

УДК 619.616.9

ВЫДЕЛЕНИЕ ФАГОВ БАКТЕРИЙ РОДА СИТРОБАКТЕР ИЗ ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ И ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

С.Н. Золотухин, Л.П. Пульчеровская, Н.А. Кирьянова, Д.А. Васильев

Бактерии рода *Citrobacter* относятся к семейству Enterobacteriaceae. Род объединяет группу ферментативно родственных бактерий, названных так благодаря их способности утилизировать цитрат (*citrus* - лимон, *bacter* - мелкие палочки) и использовать его в качестве единственного источника углерода.

Citrobacter выделяются из воды, почвы, фекалий животных и человека. Некоторые штаммы, вероятно, входят в состав нормальной микрофлоры кишечника. Однако встречаются и патогенные штаммы, способные вызывать вспышки гастроэнтеритов и токсикоинфекций у детей и взрослых людей. Благодаря работам многих исследователей установлено этиологическое значение бактерий рода *Citrobacter* при желудочно-кишечных заболеваниях телят и поросят-сосунов (С.Т. Мнацаканов, 1986; Е.С. Воронин с соавт., 1989; Л.Я. Ставцева и др., 1992; Л.Я. Ставцева, Д.А. Дервишев, 1993; Л.С. Каврук, 1994; В.А. Мищенко с соавт., 1999; С.Н. Золотухин и др., 1999, 2000).

При постановке диагноза бактериологическим методом на заболевания, причиной которых являются представители рода *Citrobacter*, существует ряд трудностей. Одна из них состоит в том, что основой идентификации этих бактерий являются их биохимические свойства. Трудоемкость и длительность изучения ферментативных свойств не позволяют быстро и точно идентифицировать названные микроорганизмы.

В связи с этим возникла необходимость в поиске альтернативных методов лабораторной диагностики, которые были бы менее трудоёмкими, более быстрыми и доступными для лабораторий любого уровня. Одним из таких методов является фагодиагностика (Адамс М., 1961; Гольдфарб Д.М., 1961; Ганюшкин В.Я., 1988, 1990; Кольпикова Т.И. и др., 1990, 1992).

Для индикации и идентификации микроорганизмов с помощью бактериофагов необходимо иметь набор фагов с определёнными биологическими свойствами. Изыскание активных

штаммов бактериофагов, лизирующих патогенные культуры *Citrobacter*, и является одной из целей наших исследований.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований были сточные воды из животноводческих помещений и общественных туалетов разных хозяйств Ульяновской и Самарской областей (с-з «Рошинский» Ульяновского р-на Ульяновской области; Учхоз УГСХА Чердаклинского р-на Ульяновской области; п. Мирный Чердаклинского р-на Ульяновской области; центральный автовокзал с. Кошки Самарской области).

В качестве индикаторных культур были использованы 8 патогенных штаммов рода *Citrobacter*, полученные из музея кафедры и выделенные нами из патологического материала и объектов внешней среды животноводческих ферм.

В качестве питательных сред использовали МПБ, 1,5 % МПА с генцианвиолетом, 0,3 и 0,7% МПА. Бактерии рода *Citrobacter* культивировали в термостате при 37⁰С в течение 18 – 24 часов на МПБ.

Фаги выделяли из сточных вод методом агаровых слоев с предварительным прогреванием и центрифугированием исследуемого материала (по Грациа, 1936).

Селекцию изолятов фагов производили методом пассирования штаммов на индикаторных культурах с последующим клонированием типичной для каждого изолята негативной колонии.

Активность выделенных фагов определяли по методам Грациа и Аппельмана.

Результаты исследований, их обсуждение

В результате проведенных исследований нами было выделено 20 термостабильных расщ фагов, обладающих способностью на индикаторных штаммах индикаторных культур *Citrobacter* образовывать негативные колонии разного диаметра от 1,0 до 2,0 мм или стерильные пятна в виде зон лизиса диаметром 5,0-8,0 мм.

Литическая активность выделенных фагов была на плотных питательных средах (по методу Грациа) от 9×10^7 до $2,3 \times 10^9$, а в жидкой среде (по методу Аппельмана) от 10^{-2} до 10^{-9} .

