

drugs bacteriophages delineated scope, specific examples of the use of drugs in clinical practice and in the complex epidemiological measures. Also state the main advantages of bacteriophages drugs versus antibiotic drug.

УДК 619:579

ИНДИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA*, С ПОМОЩЬЮ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БАКТЕРИОФАГОВ, В ОБЪЕКТАХ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА

Ляшенко Е.А., кандидат биологических наук, доцент, elena-118@mail.ru

Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор, dav_uk@mail.ru

Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор,

8(8422) 55-95-47, fym.zol@yandex.ru

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Ключевые слова: *бактериофаги, индикация, клебсиелла, бактерии.*

*Работа основывается на изучении использования РНФ с индикаторными бактериофагами для обнаружения бактерий рода *Klebsiella*.*

*В результате проведенных исследований, можно утверждать об успешном применении метода – РНФ с индикаторными бактериофагами К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА диагностическая чувствительность которого позволяет обнаруживать бактерии рода *Klebsiella* в минимальной концентрации $10^3 - 10^4$ м.к./мл за 18 – 22 часа.*

Введение. Этиологическая роль клебсиелл известна при маститах, септицемиях коров, свиней, лошадей, обезьян, инфекционной диарее молодняка животных [2, 6]. Альтернативой существующим методам лабораторной диагностики, которые либо не позволяют быстро идентифицировать бактерии, либо пока недоступны для большинства лабораторий, являются специфические бактериофаги [2, 3, 4, 5].

По литературным данным об использовании специфических бактериофагов для индикации бактерий сообщают ряд исследователей [2, 3, 4, 5]. Учитывая выраженную специфичность индикаторных бактериофагов и простоту количественного учета фага, был предложен метод определения патогенных бактерий из исследуемого материала без выделения чистой культуры – реакция нарастания титра фага (РНФ) [1]. Сущность РНФ в том, что если в материале присутствует искомый возбудитель, то добавленный в исследуемый материал гомологичный фаг, вступив во взаимодействие с ним, размножится и дальнейшее увеличение свободного фага укажет на наличие возбудителя. **Цель исследования:** изучение возможности использования РНФ с индикаторными бактериофагами для обнаружения бактерий рода *Klebsiella*.

Материалы и методы исследования. Исследованию подвергались пробы комбикорма, воды, фекалий, мяса. В качестве индикаторных бактериофагов использовали штаммы К - 10 и К - 81 серии УГСХА. Индикацию бактерий рода *Klebsiella* в объектах ветеринарного надзора

проводили с помощью реакции нарастания титра фага по методике описанной В.Д. Тимаковым, Д.М. Гольдфарбом (1961), В.Я. Ганюшкиным (1988). Одновременно исследования проводили бактериологическим методом, в соответствии с правилами, представленными в «Методических указаниях по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями». Полученный в исследованиях цифровой материал обрабатывали с использованием стандартных программ статистического анализа «STATISTIKA».

Результаты исследований и их обсуждения. Пробы водопроводной воды, комбикорма, мяса и фекалий в количестве 5 мл(г) вносили в колбы и контаминировали бактериями рода *Klebsiella* в концентрации 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10^1 м.к./мл, заливали МПБ из расчета 10 мл бульона на 1 мл воды и ставили контроль – колбу с пробой (воды, комбикорма, мяса и фекалий) не контаминированной бактериями рода *Klebsiella*. Результат реакции учитывали по количеству образовавшихся негативных колоний фага в опытных и контрольных чашках.

Положительная реакция характеризовалась увеличением количества корпускул фага по сравнению с контролем в 5 и более раз.

Увеличение количества фагов в искусственно инфицированной водопроводной воде, представлена в табл. 1.

