

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТРАНСМИССИЯ ПЛАЗМИД ТОКСИГЕННОСТИ ОТ *ESCHERICHIA COLI* К *PROTEUS VULGARIS* EXPEREMENTAL TRANSMITION PLASMIDS TOXIGENITY FROM *ESCHERICHIA COLI* TO *PROTEUS VULGARIS*

Сухарев Юрий ¹, Гужвинская Светлана ²

НИИ биологии Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина, Украина¹
ННЦ “Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины”, Харьков,
Украина²

probiotic@vet.kharkov.ua

ABSTRACT

Experimental transmission plasmids of toxigenicity from *E.coli* to *P.vulgaris* has been shown at joint cultivation in liquid nutrient mediums, under certain conditions (temperature, Ph, time cultivation). Thus does not matter what O-serogroupe one or another donor-type toxigeny culture of *E.coli*. This fact is necessary for considering at diagnostics colibacteriosis when at bacteriological research of patmaterial a lot of the microorganisms masking of the basic activator of disease is allocated.

KEY WORDS. Plasmids, toxigenicity, experemental transmtion, diagnostics colibacteriosis.

ВСТУПЛЕНИЕ

Еще в 1975 году Aamst-Kettis A., Wadstrom T. и Habteeta показали, что энтеротоксигенная активность, кроме *E.coli*, присуща также другим бактериям. Этими и другими авторами [1], [2] была установлена возможность передачи Ent-плазмиды и ее экспрессии в штаммах *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*.

В пищеварительном тракте человека и животных в огромных количествах содержатся энтеробактерии, что создает условия для трансмиссивной передачи плазмид токсигенности от одного вида микроорганизмов к другому. С эпизоотической точки зрения такая передача детерминант токсигенности от патогенных к апатогенным микроорганизмам представляет огромную опасность [3].

Довольно часто при колибактериозе сельскохозяйственных животных, из патматериала, наряду с энтеротоксигенными *E.coli* выделяются другие микроорганизмы, в том числе и представители семейства Enterobacteriaceae, принадлежащие к нормальной кишечной микрофлоре. Комплексными диагностическими исследованиями, проведенными в хозяйствах неблагополучных по массовым желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят [4] и [5] было показано, что в качестве возбудителей неонатальных диарей выступают различные ассоциации условно-патогенных микроорганизмов: *E.coli*, Rotavirus, бактерии рода *Proteus*, Криптоспоридии, Coronavirus, *Ps.aeruginosa*, причем *E.coli* являются постоянным членом таких ассоциаций (100%). Смешанная инфекция затрудняет установление этиологической роли каждого отдельного вида микроорганизмов в паталогическом процессе.

Нами было замечено, что из патматериала, павших от диареи телят, поступавшего в нашу лабораторию для микробиологического исследования, наряду с энтеротоксигенными *E.coli*, довольно часто выделялся *Proteus vulgaris* (47,6 %).

Целью наших исследований было определение возможности трансмиссивной передачи плазмид токсигенности от *E.coli* к *P.vulgaris* в экспериментальных условиях.

Задачей исследований являлось установление наличия собственных энтеротоксигенных свойств у *P. vulgaris* и способность приобретать их при совместном культивировании с энтеротоксигенными *E.coli*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Токсигенные O9 ST⁺ и O26 LT⁺- продуцирующие штаммы *E.coli*, полевой штамм *P. vulgaris*, бульон Хоттингера, МПА, чашки Петри, центрифуга, термостат, белые беспородные мыши и др.

Культуру *P. vulgaris* высевали совместно с токсигенным штаммом *E.coli* O9 ST⁺ в бульон Хоттингера, рН 7.0 – 7.2 и культивировали при 37°C 18 - 20 часов. После совместного культивирования смесь культур *E.coli* и *P. vulgaris* высевали в чашки Петри на МПА и культивировали при 37°C 18 - 20 часов. Производили отбор колоний *P. vulgaris* которыми засеивали бульон Хоттингера, инкубировали при 37°C 18 - 20 часов, после чего центрифугировали при 6000 об./мин в течении получаса для отделения бакмассы от надосадочной жидкости.

