ХАБАРОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

# ФАГОТИПИРОВАНИЕ ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

(Методические рекомендации)

г. Хабаровск, 1974 г.

gost.e-ecolog.ru

Хабаровский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии Министерства
здравоохранения РСФСР

# ФАГОТИПИРОВАНИЕ ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

/Методические рекомендации/

Г.Хабаровск, 1974 г.

Одобрены Ученым Советом Хабаровского НИИ эпидемиологии и микробиологии и Хабаровским Краевым лабораторным Советом в качестве методических рекомендаций в помощь бактериологам и эпидемиологам Дальнего Востока.

Старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук - М.С.Ленкина

Редакционный совет Хабаровского НИИЭМ - А.И.Барышникова, И.Е.Троп, Н.И.Макаревич, С.Е.Шапиро, Л.А.Верета, А.В.Колганов, И.С. Старостина.

Общая редакция И.Е.Тропа

В настоящее время метод фаготипирования бактерий брюшного тифа и паратифов получил широкое распространение и всеобщее признание как ценное оружие каждого квалифицированного эпидемиолога. В Хабаровский НИИЭМ неоднократно обращаются эпидемиологи и бактериологи Хабаровского края и других курируемых институтом областей (Магаданской, Сахалинской, Камчатской, Амурской) в связи с затруднениями при интерпретации результатов фаготипирования в эпидемиологическом обследовании.

Многие бактериологические лаборатории Дальнего Востока не располагают литературой по данному, практически весьма важному вопросу и ощущают в ней большую потребность. Монография М.Д.Крыловой "Фаготипирование бактерий" 1963, стала в настоящее время библиографической редкостью.

Настоящие рекомендации составлены на основании результатов многолетних исследований завершенных в 1973 году и материалов региональной лаборатории ХНИИЭМ по фаготипированию патогенных бактерий, а также данных современной литературы. В них содержатся сведения об основных принципах фаготипирования бактерий, получении типовых бактериофагов, схемах фаготипирования патогенных энтеробактерий, о стабильности и изменчивости фаготипов в лабораторных условиях и разнообразных эпидемических ситуациях.

Ознакомление с ними повысит эффективность использования метода фаготипирования в противоэпидемической практике.

Пособие рассчитано на эпидемиологов и бактериологов санитарно-эпидемиологических станций и бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений Дальнего Востока.

# I. ВВЕДЕНИЕ

Дальнейшее снижение заболеваемости брюшным тифом и паратифами в нашей стране является одной из важнейших задач. На современном этапе борьбы с этими инфекциями заболеваемость приобретает в основном спорадический характер, при котором осложняется выявление источников и факторов распространения инфекции. В связи с этим требуется применение более совершенных и тонких методов эпидемиологического обследования и анализа, способствующих исчерпывающему раскрытию всех звеньев эпидемического процесса, а следовательно, и целенаправленному проведению противоэпидемических и профилактических мероприятий при брюшном тифе и паратифах. К числу методов, вооружающих противоэпидемическую практику, относится фаготипирование, позволяющее обнаружить различия между бактериями внутри вида.

Схемы фаготипирования разработаны для многих видов бактерий, а для некоторых из них (возбудители брюшного тифа, паратифов А и Б, стафилококки) существуют международные схемы фаготипирования.

Международная практика фаготипирования показала, что для создания наиболее стандартных условий необходима централизация работы в крупных лабораториях.

В СССР централизация работ по фаготипированию патогенных бактерий осуществлена в 1964 году путем создания центральной научно-исследовательской лаборатории по фаготипированию при Тбилисском научно-исследовательском институте вакцин и сыворо-

ток и региональными лабораториями занимающимися фаготипированием тифозных и паратифозных культур выделяемых почти на всей территории страны.

## 2. Основные принципы фаготипирования энтеробактерий.

Современные методы фаготипирования основаны на двух различных принципах. Первый - состоит в определении различий между бактериями по свойствам содержащихся в них умеренных фагов и основан на широком распространении среди бактерий лизогенных культур. Типирование проводится путем выделения из культур умеренных фагов и изучения их по различным критериям: диапазону литической активности, серологическим свойствам, морфологии стериальных пятен, специфическим изменениям устойчивости к фагу при лизогенизации индикаторного штамма, термочувствительности. Этот принцип был предложен Барнетом в 1932 году и носит название прямое типирование бактерий. Указанным способом подразделяют некоторые виды салмонелл, кишечные палочки. Следует отметить, что ценность метода фаготипирования в эпидемиологии (особенно в отношении энтеральных инфекций) часто определяется сроком в течение которого может быть получен результат.

Прямой метод фаготипирования трудоёмок и длителен, что, в известной мере, ограничивает его применение в практике.

Второй принцип заключается в изучении чувствительности культуры к определенным фагам. Поскольку этот метод выявляет дифференцирующее действие профага косвенно, в реакции клетки с типовыми фагами, его называют непрямым типированием.

Метод типирования бактерий по чувствительности к фагам считается более перспективным и быстрым. Осуществляется он с помощью наборов типовых фагов и используется для типирования многих видов микроорганизмов (стафилококки, протей, коринебактерий, бруцеллы и др.).

## 3. Получение типовых фагов

Типовыми фагами могут служить как вирулентные так и умеренные фаги.

Вирулентные фаги с типоустанавливающими свойствами могут быть выделены непосредственно из внешней среды (чаще из сточных вод) или экспериментально путем адаптации фага на отдельных группах фагоустойчивых культур.

