

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И. Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»

Миятжанова Куаныш Даuletқызы

«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии
рода *Salmonella*»

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

Специальность 5B070100 – «Биотехнология»

Алматы 2019

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К.И. Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам
бактерии рода *Salmonella*»

по специальности 5B070100 – «Биотехнология»

Выполнила

Миятжанова К.Д.

Научные руководители:
канд. с.-х. наук, доцент,

ассоц.профессор
Джамалова Г.А.

«06 » 05 2019 г.

магистр ветеринар. наук,
ветеринарный врач-микробиолог
лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ»

Безрукова А.Н.
«06 » 05 2019 г.

Алматы 2019

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К.И. Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»

Специальность 5B070100 – «Биотехнология»



Туйебахова З.К.
2019 г.

ЗАДАНИЕ на выполнение дипломной работы

Обучающемуся Миятжановой Куаныш Даuletқызы

Тема: «Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии рода Salmonella»

Утверждена приказом Ректора Университета №1163-б «16» 10.2019 г.

Срок сдачи законченной работы «13»05.2019 г.

Исходные данные к дипломной работе: бактерии рода Salmonella, выделенные из промышленного птицеводческого объекта

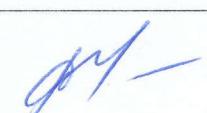
Краткое содержание дипломной работы:

- a) аналитический обзор литературы;
- б) объект, материалы и методы исследования;
- в) результаты исследования.

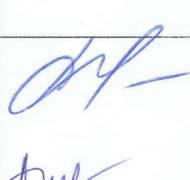
Перечень графического материала: представлены 7 слайдов презентации работы.

Рекомендуемая основная литература: из 25 наименований

ГРАФИК
подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Аналитический обзор литературы	25.02.2019 г.	
Объект, материалы и методика исследования	17.03.2019 г.	
Результаты исследования	01.04.2019 г.	

Подписи
консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу с
указанием относящихся к ним разделов работы

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Аналитический обзор литературы	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, ассоц. профессор	06.05.19	
Объект, материалы и методика исследования	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, ассоц. профессор Безрукова А.Н. маг.вет.наук, ветеринарный врач-микробиолог лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ»	06.05.19	
Результаты исследования	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, ассоц. профессор Безрукова А.Н. маг.вет.наук, ветеринарный врач-микробиолог лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ»	06.05.19	
Нормоконтролер	Қ.Қ.Тұрғымбаева магистр наук	06.05.19	

Научный руководитель

Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся



Миятжанова К.Д.

Дата

«06 » 05 2019 г

АННОТАЦИЯ

Ключевые слова. Биотехнология микроорганизмов, бактерии рода *Salmonella*, чувствительность бактерий к АБП.

Тема дипломной работы: «Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии рода *Salmonella*».

Объект исследования. Бактерии рода *Salmonella*.

Предмет изучения. Изучение чувствительности бактерий рода *Salmonella* к АБП.

При проведении работы изучены и освоены современные методические подходы по определению чувствительности бактерии рода *Salmonella* к пяти видам АБП. На основе освоенного методического подхода был проведен мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии рода *Salmonella*: 1) обнаружение темных колоний на питательных средах Висмут-сульфит агар (BSA Agar) указывает о росте бактерий рода *Salmonella*; 2) бактерии рода *Salmonella* являются грамотрицательными палочками с закругленными концами; 3) для целенаправленной антибактериальной терапии кишечной инфекции у птиц в данном хозяйственном объекте рекомендуется применение таких антибиотиков, как Morbofloxacin или Sulfamemoxazole/Trimethoprim.

АҢДАТПА

Түйін сөздер: Микроорганизмдер биотехнологиясы, *Salmonella* түріндегі бактериялар, бактериялардың антимикробтық сезімталдығы.

Дипломдық жұмыстың тақырыбы: «*Salmonella* түріндегі бактериялардың антимикробтық сезімталдығын бақылау».

Зерттеу объектісі: *Salmonella* түріндегі бактериялар.

Зерттеу пәні: *Salmonella* түріндегі бактериялардың антимикробтық сезімталдығын зерттеу.

Жұмыс өткізу кезінде *Salmonella* түріндегі бактериялардың 5 бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығын анықтау үшін заманауи методикалық тәсілдер зерттеліп игерілді. Игерілген методикалық тәсілі негізінде *Salmonella* түріндегі бактериялардың антимикробтық сезімталдығын бақылауы өткізілді: 1) Висмут-сульфит агар (BSA Agar) құнарлы ортасында қара колонияларды анықтауы *Salmonella* түріндегі бактериялардың өсуін көрсетеді; 2) *Salmonella* түріндегі бактериялар соңы дөңгелек грам-теріс таяқшылар болып табылады; 3) Берілген шаруашылық объектінің ішек инфекциясы бар құстарға бағытталған антибактериялық терапияға Morbofloxacin мен Sulfamemoxazole/Trimethoprim деген антибиотиктер қолдануы ұсылады.

ANNOTATION

Keywords. Biotechnology of microorganism, genus of bacterium *Salmonella*, sensitivity of bacterium to antibacterial preparations.

The title of diploma work: «Biofeedback of sensitivity to antibacterial preparations of *Salmonella* bacterium».

Researching object: Bacterium of genus *Salmonella*.

Learning subject. Learning sensitivity of *Salmonella* bacterium to antibacterial preparations.

During the scientific work was studied and assimilated modern methodical approach by definition of sensitivity *Salmonella* bacterium to antibacterial preparations.

On the basis of studying methodical approach was passed biofeedback of sensitivity to antibacterial preparations of *Salmonella* bacterium: 1) Find out of dark colonies for nutritious Bismuth Sulfite Agar (BSA Agar), it is pointing about lifting of *Salmonella* bacterium; 2) Bacterium *Salmonella* has gramnegative rounded sticks; 3) For purposeful antibacterial therapy enteric infection of birds in working objects are recommended in using as antibiotics as Morbofloxacinor Sulfamoxazole/Trimethoprim.

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	9
1	Аналитический обзор литературы	10
1.1	Биология культуры <i>Salmonella</i>	10
1.2	Биотехнология производства высокоактивных вирулентных бактериофагов	22
1.3	Птицеводство в Казахстане	23
2	Объект, материалы и методы исследований	25
2.1	Объект исследований	25
2.2	Материалы исследований	25
2.3	Методика исследований	26
3	Результаты исследований	28
3.1	Отбор смывов	28
3.2	Определение чувствительности <i>Salmonella</i> к антибактериальным препаратам	29
	Заключение	32
	Список использованной литературы	33

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Исследования по определению чувствительности бактерии рода *Salmonella*, как возбудителей заболеваний человека, к АБП актуальны в связи с широким распространением на сегодня антибиотикорезистентности у бактерий. Стандартные микробиологические методы определения чувствительности микроорганизмов к АБП были разработаны еще в середине XX века и с тех пор с научно-методической точки зрения не претерпели принципиальных изменений.

Объект исследования. Бактерии рода *Salmonella*.

Предмет изучения. Изучение чувствительности бактерий рода *Salmonella* к АБП.

Цель работы. Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии рода *Salmonella*.

Задачи:

- изучение биологических свойств бактерий рода *Salmonella*;
- изучение культуральных свойств бактерий рода *Salmonella*, выделенных из отдельного промышленного объекта сельскохозяйственного назначения;
- микробиологическое обоснование для целенаправленной антибактериальной терапии кишечной инфекции у птиц.

