

УДК 579.24

**ПОВЫШЕНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-  
ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЛОТНОЙ  
АГАРОВОЙ СРЕДЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ  
ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA***

*Садртдинова Г.Р., аспирант факультета ветеринарной медицины  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»,  
Ульяновск, Россия*

**Ключевые слова:** ДДС, бактерии, колонии, штамм.

*В статье приводятся результаты исследования по повышению селективных свойств ДДС, предназначенной для более эффективной идентификации бактерий рода *Klebsiella*.*

Бактерии рода *Klebsiella* относятся к группе внутрибольничных инфекций и часто являются возбудителями заболеваний животных (маститы, пневмония, септемиция и т.д.) и человека. Ввиду высокой изменчивости и устойчивости к антибиотикам, выделение чистых культур необходимо для диагностики и оценки их патогенности [2,3,4,5].

**Цель исследования** - изучение основных свойств ДДС и повышение их селективных свойств, для более эффективной идентификации бактерий рода *Klebsiella*.

**Задачи исследования:** изучение дифференциально-диагностических свойств уже имеющихся сред, повышение их селективных свойств и апробация на разных штаммах бактерий.

**Материалы и методы исследования.** Для выделения бактерий рода *Klebsiella* используют дифференциально-диагностические среды (ДДС): Эндо, Плоскирева, Левина, К-2 [1].

На среде Эндо клебсиеллы образуют лактозоположительные колонии. Колонии могут быть различных размеров, формы, окраски (от белых до желтых) (рисунок 1).

Недостатком этой среды является то, что на этой среде помимо клебсиелл хорошо растут эшерихии, протеи, что затрудняет отбор колоний для дальнейшей идентификации [6,7].

На ДДС Плоскирева подавляется рост грамположительной микрофлоры, задерживается рост протея, угнетается рост эшерихий.

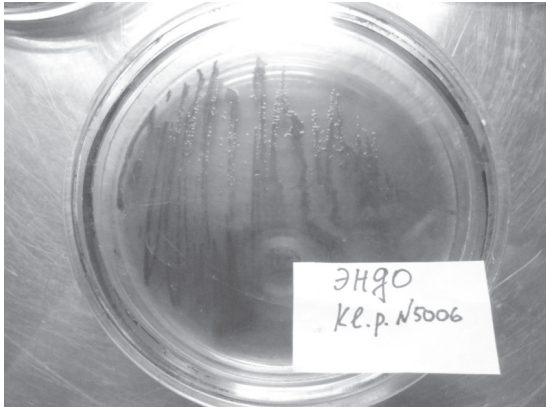


Рисунок 1 - Рост колоний бактерий рода *Klebsiella* на среде Эндо

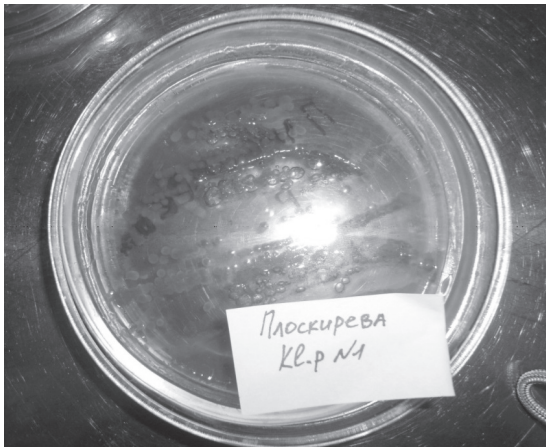


Рисунок 2 - Рост колоний бактерий *Klebsiella* на среде Плоскирева

Недостатком является то, что на ней хорошо растут *Enterobacter*, образующие по размеру и цвету похожие на *Klebsiella* колонии [8]. Среда К-2 характеризуется недостаточной селективностью, отсутствием четкого отличия колоний клебсиелл по цвету, сложным многокомпонентным составом.

Для повышения селективных свойств плотной агаровой среды мы воспользовались следующей прописью селективной среды (на основе данных, полученных из патента «Селективная питательная среда для выделения клебсиелл (RU 2265056). Авторы патента: Бочановский В.А. (RU), Резаев А.А. (RU), Ибрагимов Ф.Х. (RU), Журавлева Л.А. (RU)):

агар-агар- 15,0 г.	нитрат калия- 2,0 г.
сульфат магния- 0,15 г.	сахароза-17, 0 г.
бромтимоловый синий- 0,05 г.	карбенициллин - 0,015 г.
вода дистиллированная- 1000 мл.	pH среды- 7,6- 7,8

Вместо антибиотика карбенециллин нами был использован пенициллин, который относится к тому же пенициллиновому ряду и обладает теми же свойствами, но является более доступным для приобретения.

Инкубация *Klebsiella* на данной ДДС составляет 18-20 часов (при 37С). Бактерии рода *Klebsiella* формируют слизистые колонии круглой формы, оранжевого цвета, диаметром 1,5-2,5 мм.

Преимущество данной ДДС состоит:

- в повышении чувствительности и селективности
- в выраженном отличии колоний бактерий рода *Klebsiella* по окраске (что облегчает идентификацию)
- меньшее количество компонентов (по сравнению с ДДС К-2) .



**Рисунок 3 - Рост колоний бактерий рода *Klebsiella* (Кл.р.№5006) на предложенной ДДС среде**

**Результаты и выводы исследования.** Предложенная ДДС была апробирована на имеющихся у нас штаммах бактерий рода *Klebsiella* (3-х музейных штаммах кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской ГСХА им.П.А.Столыпина). Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1 и на рисунке 3.