В результате адаптации одного исходного фага обычно отбирают мутанты фагов по спектру литического действия. Такие фаги идентичны серологически и, как правило, в критическом тест - разведении лизируют только штамм гомологичного типа. Типовые фаги, полученные методом адаптации, используют в схемах типирования бактерий брюшного тифа, салмонелл, тифимуриум, паратифа А.

Типовые умеренные фаги, обладающие различными спектрами литического действия, выделяются из различных лизогенных культур. Как правило, такие препараты в критическом тест-разведении лизируют не только гомологичный штамм, но и некоторые гетерологичные.

Подобным способом получают типовые фаги для типирования бактерий паратифа В.

Типовые фаги используют в максимальном десятикратном разведении фага, дающем сливной лизис гомологичного штамма. Необходимость разведения типовых фагов вызвана тем, что на плотной среде концентрированные фаги могут дать неспецифический лизис штаммов принадлежащих к гетерологичным фаготипам.

Центральной научно-исследовательской лабораторией по фаготипированию патогенных бактерий при Тбилисском НИИВС осуществляется производственный выпуск типовых фагов: возбудителей брюшного тифа (4I фаг в наборе), паратифа В (I0 фагов), паратифа А (6 фагов). В стадии лабораторной разработки находится фаготипирование сальмонелл тифимуриум, шигелл Флекснера и Зонне.

### 4. Фаготипирование бактерий брюшного тифа

Классическая схема фаготипирования бактерий брюшного тифа разработана Кредди и Иеном в I938 году и основана на том, что культуры этих бактерий, содержащие Vi - антиген, с помощью специфических Vi - фагов подразделяются на ряд стабильных фаготипов. Эта схема принята Международным комитетом по фаготипированию.

Перечень типовых фагов и штаммов непрерывно пополняется. В I947 году было известно 24 типовых фага, в I955 - 33, а в I962 году на Международном конгрессе в Монреале было сообщено

уже о 72 фагах:

Фаготип А

3 подтипа3 группы В ($B_I$, $B_2$, $B_3$)

9 - подтипов группы С ( от $C_I$ до $C_9$)

IO - подтипов группы Д (от $Д_I$ до $Д_{II}$),

подтип $Д_3$ - отсутствовал.

IO - подтипов группы Е (от $E_I$ до $E_{IO}$),

5 - потипов группы F (от $F_I$ до $F_5$),

Фаготипы Q и Н.

3 - подтипа группы I (от $I_I$ до $I_3$)

2 - подтипа группы К ($K_I$, $K_2$),

2 - подтипа группы L ($L_I$, $L_2$),

3 - подтипа группы М ($M_I$, $M_2$, $M_3$ ).

фаготипы № 0, Т, 25, 26, 27, 28, 29, 32,35, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 4I, 42, 43, 44, 45, 46.

НА IX-Международном конгрессе микробиологов в Москве официально включено ещё I2 новых фаготипов и подтипов, открытие которых связано с активной работой некоторых центров по фаготипированию.

Новые фаготипы: $C_{IO}$, $C_{II}$, $I_4$, $I_5$, $M_4$, $K_3$, 47, 48, $F_7$, $F_8$, $Q_2$, $Q_3$, 48, 50.

В I972 году их Международного центра по фаготипированию кишечных бактерий в Лондоне доктором Е.С.Андерсон в адрес региональной лаборатории ХНИИЭМ присланы новые фаги: $Д_{I2}$, $E_{II}$, $F_6$, $Q_4$, $Q_5$, 5I, 52, 53, 54, 55.

В итоге всех этих дополнений современная международная схема фаготипирования бактерий брюшного тифа включает 92 типовых фага и представлена в таблице I.

Характеризуя типовые фаги и штаммы следует отметить, что все фаги в схеме серологически идентичны и предоставляют варианты фага Vi - II типа А.

Штамм фаготипа А чувствителен ко всем типовым фагам, тогда как фаг А является самым специфичным фагом, потому что лизирует только свой гомологичный фаготип культур. Другие фаги, кроме культур своего гомологичного фаготипа, лизируют также и фаготип А.

Андерсон и Фрейзер (1955) считают, что фаготип А является самым примитивным фаготипом в схеме, а фаг № А представляет собой природную форму $^{Vi}$ фага II.

Объединение подтипов в группы В, С, Д, Е, F и другие основано на том, что штаммы с порядковым номером I ($Е_I$, $Д_I$ и т.д.) в критическом тест-разведении четко лизируются гомологичным фагом, а также фагами всех других подтипов данной группы.

Штаммы всех остальных подтипов лизируются, как правило, только гомологичными фагами.

Исключения из этого правила редки. Так, например, тип $С_3$ в критическом тест разведении, кроме гомологичного хорошо лизируется фагом $С_2$, тип $Д_3$ - фагами $С_2$, $Д_6$, $Д_8$, $Д_9$, $Е_9$, тип Т - фагом Т, 28, 39, 40 и тип 28 - фагом Т и 28.

Фаготипы $B_I$, $B_2$, $C_I$ и 4I по спектру чувствительности напоминают тип А, но отчетливо и с постоянством лизируются только гомологичными и групповыми фагами и поэтому выделены как самостоятельные фаготипы.

Новые типы, добавленные в последние годы, взаимодействуют только с гомологичными фагами.