Практическое значение. При проведении исследований по теме дипломной работы изучены и освоены современные методические подходы по определению чувствительности бактерии рода *Salmonella* к АБП, учитывающие международные (Европейский комитет по определению чувствительности к антибиотикам, Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США) рекомендации и рекомендации Таможенного Союза (МУК 4.2.1890-04; МУ 4.2.2723-10;) [1, 2].

Достоверность научных работ и их результатов подтверждена:

- применением в работе утвержденных действующих методик;
- воспроизводимостью всех видов исследований и полученных данных.

Личный вклад, внесенный автором, в работу над дипломом связан с проведением:

- 1) теоретических исследований по изучению биологических свойств бактерий рода *Salmonella*;
- 2) полевых и лабораторных экспериментальных исследований;
- 3) анализа работ по полученным результатам.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа изложена в компьютерном тексте на 32 страницах, включает введение (1 стр.), 3 раздела (22 стр.), заключение (1 стр.), список использованной литературы из 25 наименований, 5 рисунков и 2 таблиц.

1 Аналитический обзор литературы

1.1 Биология культуры *Salmonella*

1.1.1 Классификация и номенклатура *Salmonella*

Род *Salmonella* включает [3, 4]:

1) два вида:

- *S. enretica*;
- *S. bongori*;

2) шесть подвидов:

- *enrerica*;
- *salamae*;
- *arizonae*;
- *houtenae*;
- *diarizonae*;
- *indica*;

3) огромное количество сероваров (примерно 2579 - 4040):

- 2559 относятся к *S. enretica*;
- 20 относятся к *S. Bongori*;

Изоляты *S. Enretica*, в основном, выделяют от теплокровных животных (99 % случаев сальмонеллеза у человека вызывается *S. Enretica*), а изоляты *S. Bongori* – от холоднокровных (относят менее 1 % клинических изолятов) [3].

Согласно эпидемиологии сальмонеллы разделены на три группы [5]:

1 Представляют инфекционную опасность только для человека и включают в себя:

- *S. Typhi*;
- *S. ParatyphiA*;
- *S. ParatyphiC*.

Они представляют собой патогены:

- вызывающие тифоидные и паратифоидные лихорадки;
- являющиеся наиболее серьезными из всех болезней, вызываемых сальмонеллами.

Тифоидная лихорадка:

- имеет наиболее продолжительный инкубационный период;
- вызывает повышение температуры тела;
- приводит к большому количеству смертельных исходов.

S. Typhi могут быть выделены из организма заболевших еще до наступления по существу кишечной лихорадки, а именно из:

- крови;
- кала;
- мочи.

В дополнение следует отметить, что синдром паратифа мягче тифоидного синдрома.

2 Строго адаптированные к определенным хозяевам серовары (некоторые из которых являются патогенными и для человека; человек ими заражается от пищевых продуктов):

- *S. Gallinarum* (дичь, домашняя птица);
- *S. Dublin* (крупный рогатый скот);
- *S. Abortus-eque* (лошади);
- *S. Abortus-ovic* (мелкий рогатый скот, т.е. овцы);
- *Choleraesius* (свиньи).

3 Неадаптированные серовары (не имеющие преимущественных хозяев):

- являются патогенными для человека и животных;
- включают большинство сероваров пищевого происхождения.

1.1.2 Экология *Salmonella*

Сальмонеллы:

1) широко распространенные в природе микроорганизмы;
2) в организме животных и человека они либо вызывают различные инфекционные процессы, либо – только присутствуют;

3) долго сохраняют жизнеспособность во внешней среде:

а) в воде:

- питьевой и открытых водоемов жизнеспособны от 11 до 120 дней;
- морской – от 15 до 26 дней;

б) в почве – от 1 до 9 месяцев;

в) в комнатной пыли – от 80 до 547 дней;

г) в колбасных изделиях – от 60 до 130 дней;

д) в замороженном мясе – от 6 до 13 дней;

е) в яйцах – до 13 месяцев;

ж) в яичном порошке – до 9 месяцев;

з) на замороженных овощах и фруктах – от 2 недель до 2,5 месяца.

Наиболее устойчивы из сальмонелл это *S. typhimurium*, которые могут оставаться жизнеспособными на тканях и бумаге от 7 до 12 месяцев.

Факторами передачи возбудителей инфекции при сальмонеллезах являются продукты животного происхождения – это продукты животного происхождения (морепродукты; продукты мясные, молочные и яичные), обсемененные сальмонеллами [6]:

- чаще всего это мясо домашних птиц (куры, утки, гуси, индейки) и продукты птицеводства (пищевые яйца, яичный порошок, меланж);
- реже – мясо крупного рогатого скота и свиней, причем свинина по сравнению с говядиной в большей степени инфицирована сальмонеллами.

Сальмонеллы присутствуют в кишечном тракте:

- рептилий, черепах, насекомых;
- птиц, сельскохозяйственных животных;

- людей.

Колонизация кишечника сельскохозяйственных птиц и животных увеличивает риск контаминации во время убоя. Кроме того, сальмонеллы часто концентрируются в птичьих яйцах, особенно микроорганизмы серотипа *Enteritidis*, поскольку они могут колонизировать яичник кур-несушек. В яйцах, при хранении их при комнатной температуре, могут содержаться высокие концентрации сальмонелл (до 10^{11} клеток на одно яйцо).

Также сальмонеллез может быть обусловлен потреблением растительных продуктов (овощей и фруктов; салата-латука, помидора, кинзы, проростков люцерны, миндаля). Например, вспышка сальмонеллеза в некоторых штатах США (2006-2007 гг.) была обусловлена потреблением арахисового масла [7].

Передача сальмонелл может осуществляться в природе от объектов окружающей среды (вода, почва) к растениям, от животного к человеку и от человека к человеку [7].

Сальмонеллы, как кишечные формы, экскретируются в почву с фекалиями, из почвы они переносятся животным миром (насекомыми и мелкими грызунами) в другие места, поэтому сальмонеллы обнаруживаются в источниках природных вод и стоках. При употреблении животными пищи и воды от неочищенных или необработанных от сальмонелл источников, эти бактерии вновь с фекальными массами выбрасываются в окружающую среду, и, таким образом, цикл повторяется. Международные перевозки продуктов животного происхождения (в большей степени мяса) и кормов являются причиной увеличения и расширения в ареале этого цикла и распространения сальмонеллеза и связанных с ним проблем по всему миру [5].

Сальмонеллезы у человека протекают в широком спектре клинических форм, например, серовар:

1) *Enteritidis* вызывает:

- гастроэнтериты;
- кишечные лихорадки (брюшной тиф, паратифы);
- генерализованную инфекцию (тифоподобную, септикопиемическую);
- бессимптомную инфекцию по типу носительства;

2) *Typhi* этиологически проявляется брюшным тифом;

3) *Paratyphi* (подтипов А, В и С) вызывает паратиф – похожую по клинической картине болезнь с несколько ослабленной симптоматикой и меньшей смертностью.

Брюшной тиф и паратиф всегда протекают с бактериемией и системной инфекцией, причем жизнеспособные сальмонеллы выявляются в органах ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), прежде всего мезентериальных лимфоузлах и селезенке.

