

## ИНДИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА *Y. PSEUDOTUBERCULOSIS* МЕТОДОМ РНФ В ОБЪЕКТАХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

**Н.П. Журавская**, кандидат биологических наук  
тел. 8(8422)55-95-47, nadikatmakova@gmail.com  
**С.Н. Золотухин**, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422)55-95-47, fvm.zol@yandex.ru  
**Д.А. Васильев**, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422)55-95-47, dav\_ul@mail.ru  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

**Ключевые слова:** индикация, индикаторные бактериофаги, *Yersinia pseudotuberculosis*, реакция нарастания титра фага.

Статья содержит описание схемы индикации бактерий вида *Y. pseudotuberculosis* в пробах водопроводной воды методом реакции нарастания титра фага (РНФ). В результате исследований авторами установлено, что положительный результат РНФ с псевдотуберкулезными бактериофагами отмечается в пробах с содержанием бактерий *Y. pseudotuberculosis* в концентрации  $10^3$  -  $10^4$  м.к./мл.

**Введение.** В настоящее время исследователи уделяют большое внимание разработке простых и надежных методов обнаружения патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды.

Псевдотуберкулез – зооантропонозная кишечная инфекция, вызываемая бактериями вида *Yersinia pseudotuberculosis*. Свойство *Y. pseudotuberculosis* длительно существовать и размножаться в окружающей среде при низких температурах способствует накоплению возбудителя в пищевом сырье и продуктах в инфицируемой дозе.

Типичная схема выделения бактерий вида *Y. pseudotuberculosis* включает несколько этапов: выдерживание исследуемого материала в среде накопления, посев на плотные селективные среды, изучение ферментативных свойств выделенных культур [3]. Эффективность данного метода ограничена сроками исследования материала от начала заболевания, что связано с биологическими особенностями возбудителей.

В диагностической практике для ускоренного обнаружения и идентификации энтеробактерий в объектах внешней среды предложены индикаторные бактериофаги [1, 2]. Нами выделены фаги, активные в отношении бактерий вида *Y. pseudotuberculosis*. Установлено, что выделенные фаги обладают высокой литической активностью (не ниже  $10^8$  по Аппельману,  $10^9$  по Грациа), широким спектром литической активности, строго специфичны и могут использоваться для индикации иерсиний методом реакции нарастания титра фага (РНФ) [4].

Для определения возможности индикации бактерий вида *Y. pseudotuberculosis* с помощью РНФ в объектах внешней среды исследовали пробы водопроводной воды.

**Материалы и методы исследований.** Для проведения исследований использовали пробы водопроводной воды, индикаторные культуры *Y. pseudotuberculosis*, индикаторные псевдотуберкулезные бактериофаги УР-2, УР-7 УГСХА. Постановку РНФ проводили по методикам, предложенным В.Д. Тимаковым, Д.М. Гольдфарбом [5].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Пробы водопроводной воды в объеме 5,0 мл вносили в колбы со стерильным МПБ (50 мл), добавляли по 1,0 мл индикаторных 18-часовых культур *Y. pseudotuberculosis* в разведениях  $10^1$  –  $10^5$  м.к./мл, перемешивали в течение 10 минут. Контрольной служила колба с пробой воды без добавления бактерий *Y. pseudotuberculosis*. Постановку реакции проводили для каждого разведения культуры.

На каждую исследуемую пробу брали три пробирки: № 1 – опытная, № 2 – контроль на «свободный» фаг, № 3 – контроль титра индикаторного фага. Содержимое каждой колбы разливали по 9 мл в пробирки № 1 и № 2, пробирка № 3 содержала 9 мл стерильного МПБ. В пробирки № 1 и № 3 вносили по 1,0 мл индикаторного фага в рабочем разведении. В пробирку № 2 добавляли 1,0 мл стерильного МПБ. Параллельно ставили контроль стерильности сред. Пробирки помещали в термостат на 7 часов.

Через 7 часов инкубирования при температуре 37 °С пробирки вынимали из термостата, содер-

**Таблица 1– Результат РНФ с фагом УР-2 УГСХА при исследовании водопроводной воды, загрязненной бактериями *Y. pseudotuberculosis***

| Концентрация культуры, м.к./мл | Количество негативных колоний, шт |           |           | Наращение титра, раз | Результат РНФ |
|--------------------------------|-----------------------------------|-----------|-----------|----------------------|---------------|
|                                | Чашка № 1                         | Чашка № 2 | Чашка № 3 |                      |               |
| 10 <sup>1</sup>                | 5                                 | –         | 5         | –                    | –             |
| 10 <sup>2</sup>                | 3                                 | –         | 14        | –                    | –             |
| 10 <sup>3</sup>                | 74                                | –         | 8         | 9                    | +             |
| 10 <sup>4</sup>                | лизис                             | –         | 9         | более 20             | +             |
| 10 <sup>5</sup>                | лизис                             | –         | 10        | более 20             | +             |
| Контроль                       | 14                                | –         | 11        | –                    | –             |

**Таблица 2 – Результат РНФ с фагом УР-7 УГСХА при исследовании водопроводной воды, загрязненной бактериями *Y. pseudotuberculosis***

| Концентрация культуры, м.к./мл | Количество негативных колоний, шт |           |           | Наращение титра, раз | Результат РНФ |
|--------------------------------|-----------------------------------|-----------|-----------|----------------------|---------------|
|                                | Чашка № 1                         | Чашка № 2 | Чашка № 3 |                      |               |
| 10 <sup>1</sup>                | 6                                 | –         | 20        | –                    | –             |
| 10 <sup>2</sup>                | 10                                | –         | 12        | –                    | –             |
| 10 <sup>3</sup>                | 10                                | –         | 11        | –                    | –             |
| 10 <sup>4</sup>                | 120                               | –         | 15        | 8                    | +             |
| 10 <sup>5</sup>                | лизис                             | –         | 14        | более 20             | +             |
| Контроль                       | 7                                 | –         | 9         | –                    | –             |

жимое в количестве 0,25 мл вносили в пробирки с 4,5 мл МПБ (для возможности подсчета негативных колоний в контроле титра индикаторного фага), обрабатывали хлороформом (1:10) для инактивации посторонней микрофлоры, после чего исследовали методом агаровых слоев. Опытные чашки помещали в термостат на 12-16 часов.