Обычно считают, что для связывания фага и осуществления его действия на клетку в клеточной оболочке чувствительной бактерии должен находиться специфический рецептор.

У бактерий брюшного тифа отмечен параллелизм между чувствительностью к типовым фагам и наличием Vi - антигена в культуре. Кауфман (I935) ввел термины V, Vw и W - формы для обозначения культур, содержащих разные количества Vi - антигена и не содержащих его.

Культуры, лишенные $V_i$ - антигена, относятся к W - форме, не лизируются Vi - фагами и не агглютинируются Vi-сывороткой. В среднем такие культуры встречаются в 5-I0%.

Вторую группу нетепирующихся культур - составляют культуры, обладающие $V_i$ - антигеном, но резистентные ко всем используемым типам фага Vi - П. Такие штаммы именуются как нетепирующиеся $V_i$ - штаммы. Причем в этой группе могут встречаться культуры: а)- к которым отсутствует гомологичный фаг и нетепирующиеся культуры могут быть новыми, ещё неизвестными фаготипами.

б) к которым фаги серотипа П не адаптируются даже после многократных пассажей. Такого рода культуры называют истинными Imperfect - формами или гамма-формами.

И наконец, третья группа нетепирующихся культур объединяет полилизабильные Vi - штаммы, проявляющие высокую чувствительность к нескольким типовым фагам. Такие культуры называют ещё деградированными Vi- формами. Нередко при длительном хранении они превращаются в тип А, лизирующийся всеми фагами Vi - П. М.Д.Крылова отмечает, что в литературе посвященной вопросам фаготипирования, термин "деградация" штаммов употребляется в двух значениях: I) деградация как постепенная утрата культурой Vi - антигена и переход его через VW - форму в W - форму и 2) деградация в смысле потери специфичности штамма и превращения его в полилизабильную культуру.

## 5. Фаготипирование бактерий паратифа А.

Метод фаготипирования бактерий паратифа А предложен в 1948 году Феликсом. Впоследствии он был развит и дополнен Баникером (1955).

Паратифозный А фаг был выделен из сточных вод в Бомбее и позволил подразделить культуры паратифа А на две группы. Адаптируя этот фаг к резистентным культурам, Баникер получил ещё 4 типовых фага. В настоящее время набор типовых паратифозных А фагов включает 6 типов. Литическая активность типовых фагов в отношении фаготипов представлена в таблице 2.

Фаготип I лизируется всеми типовыми фагами, фаготип 2 лизируется гомологичным фагом и в такой же силе фагом 6, остальные 4 типа высоко специфичны и лизируются только своими гомологичными фагами.

Культуры нечувствительны к типовым фагам принято обозначать как нетепирующиеся.

Таблица 2

Схема фаготипирования бактерий паратифа А

| Фаготип культуры | Типовые фаги | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| I | сл | сл | псл | сл | сл | сл |
| 2 | - | сл | - | - | - | сл |
| 3 | - | - | сл | - | - | - |
| 4 | ++ | ++ | - | сл | +++ | ± |
| 5 | - | - | - | - | сл | - |
| 6 | - | - | - | - | - | сл |

Обозначения: сл - сливной лизис

псл - полусливной лизис

++ +++ - отдельные стерильные пятна (до 50),

± - непостоянные реакции,

- - отсутствие лизиса.

### 6. Фаготипирование бактерий паратифа В.

Метод фаготипирования бактерий паратифа В разработан Феликсом и Келлоу (I943-I95I) по принципу Кредки и Мена. Этот метод стандартизирован и рекомендован Международным

конгрессом для интернационального использования. По своей специфичности типовые фаги паратифа В сильно отличаются от фагов брюшного тифа. Специфичен по существу фаг I, лизирующий только гомологичный тип I. Все другие фаги взаимодействуют с двумя и более фаготипами. Поэтому принадлежность культур к какому-либо фаготипу устанавливается по чувствительности к различным сочетаниям фагов, как к гомологичным, так и гетерологичным.

Литическая активность IO стандартных фагов в отношении фаготипов в общепринятой сейчас форме представлена в табл. 3.

Таблица 3

Схема фаготипирования бактерий паратифа В

| Фаготип | Типовые фаги | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | 2 | 8а | 8в | Джерсей | Бикле | Таунтон | БАОР | Данди | Ворксоп |
| I | сл | сл | ++ | - | сл | - | - | - | псл | - |
| 2 | - | сл | - | - | - | - | - | - | псл | - |
| 3а | - | - | <сл | мл | - | <сл | <сл | мл | <сл | - |
| 8в | - | - | - | мл | - | <сл | <сл | мл | <сл | + |
| Джерсей | - | - | - | - | <сл | <сл | <сл | <сл | <сл | - |
| Бикле | - | - | - | - | - | <сл | <сл | - | <сл | - |
| Таунтон | - | - | - | - | - | - | <сл | - | <сл | - |
| БАОР | - | - | - | - | - | - | | мл | - | - |
| Данди | - | - | - | - | - | - | - | - | <сл | - |
| Ворксоп | - | - | - | - | - | - | - | - | - | сл |

Обозначения: сл - сливной лизис;
<сл - неполный лизис;
псл - полусливной лизис;
мл - лизис со вторичным ростом;
- - отсутствие лизиса.

Кроме IO основных типов и подтипов с помощью типовых фагов был определен целый ряд постоянных вариантов бактерий паратифа.В. Общее число отдельных типов, подтипов и вариантов, известных в настоящее время, превышает 30.

