

5. Золотухин С.Н., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А. // -Вопросы микробиологии, эпизоотологии и ветсанэкспертизы. // Ульяновск, 2000.

УДК 619:579

ВЫДЕЛЕНИЕ И УСКОРЕННАЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ *ESCHERICHIA COLI* СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ O157

С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев, Н.И.Молофеева

Фаготипирование является одним из методов внутривидовой дифференциации бактерий, оно помогает выявить источники и пути циркуляции инфекции, качественнее проводить эпизоотологическое и эпидемиологическое обследование инфекции. Бактериологу оно позволяет дать более точную характеристику возбудителя болезни, а также сократить время исследования.

Используя строгую специфичность селекционированных нами бактериофагов по отношению к патогенным штаммам *E.coli* серологической группы O157, мы разработали схему выделения и ускоренной идентификации этих микроорганизмов и сравнили ее со схемой бактериологического исследования патологического материала, изложенной в действующих «Методических указаниях по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», утвержденных Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ 27.07.2000.

Для этих целей пробы фекалий, контаминированные *E.coli* серологической группы O157, высевали на питательную среду сорбитол агар (прямой посев), инкубировали при температуре 36-37°C 18-20 часов. Выросшие в чашках на сорбитол агаре мелкие и средние полупрозрачные колонии сорбит отрицательные бактерии, имеющие S –форму, с голубоватым оттенком или серовато-голубоватого цвета пересеивали в МПБ (по 4-6 колоний с чашки). Культуры микроорганизмов инкубировали при 37°C в течение 6-18 часов (до появления выраженного помутнения среды).

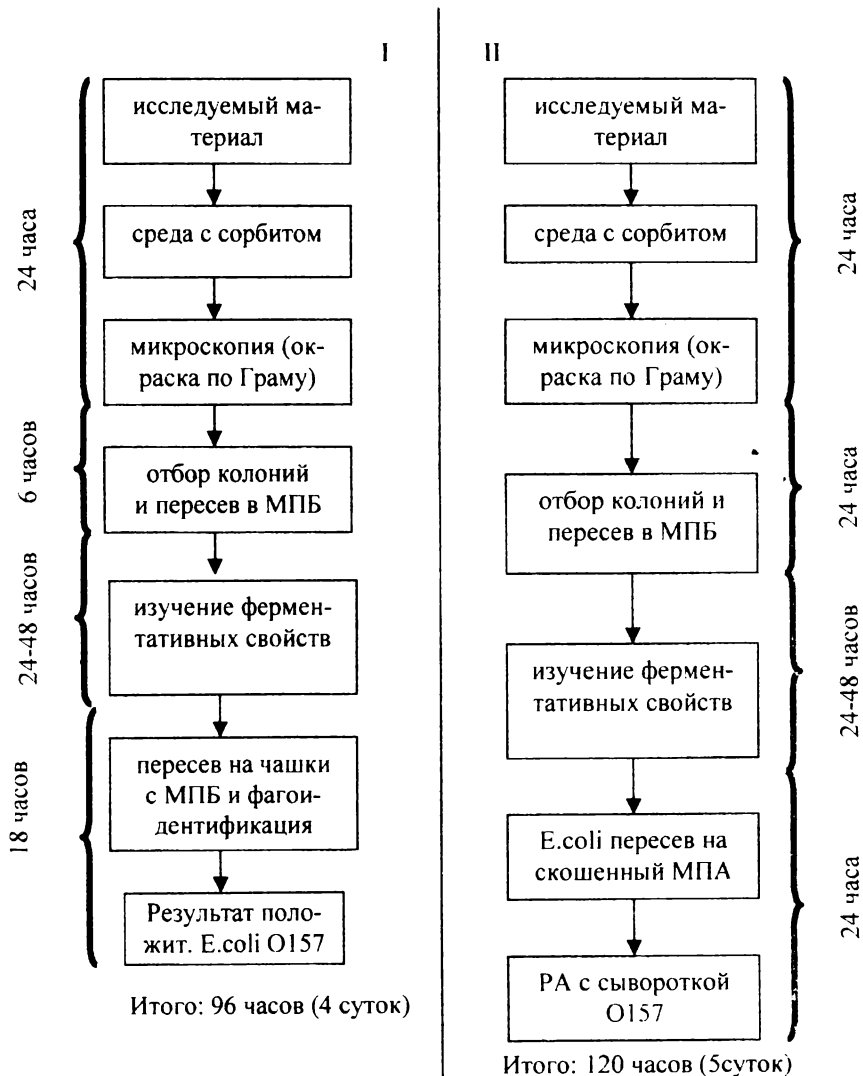
Первичные бульонные культуры, полученные после посева колоний сорбитотрицательных бактерий с культур на сорбитол агаре, микроскопировали (окраска по Граму) и при наличии в мазках мелких грамотрицательных палочек с закругленными концами, не образующих спор, располагающихся одиночно и попарно, подвергали изучению ферментативных свойств. Производили посев на среды (глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, дульцит, мальтоза, сорбит, реакция с метилротом, реакция Фогес-Проскауера, среда Симонса, индол, сероводород, мочевины, желатин, фенилаланин, лизин, орнитин) и при получении результатов, соответствующих бактериям рода *Escherichia*, указанных в таблице 1 данные культуры подвергали фагоидентификации.