Не менее 150-ти сероваров сальмонелл могут вызывать нефтофойдный сальмонеллез (НТС) у человека, причем существуют устойчивые межрегиональные различия в частотах встречаемости разных сероваров в клинике и доминирующих сероваров, например, в странах:

а) Северной Америки частыми возбудителями НТС являются серовары:

- *Typhimurium*;
- *Enteritidis, Newpor*;
- *Heidelberg*;
- *Javiana*;

б) Евросоюза доминирует:

- *Enteritidis*;

в) Юго-Восточной Азии доминирует:

- *Cholerasuis*.

Адаптированные серовары, такие, как *Dublin*, *Cholerasuis*, циркулируют у продуктивных животных и птиц, а вызванные ими случаи инфекции у человека, есть результат потребления обсемененной пищевой продукции. В 95 % НТС связан с потреблением контаминированной пищи [3].

Особенность сальмонелл [7]:

- являются факультативными внутриклеточными патогенами;
- считаются болезнетворными;
- могут инвазировать макрофаги, дендритные и эпителиальные клетки.

1.1.3 Морфология и физиология *Salmonella*

Морфологические показатели Сальмонеллы [8]:

- мелкие палочки с закругленными концами (палочковидные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*);
- в размере клетки имеют 1-4 мкм длины и 0,3-0,8 мкм ширины;
- экспрессируют перитрихиальные жгутики;
- не образуют спор и капсул.

Физиологические показатели Сальмонеллы [8]:

- подвижны (за исключением *Salmonella pullorum* и *S.gallinarum*);
- факультативными анаэробами;
- способными расти и размножаться в температурном диапазоне от 5 до 45 °C (оптимальная температура роста – 35–37 °C);
- могут расти при низких значениях pH;
- чувствительны к высоким концентрациям соли.

1.1.4 Биохимия и генетика *Salmonella*

Биохимические свойства *Salmonella* [8]:

- не ферментируют сахарозу;
- не разлагают лактозу, адонит;
- не расщепляют салицин и мочевину;
- не образуют индола;
- образуют сероводород;
- реакция Фогеса-Проскауэра – отрицательная;
- реакция с метиловым красным – положительная;

- ферментируют глюкозу с образованием газа (исключение штаммы *S. typhimurium*, *S. typhisuis*, *S. abortuseque*, *S. dublin*, *S. anatum*, *S. gallinarum*, разлагают глюкозу без образования газа);

- ферментируют маннит.

Как видим [9]:

- биохимическая активность у сальмонелл высоковариабельна;
- снижение ферментативной активности замедляет процессы метаболизма, что способствует сохранению жизнеспособности клеток в условиях голодания.

Генетика *Salmonella*. Генетика сальмонеллы представлена в таблице 1.1

Таблица 1.1 – Генетика сальмонеллы [7]

Параметр	Значение
Хозяин генома	Бактерия <i>Salmonella enteric</i> subsp. Enteritidisstr. SA20100349
Размер генома	4,77544 млн пар нуклеотидов
Количество генов	4448
Дата секвенирования генома	02.04.2014

В дополнение к таблице 1.2 следует отметить, что кластер генов вирулентности сальмонеллы (*SPI*) [7]:

- несет ответственность за инвазию, выживание и внекишечное распространение;
- локализован в 12 локусах, названных локусами патогенности (некоторые из них сосредоточены вблизи генов тРНК);
- образован благодаря горизонтальному переносу генов;
- одни из этих локусов одинаковы для всего рода, другие – специфичны для отдельных серотипов.

Гены вирулентности, которые участвуют в кишечной фазе инфекции, расположены в SPI-1 и SPI-2, а остальные принимают участие:

- в системной инфекции;
- во внутриклеточном выживании;
- в экспрессии fimбрий;
- в формировании устойчивости к антибиотикам;
- в усвоении Mg^{2+} и железа.

Локусы патогенности сальмонеллы представлены в таблице 1.2.

SPI-1:

- имеет размер 43 kb;
- сформирован в процессе эволюции в результате горизонтального переноса генов от других патогенных бактерий;
- содержит 31 ген, которые ответственны за инвазию не фагоцитарных клеток и компоненты секреции III типа (TTSS), известные как аппарат секреции *Inv/Spa Type III*.

Основные гены – это [7]:

- *invA* – это белок внутренней мембраны, участвующий в образовании канала, через который экспортируются полипептиды;
- *invB*;
- *invC*;
- *invF*;
- *invG* – это белок наружной мембранный TTSS, играющий решающую роль в усвоении и секреции белков бактерией;
- *hilA* – центральный регулятор транскрипции кодированных генов, локализованный на SPI-1;
- *sipA* – это актин-связывающий белок;
- *SipB* и *SipC* – это основные белки, взаимодействующие с цитоскелетными белками хозяина, помогая поглощению сальмонелл;
- *sipD*;
- *spar*;
- *orgA*;
- *sopB* – инозитолфосфатаза;
- *sopE* – активизирует ГТФ-связывающие белки.

InvH и *HilD* – это вспомогательные белки, вовлеченные в адгезию сальмонелл. TTSS секретируют два вида эффекторных белков. Один подкласс состоит из *InvJ* и *SpaO*, участвующих в секреции белка через TTSS, а другой модифицирует цитоскелет клетки хозяина, инициируя всасывание.

Белок *Inv/Spa* также отвечает за апоптоз макрофага.

SPI-2: SPI-2 – это сегмент длиной 40 тыс. пн, который кодирует 32 гена. Большинство этих генов экспрессируется в ходе бактериального роста внутри хозяина. Он несет гены для *Spi/Ssa* и аппарата TTSS, то есть *SpiC*, ингибирующий слияние фагосомы с сальмонеллой и лизосомы. Эти генные продукты необходимы для развития системной инфекции и обеспечивают размножение бактерий, а не их выживание в макрофагах хозяина.

SPI-3: SPI-3 – это локус длиной 17 тыс. пн, содержащий десять генов. Он присутствует в серотипах *S. enteric Typhi* и *Typhimurium*, ИА также обнаружен и у *S. bongori*. Генный продукт *MgtCB* необходим для Mg²⁺-зависимого роста и выживания внутри макрофага.

SPI-4: SPI-4 – это локус длиной 27 тыс. пн, расположенный рядом с предполагаемым геном тРНК, в котором содержится 18 генов. Считается, что он кодирует гены для системы секреции I типа, а генные продукты требуются для выживания в макрофаге.

SPI-5: SPI-5 – это область длиной 7,6 тыс. пн, кодирующая 6 генов. По видимому, SPI-5 кодирует эффекторные белки для TTSS. *SopB* – это инозитолфосфатаза, инициирующая секрецию жидкости, что приводит к диарее; она перемещается благодаря TTSS, и поэтому считается, что SPI-5 отвечает за кишечную инфекцию.

SPI-6: SPI-6 – это локус длиной 59 тыс. пн, присутствующий у серотипов *Typhi* и *Typhimurium*. Он содержит кластер *saf*-генов для fimбрий, *pagN* – для инвазии и несколько генов с пока что неизвестной функцией.