Существует и другой метод фаготипирования бактерий паратифа В. - схема Схолтенса. В качестве типовых фагов в этой схеме использованы наряду с фагами Феликса и Келлоу ряд умеренных фагов одного серотипа, но с различными спектрами литического действия.

Схема Схолтенса выявляет значительно большее количество вариантов культур по сравнению со схемой Феликса и Е Келлоу, но она более громоздкая.

### 7. Фаготипирование сальмонелл тифимуриум

Фаготипирование бактерий тифи муриум проводилось как прямым типированием, так и по чувствительности к стандартным фагам. Было составлено несколько схем фаготипирования. Наибольшее признание получил метод Феликса и Келлоу. В предложенный ими стандартный набор входит I3 адаптированных типовых фагов,

имеющих, подобно брюшнотифозным, единое происхождение. Этот метод наименее трудоемок, позволяет сравнительно легко выявить достаточно большое число фаготипов.

По схеме фаготипирования сальмонелл тифи муриум, представленной в таблице 4, принадлежность культур к какому-либо фагомилу устанавливается по чувствительности их к различным сочетаниям фагов.

К так называемым нетипирующимся относят культуры не дающие определенного литического рисунка, т.е. не укладывающиеся в схему; к отрицательным относят культуры, оказавшиеся нечувствительными к типовым фагам.

Таблица 4.

Схема фаготипирования бактерий тифи муриум.

| Фаготип | Типовые фаги | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | Ia | Ia Var1 | Iв | 2 | 2а | 2в | 2с | $2_d$ | 3 | 3а | 4 | 5 |
| I | мл | мл | мл | <сл | сл | сл | <сл | сл | мл | мл | мл | ± | мл |
| Ia | – | мл | мл | <сл | сл | <сл | мл | сл | мл | мл | мл | – | мл |
| Ia Var1 | – | мл | <сл | <сл | – | ± | мл | – | мл | мл | сл | – | ++ |
| Iв | – | – | <сл | <сл | сл | сл | мл | сл | мл | сл | сл | – | – |
| 2 | – | – | – | – | сл | сл | – | сл | – | – | – | – | – |
| 2а | – | – | – | – | – | сл | <сл | сл | <сл | – | – | – | – |
| 2в | – | – | – | – | – | – | мл | – | мл | – | – | – | – |
| Iс | – | – | – | – | <сл | <сл | <сл | <сл | <сл | – | – | – | – |
| 2а | – | – | – | – | ± | ± | ± | ± | <сл | – | – | – | – |
| 3 | – | – | ± | +++ | – | – | – | – | – | мл | ++ | – | – |
| 3а | – | – | ± | – | – | – | +++ | – | пол | + | <сл | – | – |
| 4 | – | – | – | – | – | ± | – | ± | ± | – | – | <сл | – |
| 5 | – | – | – | II | – | – | – | – | – | ++ | – | – | мл |

Обозначения: сл – сливной лизис, <сл – неполный лизис, пло – полусливной лизис, мл – лизис со вторичным ростом, ++ +++ – отдельные стерильные пятна, ± – непостоянные реакции, – отсутствие лизиса.

## 8. Фаготипирование прочих салмонелл и других представителей семейства кишечных бактерий

Известны схемы фаготипирования для довольно многих видов салмонелл, патогенных для человека и животных.

Некоторые виды салмонелл подразделены по методу Кредди и Иена путем определения их чувствительности к различным О - фагам.

Лилиенген (1950,1952) с помощью неспецифических О - фагов различного происхождения установил фаготипы и у салмонелл энтеритидис, дублин, галлинарум, пуллорум.

Смит (1951) набором специфических О - фагов типировал салмонеллы томпсон и описал фаготипы у салмонелл дублин, которые отличались от фаготипов, описанных Лилиенгеном.

Необычайно широкое распространение среди салмонеллезных бактерий лизогении позволяет проводить их типирование методом Бойда, основанном на подробном и всестороннем изучении выделенных из салмонелл фагов. Этот метод обеспечивает получение постоянных результатов, но является трудоёмким и длительным. Аткинсон с сотрудниками (1952 - 1957) предложили для фаготипирования салмонелл упрощенную модификацию прямого метода Бойда. основанную на определении круга литической активности содержащихся в бактериях латентных фагов в отношении стандартных индикаторных штаммов известных фаготипов.

Способ типирования Аткинсона, как отмечают М.Д.Крылова 1961) и М.С.Товмасян (1964) имеет преимущество перед методом Бойда в том, что не требует точной идентификации выделяемых латентных фагов и более прост. По сравнению с методом Кредди и Феликса метод Аткинсона технически несколько сложнее.

На основании применения упрощенной модификации были разработаны схемы фаготипирования салмонелл: аделаиде, бовис морбификане, потсдам, вайкроз (Аткинсон, 1952-1957); монтевидео (Талю, 1957), дерби (Товмасян, 1964).

Известны попытки фаготипирования других энтеробактерий: шигелл и патогенных эшерихий.

Были выделены монофаги к шигеллам Ньюкасл (Меклер, 1949) и шигеллам Флекснера (Ягуд, 1956), которые помогают дифференцировать друг от друга культуры разных серотипов.

