными биогруппам *P. alcalifaciens* [2].

Цель работы. Исследования гибридизации дезоксирибонуклеиновой кислоты, проведенные на 24 штаммах *Providencia friedericianae*, показали, что они были в высокой степени родственными (от 74 до 86% при 75°C) типовому штамму *Providencia rustigianii*.

Образцами проб для выделения бактерий вида *Providencia rustigianii* 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

Исследования гибридизации дезоксирибонуклеиновой кислоты проводились путем мечения дезоксирибонуклеиновой кислоты из типового штамма (АТСС 33673) *P.rustigianii* с помощью $^{32}\text{PO}_4$ и ее тестирования гидроксипатитным методом (2) против дезоксирибонуклеиновой кислоты из 24 штаммов *P. friedericiana*, включая типовой штамм. Исследуемые образцы были: моча, смывы из уборных, содержимое гнойных ран.

Результаты исследований.

Биохимическое подтверждение бактерий вида *Providencia rustigianii* проводили следующим образом: из 24-часовой культуры делали высев штрихами на поверхность скошенного в пробирке агара (среда для расщепления финилаланина), культивировали при $(37\pm 0,5)$ 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 rustigianii* 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 $(37\pm 0,5)$ гр.С. в течение 48 ч. При образовании сероводорода столбик имеет черный цвет. Бактерии вида *Providencia rustigianii* образуют сероводород, при этом в столбике среды обязательно появляется газ, это и указывает на ферментацию глюкозы с образованием кислоты и газа.

Полученные данные показали, что эти два вида были тесно связаны. 24 штамма *P. friedericiana* на 77–89% были родственны типовому штамму *P.rustigianii* при 60°C и на 74–86% родственны при 75°C. Родственные последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты содержали расхождение только от 0,0 до 0,5%. В предыдущем

исследовании штаммы *P.rustigianii* были на 81% или более родственны штамму ATCC 33673^T в реакциях при 60°C (2). Биохимические тесты, проведенные обеими лабораториями, также показали, что эти два вида одинаковы. Любые отмеченные различия были связаны с используемыми средами и методами. Обновленное биохимическое описание *P.rustigianii* было дано Farmer et al. (1). Мы пришли к выводу, что штаммы *P.rustigianii* очень тесно связаны со штаммами *P.friedericiana* и что эти два организма следует отнести к одному и тому же виду. *P.rustigianii* имеет приоритет перед *P.friedericiana*, поскольку первый был подтвержден (3) до того, как был описан *P.friedericiana* (5). Поскольку эти два организма имеют разные типовые штаммы, *P.friedericiana* является (младшим) субъективным синонимом *P.rustigianii*.

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

Идентификацию бактерий проводили по следующим тестам (в скобках указаны результаты тестов, характерные для бактерий вида *Providencia rustigianii*): 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 (+).

Выводы. В результате проведенных нами исследований были выделены условно-патогенные микроорганизмы вида *Providencia rustigianii* в количестве 6 штаммов из 18 взятых из медицинских учреждений, а также изучены их биологические свойства.

Все болезни, которые вызываются определенными видами бактерий они имеют угрозу жизни больных пациентов, поэтому имеется необходимость в более быстром выделении указанных бактерий.

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

По результатам, которые мы получили при изучении биологических свойств, культуры мы отнесли к искомому виду, *Providencia rustigianii*.

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.

LABORATORY DIAGNOSIS OF INFECTIONS CAUSED BY PROVIDENCIA RUSTIGIANII BACTERIA

Grešov Yu.N., Nematov U.A.

Scientific supervisor – Bart N.G.

FSBEI HE Ulyanovsk SAU

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.*