Таблица 1 – Увеличение количества фагов в искусственно инфицированной штаммами бактерий рода *Klebsiella* водопроводной воде

Концентрация индикаторных штаммов бактерий	Бактериофаги			
	К - 10 УГСХА		К - 81 УГСХА	
	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)
10^5	лизис	> 10	лизис	> 10
10^4	лизис	> 10	лизис	> 10
10^3	420 ± 3,21	5,9	350 ± 3,05	5
10^2	160 ± 3,05	2,2	142 ± 3,05	2
10^1	77 ± 2,08	1	80 ± 3,78	1
Контрольная проба	71 ± 2,64	0	70 ± 1,15	0
Контроль «дикого» фага	0	0	0	0

По результатам проведенных исследований водопроводной воды установлено, что увеличение титра фагов К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА более чем в 5 раз произошло при концентрации бактерий рода *Klebsiella* 10^3 микробных клеток в 1 мл водопроводной воды.

Увеличение количества фага в искусственно инфицированном комбикорме, показано в табл. 2.

Таблица 2 – Увеличение количества фагов в искусственно инфицированном штаммами бактерий рода *Klebsiella* комбикорме

Концентрация индикаторных штаммов бактерий	Бактериофаги			
	К - 10 УГСХА		К - 81 УГСХА	
	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)
10 ⁵	лизис	> 10	лизис	> 10
10 ⁴	лизис	> 10	лизис	> 10
10 ³	630 ± 3,46	8,6	437 ± 9,60	5,5
10 ²	212 ± 1,52	2,9	201 ± 5,13	2,5
10 ¹	75 ± 2,64	1	77 ± 3,51	0
Контрольная проба	73 ± 2,00	0	79 ± 2,64	0
Контроль «дикого» фага	0	0	0	0

В результате проведенного опыта, увеличение титра фагов К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА более чем в 5 раз произошло при концентрации бактерий рода *Klebsiella* 10³м.к./г комбикорма, при наличии посторонней микрофлоры.

Увеличение титра фагов К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА более чем в 5 раз произошло при концентрации бактерий рода *Klebsiella* 10³м.к./г мяса (табл. 3).

Таблица 3 – Увеличение количества фага в искусственно инфицированном штаммами бактерий рода *Klebsiella* мясе

Концентрация индикаторных штаммов бактерий	Бактериофаги			
	К - 10 УГСХА		К - 81 УГСХА	
	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)
10 ⁵	лизис	> 10	лизис	> 10
10 ⁴	лизис	> 10	лизис	> 10
10 ³	690 ± 3,21	10	770 ± 2,88	10,2
10 ²	164 ± 2,08	2,3	159 ± 2,08	2,1
10 ¹	70 ± 5,68	1	68 ± 3,51	0
Контрольная проба	69 ± 0,57	0	75 ± 2,64	0
Контроль «дикого» фага	0	0	0	0

Таблица 4 – Увеличение количества фага в искусственно инфицированных штаммами бактерий рода *Klebsiella* фекалиях

Концентрация индикаторных штаммов бактерий	Бактериофаги			
	К - 10 УГСХА		К - 81 УГСХА	
	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)	Количество колоний фага (М ± m)	Увеличение кол-ва фага (раз)
10 ⁵	565 ± 11,23	7,8	803 ± 4,58	10
10 ⁴	369 ± 7,81	5,1	401 ± 3,51	5
10 ³	70 ± 4,04	0	85 ± 6,02	1
10 ²	73 ± 3,21	1	82 ± 3,60	1
10 ¹	70 ± 3,60	0	68 ± 4,35	0
Контрольная проба	72 ± 1,00	0	80 ± 1,7	0
Контроль «дикого» фага	0	0	0	0

Из результатов опыта видно, что увеличение титра фагов К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА более чем в 5 раза произошло при концентрации бактерий рода *Klebsiella* 10⁴ микробных клеток в 1 г фекалий. Такое снижение чувствительности связано с высокой обсемененностью данного объекта посторонней микрофлорой. С увеличением инкубации бактериофагов с материалом до 10 часов диагностическая чувствительность повышалась и позволяла обнаруживать указанные бактерии в концентрации 10³ м.к./г за 22 часа.