Для фаготипирования шигелл Зонне предложена схема Хаммерстроме (1947,1949). В ней используют 12 фагов, изолированных из лизогенных культур. Фаги дифференцируют только R - форму шигелл Зонне. В.Й.Кузнецова (1956) предложила схему фаготипирования R - форм шигелл Зонне тремя изолированными из испражнений больных фагами позволяющими дифференцировать 5 фаготипов.

Для шигелл Флекснера, Мульчик и СлоНек (1962) предложили набор из 12 фагов, позволяющий подразделить этот вид на 40 фаготипов.

Берковици с соавторами (1967) предложили схему типирования шигелл Бойда при помощи 14 бактериофагов.

Попытки практического применения фаготипирования шигелл дали обнадеживающие результаты: в ряде случаев при помощи фагов удается подразделить серотипы на несколько фаготипов и облегчить этим проведение эпидемиологического анализа. Однако существующие наборы фагов и схемы типирования ещё не получили всеобщего признания (коллекции типовых фагов нуждаются в расширении, а схемы типирования - в уточнении).

Николь, Ля Минор Л, Ля МИнор С, Бутьо (1957) разработали схему фаготипирования патогенных эшерихий по чувствительности к 25 фагам, тесту Александро и Комс и Н-антигену. Им удалось дифференцировать серотип О111В4 Н12 на 11 фаготипов, 055 В5 - на 10, 026 В6 - на 7. Фаготипы обозначены по названиям городов и стран, откуда они происходили.

Один из недостатков схемы Николя - преобладание некоторых фаготипов. Кроме того, фаготипирование эшерихий затрудняет известная нестабильность фаготипов на питательных средах из-за диссоциации, особенно характерной для эшерихий серотипа 026 В6.

М.Д.Крылова (1962) для фаготипирования патогенных эшерихий использовала другой метод - испытание на лизогенность. Эта методика типирования заключалась в проверке культур на присутствие умеренных фагов перекрестно друг на друге, с дальнейшим выявлением разных индикаторных культур. Автор отмечает, что типирование патогенных эшерихий путем испытания их лизогенных свойств перспективно.

### 9. Специфичность, стабильность и изменчивость фаготипов брюшнотифозных бактерий в лабораторных условиях и различных эпидемических ситуациях.

В настоящее время считается, что специфичность фаточувствительности бактерий в большинстве случаев детерминируется типоопределяющими умеренными фагами. Из брюшнотифозных фаготипов на индикаторном штамме типа А изолировано 18 умеренных фагов. Для 13 умеренных фагов была доказана типоопределяющая функция в бактериальной клетке.

Известно, что все фаготипы тифозных бактерий одинаково успешно адсорбируют на себе и гомо- и гетерологичные фаги $^{Vi}$ - П, но лизируются только гомологичным фагом. Процесс адсорбции фага бактериальными клетками коррелирует прежде всего с антигенной структурой клетки, и поэтому все штаммы, содержащие Vi - антиген, должны адсорбировать $^{Vi}$ - фаги. Полагают, что действие профага реализируется на последних этапах взаимодействия клетки и фага. Участие типоопределяющего профага в формировании специфичного фаготипа выражается в том, что профаг затрудняет внутриклеточный синтез гетерологичного фага $^{Vi}$ - П.

Потеря профага а также замещения одного профага другим влечет за собой Vi- деградацию фаготипа, проявляющуюся в том, что он начинает лизироваться большим числом типовых фагов. Лизогенизация культур определенными сочетаниями умеренных фагов или при заражении штаммов латентными фагами, серо-

логически родственными фагу Vi- II способствуют возникновению гамма - форм.

Культуры фаготипа А не содержат профагов, интерферирующих с адаптированными фагами Vi - II - это универсальные индикаторные культуры, а фаг В является производным почти всех типовых брюшнотифозных фагов.

По глубине изменений исходного фага при адаптации все препараты Vi - II фага по структурной формуле Андерсона и Фрайзера (1955) разделены на 3 группы.

К первой группе причислены типовые фаги, полученные адаптацией фагов А, на штаммах, не содержащих типоопределяющих профагов.

Воздействуя на культуру А умеренными фагами, переводят её в новый тип. Таким путем были получены фаги: $C_I$ , $E_I$ , $E_2$ , $F_I$, $Q_I$, H , I, $L_1$, L2, M, T, 27, 32. При обратных пассажах на культуре А эти фаги быстро утрачивают приобретенные литические свойства и реверсируют в исходный фаг А. Такие типовые фаги называют ненаследственно (фенотипически) измененными вариантами фага А.

Ко второй группе отнесены препараты, полученные адаптацией фага А на культурах, содержащих типоопределяющие фаги: $B_I$ , $Д_I$ , $Д_5$ , $Д_6$ , K, O, W , 25, 26, 28, 29.

При обратных пассажах на штамме типа А литические свойства препаратов остаются неизменными. Авторы считают эти фаги наследственно (генетически) измененными мутантами.

В третью группу включены фаги $Д_2$ , $Д_4$ , $С_2$ , $Р_2$ , 30, 31. Они как и фаги второй группы получены адаптацией фага А на лизогенных культурах. При обратном пассаже на культуре типа А эти фаги менялись, но не реверсировали в тип А, а приобретали качества нового фага.

Фаги третьей группы именуют гено - и фенотипическими мутантами.

Приведенная классификация препаратов фагов по структурной формуле позволяет установить степень родства или отличия различных фаготипов и помогает верно интерпретировать результаты фаготипирования с учётом эпидемиологических данных.

