

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СРАВНЕНИЕ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА
ENTEROBACTERIACEAE В ОБРАЗЦАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПОПУГАЯ,
СИНИЦЫ, ЗМЕИ, И ВЫРАЩЕННЫХ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ**

**DEFINITION AND COMPARISON OF BACTERIA THE FAMILY
ENTEROBACTERIACEAE IN SAMPLES OBTAINED FROM A PARROT,
TITMOUSE, SNAKE GROWN ON NUTRIENT MEDIA**

А. А. Неугодникова, студент

Е. П. Шупиченко, студент

И. М. Хайрова, старший преподаватель

Н. В. Телятникова, кандидат ветеринарных наук, доцент

Уральский государственный аграрный университет

(Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

Рецензент: Н. И. Женихова, кандидат ветеринарных наук, доцент

Аннотация

В статье рассматриваются этапы проведения микробиологического исследования полученных образцов в лабораторных условиях для освоения практических навыков: сбор образцов, транспортировка, микробиологическое исследование на наличие сальмонелл с использованием среды Эндо и Висмут-сульфитного агара.

Ключевые слова: микробиологическое исследование, сальмонеллы, биологические материалы, чашки Петри, среда Эндо, Висмут-сульфитный агар.

Summary

The article discusses the stages of microbiological examination of the samples obtained in the laboratory for the development of practical skills: sample collection, transportation, microbiological examination for the presence of salmonella using Endo and vis-mut-sulfite agar.

Keywords: microbiological research, salmonella, biological materials, Petri dishes, Endo medium, bismuth-sulfite agar.

Введение

Бактерии группы кишечной палочки (БГКП, также называются колиформными и колиформными бактериями – условно выделяемая по морфологическим и культуральным признакам группа бактерий семейства энтеробактерий, используемая санитарной микробиологией в качестве маркера фекальной контаминации, относятся к группе санитарно-показательных микроорганизмов. К бактериям группы кишечных палочек относят представителей родов *Escherichia* (в том числе и *E. coli*), *Citrobacter* (типичный представитель *C. coli citrovorum*), *Enterobacter* (типичный представитель *E. aerogenes*), которые объединены в одно семейство *Enterobacteriaceae* благодаря общности морфологических и культуральных свойств. Колиформные бактерии различаются ферментативными свойствами и антигенной структурой. Бактерии группы кишечных палочек – короткие (длина 1-3 мкм, ширина 0,5-0,8 мкм) полиморфные подвижные и неподвижные грамтрицательные палочки, не образующие спор [1].

Сальмонеллы – род неспороносных бактерий, имеющих форму палочек. Возбудителем такого заболевания, как сальмонеллёз, является род *Salmonella* семейства Enterobacteriaceae. Это небольшие грамотрицательные палочковидные микроорганизмы, которые могут двигаться за счёт жгутиков. По типу метаболизма они являются факультативными анаэробами. Среди основных факторов патогенности выделяют: способность к адгезии на энтероцитах, инвазии, бактериемии, токсинообразованию, а также обладают персистенцией в клеточной цитоплазме. Сальмонеллы способны расщеплять углеводы, образуют лактозы, сахарозы, кислоту и газ. Сальмонеллы являются возбудителями острых заболеваний, поражающих органы пищеварения. Заражению подвержены как люди, так и животные. В связи с этим важно исследовать как самих животных, так и продукцию животного происхождения для предотвращения и снижения уровня заболеваемости. После перенесенного заболевания в 20% случаев возникает бактерионосительство, которое может продолжаться до конца жизни животного. Сальмонеллы способны сохранять свои патогенные свойства до года [2]. Рассмотрим на рисунке 1 диаграмму сохранности патогенных свойств сальмонелл в разных средах.

