

УДК 619: 616.71

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРАМПОЗИТИВНЫХ ПАЛОЧЕК РОДА  
BACILLUS С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УНИВЕРСАЛЬНЫХ  
СТАНДАРТИЗИРОВАННЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ**

**Черевиченко В.А., аспирант каф. Микробиологии, вирусологии и  
иммунологии, Анников В.В., д.в.н., доцент, Назарова Л.С., д.м.н.,  
профессор**

Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова

Установление этиологического фактора является одной из главных задач при изучении любой патологии, так как знание вида и характера «первопричины» определяет выбор тактики лечебных мероприятий. Чем обширнее информация о возбудителе болезни, тем больше шансов в разработке мер эффективной борьбы с ним.

Микробный профиль остеомиелита у людей изучен хорошо. Основная роль отводится стафилококкам и гемолитическому стрептококку. Реже выделяются из очага остеомиелита гемофилы, энтеробактерии и синегнойная палочка [1,2,3].

В ранее опубликованных статьях [4,5,6] мы сообщали о характере выделяемой микрофлоры у больных остеомиелитом животных, биохимических и биологических особенностях основных возбудителей, их чувствительности к антимикробным препаратам. Проведённый комплекс микробиологических исследований позволил нам установить, что у животных, наряду с кокковой флорой, достаточно часто при данной патологии встречались микробы, относящиеся к роду бацилл, видовую принадлежность которых было трудно определить при наличии доступных питательных сред и ограниченной информации в определителе бактерий Берджи. Все грампозитивные палочки рода *Bacillus* неясной видовой принадлежности, выделенные из свищевого канала, по морфологическим, культуральным и некоторым биохимическим свойствам можно разделить на

2 группы. Первая группа – средних размеров с закруглёнными концами спорообразующие палочки, располагающиеся в мазках беспорядочно. При росте на твёрдых питательных средах образующие средних размеров (2 - 3 мм), круглые, выпуклые, с ровными краями, мягкой консистенции, полупрозрачные колонии с перламутровым оттенком. Рост на жидких питательных средах характеризовался образованием лёгкой опалесценции среды и иногда образованием нежной плёнки на поверхности питательного бульона. Вторая группа – длинные ровные грамположительные палочки, располагающиеся в мазках поодиночно или образующие цепочки разной длины. На плотных питательных средах образовывали крупные (10 - 18 мм), неправильной формы, шероховатые, с фестончатыми краями, непрозрачные, белого цвета, твёрдой консистенции колонии. Рост на жидких питательных средах характеризовался наличием грубой плёнки на поверхности среды, массивным хлопьевидным осадком на дне, бульон при этом оставался прозрачным. Все грамположительные палочки при культивировании на кровяном агаре давали зону  $\beta$ -гемолиза вокруг колоний.

Для полной идентификации обеих групп микроорганизмов мы применили стандартизированные тест-системы API 50 CH и API 20 E с программным обеспечением идентификации Apiweb производства BioMerieux (Франция). База данных Apiweb содержит полный список тех организмов, которых возможно идентифицировать с помощью данных тест-систем. API 20 E представляет собой тест-полоски с лунками на 21 тест по изучению биохимических свойств, и предназначена для идентификации энтеробактерий и других неприхотливых к условиям культивирования микроорганизмов. API 50 CH представлена тест-полосками, каждая из которых состоит из 5 маленьких полосок, содержащих 10 пронумерованных лунок. Данная тест-система включает 50 биохимических тестов по изучению углеводного обмена микроорганизмов и предназначена для идентификации бацилл, энтеробактерий и вибрионов. Принцип работы API 20 E и API 50CH заключается в том, что в процессе инкубации при осуществлении обмена

веществ исследуемыми объектами, происходит смещение pH, которое сопровождается изменением цвета субстрата в лунках тест-полос. И по изменению цвета реакция оценивается как положительная или отрицательная.

Согласно инструкции, прилагаемой к каждой тест-системе, чистую суточную культуру исследуемого микроорганизма стерильными пипетками распределяли в лунках полос каждой из тест-систем. Подготовленные полосы размещали в инкубационных боксах и инкубировали в термостате при 37°C 24 часа. После инкубации проводили учёт реакции. Результаты биохимических исследований вводили в базу данных программного обеспечения Apiweb и получали результат (вид микроорганизма). Нами было идентифицировано 8 штаммов микроорганизмов.

В ходе анализа было установлено, что грампозитивные палочки первой группы ферментировали глицерол, L- арабинозу, D-рибозу, D-ксилозу, D-галактозу, D-глюкозу, D-фруктозу, D-маннузу, D-маннит, D-сахарозу, D-трегалозу, гентиобиозу, D-туранозу. Положительно реагировали в реакции на N-ацетилглюкозамин, амигдалин, эскулин, салицин. Обладали способностью вырабатывать  $\beta$ -галактозидазу и желатиназу.

Бациллы второй группы, в отличие от бацилл первой группы, не сбраживали D-ксилозу, D-галактозу, гентиобиозу, D-туранозу, но разлагали инозит, D-собит, D-мелиобиозу, D-раффинозу, амидон, гликоген. В тестах на арбутин и цитохромоксидазу давали положительный результат.

На основании результатов базы данных Apiweb бациллы первой группы (5 штаммов) были отнесены к виду *Bacillus pumilus*, а микробы второй группы (3 штамма) – к виду *Bacillus subtilis*.

Таким образом, стандартизированные тест-системы API 50 CH и API 20 позволили одновременно провести комплекс биохимических исследований (61 тест) и за короткий промежуток времени (24 часа) определить видовую принадлежность грамположительных палочек рода

*Bacillus*, выделенных от больных остеомиелитом экспериментальных животных.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Акжигитов, Г. Н.* Остеомиелит / Г. Н. Акжигитов, М. А. Галлеев, В. Г. Сахаутдинов. – М.: Медицина, 1986. – 209 с.
2. *Барский, А. В.* Причины возникновения хронических остеомиелитов длинных трубчатых костей / А. В. Барский, Н. П. Семёнов, В. И. Рогачёв // Хирургия. – 1989. - № 8. – С. 7 – 9.
3. *Линник, С. А.* Причины возникновения и профилактики послеоперационного остеомиелита / С. А. Линник, И. А. Агафонов, А. В. Рак и др. // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 1988. – Т. 140, №1. – С. 143 – 147.
4. *Черевиченко, В.А.* Микробный профиль при экспериментальном остеомиелите / В.А. Черевиченко, В.В. Анников, Л.С. Назарова // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития. Мат. VIII Всероссийской научно-практической конференции. – 2008. – С. 429 – 431.
5. *Черевиченко, В.А.* Характеристика патогенных свойств возбудителей остеомиелита у животных в условиях эксперимента / В.А. Черевиченко, Л.С. Назарова, В.В. Анников / Актуальные вопросы ветеринарной патологии сельскохозяйственных животных и птиц: Мат. Всероссийской научно-практической конференции. – Саратов: Научная книга, 2008. – С. 38 – 40.
6. *Черевиченко, В.А.* Клинико-морфологическое и микробиологическое обоснование использования рнколейкина для иммуностимуляции при комплексной терапии хронического остеомиелита у животных / В.А. Черевиченко, Л.С. Назарова // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2008. - №8. – С. 40 – 42.