Хотя в лабораторных условиях с помощью умеренных фагов в некоторых случаях удается изменить фаготип штаммов, в природе это, по-видимому, происходит относительно редко, чем и обусловливается стабильность фаготипа.

О большой устойчивости фаготипов свидетельствуют наблюдения многих исследователей. Отмечено, что фаготип культуры не меняется в течение ряда лет как при хранении и пересевах в лаборатории, так и в организме больных и бактерионосителей. Фаготиповая метка - устойчивый признак бактерии.

Возможны исключения из этого правила.

Чаще всего изменчивость проявляется в расширении диапазона чувствительности бактерии к гетерологичным фагам, вплоть до перехода её в тип А. Наблюдается и обратный процесс - переход фаготипа А в более специфическое состояние, проявляющееся в потере чувствительности к отдельным фагам или переход в нетитрующуюся форму ( w ).

В практике иногда возникают ситуации, когда толкование результатов фаготипирования представляет значительные трудности:

- в случаях, когда при едином источнике инфекции в очаге обнаруживаются разные фаготипы (А и $Д_I$, А и $Д_6$, А и $Е_4$) или наряду со специфическими фаготипами изолируют нетипирующиеся ( W - формы) или Vi - деградированные культуры.
- в случаях, когда в двух очагах, на первый взгляд не связанных между собой, от больных изолируют тождественные фаготипы или на какой-либо территории преобладает один фаготип.

В первом случае можно предположить, что несоответствие эпидемиологических и бактериологических находок имеет несколько причин.

В первую очередь подобные несоответствия побуждают к более тщательным поискам источника инфекции. Это особенно оправдано, если сроки заболеваний заставляют подозревать одномоментное заражение больных. Случается, что повторное обследование выявляет существование других источников инфекции.

Во-вторых, - пестрый фаготиповой пейзаж позволяет заподозрить водный путь распространения инфекции.

Наконец, можно предположить существование у источника инфекции двух различных фаготипов.

В литературе описаны случаи совместного существования в кишечнике бактерионосителей подтипов одной группы ( $Р_I$ + $Р_2$, ДI + $Д_4$, Д I + Д6, EI + E4, А + ДI, А + Д6).

Появление подтипов одной и той же группы, возможно связано с изменчивостью культур в организме носителей.

В условиях живого организма возможна и деградация типов при освобождении культуры от типоопределяющих профагов, в результате чего один тип может перейти в другой ( F2, в F I, или Д6 в ДI).

Процесс деградации может привести к преобразованию фаготипов в тип А, Vi - деградированные формы или T - формы.

Мы наблюдали случаи одновременного выделения от больных культур брюшного тифа специфического фаготипа и нетипирующихся (имперфект) форм. Например, больной С - гемокультура, уринокультура и биликультура фаготипа СI, копрокультура - имперфект;

Больной К - гемокультура - фаготип 28 и гемокультура - имперфект;

Больной Ц - гемокультура Д2, копрокультура - имперфект.

Встречались сочетания фаготипа А и имперфект, СI и полилизабильных особей.

У бактерионосителей также мы изолировали одновременно специфические фаготипы (ДI, F I) и имперфект формы.

Возможен и обратный процесс - формирование специфического типа под влиянием лизогенезации типоопределяющими фагами, находящимися в кишечнике носителя. В организме больного, период пребывания культуры в котором кратковременный, возможность возникновения нового фаготипа менее вероятна, но не может быть полностью исключена.

Во втором случае – обычно предпринимаются попытки к поискам факторов, объединяющих эти очаги. Рекомендуется также использовать дополнительные методы дифференцирования внутри фаготипа для установления их автономности или общих эпидемиологических связей (антибиотикограммы, терморезистентность, определение колициногенотипа, колициногенотипа и др.).

## IO. Пути повышения эффективности использования метода фаготипирования в противоэпидемической практике

В настоящее время считается установленным, что исчерпывающую характеристику фаготипового пейзажа на какой-либо территории можно представить лишь в том случае, когда типированию подвергается не менее 80–90% всех выделенных от больных и бактерионосителей культур.

Особое значение метод фаготипирования приобретает при распознавании роли бактерионосителей в возникновении спорадических заболеваний, формировании очагов.

При проведении должного учета носителей, нередко удается устанавливать источник инфекции в таких ситуациях, где эпидемиологические материалы не дают достоверных указаний.

Регистрация фаготипов проводится исходя из числа зарегистрированных очагов (заболеваний и носительства). Рациональнее всего учет вести методом картотеки (многолетней) или картографирования.

Необходимым условием для успешного типирования брюшнотифозных культур является сохранность в культурах Vi - антигена. Культуры, лишенные Vi - антигена, не лизируются типовыми брюшнотифозными бактериофагами. Поэтому такие культуры после выделения их и определения вида должны немедленно пересылаться в регионарную лабораторию для фаготипирования.

Недопустимы большие интервалы между выделением культуры и направлением на типирование. При типировании культур, выделенных несколько месяцев назад (от I до 8 месяцев), чаще наблюдается антигенная диссоциация, переход из S в R форму. Для восстановления Vi - антигена уходит много времени, расходуется большое количество сред. Нередко все усилия оказываются безуспешными. Культуры остаются в R - форме, имперфект или полилизабильными.

В подобных случаях затрудняется толкование результатов: выделяет в таком состоянии культуру больной или носитель или мы уже имеем дело с наступившей деградацией возбудителя.