Полученные данные при исследовании воды, комбикорма и мяса подтверждают увеличение титра фагов более чем в 5 раз при минимальной концентрации бактерий рода *Klebsiella* 10³ м.к./мл. При исследовании фекалий бактерии рода *Klebsiella* обнаруживались в концентрации 10⁴ м.к./г, а с увеличением инкубации бактериофагов с материалом до 10 часов обнаруживали данные бактерии в концентрации 10³ м.к./г за 22 часа.

Бактериологическим методом в исследованных пробах воды, комбикорма, мяса и фекалий бактерии рода *Klebsiella* обнаруживались в концентрации 10⁴ м.к./мл за 96 часов.

Заключение. В результате проведенных исследований по обнаружению бактерий рода *Klebsiella* в контаминированных указанными микроорганизмами объектах ветеринарного надзора, можно утверждать об успешном применении метода – РНФ с индикаторными бактериофагами К - 10 УГСХА и К - 81 УГСХА диагностическая чувствительность которого позволяет обнаруживать бактерии рода *Klebsiella* в минимальной концентрации 10³ – 10⁴ м.к./мл за 18 – 22 часа. Из чего следует, что РНФ является высокочувствительным методом, позволяющим обнаружить бактерии рода *Klebsiella* даже в случаях, когда выделение культуры в чистом виде практически невозможно из-за наличия большого количества посторонней микрофлоры.

Библиографический список

1. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. – Ульяновск, 1988. – 45 с.
2. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: Автореф. дис. ... до-ра биол. наук. – Ульяновск, 2007. – 39 с.
3. Тимаков В.Д., ГольдфарбД.М. Реакция нарастания титра фага (РНФ).– М., 1962.– 32 с.

4. Молофеева Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *E. coli* 0157 и их применение в диагностике: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – 20 с.
5. Пульчеровская Л.П. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – 21 с.
6. Семенцов В.И., и др. Клебсиеллез поросят. / В.И. Семенцов, И.А. Болоцкий, О.П. Ольховик и др. // Ветеринария Кубани. – 2009. - № 6. - С. 15-17.

DISPLAY TYPE BACTERIA KLEBSIELLA, WITH SPECIFIC BACTERIOPHAGE, IN VETERINARY SURVEILLANCE OBJECTS

Liashenko E.A., Vasilyev D.A., Zolotukhin S.N.

Keywords: *bacteriophage display, Klebsiella, bacteria.*

The work is based on a study of RNF with indicator bacteriophages to detect bacteria of the genus Klebsiella.

As a result of the research, it can be argued on the successful use of the method - RNF with indicator bacteriophages to - 10 UGSKHA and K - 81 UGSKHA diagnostic sensitivity that can detect bacteria of the genus Klebsiella at a minimum concentration of 10³ - 10⁴ m.k./ml for 18 - 22 hours.

УДК: 679.61

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ В КЛИНИКЕ ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

*Мидленко В.И. *, доктор медицинских наук, профессор
Золотухин С.Н. **, доктор биологических наук, профессор
тел. 8(8422) 55-95-47, fym.zol@yandex.ru*

*Шевалаев Г.А. *, кандидат медицинских наук, доцент, shga63@rambler.ru*

*Ефремов И.М. *, ассистент кафедры госпитальной хирургии
efremov-im@rambler.ru*

Пичугин Ю.В., врач рентгенолог, udgin-777@mail.ru

**ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»*

***ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

Ключевые слова: *бактериофаги, хронический остеомиелит, инфекция области хирургического вмешательства*

Анализ этиологической структуры возбудителей гнойных послеоперационных осложнений показал ведущую роль стафилококков в развитии этих процессов у травматологических больных, при хирургическом вмешательстве в 83% и при хроническом остеомиелите в 70% случаев.

*Поливалентный пибактериофаг лизировал 78% грамположительных бактерий, в том числе полирезистентных к антибиотикам штаммов *St. aureus*.*