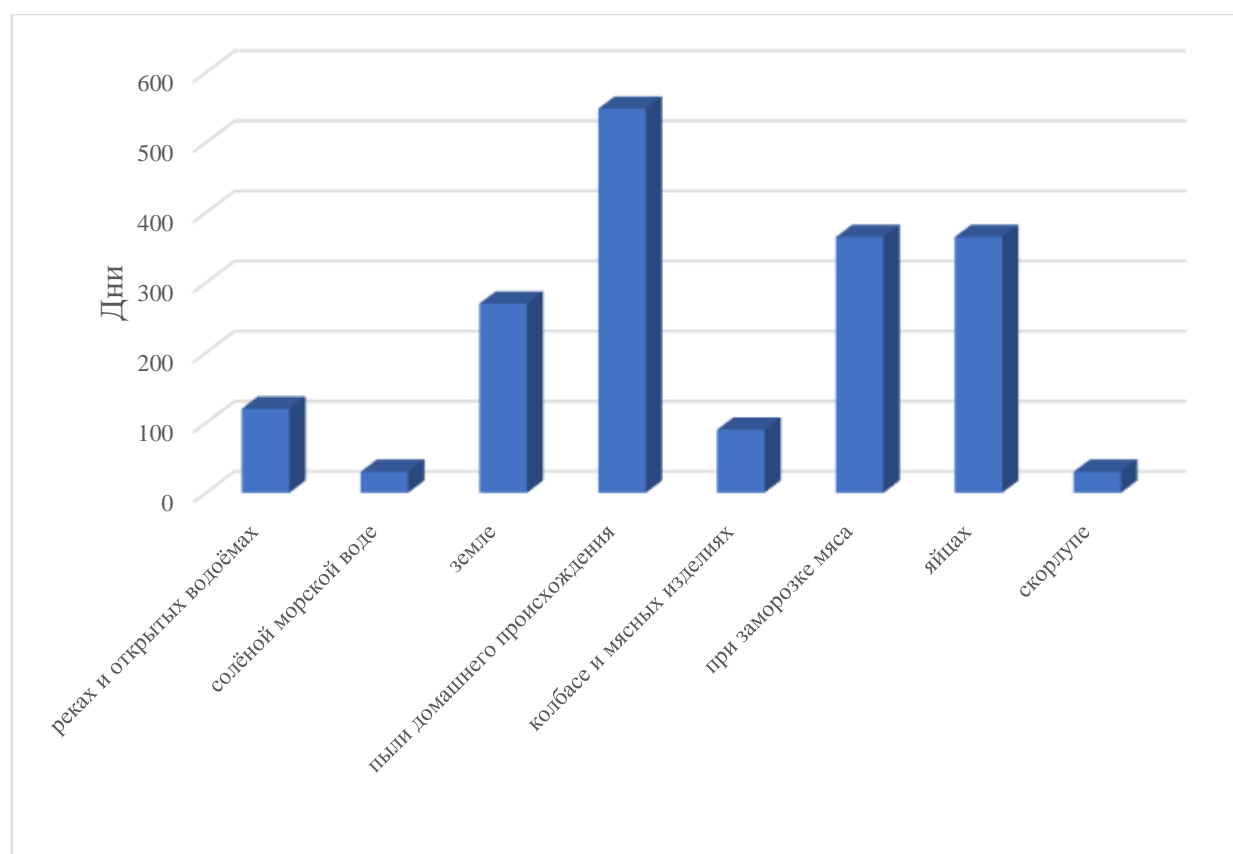


Рис. 1. Сохранность патогенных свойств сальмонелл в разных средах

Наиболее высокая сохранность патогенных свойств наблюдается в домашней пыли до 550 дней, а наименьшая в образцах соленой морской воды и скорлупе яиц - 21 день.

Сбор материала

Для бактериологического исследования в лабораторию кафедры хирургии, акушерства и микробиологии Уральского ГАУ были доставлены 3 пробы (от попугая, синицы, змеи, принадлежащих частному лицу). Материалы были отобраны с помощью транспортной среды Стюарта и доставлены в тот же день.

Среда Эндо

Является дифференциально-диагностической средой для грамотрицательных микроорганизмов кишечной группы, ферментирующих и неферментирующих лактозу. Используется для микробиологического исследования воды, молочных и других пищевых продуктов.

Принцип действия следующий: сульфит натрия и основной фуксин имеют подавляющий эффект на грамположительные микроорганизмы. Лактоза способна разлагаться микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид же со своей стороны освобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний. Особенно данная реакция выражена у кишечных палочек. Она сопровождается кристаллизацией фуксина. Главным проявлением является зеленоватый металлический блеск колоний.

Если рост бесцветный, бежевый или не розовый, лактоза не используется и, вероятно, это грамотрицательные бактерии, не являющиеся колиформными. Если хороший рост, розовый (красный), используется лактоза, и бактерии, вероятно, являются грамотрицательными колиформными бактериями. Если хороший розово-красный цвет с ярким металлическим блеском, лактоза широко используется, и бактерии, вероятно, являются грамотрицательными колиформными бактериями [3, 4].

Висмут-сульфитный агар

Питательная селективная среда зеленовато-горохового цвета для выделения сальмонелл. Пептический перевар животной ткани вместе с мясным экстрактом служат источником серы, углерода, витаминов группы В, азотистых питательных веществ, микроэлементов. Они в свою очередь необходимы для роста бактерий.

Бриллиантовый зеленый имеет свойство подавлять рост всех грамположительных бактерий. В качестве ферментируемого углевода выступает глюкоза. Сульфат железа позволяет выявить продукцию сероводорода.

Висмут является тяжелым металлом. Имеет свойство подавлять рост большинства грамотрицательных кишечных бактерий, кроме сальмонелл.

Сальмонеллы имеют свойство восстанавливать сульфат железа до сульфида железа, благодаря которому происходит окрашивание их колонии в черный цвет. Происходит это в присутствии глюкозы и сульфита висмута [5, 6].

Посев на БГКП и сальмонеллы

Для посева на БГКП и сальмонеллы использовались дифференциально-диагностическая среда Эндо и Висмут-сульфитный агар. В качестве инструментов и оборудования применялись: стеклянная чашка Петри с готовой средой, бактериологическая петля, спиртовка, пробирка с материалом.