Таким образом, умеренные и вирулентные терморезистент-

ные бактериофаги рода *Citrobacter* достаточно широко распространены в природе и их можно выделить классическими методами, используемыми разными авторами для выделения фагов энтеробактерий различных родов.

Для изучения возможности использовать выделенные и селекционированные нами фаги с целью конструирования диагностического препарата необходимо более детально изучить их биологические свойства.

Литература

1. Адамс М. Бактериофаги (перевод с английского) // -М., -1961. -521С.
2. Мищенко В.А. и др. Некоторые аспекты патогенеза диареи новорожденных телят. Ветеринария, 1999, №9. С.20-23.
3. Воронин Е.С., Дервишов Д.А. и др. Этиология и профилактика желудочно-кишечных заболеваний телят.// Вестник сельскохозяйственной науки. -1989. -№9. -С.105-110.
4. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии// Учебное пособие -Ульяновск. -1988. -45С.
5. Ганюшкин В.Я. Обследование свиней на носительство сальмонелл и фагопрофилактика.// Вопросы ветеринарной микробиологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы.-Ульяновск.-1990. -С.20-28.
6. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия.// -М.: Медгиз. -1961. -297С.
7. Золотухин С.Н., Малов А.А. Ганюшкин В.Я. Актуальные проблемы ветеринарно-санитарного контроля сельскохозяйственной продукции. Тезисы докладов 2-ой межгосударственной конференции. –М., 1997. С.124.
8. Золотухин С.Н., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А. // Вопросы микробиологии, эпизоотологии и ветсанэкспертизы, Ульяновск, 2000.
9. Каврук Л.С. Тесты, критерии и методы ускоренной санитарно-бактериологической оценки репродукторных помещений животноводческих ферм и пути оптимизации в них микробиоциноза. Дисс. в форме научн. докл. на соиск. уч. степ. докт. вет. наук. –М., 1994.
10. Кольпикова Т.И., Бакулов И.А., Котляров В.М. Фаготипи-

рование листерий. /Ветеринария. -№6. -1990. -С.31-32.

11. Кольпикова Т.И., Бакулов И.А., Котляров В.М. Перспективы практического применения листериозных бактериофагов. // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии/ Материалы научной конференции ВНИИВиМ. -Покров. -1992. -Часть 11. -С.211-212.
12. Мнацаканов С.Т. Выделение энтеротоксигенных энтеробактерий на свиноводческих комплексах. // Эпизоотология, эпидемиология, средства диагностики, терапии и специфической профилактики инфекционных болезней, общих для человека и животных/ Материалы Всесоюзной конференции. -Львов. -1988. -С.300-301.

УДК 619:576.8 + 615

РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

С.Н.ЗОЛОТУХИН, Н.И.МОЛОФЕЕВА, Д.А.ВАСИЛЬЕВ

В последние годы благодаря работам отечественных и зарубежных исследователей установлено, что штаммы *E. coli* серологического варианта O157: H7 способны вызывать у людей тяжело протекающие вспышки гастроэнтерита (Малов В.А., Пак С.Г., 1996; Ратинер Ю.А. и др., 1998; Т.А. Попова и др., 2000; L.W. Riley et al., 1983; В.Р. Bell et al., 1994; P.N. Goldwater, K.A. Bettelheim, 1994; M. Brotman et al., 1995; Y. Anderson, de Jong B, 1996; Shinoda S. et al., 1997; L. Easton, 1997).

В настоящее время также установлена этиологическая роль серогруппы O157 (серовары O157:H7 и O157H-) в возникновении диареи у молодняка животных с признаками геморрагического гастроэнтерита.

Эффективность лечебных мероприятий во многом зависит от своевременности диагностики болезни, поэтому совершенствованию методов лабораторной диагностики указанной инфекции уделяется большое внимание. Для микробиологической практики отечественными и зарубежными учеными разработаны питательные среды для выделения указанного серовара эшерихий (З.С. Султанов, Э.Д. Степанова, Е.А. Какулина, 2000). Но метод их выделения и идентификации с использованием пред-