

ную клетку; для бактериофагов *E. agglomerans* – 20-26 – 34-42 мин и 27.5 – 112,3 фаговых частиц на одну бактериальную клетку.

### Литература

1. Каврук Л.С. Методические указания по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями. утверждены Департаментом ветеринарии 11 октября 1999 года.
2. Определитель бактерий Берджи, – М.; 1997.
3. Покровский В.И. Медицинская микробиология. – М., 1999.
4. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Y. Hoult. I. Krig. P. Smitt. - New-York, 1984

УДК 619:579

## ОПТИМАЛЬНАЯ СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА ENTEROBACTER

Е.Н.Митрохина, А.С.Аникин, С.Н.Золотухин

Бактерии рода *Enterobacter* входят в состав семейства *Enterobacteriaceae*, являются условно патогенными и грамотрицательными палочками. Некоторые виды, в основном *E.aerogenes*, *E.cloacae*, *E.bergoviae*, *E.sakazakii*, вызывают оппортунистические инфекции - ожоговые, раневые, мочевыводящих путей, а в некоторых случаях септициемию и менингит. В настоящее время энтеробактеры вызывают до 10-15% всех госпитальных инфекций и 5-10% госпитальных бактеремий.

Покровский В.И.(1995) предложил следующую схему выделения бактерий рода *Enterobacter*. Секционный материал высевает на плотные дифференциально-диагностические среды Эндо, Левина, Плоскирева. Отобрав соответствующие колонии (слизистые и неслизистые, напоминающие колонии клебсиелл и эшерихий), их пересевают на комбинированную среду Клиглера (или Олькеницкого), на которой получают данные по ферментации глюкозы (+), лактозы (+), мочевины (-/-), образованию сероводорода (-). При получении указанных результатов В.И.Покровский предлагает произвести исследование культуры по ряду основных 13 (мочевина +/-, сероводород -, лактоза +, глюкоза +, подвижность +, индол -, среда Симмонса+, ацетат +, лизин +, орнитин +, реакция Фогеса-Проскауэра +, метилрот -, сорбит +) и дополнительных 17 (маннит +, инозит +/-, Твин 80 -, фенилаланиндезаминаза -/-, малонат +/-, адонит +/-, целлобиоза +/-, рамноза +/-, аргинин +/-, сахароза +/-, эскулин +/-, трегалоза +/-, дульцитол -/+, цитрат натрия с глюкозой -/-, Вгалактозидаза +, арабиноза +, мальтоза -) тестов.

Выделение бактерий рода *Enterobacter* можно осуществить, используя схему по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями Каврука Л.С (1999), который предлагает иной ряд основных (глюкоза +, лактоза +/-, сахароза +/-, маннит +, мальтоза +, среда Симмонса ±, образование индола -, сероводорода -, расщепление мочевины +/-, разжижение желатины +/-, фенилаланиндезаминаза -) и дополнительных (реакция Фогеса-Проскауэра +, с метиленовым красным -, подвижность +) тестов, всего 14.

Перед нами была поставлена задача выделения патогенных видов бактерий рода *Enterobacter* из окружающей среды и патматериала. Опробовав описанные выше методики, мы пришли к возможности упростить схему выделения и сократить количество проводимых тестов. Исследуемый материал высевает на мясопептонный бульон и на твердые среды Эндо и Плоскирева. Одновременный посев на две твердые среды необходим для того, чтоб в случае присутствия в исследуемом материале бактерий рода *Proteus*, которые дают «ползуший» рост на среде Эндо, можно было выделить изолированные колонии со среды Плоскирева. На твердых средах отбирают колонии по морфологии, похожие на колонии *Enterobacter* (малиновые, розовые, желтые, выпуклые, блестящие, пастообразные или вязкие) и пересевают на МПБ. Нами было замечено, что оптимальная температура культивирования бактерий рода *Enterobacter* 36-37оС, но не более 38оС, при которой рост замедляется. Рост культуры при температуре 22-24оС происходит также замедленно. Выделенную культуру необходимо проверить на чистоту, сделав повторный посев на твердую среду. Убедившись, что на чашках выросли однотипные колонии, грамотрицательные, сходные с *Enterobacter*, культуру идентифицируют по ряду тестов.

Для удобства мы сократили количество проводимых тестов (4 основных и 3 - 4 дополнительных) и составили 15 вариантов набора дополнительных тестов. При подборе тестов мы исходили из следующих отличий бактерий рода *Enterobacter* от других родов. *Citrobacter*, *Edwarsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* отличаются по реакциям с метиленовым красным и Фогеса-Проскауэра, по росту на среде Симмонса. *Klebsiella*, *Rahnella* неподвижны. *Serratia* разжижает желатину и положительна в тесте на ДНК-азу. *Erwinia* не образует газ при ферментации Д-глюкозы и ряду других биохимических признаков.

Выбор одного из 15 вариантов тестов определяется тем, какими средами в наличии располагает исследователь. 4 теста основного набора являются обязательными.