Таблица 1.2 – Локусы патогенности сальмонеллы (*SPI*)

Островки патогенности	Серотипы <i>Salmonella</i>	Длина, тыс.п.н.	GC, %	Функция	Островки патогенности	Серотипы <i>Salmonella</i>	Длина, тыс.п.н.	GC, %	Функция
<i>SPI-1</i>	<i>Salmonella Enterica</i> и <i>S. bongori</i>	43	47	<i>TTSS</i> , инвазия, усвоение железа	<i>SPI-6</i>	Серотипы <i>S. Enrerica subspecies enrerica</i>	59	51,5	Фимбрии
<i>SPI-2</i>	<i>S. enrerica</i>	40	44,6	<i>TTSS</i> , инвазия, системная инфекция	<i>SPI-7</i>	Серотипы <i>Typhi</i> , <i>Dublin</i> , <i>Paratyphi</i>	133	49,7	<i>Vi</i> -антиген
<i>SPI-3</i>	<i>S. enrerica</i> и <i>S. bongori</i>	17	39,8-49,3	Усвоение Mg ²⁺ , выживание в макрофаге	<i>SPI-8</i>	Серотипы <i>Typhi</i>	6,8	38,1	Неизвестна
<i>SPI-4</i>	<i>S. enrerica</i> и <i>S. bongori</i>	27	37-54	Выживание в макрофаге	<i>SPI-9</i>	<i>S. enrerica</i> и <i>S. Bongori</i>	16,3	56,7	Система секреции I типа и <i>RTX</i> -подобный токсин
<i>SPI-5</i>	<i>S. enrerica</i> и <i>S. bongori</i>	7,6	43,6	Энтеропатогенность	<i>SPI-10</i>	Серотипы <i>Typhi</i> и <i>Enteritidis</i>	32,8	46,6	<i>Sef</i> -фимбрии

SPI-7: SPI-7, основной островок патогенности (MPI)

Этот локус длиной 133 тыс. пн специфичен для серотипов *Typhi*, *Dublin* и *Paratyphi*. Он кодирует ген Vi-антигена, капсулльного полисахарида, вызывающего высокую температуру при брюшном тифе. SPI-7 также несет кластер *pil*-генов для синтеза пилей IV типа и кодирует ген эффекторного *SopE* белкаTTSS.

SPI-8: SPI-8 – это локус длиной 6,8 тыс. пн, и он, возможно, специфичен для серотипа *Typhi*. Он несет гены для биосинтеза предполагаемого бактериоцина, но функциональные характеристики этого островка патогенности до сих пор подробно не исследовались.

SPI-9: SPI-9 – это локус длиной около 16 тыс. пн, несущий гены для системы секреции I типа и предполагаемого крупного RTX-подобного токсина.

SPI-10: SPI-10 представляет собой локус длиной 32,8 тыс. пн, который кодирует гены для *sef*-фимбрий. Он обнаружен у серотипов *Typhi* и *Enteritidis*.

SGI-1(первый геномный островок сальмонелл): SGI-1 - это локус молекулярной массой 43 кДа, который кодирует гены стойкости к антибиотикам. Он выделен у *S. Typhimurium DT104*, *Paratyphi* и *Agona*, которые проявляют стойкость ко многим антибиотикам. Штамм *DT104* вызвал вспышки в разных странах. Сайт вставки заключен между прямыми повторами и не связан с геном тРНК. Гены для фенотипов, стойких к пяти антибиотикам (ампициллину, хлорамфениколу, стрептомицину, сульфонамидам и тетракцилину), образуют кластер стойкости ко многим лекарствам и состоят из двух интегронов.

HPI (островок высокой патогенности): HPI(High Pathogenicity Island) обнаружен у *S. enterica*. Он кодирует гены биосинтеза сидерофоров, необходимых для усвоения железа. HPI также присутствует у йерсиний (*Yersinia enterocolitica* *Y. pseudotuberculosis*).

1.1.5 Антибиотикорезистентность *Salmonella* [3]

Открытие антибиотиков и явления антибиотикорезистентности у бактерий имело фундаментальное значение не только для медицины, но и для молекулярной генетики, в частности, привело к обнаружению природных мобильных элементов, транспозонов и коньюгативных плазмид.

На сегодня известно, что у микроорганизмов гены устойчивости к антибиотикам, как и гены ксеногенных химических веществ, чаще всего присутствуют на экстрахромосомных (присутствующих не у всех представителей вида) элементах генома – плазмидах, транспозонах и интегронах. При этом в генетических системах, обеспечивающих резистентность:

- имеются общие для большинства видов бактерий закономерности;
- прослеживается иерархия молекулярной организации.

У мультирезистентных штаммов гены устойчивости к разным АБП:

- обыкновенно сцеплены (сгруппированы в генные кассеты);
- часто оказываются расположены внутри особых последовательностей (генетических элементов) – транспозонов и интегронов.

Транспозоны:

- мобильные генетические элементы;
- кодируют функции, позволяющие им перемещаться по геному;
- спорадически встречаются в бактериальной хромосоме или присутствуют в составе плазмид (при этом либо плазмида несет единственную копию мобильного элемента определенного типа, либо по одной копии мобильных элементов разных типов).

Способы передачи генов устойчивости:

- вертикально (при делении, от родительской клетки к ее потомкам);
- горизонтально (от бактерии-донора к бактерии-реципиенту, в случае, когда реципиент не является потомком донора).

У бактерий описаны три механизма горизонтального переноса генов:

- конъюгация – паразексуальный процесс, при котором две бактериальные клетки непосредственно контактируют между собой с помощью особой белковой структуры (половых пилей) и происходит односторонний перенос части генетического материала (включая плазмиды и часть бактериальной хромосомы);
- трансдукция – перенос хозяйских генов при помощи бактериофагов;
- трансформация – предусматривает поглощение свободной ДНК (например, геномной ДНК, высвободившейся из погибших бактерий) из среды в клетку, с последующим включением фрагментов захваченной ДНК в состав хромосомы реципиента.

Среди перечисленных фрагментов, конъюгация способна обеспечить передачу наибольшего количества генетической информации (сотни генов), что связано с существованием высокоэффективных природных систем, инициирующих и осуществляющих данный процесс.

Плазмиды:

- внехромосомные молекулы ДНК длиной от 2 до 250 kb (значительно меньше хромосомы бактерии);
- способны к автономной репликации;
- кольцевые молекулы;
- содержат сайт инициации репликации (ориджин репликации – oriV);
- некоторые плазмиды имеют собственный ген белка инициации репликации (TrfA).

Большинство крупных плазмид имеют гены, обеспечивающие:

- контроль копийности;
- стабильность наследования (последние обеспечивают равномерную сегрегацию – распределение молекул ДНК в дочерние клетки при делении бактерии).

Коньюгативные плазмиды несут гены систем коньюгативного переноса, включающие в себя примерно 40 генов, в том числе:

- участок ДНК, с которого начинается перенос плазмиды (oriT);
- гены белков половых пилей (trbC);
- гены белков коньюгативной поры;
- никазы (traI) - вносит разрыв в одну из цепей ДНК плазмиды в области oriT;
- релаксазного комплекса (traJ, traK) – переносит одноцепочечную ДНК к поре в клеточной стенке, через которую осуществляется передача ДНК в другую клетку.

Часто плазмиды также несут дополнительные гены, обеспечивающие бактерии селективное преимущество в токсичной среде или в условиях стресса:

1) гены устойчивости к:

- антибиотикам;
- тяжелым металлам.

2) гены деградации ксеногенных химических веществ.

Плазмиды, несущие гены резистентности к АБП, получили общее название R-плазмид (от слова «resistance»).