Для этого на поверхность МПА в чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 3-4 капли бульонной 18 часовой культуры исследуемых микроорганизмов. Нанесенную культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания на 15-20 минут, затем чашку делили на три сектора и на поверхность засеянной среды пастеровской пипеткой легким прикосновением капли на два сектора наносили по одному штамму фагов, на третий сектор в качестве контроля наносили стерильный МПБ, наклоняли чашку, чтобы капли стекли. Чашки оставляли для подсушивания в боксе на 15-20 минут и помещали в термостат в перевернутом виде на 18-20 часов при 37°C.

1. Дифференциально-диагностические свойства бактерий семейства *Enterobacteriaceae*

| | <i>Escherichia</i> | <i>Citrobacter</i> | <i>Enterobacter</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Proteus</i> | <i>Morganella</i> | <i>Edwardsiella</i> | <i>Yersinia (22-24°C)</i> | <i>Providencia</i> | <i>Hafnia (22-24°C)</i> |
|--------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|----------------|-------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|-------------------------|
| Глюкоза | + | + | + | + | + | + | + | + | (К) | + | (К) |
| Лактоза | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Сахароза | ± | ± | + | + | - | ± | - | ± | ± | ± | ± |
| Маннит | + | + | + | + | + | - | - | ± | + | + | + |
| Дульцит | ± | ± | - | ± | ± | - | - | - | - | - | - |
| Мальтоза | ± | + | + | + | + | ± | - | + | + | - | + |
| Сорбит | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | - |
| Реакция с метилротом | + | + | - | ± | + | + | + | + | + | + | - |
| Реакция Фогес-Проскауэра | - | - | + | ± | - | ± | - | - | ± | - | + |
| Среда Симонса | - | - | + | + | + | ± | - | - | - | + | + |
| Индол | + | ± | - | ± | - | ± | + | + | ± | + | - |
| Сероводород | - | ± | - | - | + | ± | - | ± | - | - | - |
| Мочевина | - | ± | ± | + | - | + | + | - | + | + | - |
| Желатин | - | - | ± | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Фенилаланин | - | - | - | - | - | + | + | - | - | + | - |
| Лизин | + | - | ± | + | + | - | - | - | - | - | + |
| Орнитин | ± | ± | + | - | + | ± | + | + | ± | - | ± |

Схема 1. Выделение и ускоренная идентификация *E.coli* серологической группы O157 с помощью селекционированных нами бактериофагов (I) в сравнении со схемой бактериологического исследования, изложенной в "Методических указаниях по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных, утвержденные Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ 27.07.2000. (II)



Результат исследований считали положительным, если на месте нанесения фагов на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов или без него, а также рост негативных колоний фага. Отрицательным считали результат при отсутствии лизиса на газоне роста исследуемой культуры микроорганизмов и отсутствии лизиса в контроле. При положительном результате культуру относили к виду *E. coli* серологической группы O157. Параллельно проводили бактериологические исследования материала в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных».

Порядок исследований разработанного нами метода в сравнении с традиционной методикой выделения, изложен на схеме №1, из которой видно, что предлагаемая нами схема позволяет выделить и идентифицировать *E.coli* серологической группы O157 за 96 часов (4 суток), тогда как срок бактериологического исследования по схеме, изложенной в «Методических указаниях по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», составил 120 часов (5 суток) при больших затратах посуды и реактивов.

Литература

1. Адамс М. Бактериофаги (перевод с английского). – Москва. -1961. 521 с.
2. Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Померанцев Д.А., Каврук Л.С., Русалиев В.С. Биологические свойства бактериофагов *Y. enterocolitica*. // Ветеринария, 2003, №1.
3. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии// Учебное пособие. - Ульяновск. -1988. -45 С.
4. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Медгиз. -1961. -297 С.
5. Кондратьев К.Н. Бактериофаг. // Конспект лекций. – Чебоксары. – 1977. –48с.
6. «Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», утвержденные Департаментом ветеринарии МСХ и П 27.07.2000.
7. «Методические указания по методам выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки *E.coli* O157:H7», МУК 4.2.992-2000

УДК 619:579

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА

Б.М.Коритняк, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин

Со второй половины 20 века заболеваемость людей иерсиниозами растет. В Нидерландах, Бельгии, Германии, Канаде, Австралии иерсиниоз