Эффективность метода фаготипирования фактически снижается.

Наш опыт также показывает, что в случае выделения от больного или носителей нескольких культур (например - гемо-, уринокопро- биликультур), типированию необходимо подвергать все. Этот прием повышает результативность типирования.

При необходимости быстрого установления связи между отдельными случаями во время групповых заболеваний, в лабораториях, в которых освоена методика фаготипирования, желательно

проводить предварительное определение фаготипа с обязательной пересылкой в дальнейшем всех выделенных культур в регионарную лабораторию для окончательного изучения типовых свойств каждого штамма.

Типированию необходимо подвергать не менее 5 колоний одной культуры.

Наилучшей питательной средой для сохранности в культурах Ви - антигена является среда Дорсе. При отсутствии среды Дорсе культуры сохраняют и пересылают на мясопептонном агаре столбиком или скошенном. Карельник и Колобакина рекомендуют в условиях практических лабораторий для сохранения в культурах Ви-антигена пользоваться глицериновой средой (МПА с 2% химическичистого глицерина, стерилизованного при режиме стерилизации углеводных сред).

## II. Пейзаж фаготипов патогенных энтеробактерий на Дальнем Востоке

Большое эпидемиологическое значение имеет то, что каждой территории присуща своя формула распространения фаготипов, которая остается относительно постоянной на протяжении ряда лет. Стабильность фаготипового пейзажа возбудителей брюшного тифа и паратифов, выделяемых на одних и тех же территориях, по-видимому обусловлено наличием на этих территориях постоянных источников инфекции - хронических носителей определенных фаготипов возбудителя.

Фаготиповой пейзаж возбудителей брюшного тифа на территории Хабаровского края в 1957-1973 г.г. представлен 26 типами: А, В1, В2, В3, С1, С2, С3, С5, Д1, Д2, Д5, Д7, Д8, Е1, Е2, Е3, Е5, F1, F 2, L2, M, T, 28, 40, 46. Преобладающими, как правило были: А(38 - 43%), F1 (10-12%), Е1 (8-9%), С1 (8%). Культуры в W - форме обнаруживались более чем в 10%, имперфект до 14-15%; полилизабильные -1,5%.

В Сахалинской области распространены фаготипы А, С1, С5, Д1, Е1, F1, T, 28, 40, 46; в Камчатской области - А, Д1, Д8, Е1, 28, 46; в Магаданской области - А, F1, 28, 40, 46.

По данным Т.И.Поповой (1972) на территории Амурской области пейзаж брюшнотифозных бактерий представлен 14 фаготипами, преобладали типы Е1, 46, С1 и F1. Имперфект культуры выявлялись почти в 15% от общего количества изученных культур.

В Приморском крае по данным Т.П.Иваненко высевались брюшно-тифозные бактерии фаготипов В2, С1, Д1, Д2, Е1, F, K, N.

Возбудители паратифа А, выделявшиеся в Хабаровском крае и Магаданской области, принадлежали к 1 и 4 фаготипам, до 40% культур отнесены к отрицательным.

Пейзаж возбудителей паратифа В на территории Хабаровского края представлен 7 фаготипами: 1, 3а, Бикль, Таунтон (от 40% до 70% в отдельные годы), БАОР, Данди, Ворксон.

В областях Дальнего Востока (Сахалинской, Камчатской, Магаданской) обнаруживались возбудители 2 - 3 фаготипов; 1, Таунтон, Данди. На территории Хабаровского края, Камчатской

области обнаружены салмонеллы тифи муриум фаготипов Ia, Ia варI (до 38%, 2 (более 20%), 2в, 2с, 3.

Превалирование какого-либо одного или двух фаготипов до 40-50%, снижает эффективность практического использования метода фаготипирования, так как большинство источников инфекции может являться носителями бактерий одного и того же фаготипа. Это обстоятельство требует поисков дополнительных методов внутрифаготиповой дифференциации возбудителей. В целях повышения эпидемиологической эффективности метода фаготипирования целесообразно проводить дополнительное биохимическое типирование и определение колициночувствительности к колициногенности возбудителей наиболее часто встречающихся фаготипов, а также их антибиотикограмм и в случае необходимости определения терморезистентности

Многолетний опыт работы нашей региональной лаборатории позволяет придти к заключению, что фаготипирование патогенных энтеробактерий является тонким, надежным и весьма ценным методом, значительно совершенствующим эпидемиологическое обследование и анализ.

## I2. Литература

Основная Литература рекомендуемая для дополнительного чтения.


I. Адамс М. Бактериофаги. М., I96I.

2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. М., I96I.

3. Каральник Б.В., Колюбакина Н.В.. Среды простого состава

для хранения брюшнотифозных культур, подлежащих фаготипированию. Лабораторное дело, 1966, 4, 238.

4. Крылова М.Д. Фаготипирование бактерий, М., 1963.

5. Кузнецова В.Н. Фаготипирование бактерий Зонне. В кн.: Дизентерия. Под ред. В.Л.Троицкого М., 1956, стр. 29.

6. Товмасян М.С. Опыт фаготипирования сальмонелл дерби. Труды Армянской противочумной станции, 1964. в.4, 203.

7. Берковицы с соавторами. Схема лизотипирования шигелл Бойда. Ж. гигиены, эпидемиологии, микробиологии, иммунологии, 1967, П, 129 (Прага).