Этапы посева

1. Накаливание микробиологической петли над пламенем спиртовки. Производится путем тщательной обработки в пламени горелки от основания до кончика, в среднем требуется около минуты. Создание стерильных условий необходимо для продолжения дальнейшего процесса посева и во избежание возможного заражения лаборанта.

2. Взятие биологического материала, из пробирки. Следует аккуратно открыть пробирку. Вдоль стенки ёмкости медленно опустить биологическую петлю и окунуть кончик петли в материал. Убедившись, что он зафиксирован на петле, так же осторожно вынуть инструмент. После чего необходимо закрыть пробирку и поместить на штатив.

3. Посев на среду Эндо и Висмут-сульфитный агар. После взятия биологического материала необходимо приоткрыть чашку Петри с заранее подготовленной средой. Аккуратно и

оперативно сделать посев. Затем нужно закрыть чашку Петри во избежание попадания других микроорганизмов [7]



Рис. 1. Выросшие колонии сальмонелл на Висмут-сульфитном агаре



Рис. 2. Выросшие колонии БГКП на среде Эндо

Окрашивание по методу Грама

Целью метода является выявление грамположительных и грамотрицательных бактерий. Основным красителем выступает карболовый раствор генцианвиолета. Протравой служит раствор Люголя (после окрашивания). Дифференцирующее вещество – этанол. В качестве дополнительного красителя используется разбавленный карболовый раствор фуксина. Препарат-мазок фиксируют в пламени спиртовки до окрашивания. Исследуют под микроскопом с помощью иммерсионного объектива.

Сущность метода

Метод основан на различии в строении и химическом составе клеточной стенки бактерии. Растворы вымывают краситель из клеточных стенок грамотрицательных бактерий. Генцианвиолет в присутствии Люголя может образовывать комплекс с тейхоевыми кислотами, который в свою очередь задерживается в виде многослойного пептидогликана (основной компонент клеточной стенки) у грамположительных бактерий. В результате грамположительные бактерии сохраняют фиолетовый цвет, а грамотрицательные окрашиваются в красный. [8]

Сравнение выросших колоний

Во всех пробах были выявлены колиформные бактерии и сальмонеллы. Наиболее интенсивный рост микроорганизмов на обеих средах отмечался из материала от змеи. В мазках с колоний были обнаружены грамотрицательные мелкие палочки, более крупные размеры микроорганизмов отмечались с колоний на Висмут-сульфитном агаре. Точная видовая идентификация не проводилась.

Заключение

Птицы и рептилии часто являются носителями сальмонелл. Селективные искусственные питательные среды, к которым относят агар Эндо и Висмут-сульфитный агар (среда Вильсона-Блэра) позволяют выявить бактерии отдельных групп, в частности, бактерии группы ки-

шечных палочек и сальмонеллы. Поэтому именно эти среды активно используют при выявлении энтеробактерий в санитарной микробиологии.

Библиографический список

1. Колиморфные бактерии [Электронный ресурс] // Википедия. Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BC%D0%BE%D1%80%D1%84%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%B8
2. Анализ на сальмонеллёз [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://med-ram.ru/diagnostika/analiz-salmonellez>
3. Инструкция по применению набора реагентов. Готовая питательная среда. Среда Эндо. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.yandex.ru/docs/view?tm=1669125416&tld=ru&lang=ru&name=a4ecd9e539cf3d6da0883648fbe1.pdf&text=среда%20эндо&url=https%3A%2F%2Fbio-media.ru%2Fupload%2Fiblock%2Fa4e%2Fa4ecd9e539cf3d6da0883648fbe1.pdf&lr=54&mime=pdf&110n=ru&sign=b780b02f45027af8eea2cc39871e3a8b&keyno=0&nosw=1&serpParams=tm%3D1669125416%26tld%3Dru%26lang%3Dru%26name%3Da4ecd9e539cf3d6da0883648fbe1.pdf%26text%3D%25D1%2581%25D1%2580%25D0%25B5%25D0%25B4%25D0%25B0%2B%25D1%258D%25D0%25BD%25D0%25B4%25D0%25BE%26url%3Dhttps%253A%2F%2Fbio-media.ru%2Fupload%2Fiblock%2Fa4e%2Fa4ecd9e539cf3d6da0883648fbe1.pdf%26lr%3D54%26mime%3Dpdf%26l10n%3Dru%26sign%3Db780b02f45027af8eea2cc39871e3a8b%26keyno%3D0%26nosw%3D1>.
4. Эндо среда [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://бмэ.орг/index.php/ЭНДО_СРЕДА.
5. Агар висмут-сульфитный. Инструкция по применению [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://micro-lab.org/wp-content/uploads/1011-agar-vismut-sulfitnyi.pdf>.
6. Висмут-сульфитный агар [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfile.net/preview/9416197/page:4/>.
7. Техника посева микроорганизмов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfile.net/preview/1152683/page:9/>.
8. Техника окраски по Граму [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfile.net/preview/1575385/page:4/>.