

стью ко многим антибиотикам (Воронин Е.С. и др., 1989; Золотухин С.Н. и др., 2000).

В.Н. Красноголовец и Б.С. Киселева (1996), В.И. Покровский и др., (1999), С.Н. Золотухин и др., (2000) сообщают об устойчивости клинических штаммов клебсиелл к пенициллину, левомицитину, тетрациклину, эритромицину, карбециллину; относительной чувствительности к некоторым гликозидным преапаратам: гентамицину, тромбамицину, сизомицину, амикацину, неомицину, мономицину, рифампицилину, (некоторые штаммы – к ампицилину). Авторы наблюдали слабую чувствительность клебсиелл к полимиксину В, цефалотину, цефалоридину и канамицину.

Устойчивость клебсиелл к антибиотикам связывают с R-плазмидой, потеря которой может происходить за небольшой срок пассирования в бульоне. Этот факт следует учитывать при изучении чувствительности к антибиотикам выделенных штаммов, которое следует проводить у свежевыделенных изолятов, избегая излишнее количество пассирований (Disk-gieser N. 1980).

Литература

1. Воронин Е.С., Дервишов Д.А. и др. Этиология и профилактика желудочно-кишечных заболеваний телят. // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1989. - №9. С.105-110.
2. Каврук Л.С. Методические указания по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями, утверждённые Департаментом ветеринарии 11 октября 1999 года.
3. Красноголовец В.Н., Киселёва Б.С. Клебсиеллёзные инфекции. – М.: Медицина, 1996.
4. Определитель бактерий Берги М., 1997.
5. Покровский В.И. Медицинская микробиология. – М., 1999.
6. Сиволодский Е.П., Ровнов Н.В, Петров Л.Н. Механизм специфической хромогенной реакции *K. Spp.* на питательной среде с 5-аминосалициловой кислотой. // Микробиология, 1994. №.3 С.489-494.

УДК 619 : 579

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ РОДА *KLEBSIELLA* ИЗ СТОЧНЫХ ВОД

Е.А.Бульканова, С.Н.Золотухин

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). Начало изучения бактерио-

фага связано с работами Н.Ф. Гамален (1889), Ф.Туорта (1915), Ф.Д. Эрелля (1917). Н.Ф. Гамалея в конце XIX века наблюдал лизис бактерий под влиянием специфического агента.

До настоящего времени международная схема фаготипирования клебсиелл не разработана. (Красноголовец В.Н., Киселёва Б.С., 1996). Однако исследования в этом направлении активно велись польскими и венгерскими учёными (Milch H. и Deak 1964 – 1965; Przondo-Hessek A. 1966). В 1987 в Англии была разработана новая схема фаготипирования клебсиелл (*K.pneumoniae* и *K.oxytoca*). В нашей стране аналогичные исследования проводили И.М. Габрилович и соавт. (1967, 1969, 1970). Перед нами была поставлена задача выделения бактериофагов бактерий рода *Klebsiella* из объектов внешней среды и изучения их биологических свойств.

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 (1975).

Источником выделения бактериофагов клебсиелл служили сточные воды, взятые из канализационных колодцев свинарников-маточников, родильных помещений молочно-товарных ферм и жилого сектора УЧХОЗа УГСХА.

Выделение фагов бактерий рода *Klebsiella* проводили после инкубирования материала в мясопептонном бульоне с индикаторными культурами. Для чего исследуемый материал (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 фильтровали. Полученный фильтрат прогревали на водяной бане при 60°C в течение 30 минут, центрифугировали 30 минут (4000 оборотов/мин). Надосадочную жидкость вновь прогревали на водяной бане и исследовали на наличие бактериофагов методом агаровых слоев (по Грация). Для обнаружения использовали 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 сухости чашек. Слой агара должен быть достаточно глубоким, для чего в чашку наливали 25-30 мл агара. Для предохранения среды от загрязнения воздушной флорой в агар добавляли 0,04% раствор генцианвиолета из расчета 0,01 мл на 1 л среды. Стерильный 0,7% мясопептонный агар, предварительно разлитый в пробирки по 2,5 мл, расплавляли на водяной бане, остужали до 50-55°C. Исследуемую прогретую надосадочную жидкость в количестве 1 мл помещали в 2,5 мл 0,7% МПА, добавляли 0,2

мл суточной культуры, все быстро перемешивали и выливали на поверхность 1,5% МПА. Смесь осторожными движениями распределяли по поверхности агара. Для получения четких результатов чашки необходимо ставить на ровную горизонтальную поверхность во избежания стекания агара в сторону. Чашки для затвердевания агара оставляли на столе на 1 - 1,5 часа, после чего инкубировали в термостате при температуре 37°C. Параллельно ставили контроль чистоты исследуемого материала на бактериальную загрязненность (в 2,5 мл МПА добавляли 1 мл материала и 0,2 мл МПБ), и контроль культуры (в 2,5 мл МПА вносили 1 мл МПБ и 0,2 мл культуры). Наличие негативных колоний на опытных чашках говорит о присутствии бактериофага в исследуемом материале. Результаты учитывали на следующий день. Далее мы отвивали бактериологической петлей негативную колонию, помещали ее в пробирку со стерильным МПБ (4,5 мл), добавляли 0,2 мл суточной культуры и инкубировали при температуре 37°C. Оптимальное время инкубации бактериофагов рода *Klebsiella* - 4 часа, что связано с характером роста культур. После чего сравнивали мутность опытной пробирки с контролем (в 4,5 мл МПБ добавляли 0,2 мл культуры). Просветление опытной пробирки свидетельствовало о лизисе бактериальных клеток клебсиелл бактериофагом. Опытные пробирки прогревали на водяной бане при температуре 60°C в течение 30 минут. Затем мы проводили пассажи (вносили 0,2 мл фаголизата и 0,2 мл суточной культуры в 4,5 мл МПБ, выдерживали в термостате при 37°C, 4-6 часов), для повышения активности фага, добиваясь абсолютной прозрачности опытных пробирок после инкубации фага с культурой по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований нами были выделены 6 бактериофагов, которые лизировали эталонные штаммы бактерий рода *Klebsiella* (К.р. 4463, К.р. 265, К.р. у).

Литература

1. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М., 1961.
2. Красноголовец В.Н., Киселёва Б.С. Клебсиеллёзные инфекции. – М., 1996. – 256с.

УДК 619 : 579

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЦИТРОБАКТЕРНОГО БАКТЕРИОФАГА

С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.П. Пульчеровская
А.П. Пономарев (Всероссийский научно-исследовательский институт
защиты животных)

Многочисленные литературные данные отечественных и зарубежных исследователей свидетельствуют о возрастании этиологической роли патогенных штаммов рода *Citrobacter* в патологии животных и человека.