

## ИНДИКАЦИЯ ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ ИНFUЗОРИЙ *STYLONYCHIA MYTILUS*

**Чуракова Я. Н.**, студентка 2 курса магистратуры факультета  
ветеринарной медицины и биотехнологии,  
**Ляшенко Е. А.**, кандидат биологических наук, доцент  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГАУ

**Ключевые слова:** токсигенные штаммы, *Stylonychia mytilus*

*Работа посвящена изучению возможности обнаружения токсигенных штаммов с помощью инфузорий стилонихий. При работе было установлено, что тип штамма бактерии влияет на жизнеспособность стилонихий.*

С каждым годом количество случаев бактериальных инфекций увеличивается, что в свою очередь создает необходимость в разработке более эффективных методов диагностики и их лечения.

Токсигенные штаммы бактерий могут вырабатывать опасные токсины, которые способны вызывать серьезные заболевания у человека и животных. Быстрая и точная идентификация таких штаммов критически важна для предотвращения распространения инфекций. Точная и оперативная диагностика токсигенных штаммов бактерий играет ключевую роль в выборе оптимального лечения и предотвращении осложнений. [2, 4, 5, 6].

Существующие методы диагностики токсигенных штаммов бактерий могут быть дорогостоящими, трудоемкими или недостаточно чувствительными. Поэтому поиск новых подходов, таких как использование инфузорий *Stylonychia mytilus*, является важным направлением исследований. В лабораторной практике известен достаточно простой метод тестирования токсичности кормов (качественный метод определения наличия микотоксинов) с помощью инфузорий. В связи с этим цель работы состояла в апробации метода индикации токсигенных штаммов с помощью инфузорий стилонихий.

В своем исследовании мы взяли 5 наиболее распространенных

токсигенных штаммов: *Enterococcus faecalis*, *E. coli* O 157, *S. typhimurium*, *Listeria monocytogenes* 766, *Listeria innocua*. Культивирование инфузорий проводили в среде Лозина-Лозинского. [3]

Алгоритм исследования состоял в следующем. На предметное стекло мы наносили 20 мкл суточной среды инфузорий, затем подсчитывали их количество (для удобства подсчета желательно, чтобы количество инфузорий составляло 10-20 особей в поле зрения) с помощью микроскопа (увеличение  $2 * 8$ ), затем добавляли 20 мкл бульонной тест-культуры штаммов указанных выше. По истечению 5 минут подсчитывали примерное количество инфузорий, для того чтобы исключить погрешность, связанную с влиянием разных факторов окружающей среды (запах, колебания температуры, осмотического давления), так как инфузории очень чувствительны к ним. Затем стекла с инфузориями помещали в чашки Петри, которые помещали в термостат с температурой 23°C. Для того чтобы капли с инфузориями не высыхали, на дно чашки клали фильтровальную бумагу, смоченную водопроводной водой. Спустя 20, 30, 40, 50, 60 минут подсчитывали число живых инфузорий, в сравнении с контролем. Погибшими считали только лизированные особи. Для получения наиболее достоверных данных, опыт проводили 3 раза, после чего подсчитывали средний показатель [1]. Результаты исследований указали в таблице 1.

**Таблица 1. Определение лизиса инфузорий при экспозиции с токсигенными штаммами бактерий**

время экспозиции, мин	суточная среда инфузорий (контроль)	Штаммы токсигенных бактерий				
		<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>E. coli</i> O 157	<i>S. typhimurium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> 766	<i>Listeria innocua</i>
5	34	30	28	35	33	26
20	30	15	7	13	20	22
30	33	-	-	5	18	14
40	35	-	-	-	11	6
50	37	-	-	-	-	3
60	40	-	-	-	-	-

Исходя из данных таблицы можно сделать вывод, что лизис стилонихий происходит спустя 30 мин при экспозиции с токсигенными штаммами *Enterococcus faecalis* и *E. coli* O 157, а спустя час наступала гибель всех тестируемых штаммов.