Дополнительные гены плазмид, кодирующие резистентность к АБП, чаще всего находятся в мобильных генетических элементах:

- транспозонах;
- простых транспозонах;
- интегронах.

Сложные транспозоны состоят из фрагмента ДНК, окруженного из флангов т.н. IS-элементами.

IS-элементы («вставочные последовательности», «insertion sequences»), являются:

- простейшими мобильными элементами ДНК;
- функционально активными;
- носителями только ген транспозозы – фермента, обеспечивающего мобильность, и не содержит генов с фенотипическими проявлениями.

Транспозаза:

- связывается со специфическими сайтами узнавания на концах IS-элемента;
- вырезает IS-элемент (сшивая образовавшийся разрыв в ДНК);
- после чего осуществляет вставку вырезанного IS-элемента в другое место в плазмидной или хромосомной ДНК.

Когда два одинаковых IS-элемента фланкируют фрагмент ДНК (один ген устойчивости или целую генную кассету), транспозаза может привести вышеописанное перемещение со всеми указанными фрагментом, который в этом случае является сложным транспозоном.

Простые транспозоны:

- не несут на концах IS-элементов, а вместо них имеют короткие инвертированные повторы;
- кодируют собственную транспозазу (*tnpA*) и второй фермент – резолвазу (сайт *res*);
- мигрируют по механизму репликативной транспозиции.

Интегроны – генетические элементы, способные:

- включать (захватывать) в свой состав открытые рамки считывания;
- накапливать их в генные кассеты;
- экспрессировать генные кассеты с собственного промотора.

Интегроны обладают механизмом, позволяющим им эффективно обмениваться между собой генными кассетами.

1.1.6 Культуральные свойства *Salmonella*

Культуральные показатели Сальмонеллы [5, 8]:

- в мазках располагаются одиночно, беспорядочно;
- по Граму красятся отрицательно;
- способны расти на большом числе различных культуральных сред;
- на питательных средах образуют видимые колонии в течении 24 часов при 37 °C;
 - при выращивании в экстремальных для них температурах (при 4-8 и при 44 °C), а также при pH 4,4 и 9,4 сальмонеллы образуют длинные нитевидные цепочки;
 - большинство сальмонелл использует аминокислоты в качестве источника азота (исключение: *S. Typhimurium* нитраты, нитриты и NH₃, они служат в качестве единственных источников азота);
 - нейтральная область pH являются оптимальными для роста сальмонелл, а значения pH выше 9 и ниже 4 являются бактерицидными;
 - при аэрации наблюдается более быстрый рост (следует учитывать совокупность некоторых параметров, таких как pH, активность воды (a_w), состав питательных веществ и температура);
 - пределы температур для роста: от 5,3 °C для серовара *S. Heidelberg* и 6,2 °C для *S. Typhimurium* до 45 °C;
 - пределы влажности: ингибирование роста происходит при значениях a_w ниже 0,94 в среде с нейтральным pH (при пониженных значениях pH для роста требуются более высокие значения активности воды);
 - не способны выдерживать высокие концентрации солей (солевой раствор в концентрации выше 9 % является бактерицидным);
 - большинство сальмонелл использует аминокислоты в качестве источника азота (исключение: *S. typhimurium* нитраты, нитриты и NH₃, они служат в качестве единственных источников азота);
 - нейтральная область pH являются оптимальными для роста сальмонелл, а значения pH выше 9 и ниже 4 являются бактерицидными;

-при аэрации наблюдается более быстрый рост (следует учитывать совокупность некоторых параметров, таких как pH, активность воды (a_w), состав питательных веществ и температура);

- пределы температур для роста: от 5,3 °C для серовара *S. Heidelberg* и 6,2 °C для *S. Typhimurium* до 45 °C;

- пределы влажности: ингибирование роста происходит при значениях a_w ниже 0,94 в среде с нейтральным pH (при пониженных значениях pH для роста требуются более высокие значения активности воды);

- не способны выдерживать высокие концентрации солей (солевой раствор в концентрации выше 9 % является бактерицидным).

1.2 Биотехнология производства высокоактивных вирулентных бактериофагов [10, 11]

Создание высокоактивных вирулентных бактериофагов против *Salmonella typhimurium* произведено на основе:

- выделения и изучения биологических свойств;
- электронно-микроскопических исследований (на электронном микроскопе JEOL-100).

Бактериофаги:

- биологические специфичные вирусоподобные объекты;
- открыты в 1915 и 1917 годах английским бактериологом F. Twort и канадским ученым F. d'Herelle соответственно.

Рассвет антибиотикотерапии привел к проблемам, вызванным:

- появлением лекарственно-устойчивых патогенных и условно-патогенных бактерий;
- многочисленными трудностями при применении только химиотерапевтических средств.

В связи с этим для лечения заболеваний растет актуальность применения безопасных биологических объектов.

Бактериофаги лизируют бактериальные клетки, к которым они специфичны, обеспечивая бактерицидный эффект.

Механизм действия фагов состоит:

- в проникновении;
- во взаимодействии их с геномом клетки бактерии;
- лизогенный (геном фага внедряется в геном бактерии и передается из поколения в поколение, в итоге, в бактериях синтезируются вирионы, которые лизируют клетки) или литический (бактериофаги в бактерии сразу начинают размножаться, быстро разрушая клетку) эффект.

Бактериофаги, в зависимости от характера взаимодействия с микробной клеткой, подразделяются на вирулентные (вызывают литический эффект) и умеренные (вызывают лизогенный эффект).

При взаимодействии вирулентных фагов с бактерией выделяют несколько стадий:

- адсорбцию;
- проникновение;
- биосинтез нуклеиновой кислоты и белков;
- сборку и выход из клетки с ее разрушением.

Взаимодействие вирулентных фагов завершается лизисом бактериальной клетки и выходом из нее новых фагов.

Данный цикл размножения (длится 30-40 минут) приводит к образованию до 200 фагов.

Литические формы фагов есть основной элемент биологической борьбы с бактериальной инфекцией.

Умеренные фаги инфицируют клетку без ее лизиса. ДНК бактериофага, попавшая в клетку, интегрирует с ее геномом (профаг) и передается вертикально. В процессе развития не исключено превращение профага в вегетативную форму, что сопровождается размножением бактериофага, лизисом бактериальной клетки и выходом фагов.

S. typhimurium:

- 1) один из основных серовариантов, патогенных для молодняка:
 - крупного рогатого скота;
 - свиней;
 - пушных зверей;
 - кур, гусей, уток, фазанов (весьма распространены латентные инфекции – сальмонелл носительство);
 - голубей (доминирующий возбудитель сальмонеллеза, более 90 %);
 - других животных и птиц.
- 2) является одним из основных возбудителей пищевых токсикоинфекций человека (вызывают пищевые токсикоинфекции при употреблении инфицированных продуктов животного происхождения).

Получение антигенов бактерий *Salmonella Enterica*, *Subspecies Enterica* и гипериммунных сывороток к ним для иммуноферментного анализа.

Бактерии *Salmonella Typhimurium* и *Salmonella Enteritidis* являются возбудителями сальмонеллеза птиц, относящимися к роду *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*. Идентифицировано более 2300 серотипов сальмонеллы, из которых только 10 % было выделено из домашней птицы. Известно, что серотипами, наиболее часто выделяемыми из цыплят, а также людей являются *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis*.