Основной набор:

рост на среде Симмонса +

реакция Фогеса-Проскауэра +

реакция с метиленовым красным -

подвижность +

Получив указанные результаты при проведении основных тестов, исследователь подбирает тот вариант набора дополнительных тестов, который наиболее удобен. Можно сократить время идентификации выделенной культуры, если проводить сразу и основные и дополнительные тесты.

Варианты дополнительного набора:

1. желатина -, орнитин +, мелибиоза +, сероводород -
2. желатина -, глюкоза(газ) +, мелибиоза +
3. желатина -, глюкоза(газ) +, рафиноза +
4. желатина -, глюкоза(газ) +, арабиноза +
5. желатина -, глюкоза(газ) +, ксилоза +
6. желатина -, глюкоза(газ) +, рамноза +
7. глюкоза(газ) +, сероводород -, ДНКазы -, рафиноза +
8. глюкоза(газ) +, сероводород -, ДНКазы -, арабиноза +
9. глюкоза(газ) +, сероводород -, ДНКазы -, ксилоза +
10. глюкоза(газ) +, сероводород -, ДНКазы -, мелибиоза +
11. глюкоза(газ) +, сероводород -, ДНКазы -, рамноза +
12. глюкоза(газ) +, сероводород -, целлобиоза +, рамноза +
13. глюкоза(газ) +, сероводород -, целлобиоза +, орнитин +
14. глюкоза(газ) +, сероводород -, липаза -
15. глюкоза(газ) +, липаза -, желатина -

Получение указанных результатов говорит о принадлежности выделенной культуры к роду *Enterobacter*.

Предложенная нами схема выделения бактерий рода *Enterobacter* позволяет сократить количество проводимых тестов с 14-30 до 7-8, что уменьшает время исследования, расход питательных сред и количество лабораторной посуды. Кроме того, различные варианты дополнительного тестов для идентификации позволяют выбрать оптимальный и проводить исследования при разном наборе сред в лабораториях. При проведении наших исследований мы использовали 2й вариант дополнительного набора тестов, который является оптимальным для наших условий, т.е. выделенные культуры мы проверяли по 7 тестам: среда Симмонса, реакция Фогеса-Проскауэра, реакция с метиленовым красным, подвижность, мелибиоза, разжижение желатины, выделение газа при ферментации Д-глюкозы. В результате были выделены культуры рода *Enterobacter*.

### Литература

1. Каврук Л.С. Методические указания по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями. - М., 1999.
2. Определитель бактерий Берджи./ред. Дж.Хоулт, И.Крига - М., 1997.
3. Покровский В.И.. Медицинская микробиология. - М., 1995.

УДК 619:578

## ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ БАКТЕРИЙ РОДА *ENTEROBACTER*

Е.Н.Митрохина, С.Н. Золотухин

Бактериофагами называют вирусы бактерий. Начало изучения бактериофага связано с работами Н.Ф. Гамалеи (1889), Ф.Туорта (1915), Ф.Д.Эрелля (1917). Н.Ф. Гамалея в конце XIX века наблюдал лизис бактерий под влиянием специфического агента. Бактериофаг - вирус, способный инфицировать бактериальную клетку, репродуцироваться в ней, образуя многочисленное потомство, и вызывать ее лизис, сопровождающийся выходом фаговых частиц в среду обитания бактерий (Гольдфарб Д.М., 1961).

Перед нами была поставлена задача выделения бактериофагов бактерий рода *Enterobacter* из объектов внешней среды. Считается, что бактериофаги рода *Enterobacter* изучены недостаточно, хотя имеются отдельные работы по данному вопросу (Летиев К.Ю., 1993; Ворошилова Н.Н. с соавт., 1995).

Выделить бактериофаг можно из различных материалов, где могли содержаться или в данный момент находятся бактерии, на которых выделенный фаг размножается. Фаги обнаруживаются в испражнениях от больных и переболевших животных, в навозе, навозной жиже, в сточной воде и почве. Методика выделения бактериофагов описана Д.М. Гольдфарбом (1961).

Выделение проводили следующим образом. Исследуемый материал фильтровали через бумажный фильтр. Полученный фильтрат (20 мл) засеивали вместе с суточной культурой (5 мл) в мясопептонный бульон (50 мл), инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 7 дней, при температуре 25°C - 10 дней. После смесь прогревали на водяной бане при 60°C в течение 30 минут. Фильтровали и центрифугировали 30 минут со скоростью 4000 оборотов в минуту. Стерильной пипеткой отбирали надосадочную жидкость, вновь прогревали на водяной бане и исследовали на наличие бактериофагов методом агаровых слоев.

Метод агаровых слоев. Для обнаружения использовали стерильный 1,5% мясопептонный агар, предварительно разлитый в стерильные чашки Петри, высушенный под бактерицидной лампой в течение 1 часа и в термостате при 37°C в течение 8-12 часов. Это необходимо для абсолютной