Результаты исследований показали, что положительный результат РНФ с фагом УР-2 УГСХА (увеличение титра фага в 5 и более раз) при исследовании водопроводной воды наблюдается в пробах при кон-

таминации бактериями *Y. pseudotuberculosis* в концентрации 10<sup>3</sup> м.к./мл (табл. 1).

Увеличение титра бактериофага УР-7 УГСХА более чем в 5 раз произошло при концентрации 10<sup>4</sup> микробных клеток *Y. pseudotuberculosis* в 1 мл водопроводной воды (табл. 2).

Заключение. Метод РНФ с применением специфических бактериофагов позволяет обнаружить в исследуемых пробах водопроводной воды бактерии *Y. pseudotuberculosis* в концентрации 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> м.к./см<sup>3</sup> за 19-22 часа.

#### **Библиографический список:**

1. Выделение и селекция клонов бактериофагов патогенных энтеробактерий / С.Н. Золотухин [и др.] // Материалы международной научно-практической конференции «Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных», 21-23 июня, 2006. – Ульяновск, 2006. – С. 227-231.
2. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных. – Ульяновск, 2004., 130 с.
3. Иерсинии и иерсиниозы / [Бургасова О.А. и др.]; под редакцией Г.Я. Ценековой. – Спб. – 2006. – 168 с.
4. Катмакова, Н.П. Поиск и селекция псевдотуберкулезных фагов / Н.П. Катмакова, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Ветеринарная медицина. – Москва, 2009. - № 4. – С. 19 – 20.
5. Тимаков, В.Д. Реакция нарастания титра фага (РНФ) / В.Д. Тимаков, Д.М. Гольдфарб. – М., 1962. – С. 32.

## THE INDICATION BACTERIA OF THE SPECIES *Y. PSEUDOTUBERCULOSIS* BY METHOD RNF IN ENVIRONMENTAL OBJECTS

Zhuravskaya N.P., Zolotukhin S.N., Vasiliev D.A.

**Key words:** indication, indicator bacteriophages, *Yersinia pseudotuberculosis*, reaction phage titer rise.

The article contains a description of the scheme indicating the type *Y. pseudotuberculosis* bacteria in samples of tap water by the reaction rise phage titer (RNF). As a result of studies, the authors found that a positive result with RNF *pseudotuberculosis* bacteriophages observed in samples containing *Y. pseudotuberculosis* bacteria at a concentration of the microbial cells  $10^3$ - $10^4$  in 1 ml.

УДК 619:616-07

## ВЫЯВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ МИКРОБНЫХ БИОЦЕНОЗОВ В СИСТЕМЕ ГОРЯЧЕГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ ТЭЦ-3 Г. УЛЬЯНОВСКА

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422)55-95-47, dav ula mail.ru

Н.Н. Карамышева, кандидат биологических наук, старший преподаватель  
тел. 8(8422)55-95-47, Natali-kar@inbox.ru

Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент  
тел. 8(8422)55-95-47, Feokna@yandex.ru

А.Г. Шестаков, кандидат биологических наук, старший преподаватель  
тел. 8(8422)55-95-47, andrewsh@newmail.ru

Д.Г. Сверкалова, кандидат биологических наук, старший преподаватель  
тел. 8(8422)55-95-47, da2307@ya.ru

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

**Ключевые слова:** железобактерии, микробные сообщества, техническая вода, *Leptothrix ochracea*, *Arhtrobacter siderocapsulatus*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Leptospirillum ferrooxidans*.

**Введение.** На сегодняшний день имеет-ся целый ряд методов выявления наличия в технической воде определённых микроорганизмов. Бактериологический анализ воды представляет собой комплекс тестов, которые определяют уровень биологической загрязнённости воды, а также наличие нахождения в ней различных микроорганизмов [1].

Целью наших исследований было определение наличия микробных сообществ в системе горячего водоснабжения г. Ульяновска и изучение биологических свойств выделенных бактерий.

**Материалы и методы.** Материалами исследования являлись пробы сетевой воды системы централизованного теплоснабжения, подключенной

к Ульяновской ТЭЦ-3. Используемые питательные среды: среда Сильвермана и Лундгрена для бактерий *Thiobacillus ferrooxidans*, среда Виноградского для выделения нитрифицирующих бактерий, среда Хариссона для определения железобактерий, среда по Ван Вейну с набором минеральных солей для выделения и культивирования *Leptothrix*, среда Принсгейма в модификации Тилера для выделения одноклеточных железобактерий *Arhtrobacter siderocapsulatus* (*Siderocapsa eusphaera*), среда Сабуро для культивирования дрожжей и плесневых грибов; среда Постгейта «В» для определения сульфатредуцирующих бактерий, LD агар для облигатно анаэробных клостридий [2].