В большинстве развитых стран мира разрабатываются программы мероприятий, направленные на улучшение ситуации по заболеваниям, вызываемым сальмонеллами, включающие своевременную и качественную диагностику. Эта задача осложняется:

- трудностями в идентификации штаммов и серотипов;
- широкой вариабельности вирулентных и антигенных свойств возбудителя.

Наиболее специфичным компонентом бактериальной клетки грамотрицательных бактерий является липополисахаридный антиген (применяют при ИФА диагностике).

1.3 Птицеводство в Казахстане [12, 13]

Птицеводство – динамичная скороспелая отрасль агропромышленного комплекса для производства товарных яиц и мяса.

Многие регионы Казахстана для развития птицеводства располагают благоприятными природными условиями. В особенности ведущими регионами по развитию птицеводства являются:

- Алматы (занимает по данной отрасли лидирующую позицию);
- Акмола;
- Северный Казахстан;
- Костанай;
- Восточный Казахстан;
- Караганда.

Согласно статистическим данным [12, 13], численность птиц в республике с 2012 по 2017 увеличилось на 19 % и составило на конец 2017 года 39 913,5 тыс. голов. При этом производство яиц составило 5,1 млрд шт. Возможное личное потребление яиц и яйцепродуктов населением увеличилось на 16 % и составила 241 млн. шт.

2 Объект, материал и методика исследований

2.1 Объект исследований



Рисунок 2.1 – Колонии бактерий *Salmonella*, полученные в лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ» при посеве на плотный питательный агар

Объектом исследования послужили бактерии рода *Salmonella*, выделенные из промышленного сельскохозяйственного объекта А (в связи с подписанием документа о конфиденциальности, обнародовать промышленный объект не представляется возможным).

На рисунке 2.1 представлены колонии бактерий рода *Salmonella*, выросшие на плотном питательном агаре.

2.2 Материалы исследований

При выполнении работы был использован лабораторный инвентарь следующего состава:

- 1 Оборудование и приборы:
 - 1.1 Стерилизатор паровой ВК-75-01.
 - 1.2 Термостат ТС-80, его технические характеристики [14].
 - 1.3 Микроскоп биологический монокулярный «Микромед С-11» [15].
- 2 Лабораторная посуда:
 - 2.1 Стекла предметные.
 - 2.2 Пробирки и флаконы соответствующей вместимости.
 - 2.3 Пробирка полимерная с наполнителем (с пластиковым зондом, с хлопковым наконечником), стерильная – для смывов.
 - 2.4 Чашки Петри среднего размера – для пересева.
 - 2.5 Петля бактериологическая – для взятия и переноса проб.
 - 2.6 Спиртовка – для поддержания стерильных условий.
 - 2.7 Диски, пропитанные антибактериальным препаратом.
 - 2.8 Лабораторный пинцет.
- 3 Рабочая одежда:
 - стерильный халат.

- стерильный колпак.
- стерильные перчатки.

4 Питательные среды и реагенты [16]:

- 4.1 Висмут-сульфит агар (агар Вильсон-Блера).
- 4.2 Ксилоза-лизин-деоксихолатный агар (XLD-агар).
- 4.3 Набор красителей по Граму.

5 Антибиотики [17-19]:

5.1 Oxytetracyclin (действующее вещество: окситетрациклиндигидрат) – это:

- антибактериальный препарат группы тетрациклических антибиотиков;
- имеет широкий спектр антибактериального действия;
- активен для большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий.

5.2 Colistin (действующее вещество: Колистиметат натрия):

- производное метансульфоновой кислоты колистина;
- бактерицидное действие оказывает для грамотрицательных бактерий.

5.3 Morbofloxacin (действующее вещество: марбофлоксацин):

- синтетический антибиотик;
- имеет широкий спектр антибактериального действия.

5.4 Doxycycline (действующее вещество: доксициклин):

- полусинтетический тетрациклин;
- имеет широкий спектр действия.

5.5 Sulfamemtoxazole (действующее вещество: Сульфаметоксазол + Тrimetoprim):

- комбинированный противомикробный препарат;
- имеет широкий спектр действия.

2.3 Методика исследований

Работа выполнялась в период с 22 ноября 2018 года по 18 февраля 2019 года в лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ». Работа основывалась на применении теоретических, полевых и лабораторных методов исследования.

Работа складывалась из следующих процедур:

1 Отбор смывов был осуществлен согласно МУ 4.2.2723-10 [1].

Смывы были взяты с мест объекта А по утвержденной методике. Микробиологические исследования были проведены на следующий день после получения смывов и их доставки в лабораторию.

2 Микробиологические исследования проводились в соответствии с указаниями, прописанных в ГОСТ 31659-2012 (межгосударственный стандарт) [20]. Приготовление осуществляли: 1) лабораторной посуды согласно ГОСТ ISO 7218-2015 [21]; 2) приготовление питательных сред [22] – инструкции; 3) разлив питательных сред в чашки Петри [16] производили не более чем на 3/4 емкости.

3 Результаты исследований

3.1 Отбор смынов

Первостепенной нашей задачей был отбор смынов на сельскохозяйственном объекте для дальнейшей идентификации штаммов бактерий *Salmonella* (рисунок 3.1).

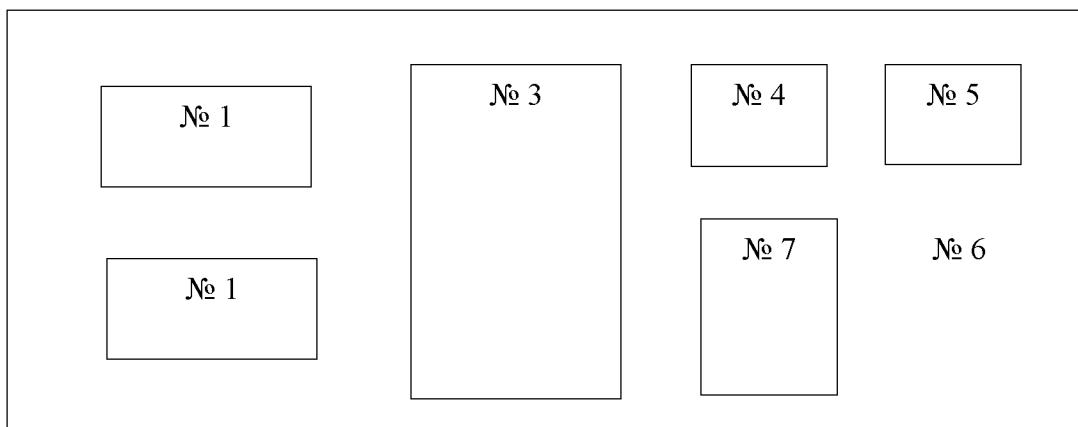


Рисунок 3.1 – Отбор смынов на сельскохозяйственном объекте: № 1 – территория вольера лошади, № 2 – территория вольера бородача, № 3 – территория птичника, № 4 и № 5 – производственные помещения, № 6 – территория объекта, № 7 – стол разморозки мяса

Из рисунка 3.1 видно, что:

- смыв № 1 получен от территории вольера лошади;
- смыв № 2 получен от территории вольера бородача;
- смыв № 3 получен от территории птичника (коридор, пол);
- смыв № 4 получен от производственного помещения (не исключено обитание крыс);
- смыв № 5 получен от производственного помещения (не исключено обитание крыс);
- смыв № 6 получен на территории объекта;
- смыв № 7 получен от стола разморозки птичьего мяса.