Дальнейшие исследования были связаны с установлением

количества стилонихий при экспозиции с разными титрами токсигенных штаммов в течение 5, 20, 30, 60 и 180 минут. Для этого бактериальные культуры (*Enterococcus faecalis*, *E. coli* O 157, *S. typhimurium*, *Listeria monocytogenes* 766, *Listeria innocua*) (1 млрд. бактериальных клеток) титровали (1:10). В результате титрования получали ряд пробирок с бактериальной суспензией штаммов на физиологическом растворе. Брали пробирки с разведением ( $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  м.к. в 1 мл). Исследование со стилонихиями проводили аналогично как в первом опыте. Результаты оформили в таблицу 2.

**Таблица 2. Определение лизирующего инфузории титра токсигенных штаммов бактерий**

время экспозиции и стилонихий со штаммами, мин	Штаммы токсигенных бактерий в разведениях															
	суточная среда инфузорий (контроль)	<i>Enterococcus faecalis</i>			<i>E. coli</i> O 157			<i>S. typhimurium</i>			<i>Listeria monocytogenes</i> 766			<i>Listeria innocua</i>		
		$10^7$	$10^8$	$10^9$	$10^7$	$10^8$	$10^9$	$10^7$	$10^8$	$10^9$	$10^7$	$10^8$	$10^9$	$10^7$	$10^8$	$10^9$
5	34	32	28	34	37	31	29	28	32	36	36	28	27	25	31	32
20	30	27	26	30	30	28	27	22	27	30	31	25	26	19	29	30
30	33	24	21	30	29	27	24	20	24	29	26	24	24	18	26	28
60	38	21	21	28	25	25	24	18	23	27	25	22	23	16	25	24
180	45	18	19	24	23	23	21	18	23	27	23	22	21	15	24	23

На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что титр микробных клеток влияет на жизнеспособность стилонихий. При титре штаммов токсигенных бактерий  $10^7$  в течение часа 50% стилонихий лизируются.

Таким образом, индикация токсигенных штаммов бактерий с помощью инфузорий *Stylonychia mytilus* возможна в качестве первичного теста обнаружения токсигенных штаммов, при вероятности высокой зараженности ими.

### Библиографический список:

1. Идиятов И. И. и др. Оценка воздействия пробиотических штаммов на инфузориях //Ветеринарный врач. – 2020. – №. 3. – С. 21-27.
2. Шевелева С. А. и др. Микробиологическая безопасность пищи: развитие нормативной и методической базы //Вопросы питания. – 2020. – Т. 89. – №. 4. – С. 125-145.
3. Kirby H. Materials and Methods in the Study of Protozoa. – Univ of California Press, 2023.
4. Изучение патогенности полевых штаммов бактерий *Xanthomonas campestris* / П. С. Майоров, Н. А. Феоктистова, Е. А. Ляшенко, В. С. Хайсанова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 4(60). – С. 129-132. – DOI 10.18286/1816-4501-2022-4-129-132. – EDN HOETFX.
5. Разработка систем генетической детекции фитотоксинов коронатина и сирингопептина в геномах бактериофагов *Pseudomonas syringae* / Н. А. Феоктистова, А. В. Мастиленко, Е. В. Сульдина, И. И. Богданов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 3(59). – С. 128-134. – DOI 10.18286/1816-4501-2022-3-128-134. – EDN FYWZEP.
6. Разработка и апробация полимеразно-цепной реакции для индикации и идентификации фитопатогенных грибов *Aspergillus flavus* / Н. А. Феоктистова, А. В. Мастиленко, Е. В. Сульдина, А. А. Ломакин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 4(60). – С. 111-116. – DOI 10.18286/1816-4501-2022-4-111-116. – EDN FEBPXE.

## INDICATION OF TOXIGENIC BACTERIAL STRAINS USING STYLONYCHIA MYTILUS INFUSORIA

**Churakova Y. N., Lyashenko E. A.**  
**FSBEI HE Ulyanovsk SAU**

**Keywords:** *toxigenic strains, Styloynchia mytilus*

*The work is devoted to studying the possibility of detecting toxigenic strains using styloynchia infusoria. During the work, it was found that the titer of the bacterial strain affects the viability of styloynchia.*