

**ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ
С ПРИМЕНЕНИЕМ СРЕДЫ КЛИГЛЕРА
Study of biochemical properties of Enterobacteria
using Kligler's nutrient medium**

Т. В. Ромашова, студент

Н. В. Телятникова, кандидат ветеринарных наук, доцент

И. М. Хайрова, старший преподаватель

Уральский государственный аграрный университет
(Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

Аннотация

В статье представлены результаты опыта по определению свойств энтеробактерий ферментировать лактозу, глюкозу, образовывать газ и сероводород.

Ключевые слова: энтеробактерии, кишечная палочка, среда Клиглера, ферментация глюкозы, лактозы, образование сероводорода, газообразование, дифференцирующие признаки.

Summary

The article presents the results of an experiment to determine the properties of enterobacteria to ferment lactose, glucose, and form gas and hydrogen sulfide.

Keywords: enterobacteria, E. coli, Kligler medium, fermentation of glucose, lactose, formation of hydrogen sulfide, gas formation, differentiating features.

Семейство Enterobacteriaceae является одним из самых обширных и включает наибольшее число патогенных для человека и животных представителей. Местом обитания всех видов энтеробактерий является кишечник, откуда они выделяются во внешнюю среду. Энтеробактерии представляют собой грамотрицательные палочки средних размеров. Спор не образуют. По типу дыхания относятся к факультативным анаэробам. Подвижны благодаря перитрихально расположенным жгутикам или неподвижны при их отсутствии. Хорошо растут на простых питательных средах. Все представители семейства Enterobacteriaceae обладают сахаролитической активностью – ферментируют углеводы до кислоты и газа или только до кислоты. Протеолитическая активность выражена слабо. В биохимическом отношении наиболее активна *Escherichia coli*, являющаяся представителем нормальной микрофлоры организма человека и животных. Естественным местом обитания эшерихий является кишечник человека, млекопитающих, большинства птиц, многих пресмыкающихся, рыб, насекомых. Открыты в 1885 г. австрийским педиатром Т. Эшерихом, искавшим возбудителя «детской холеры» [4].

По патогенности вид *E. coli* не является однородным. Различают:

- 1) непатогенные (резидентные) комменсалы, пожизненно колонизирующие толстый кишечник;
- 2) условно-патогенные – вызывают внекишечные поражения (цистит, сепсис); такие заболевания возникают, как правило, эндогенно за счет эшерихий, колонизирующих кишечник;
- 3) патогенные (диареогенные) эшерихии – вызывают острые кишечные инфекции (ОКИ), которые имеют экзогенное происхождение.

Условно-патогенные эшерихии входят в состав нормальной микрофлоры кишечника. Являются санитарно-показательными микроорганизмами (присутствие кишечной палочки в воде, почве, пищевых продуктах, предметах обихода свидетельствует о их фекальном загрязнении). Условно-патогенные эшерихии способны вызывать заболевания при проникновении в ткани вне пищеварительного тракта - в мочевыводящие и желчные пути, легкие, брюшину, мозговые оболочки, где возникает гнойно-воспалительный процесс, который нередко развивается на фоне иммунодефицита.

Патогенные *E. coli* – возбудители ОКИ, получили название диареегенных. Они подразделяются на 4 основные категории:

- 1) энтеротоксигенные *E. coli*;
- 2) энтероинвазивные;
- 3) энтеропатогенные;
- 4) энтерогеморрагические [3].

С целью изучения свойств энтеробактерий ферментировать лактозу, глюкозу, образовывать газ и сероводород «*in vitro*» провели посев 8 образцов материала из толстого отдела кишечника телят (пробы отбирали на транспортные питательные среды Эймса с древесным углём) в питательную среду Клигlera.

Питательная среда для идентификации энтеробактерий Агар Клигlera–ГРМ предназначена для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии. Среда была предложена для определения энтеропатогенных бактерий Kligler (1917, 1918). Состав среды: МПА (мясо-пептонный агар), глюкоза, лактоза, сульфат железа, индикатор феноловый красный (в нейтральной среде – красный, в щелочной среде –тёмно-красный, при сдвиге рН в кислую сторону становится желтым,). При выделении сероводорода образуется черное кольцо. При газообразовании в среде появляются пузырьки газа. Принцип действия среды: распад сахаров и сопровождающее его кислотообразование регистрируется индикатором рН феноловым красным, который изменяет цвет от красно-оранжевого до желтого, в щелочной среде – до темно-красного. Некоторые виды бактерий восстанавливают тиосульфат до сероводорода, который реагирует с ионами железа, образуя сульфид железа черного цвета [2, 3].

Для изучения ферментативных свойств энтеробактерий использовали сухую среду Клигlera следующего состава: пептон из казеина 15,0; мясной пептон 5,0; мясной экстракт 3,0; дрожжевой экстракт 3,0; хлорид натрия 5,0; лактоза 10,0; глюкоза 1,0; цитрат аммонийного железа 0,5; тиосульфат натрия 0,5; феноловый красный 0,024; агар-агар 12,

Для приготовления среды растворили 5,5 г среды в 100 мл дистиллированной воды, довели до кипения, распределить по 8 пробиркам, автоклавировали 15 мин при 121°C. Приготовили скошенную среду с высоким столбиком. Среда получилась прозрачная, красно-оранжевого цвета, рН 7,4±0,2 при 25 °С.