В дополнение следует отметить, что именно сальмонеллез является значительно распространенным заболеванием по анализу статистических данных среди сельскохозяйственных животных, в частности, среди крупного рогатого скота и птиц.

С целью изучения антибиотикочувствительности данных бактерий были в условиях лаборатории исследованы 7 смынов, выделенные с различных мест территории объекта сельскохозяйственного назначения (Объект А; рисунок 3.2).

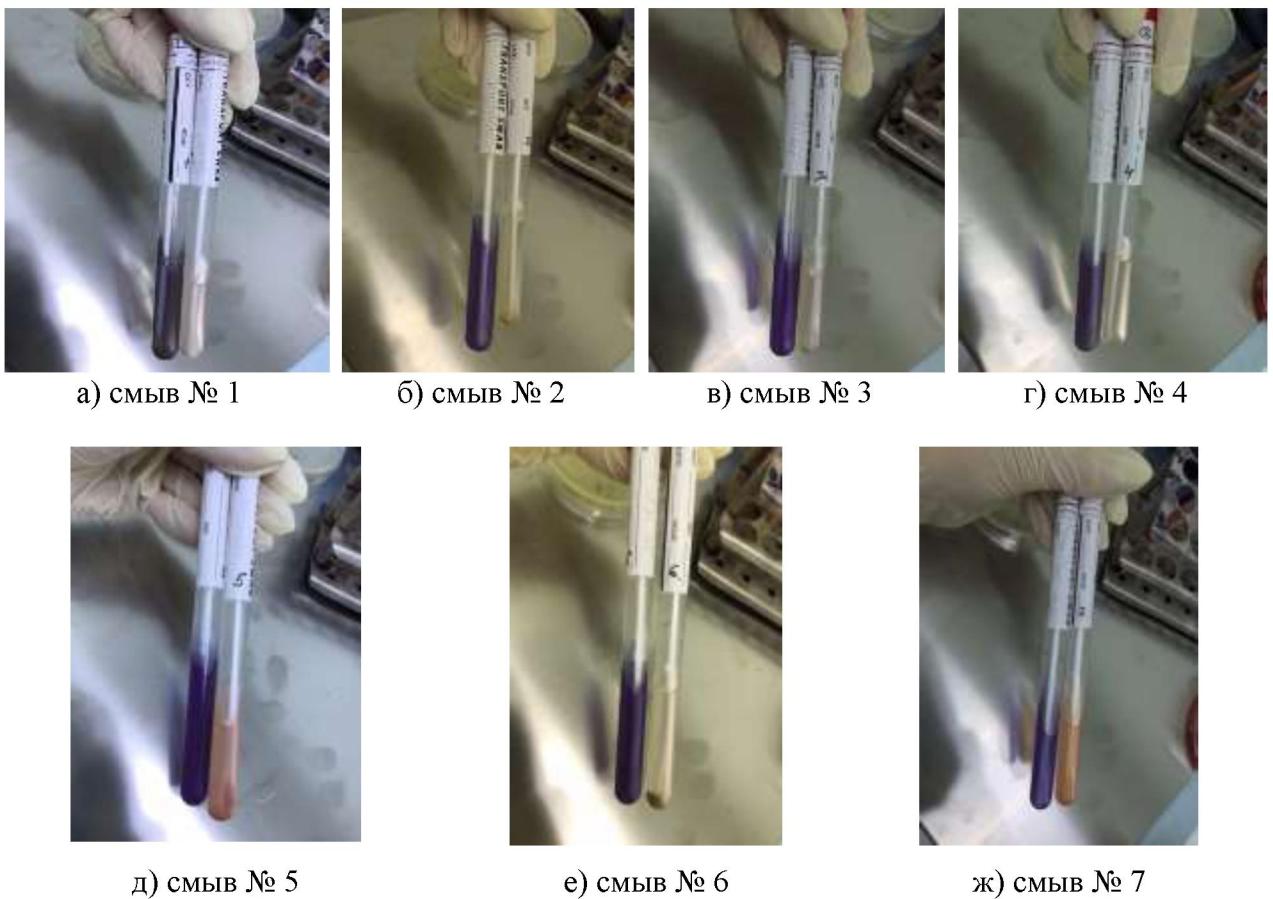


Рисунок 3.2 – Смывы, выделенные с различных мест территории объекта сельскохозяйственного назначения

3.2 Определение чувствительности *Salmonella* к антибактериальным препаратам

После отбора смывов полученный клинический материал был в кратчайшие сроки доставлен в лабораторию для микробиологических исследований с целью эффективного изучения биологических и культуральных свойств данного микроорганизма.

Этапы микробиологического исследования:

1 Изучение техники безопасности правил работы в лаборатории ТОО «НДЦ АЕГ», ознакомление с сотрудниками и инструментарием.

2 Изучение ГОСТов по диагностике сальмонеллеза.

3 Приготовление лабораторной посуды осуществляли по ГОСТ ISO 7218-2015.

4 Приготовленные питательные среды наливаем на чашки Петри и после застывания подсушиваем. Далее отправляем на автоклавирование для эффективной стерилизации.

5 Посев бактерий на питательные среды.

Изучив проведение анализа по ГОСТ 26670-91, воспользовались поверхностным методом посева бактерий на плотные среды.

6 Культивирование бактерий рода *Salmonella* в термостате.

7 Из отобранных для биохимической идентификации колоний готовим мазки и окрашиваем по Граму согласно ГОСТ 30425.

Бактерии рода *Salmonella* являются грамотрицательными палочками с закругленными концами. Обнаружение темных колоний бактерий рода *Salmonella* на питательных средах (рисунок 3.3).



Рисунок 3.3 – Темные колонии бактерий рода *Salmonella* на питательных средах Висмут-сульфит агар (BSA Agar)

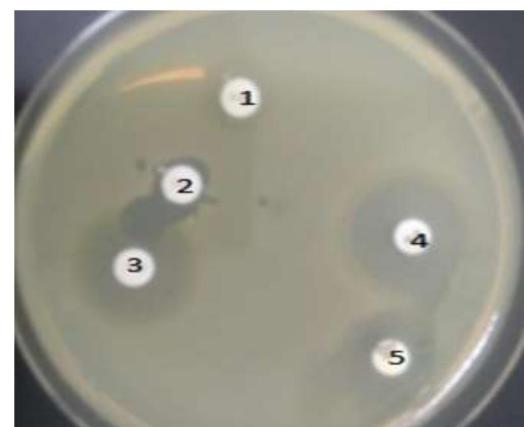
Микробиологические исследования по обнаружению сальмонеллы проводили с использованием двух питательных сред, поэтому различали два варианта опыта:

- опыт № 1 – Ксилоза-лизин-деоксихолатный агар (XLD-агар),
- опыт № 2 – Висмут-сульфит агар (BSA Agar).

Из двух проведенных микробиологических исследований, рост колоний сальмонелл был зафиксирован во втором опыте. Также стоит отметить, что не обнаружение культур сальмонелл в первом опыте связано с медленным ростом этих бактерий на данных питательных средах.



а) 0 ч



б) 36 ч

Рисунок 3.4 – Определение чувствительности сальмонелл к антибактериальным препаратам методом диффузии препаратов из бумажных дисков на агариованной питательной среде (разъяснения см. в тексте)

Микробиологические исследования проводились в соответствии с ГОСТами и в ходе работы:

1) в процессе окрашивания обнаружили, что сальмонеллы являются грамотрицательными бактериями с закругленными концами;

2) изучена антибиотикорезистентность сальмонелл (рисунок 3.4).