**Таблица 1- Результаты апробации новой ДДС**

№ штамма	величина колоний	форма колоний	консистенция	поверхность колоний	цвет колоний
<i>Kl.p.№1</i>	2 мм	круглая	слизистая	гладкая	оранжевый
<i>Kl.p.№85/2</i>	1 мл	круглая	слизистая	гладкая	оранжевый
<i>Kl..№5006</i>	1 мл	круглая	слизистая	гладкая	оранжевый

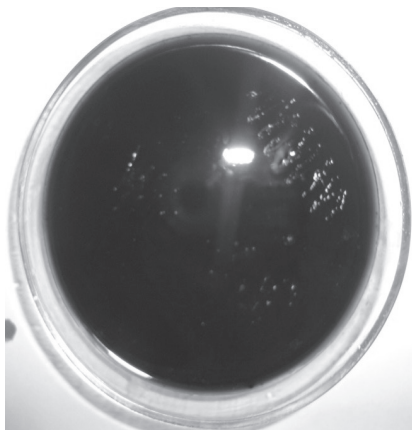
Следующим этапом нашей работы стала проверка специфичности использования ДДС KL-1-УГСХА, подтверждение ее узконаправленности. Для этого нами было отобрано 5 представителей бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*) к которому и относится род *Klebsiella*

Накануне исследований, был произведен посев суточных бульонных культур вышеперечисленных бактерий данного семейства (для накопления бактериальной массы). После 24-х часового термостаტიрования, эти культуры были посеяны на KL-1-УГСХА и вновь термостаტიрованы при 37С (18 часов). Через 18 часов культивирования нами были получены следующие результаты:

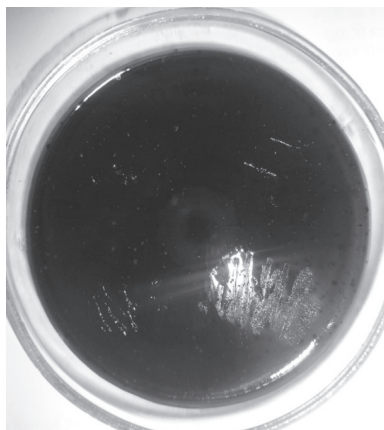
- наблюдали отсутствие роста в секторах с *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia* – никакого роста микрофлоры не наблюдалось, изменение среды под посевом тоже. Это говорит о том, что компоненты данной среды полностью подавляют рост и развитие бактерий данных родов (рисунок 4) [9, 10,11].

- в секторе с *Proteus* наблюдался рост микрофлоры. Рост колоний можно охарактеризовать как угнетенный, цвет- оранжево-прожженный, края колоний неровные, размер- мелкие (максимум 1 мм). Это свидетельствует о том, что бактерии данного рода в процессе своего роста чувствуют себя «некомфортно» на данной ДДС (рисунок 5) [12].

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что данная ДДС может использоваться при выделении бактерий рода *Klebsiella*. Если рост других бактерий и наблюдается, то он будет значительно уступать росту бактерий данного рода. Использование данной среды



**Рисунок 4 - Рост колоний бактерий рода *Escherichia*, *Salmonella Serratia* на KL-1-УГСХА**



**Рисунок 5 - Рост бактерий рода *Proteus* на KL-1-УГСХА**

значительно упрощает идентификацию клебсиелл, приобретающих при росте на среде специфическое окрашивание.

### **Библиографический список:**

1. Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Никишина Н.М. Учебно-методическое пособие по методам общей бактериологии.-Ульяновск,1998.- с.151.
2. Золотухин С.Н. Бактериофаги *M.morganii* и их применение при желудочно-кишечных заболеваниях поросят // Автореферат дис. Канд. вет. наук. - Ульяновск, 1994.
3. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных // Ульяновск. – 2004. – С. 64 – 75.
4. Киселева Б.С. Род *Klebsiella* // Энтеробактерии: Руководство / Под ред. В.И. Покровского. – М.: Медицина, 1985. – С. 171 – 172.
5. Киселева Б.С. Энтеробактерии. М.: Медицина, 1985, с.171. - с.463-465.
6. Ляшенко Е. // Автореферат дис. канд. вет. наук. - Саратов, 2004.
7. Ляшенко, Е.А. Индикация бактерий рода *Klebsiella* с помощью специфических бактериофагов, в объектах ветеринарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // материалы Международной научно-прак-

тической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности» - Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. т. II - С. 36-40.

8. Ляшенко, Е.А. Обнаружение бактерий рода *Klebsiella* с помощью реакции нарастания титра фага в пищевом сырье и продуктах питания / Е.А Ляшенко., С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // материалы V Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения» - Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. - С. 101-104.

9. Молофеева Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* и их применение в диагностике // Автореферат дис. канд. вет. наук. - Саратов, 2004.

10. Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике

11. Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. «Выделение и селекция бактериофагов рода *Citrobacter*». «Вестник ветеринарии». Выпуск. Сборник научных работ. Оренбург, 2002 г. С. 85-88.

12. Феоктистова Н.А. // Автореферат дис. канд. вет. наук. - Саратов, 2004.

**INCREASE SELECTIVE AND DIFFERENTIAL  
DIAGNOSTIC PROPERTIES OF DENSE AGAR MEDIUM,  
DESIGNED TO HIGHLIGHT BACTERIA KLEBSIELLA**

*Sadrtdinova G.R.*

**Key words:** *differential diagnostic environment, bacteria colonies, strain.*

*The article presents the results on improvement of the selective properties of differential-diagnostic media, for more effective identification of bacteria Klebsiella.*