Определение летальных свойств бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным штаммом *E.coli*, проводили в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышах массой 14 - 16 г, в дозах 0,1, 0,3 и 0,5 мл. О наличии энтеротоксина в супернатанте судили по летальному эффекту у зараженных им животных.

Аналогично были проведены опыты по определению летальных свойств супернатантов *P. vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O26 LT⁺ штаммом *E.coli* на бульоне Хоттингера, рН 7.0 – 7.2 при 37°C 18 - 20 часов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эксперименты по совместному культивированию токсигенных штаммов *E.coli* с *P. vulgaris* в жидкой питательной среде показали, что ранее не токсигенный *P. vulgaris*, приобретал способность продуцировать энтеротоксины. Приведенные в табл. 1 и 2 данные свидетельствуют о том, что интраперитонеальное заражение белых беспородных мышей культуральным супернатантом *P. vulgaris*, выращенного в бульоне Хоттингера отдельно от токсигенных штаммов *E.coli*, не приводило к гибели опытных животных, тогда как заражение культуральным супернатантом *P. vulgaris*, полученным после совместного культивирования с токсигенным штаммом *E.coli* O9 ST⁺ вызывало 100% гибель зараженных мышей от дозы 0.3 – 0.5 мл, а O26 LT⁺- от дозы 0.1 – 0.5 мл.

Таблица 1.

Летальный эффект бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O9 ST⁺ штаммом *E.coli*, в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышах.

Исследуемый антиген	Количество мышей в опыте	Доза антигена (мл)	Пало/выжило мышей
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (раздельное культивирование)	5	0.1	0/5
	5	0.3	0/5
	5	0.5	0/5
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (совместное культивирование)	5	0.1	2/3
	5	0.3	5/0
	5	0.5	5/0

Таблица 2.

Летальный эффект бесклеточных супернатантов *Proteus vulgaris*, полученных при раздельном и совместном культивировании с токсигенным O26 LT⁺ штаммом *E.coli*, в опыте на интраперитонеально зараженных белых беспородных мышах.

Изучаемый антиген	Количество мышей в опыте	Доза антигена (мл)	Пало/выжило мышей
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (раздельное культивирование)	5	0.1	0/5
	5	0.3	0/5
	5	0.5	0/5
Культуральный супернатант <i>P. vulgaris</i> (совместное культивирование)	5	0.1	5/0
	5	0.3	5/0
	5	0.5	5/0

Эксперименты с другими серотипами энтеротоксигенных штаммов *E.coli*: O119, O101, O8, O20, O139 и др. дали аналогичные результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Штаммы энтеротоксигенных *E.coli* при совместном культивировании в жидких питательных средах, при определенных условиях (температура, pH, время культивирования) способны передавать фактор детерминирующий синтез энтеротоксинов к *P.vulgaris*.
2. Не имеет значения к какой O-серогруппе принадлежит тот или иной донорный токсигенный штамм *E.coli*. Этот факт необходимо учитывать при диагностике колибактериоза, когда при бактериологическом исследовании патматериала выделяется целый ряд микроорганизмов, маскирующих основного возбудителя заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Takao T., Tominaga N., Yoshimura S. et al. Isolation, primary structure and synthesis of heat-stable enterotoxin produced by *Yersinia enterocolitica*. Eur.J.Biochem. 1985, v.152, p.199-286.
2. Osek J. Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heatstable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E. coli* isolates from pigs with diarrhea. //Vet. Microbiol.- 2003.- 91.- № 1.- P. 65–72.
3. Ивашкин В.Т., Шептулин А.А. Синдром диареи. -М.- 2002.
4. Ушкалов В.А. Этиологическая роль энтеротоксигенных эшерихий при неонатальных диареях телят/Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук.-Харьков.-1992.-С.40.
5. Олійник Л.В. Система моніторингу, контролю і профілактики токсикоінфекцій сальмонельозної та ешерихіозної етіологій/ Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук.-Львів.-2004.-С.4.