Изучение на антибиотикочувствительность проводили диско-диффузионным методом [23], когда в качестве носителя АБП применяли бумажный диск. Образование зоны подавления роста происходит в результате диффузии АБП из носителя в питательную среду.

Антибиотики, использованные в работе исследования:

- 1) Oxytetracyclin (T);
- 2) Colistin (CL);
- 3) Sulfamemoxazole/Trimethoprim (SXT);
- 4) Morbofloxacin (MAR);
- 5) Doxycycline (DXT).

С использованием таких антибактериальных препаратов, как oxytetracycline, colistin, morbofloxacin, doxycycline, sulfamemoxazole/trimethoprim, выявлена чувствительность ко всем антибактериальным препаратам, помимо oxytetracyclin. К нему обнаружена устойчивость. Доказательством служат круглые зоны вокруг диска, свидетельствующие об отсутствии бактериального роста, которые образуются при высокой (зона более 30 мм) и слабой чувствительности (зона менее 12 мм) к данному антибактериальному препарату. Результатом исследования является отнесение сальмонеллы к одной из категорий чувствительности:

- 1) резистентный к Oxytetracyclin (T);
- 2) слабо чувствителен к Colistin (CL);
- 3) высоко чувствителен к Sulfamemoxazole/Trimethoprim (SXT);
- 4) высоко чувствителен к Morbofloxacin (MAR);
- 5) чувствителен к Doxycycline (DXT).

В работе А.В. Забровской (2013) у микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства выявлена устойчивость к тетрациклину, хлорамфениколу, ампициллину, стрептомицину и сульфаниламиду. В работе О.И.Шитовой (2011) по чувствительности к antimicrobным препаратам сальмонелл, циркулирующих в Пермском крае. Среди прочих antimicrobных препаратов, использованных в этой работе, нас интересовал известный и использованный в нашем случае антибиотик – доксициклин. Уровень чувствительности региональных штаммов сальмонелл к доксициклину составил 31,8 % [24, 25].

Таким образом, в профилактических целях для целенаправленной антибактериальной терапии кишечной инфекции у птиц рекомендуется применение таких антибиотиков, как Morbofloxacin или Sulfamemoxazole/Trimethoprim.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении исследований изучены и освоены современные методические подходы по определению чувствительности бактерии рода *Salmonella* к пяти АБП. На основе освоенного методического подхода был проведен мониторинг чувствительности к антбактериальным препаратам бактерии рода *Salmonella*.

Выводы:

- 1) обнаружение темных колоний на питательных средах Висмут-сульфит агар (BSA Agar) указывает о росте бактерий рода *Salmonella*;
- 2) бактерии рода *Salmonella* являются грамотрицательными палочками с закругленными концами;
- 3) для целенаправленной антбактериальной терапии кишечной инфекции у птиц в данном хозяйственном объекте рекомендуется применение таких антибиотиков, как Morbofloxacin или Sulfamoxazole/Trimethoprim.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 13 августа 2010 г.).
- 2 МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.
- 3 Ахметова Д. Г., Бердыгулов Ж. А., Евтыхова Е. Б., Шустов А. В. Сальмонеллы: молекулярные механизмы приспособленности и факторы вирулентности // Биотехнология. Теория и практика. № 1, г. Астана, 2012. – с. 3-21.
- 4 Никитина Е.В. Микробиология / Никитина, Е.В. и. др. - М.: Гиорд, 2012. - 368 с.
- 5 Джей Дж. М., Лесснер М. Дж., Голден Д. А. Современная пищевая микробиология, пер. 7-го англ. изд. – М. БИНОМ. Лаборатория знаний, 2017. – 886 с.
- 6 Мезенцев С.В., Разумовская В.В. Распространение сальмонелл в продукции животноводства // Вестник Алтайского государственного аграрного университета № 7(117), г. Барнаул, 2014. – с. 118-121.
- 7 Бхуниа А. К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов – Санкт-Петербург: ИД «Профессия», 2014. – 344с.
- 8 Равилов Р.Х. Микробиология: Учебное пособие. – СПб.: Издательство «Лань», 2016. – 496 с.
- 9 Павлова И.Б., Зуев В.С. Биохимические свойства сальмонелл при обитании их в водной среде // Ветеринарная патология № 1, г. Москва, 2007 – с. 81-85.
- 10 Чиркова В. И., Пименов Н. В. Биологические свойства бактериофагов Phagum Salmonella Typhimurium и их использование в борьбе с сальмонеллезом птиц // Ветеринарная патология № 4, г. Москва, 2008.- С. 141-145.
- 11 Капускина Ю.В., Прунтова О.В. Получение антигенов бактерий *Salmonella Enterica Subspecies Enterica* и гипериммунных сывороток к ним для иммуноферментного анализа // Ветеринарная патология № 4, г. Москва, 2007. – С. 76-80.
- 12 Алибаева Ж. Н., Траисов Б. Б. Развитие птицеводства в Казахстане // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, г. Оренбург, 2014 – С.246-248.
- 13 Сельское, лесное и рыбное хозяйство в Республике Казахстан (2012-2016) // Статистический сборник, г. Астана, 2017 – 196 с., Сельское, лесное и рыбное хозяйство в Республике Казахстан (2013-2017) // Статистический сборник, г. Астана, 2018 – 207с.
- 14 Технический паспорт ТС-80. Белгород, 2018. – 17 с.

- 15 Техническое описание и инструкция по эксплуатации микроскопа «Микромед С-11». СПб, ООО «Оптические приборы», 2015. – 23 с.
- 16 Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. М.: Издательский центр «Академия», 2005. - 608 с.
- 17 Каримов, И. Ф. Антибиотики и химиотерапевтические препараты / И.Ф. Каримов. - М.: Бибком, 2012. - 650 с.
- 18 Ющук, Н.Д. Антибиотики и противоинфекционный иммунитет / Н.Д. Ющук. - М.: Практическая медицина, 2012. - 692 с.
- 19 Страчунский, Л. С. Антибиотики: клиническая фармакология. Руководство для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. - М.: Амипресс, 2014. - 208 с.
- 20 ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*.
- 21 ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям.
- 22 ГОСТ 10444.1-84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе (с Изменением N 1).
- 23 МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания.
- 24 Шитова О.И., Казъянин А.В., Захарова Ю.А. Эпидемиологические особенности, биологическая характеристика и чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, циркулирующих в Пермском крае // Сибирский медицинский журнал, 2011.-С.116-120.
- 25 Забровская А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства // FarmAnimals, г. Москва, 2013.- С.78-83.

Краткий отчет



Университет:

Satbayev University

Название:

Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии рода *Salmonella*

Автор:

Миятжанова Қуаныш Даuletқызы

Координатор:

Гуля Джамалова

Дата отчета:

2019-04-25 09:47:26

Коэффициент подобия № 1: ?

18,2%

Коэффициент подобия № 2: ?

3,8%

Длина фразы для коэффициента подобия № 2: ?

25

Количество слов:

6 201

Число знаков:

49 118

Адреса пропущенные при проверке:

Количество завершенных проверок: ?

14

! К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены соответственно.

Количество выделенных слов 7