

СХЕМА УСКОРЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *PROVIDENCIA*

Евхутич Никита Валерьевич, соискатель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза», ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

433970, Ульяновская область, р.п. Павловка, ул.50 лет Октября, 22

E-mail: nikita_3456@mail.ru

Алиев Вадим Сабирович, соискатель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза», ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

432053, г.Ульяновск, пер.Рябиновый, 3.

E-mail: vadim.aliev.55@mail.ru

Сатдарова Динара Гаяровна соискатель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза», ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

432032, Ульяновск, ул.Октябрьская,40-34.

E-mail: satdarova73@mail.ru

Ключевые слова: бактериофаги, идентификация, контаминация, патогенность, микроорганизмы.

*Работа посвящена ускоренной идентификации бактерий рода *Providencia*, фагоидентификации и идентификации по биохимическим свойствам. При проведении исследований авторами установлено, что фагоидентификация в сравнении с традиционной схемой, изложенной в методических указаниях, позволила сократить сроки исследования в два раза.*

Введение. Выделение и идентификация бактерий рода *Providencia* в основном проводится бактериологическим методом. Трудоемкость и длительность изучения биологических свойств бактерий не позволяет быстро идентифицировать бактерии рода *Providencia*. Существующие современные высокоспецифичные методы лабораторной диагностики (ИФА, РИА, ПЦР) из-за сложности методик, высокой стоимости оборудования и реактивов недоступны для большинства лабораторий. В связи с выше изложенным возникает необходимость изыскания эффективных и доступных для ветеринарных лабораторий методов индикации и идентификации бактерий рода *Providencia* [2].

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований явились два бактериофага F-87 и F-67 серии УГСХА, были использованы как гомологичные, так и гетерологичные штаммы бактерий, для выращивания

микроорганизмов и проведения бактериологических исследований в работе использовали питательные среды. Подготовку и посев проб материала, подлежащего исследованию, проводили в соответствии с ГОСТами «Методы бактериологического анализа». В качестве материала для исследований использовали воду, комбикорм, мясо и фекалии контаминированные бактериями рода *Providencia* в концентрациях 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10^1 м.к. в 1 мл.

Результаты исследований и их обсуждение. Учитывая строгую специфичность отобранных бактериофагов F-87 и F-67 серии УГСХА по отношению к штаммам провиденций, мы разработали схему ускоренной идентификации данных микроорганизмов [1].

Выделение и идентификацию чистых культур микроорганизмов проводили в соответствии с правилами, изложенными в «Методических указаниях по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ и П 11 октября 1999 года.

Посев материала производили на дифференциально-диагностические среды (ДДС): Эндо, Плоскирева, Левина, инкубировали при температуре 37 °С 18-20 часов. На среде Эндо отбирали колонии разного вида, в основном характерные лактозоположительные, частично сливающиеся слизистые колонии малинового цвета с металлическим блеском или без него; на среде Плоскирева колонии розового или бежевого цвета; на среде Левина – сине-фиолетовые. Для дальнейшего изучения отобранные колонии с чашек пересевали в МПБ, МПА и инкубировали в термостате при 37 °С 6-18 часов, до появления выраженного помутнения среды. Первичные бульонные культуры, полученные после пересева колоний с дифференциально-диагностических сред, микроскопировали (окраска по Граму) и при обнаружении в мазках однородных мелких грамотрицательных палочек с закругленными концами, располагающихся единично парами или короткими цепочками, подвергали фагоидентификации и идентифицировали по биохимическим свойствам [4].

Биохимические свойства выделенных штаммов изучали в соответствии с выше упомянутыми методическими указаниями. По результатам изучения биохимических свойств определили родовую принадлежность культур.

Фагоидентификацию проводили: на поверхность МПА в чашки Петри пипеткой наносили 3-4 капли бульонной 6-18 часовой культуры исследуемых микроорганизмов. Нанесенную культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания газона на 15 – 20 минут. Дно чашки маркером делили на три сектора: на поверхность засеянной среды первого и второго секторов, пипеткой легким прикосновением капли, наносили по одному штамму фагов, на третий сектор по центру в качестве контроля наносили стерильный МПБ, наклоняли чашку, чтобы капли стекли. Чашки оставляли для подсушивания в боксе на 15-20 минут, затем помещали в термостат в перевернутом виде на 18-24 часа при 37 °С [3].

Результат исследований считали положительным, если на месте нанесения хотя бы одного штамма фагов на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса фага. Отрицательным считали результат при отсутствии лизиса на газоне роста исследуемой культуры микроорганизмов. При положительном результате культуру относили к роду *Providencia*. При отрицательном результате проводили изучение ферментативных свойств выделенных микроорганизмов. Фагоидентификация выделенных штаммов бактерий рода *Providencia* во всех объектах подтверждена результатами исследований биохимических свойств [5].

Одновременно были проведены исследования по определению минимальной заражающей концентрации микробных клеток бактерий рода *Providencia* в исследуемых объектах, при которой возможно обнаружить культуру бактериологическим методом.

Заключение. По результатам данных исследований заражающая концентрация микробных клеток бактерий рода *Providencia* в объектах исследования составила 10^4 м.к./мл. При исследовании фекалий чувствительность понижается до 10^5 м.к./мл из-за обильной обсемененности посторонней микрофлорой.

Таким образом, схема фагоидентификации в сравнении с традиционной схемой, изложенной в вышеупомянутых методических указаниях, позволяла сократить сроки исследования в два раза, результат получали спустя 48 часов (2

суток) с меньшими затратами посуды и реактивов. В то время как бактериологическим методом время исследования занимало 96 часов (4 суток).

Библиографический список:

1. Барт Н.Г. Разработка методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний с использованием биопрепарата на основе бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, А.С.Мелехин // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения : Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Всемирному году ветеринарии в ознаменовании 250-летия профессии ветеринарного врача. – Ульяновск, 2011. – С. 46-48.
2. Барт Н.Г. Биотехнологические аспекты разработки фагового препарата для индикации и идентификации бактерий рода *Providencia* / автореферат дис. ...кандидата биологических наук: 03.01.06, 03.02.03 / н.гос.с.-х. акад. Им. П.А. Столыпина. – Ульяновск, 2013.
3. Барт, Н.Г. Биотехнологические аспекты разработки фагового препарата для индикации и идентификации бактерий рода *Providencia* / Н.Г.Барт // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Ульяновск, 2013.
4. Барт, Н.Г. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Providencia* / Н.Г.Барт, Д.А.Васильев, С.Н.Золотухин // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. – Ульяновск, 2013.
5. Барт, Н.Г. Выделение бактериофагов рода *Providencia* / Н.Г.Барт, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев // [Аграрная](#) наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2012. - С. 236 -239.
6. Барт, Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia*, используемых для создания биопрепарата по деконтаминации пищевых продуктов / Н.Г.Барт, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев // Актуальные проблемы биологии, биотехнологии, экологии и биобезопасности: Материалы Международной научно-практической конференции посвященной 80-летию заслуженного ученого, профессора В.Л. Зайцева. – 2015. – С.69-73.

THE SCHEME OF THE ACCELERATED IDENTIFICATION SORT PROVIDENCIA BACTERIA

Evhutić N.V., Aliyev V.S., Satdarova D.G.

Keywords: bacteriophages, identification, contamination, pathogenicity, microorganisms.

The work focuses on accelerated identification of bacteria of the genus *Providencia*, phagoidification and identification by biochemical properties. In the course of the research, the authors found that phagoidentation compared to the traditional scheme set out in the methodological guidelines reduced the time of the study by half.