Засеяли исследуемый материал штрихом по поверхности скошенной среды, а затем уколом по центру столбика в его толщу в той же пробирке. Инкубировали 48 ч при 35°C.

После инкубирования были получены следующие результаты: расщепление углеводов произошло во всех восьми пробирках со средой Клигlera. Цвет среды изменился от красно-оранжевого до желтого в результате кислотообразования (пробы № 1, 4, 5, 6, 7). В одной пробирке цвет был светло-оранжевый (проба № 2). В пробе № 3 наблюдалось восстановление тиосульфата до сероводорода, который реагирует с ионами железа, образуя сульфид железа черного цвета. Столбик окрасился в черный цвет, «язычок» (скошенная поверхность) сохранил оранжевый цвет. Газообразование с образованием пузырьков и разрывом среды наблюдалось в

пробах № 5, 6, 7, 8. Особенно это было выражено в пробе № 7, где цвет среды был наиболее бледным, а часть среды стала жидкой консистенции.

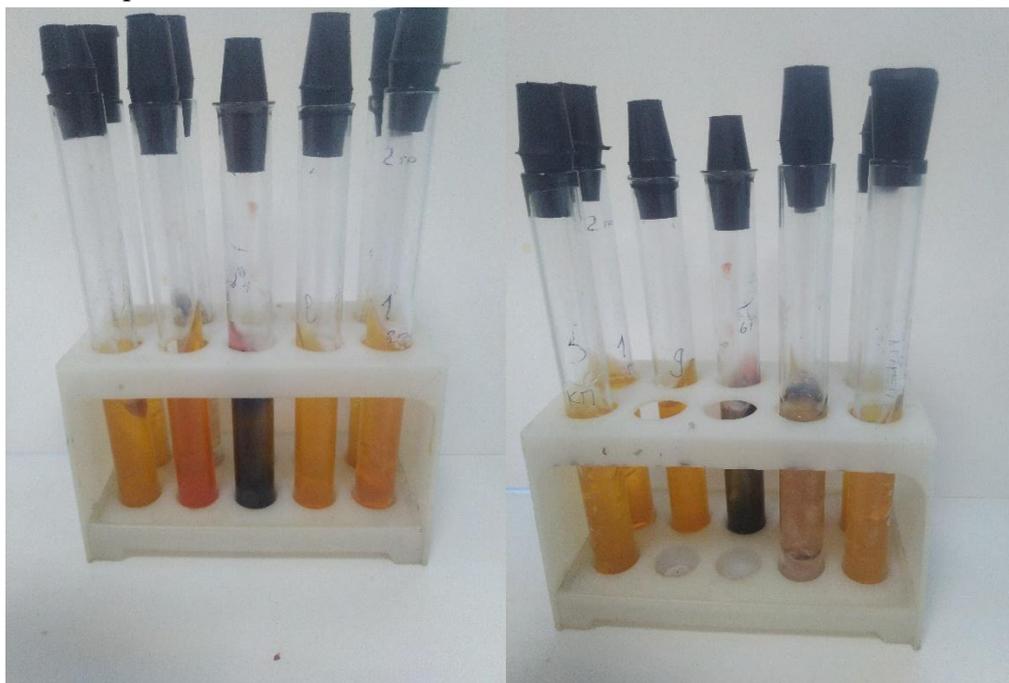


Рис. 1-2. Расщепление углеводов в среде Клиглера

В результате изучения сахаролитических свойств энтеробактерий было выяснено, что ферментация глюкозы происходит только в анаэробных условиях в глубине среды (столбика) из-за ее малой концентрации, а ферментация лактозы происходит в аэробных условиях на поверхности среды (скоса). При этом цвет индикатора в среде Клиглера меняется на желтый (происходит закисление среды и индикатор рН- феноловый красный в кислой среде желтеет. В щелочной среде цвет среды изменился бы от красно-оранжевого до темно-красного). О продукции сероводорода можно судить по почернению среды (индикатор на H_2S при его выделении чернеет).

Таким образом, контактная среда Клиглера позволяет изучать дифференцирующие признаки энтеробактерий по способности расщеплять глюкозу (в столбике), лактозу (в скосе), продуцировать газы, в том числе сероводород.

Библиографический список

1. Umeda K., Hase A., Matsuo M., Horimoto T., Ogasawara J. Prevalence and genetic characterization of cephalosporin resistant Enterobacteriaceae among dogs and cats in an animal shelter // Journal of Medical Microbiology. 2019. № 68 (3). P. 339-345.
2. Доступная микробиология. URL: <https://microstight.ssmu.ru/index.php/pitateinye-sredy/differentsialno-diagnosticheskie-sredy/sreda-kliglera>.
3. МикроБио+. Инструкция Агар Клиглера. URL: <https://mibio.ru/contents.php?id=1799>.
4. Энтеробактерии. Характеристика семейства энтеробактерий. Эшерихии. Шигеллы. Клебсиеллы. Протеи. Биологические свойства. Классификация. Патогенез вызываемых заболеваний. Лабораторная диагностика. URL: <https://studfile.net/preview/5244744/>.

