

УДК 579

ВЫДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУР *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ИЗ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Родионова А.В., студентка 1 курса магистратуры факультета ветеринарной медицины и биотехнологии
Научные руководители: Сульдина Е.В., ассистент,
Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: культивирование, методы выделения культуры, колонии, бактерии.

Данная работа посвящена выделению культуры *Yersinia enterocolitica* из внешней среды.

Исследования проводятся при поддержке Фонда содействия инновациям в соответствии с договором №13730ГУ/2018 от 01.04.2019.

Выделение бактерий вида *Y. enterocolitica* производилось нами для применения в последующем полученных штаммов в качестве индикаторных бактериальных культур при изучении биологических свойств гомологичных бактериофагов.

Задачи исследования:

1. Выделить бактерии *Y. enterocolitica* из объектов внешней среды и патологического материала;
2. Изучить тинкториальные и культуральные свойства выделенных бактерий;
3. Изучить биохимические свойства выделенных бактерий.

Первичные посевы осуществляли прямым методом на среды Эндо, и агар с бромтимоловым синим (БТС), инкубировали при температуре 28 °С в течении 24 - 48 часов. Дополнительно в связи с тем, что метод прямого посева редко приносит положительный результат, а недостатком классического метода холододового обогащения является его длительность (15 суток), мы использовали метод «холододового удара». Для этого пробирки с исследуемым материалом на 18 часов помещали в морозильную камеру при -18°С. После оттаивания материал также засеивали на среды Эндо, и агар с бромтимоловым синим.

На агаре Эндо вырастали мелкие, округлые, росинчатые бесцветные колонии. На вторые сутки колонии увеличивались в диаметре, и



Рисунок 1. Ye-3 на среде Плоскирева

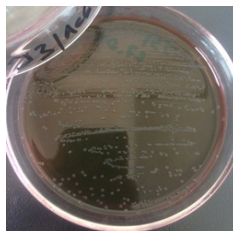


Рисунок 2. Ye-3 на среде Левина



Рисунок 3. Ye 1-3 на среде Симонса и Клигlera

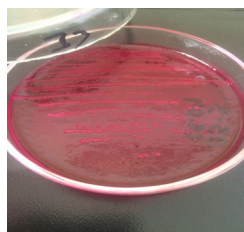


Рисунок 4. Ye-3 на среде Эндо

приобретали розовый оттенок. На среде с бромтимоловым синим, вырастали круглые, гладкие матовые колонии голубого цвета, в диаметре до 2 мм, а через 48 часов роста колонии приобретали голубовато-зеленые оттенки.

По истечении времени культивирования характерные для иерсиний указанные колонии засеивали в МПБ. Культуры микроорганизмов инкубировали при 22 °С 12-18 часов.

Морфологию клеток иерсиний определяли микроскопией мазков, окрашенных по Грамму (рис 5-7). Мазки готовили из 18-24 часовых бульонных и агаровых культур выращенных при комнатной температуре.

Видовую принадлежность чистых культур устанавливали, опираясь на морфологические, культуральные и биохимические свойства.

Биохимические свойства культур определяли при температуре 28°С в течении 48 часов на средах Гисса, а также на средах с мочевиной, серно-кислым железом, агаре Симмонса, МПЖ, среде с фенилalaniном. В качестве дополнительных тестов ставили реакции с метилротом, тесты Фогеса-Проскауера, тест на подвижность, наличие орнитиндекарбосилазы и ферментации инозита при 26 и 37°С.

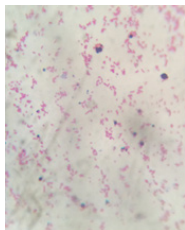


Рисунок 5 - Микроскопия окрашенного по Грамму мазка выделенного штамма Ye – 1

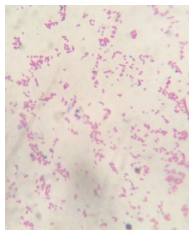


Рисунок 6 - Микроскопия окрашенного по Грамму мазка выделенного штамма Ye – 2

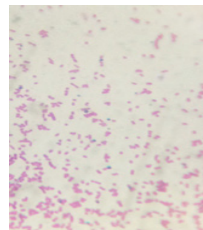


Рисунок 7 - Микроскопия окрашенного по Грамму мазка выделенного штамма Ye – 3

Бактерии вида *Y. enterocolitica* на окрашенных мазках были представлены небольшими граммотрицательными палочками, подвижными при 22-28°C и неподвижными при 37°C.

Данные бактерии не образовывали сероводорода, ферментировали, без образования газа, глюкозу и сахарозу, не ферментировали лактозу, рамнозу, раффинозу и салицин, не гидролизировали эскулин, оксидазоотрицательные, продуцировали нитратредуктазу и уреазу, при отсутствии фенилаланиндезаминазы и пиразинамидазы.

Нами было исследовано более 30 проб и выделено 3 штамма бактерий *Y. enterocolitica*.

Выделенные нами культуры рода *Y. enterocolitica* в дальнейшем будут использованы в качестве индикаторных культур при выделении бактериофагов из объектов окружающей среды.

Библиографический список:

1. Смирнов И.В. Возбудитель иерсиниоза и близких к нему микроорганизмов. //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.-2004.-Т 6, №1. -С. 10-21.
2. Характеристика бактериофагов бактерий *Enterobacter* spp. для оценки возможностей их использования в составе терапевтического биопрепарата/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Мاستиленко //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №1(41). С. 109-115.
3. Установление видовой принадлежности штаммов энтеробактерий методом MALDI-TOF MS/ Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Мастиленко, Е.В. Сульдина //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №2(42). с.110-113.

4. Золотухин С.Н. Биологические свойства энтеробактерий, выделенных при патологиях животных/ С.Н. Золотухин, А.С. Мелехин, Ю.В. Пичугин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №2 (42). с.142-147.
5. Разработка системы ПЦР для идентификации бактериофагов *Proteus* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter* spp/ А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №2(42). с.187-192.
6. Сульдина Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica*/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №3(39). с.50-54.
7. Пульчеровская Л.П. Выделение бактерий рода *Citrobacter*/ Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №3(39). с.83-87 .
8. Бактериофаги бактерий *Enterobacter* и их основные биологические характеристики/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, И.И. Богданов//Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №4(40). с.94-97.
9. Феоктистова Н.А. Протейные бактериофаги: изучение некоторых биологических свойств/ Н.А.Феоктистова, Д.А.Васильев, С.Н.Золотухин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №4(40). с.75-80.
10. Феоктистова Н.А. Выделение бактериофагов рода *Proteus* и подбор параметров культивирования/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №2(38). с.90-96.
11. Сульдина Е.В. Идентификация штамма *Enterobacter* spp и специфичного ему фага E7 методом сравнительного геномного и филогенетического анализа/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №4(44). с.229-234.

ISOLATION OF YERSINIA ENTEROCOLITICA CULTURES FROM EXTERNAL ENVIRONMENT

Rodionova A.V

Key words: *cultivation, culture isolation methods, colonies, bacteria.*

This work is dedicated to the isolation of culture Yersinia enterocolitica from the external environment.