## В. Литература по фаготипированию возбудителя брюшного тифа и паратифов А и В на Дальнем Востоке.

1. Белинская О.И., Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Фаготипы брюшнотифозных бактерий, выделенных в Хабаровском крае в 1957-1962 г.г.. Материалы XX научной сессии Мединститута. Хабаровск, 1963, 112-113.

2. Емельянов П.И., Ленкина М.С.. Рациональная методика фаготипирования бактерий. Лабораторное дело, 1969, 2, 120-121.

3. Ленкина М.С.. Опыт фаготипирования сальмонеллезных бактерий и его значение в эпидемиологической практике. Материалы XXIII научной сессии Хабаровского Мединститута.

Хабаровск, 1965, 129 - 131.

4. Ленкина М.С.. Опыт фаготипирования тифо-паратифозных и сальмонеллезных бактерий и его значение в эпидемиологической практике. Материалы межобластных научно-практических конференций, посвященных вопросам борьбы с кишечными инфекциями. Хабаровск, 1966, 56 - 60.

5. Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Пейзаж фаготипов брюшнотифозных культур в Хабаровске и некоторых районах Дальнего Востока. Ученые записки Хабаровского НИИЭМ. Хабаровск, 1966, выпуск 8/2, 139.

6. Ленкина М.С., Глатко Л.Н., Черноткина И.П.. Фаготиповой состав возбудителей брюшного тифа и паратифа В в Хабаровском крае (1957 - 1966гг.). Кишечные инфекции и борьба с ними в областях и краях Дальнего Востока. Хабаровск, 1967, 20 - 23.

7. Ленкина М.С., Емельянов П.И., Кхименко Л.Н.. Сравнительное изучение чувствительности тифо-паратифозных и сальмонеллезных бактерий к действию типовых фагов и колицинов. Вопросы инфекционных заболеваний и производства вакцинно-сывороточных препаратов. Хабаровск, 1967, 52 - 55.

8. Ленкина М.С., Емельянов П.И., Кхименко Л.Н.. Опыт типирования паратифозных А и В бактерий по чувствительности к колицинам и бактериофагам. ЖМЭИ. 1968, 1, 122 - 124.

9. Ленкина М.С.. Фаготипы бактерий брюшного тифа, паратифа А, В и тифи муриум и дополнительная возможность дифференцирования паратифозных возбудителей по чувствительности

Материалы Всесоюзного симпозиума по фаготипированию возбудителей кишечных инфекций.
Тбилиси, 1968, 18–19

10. Савельева Н.А., Ленкина М.С.. Распространенность фаготипов салмонелл брюшного тифа и паратифов А и В в Хабаровском крае, Материалы П-Всероссийского свезда ЭМИ. (Горький). М., 1966., 221-223.

11. Шапиро С.Е., Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Фаготипы у культур паратифа В Поттмоллера, выделенных в Хабаровске в 1958-1962 г.г..
Материалы (XX) научной сессии Мединститута. Хабаровск., 1963., 109-111.

12. Шапиро С.Е., Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Изучение фаготипов местных штаммов паратифозных В бактерий в Хабаровске. ЖМЭИ. 1964. 6, 57 - 59.

13.Т.М. Попова Итоги фаготипирования брюшнотифозных бактерий в Амурской области. Материалы научной сессии, посвященной 50-летию образования СССР и освобождения Дальнего Востока от интервентов и белогвардейцев, Хабаровск. 1972. 19-20.

## В. Литература по методам типирования энтеробактерий

Емельянов П.И.. Бактерии рода шигелла и их индикация. Москва. Медицина. 1973.

Кудлай Д.Г., Лиходед В.Г.. Бактериоциногения. Москва. 1966.

Новгородская Э.М. Материалы по биологии дизентерийной палочки. Крузе-Зонне.
Труды ИЭМ им. Пастера. Т. УШ. Ленинград, 1945.

Солодовников Ю.П., Емельянов П.И., Турчинская М.В.. Современные методы внутривидового типирования дизентерийных бактерий. Научный обзор. Эпидемиология вирусного гепатита и дизентерии. М., 1968.

Троп И.Е., Филимонова Т.В., Колганов А.В.. Использование антибиотикограмм шигелл для выявления эпидемиологических связей при дизентерии. Хабаровск. 1974.

## Методические рекомендации

Троп И.Е., Филимонова Т.В.. О гетерогенности штаммов патогенных энтеробактерий по чувствительности к повышенной температуре.

Материалы научной сессии, посвященной 50-летию образования СССР и освобождения Дальнего Востока от интервентов и белогвардейцев. Хабаровск. 1972.

## С О Д Е Р Ж А Н И Е

От редакционного Совета Хабаровского НИИЭМ

I. В в е д е н и е .....

2. Основные принципы фаготипирования энтеробактерий .....

3. Получение типовых фагов .....

4. Фаготипирование бактерий брюшного тифа .....

5. Фаготипирование бактерий паратифа А .....

6. Фаготипирование бактерий паратифа В .....

7. Фаготипирование бактерий тифи муриум .....

8. Фаготипирование прочих салмонелл и других представителей семейства кишечных бактерий...

9. Специфичность, стабильность и изменчивость фаготипов брюшнотифозных бактерий в лабораторных условиях и эпидемических ситуациях.....

IO. Пути повышения эффективности использования метода фаготипирования в противоэпидемической практике .....

II. Дейзах фаготипов патогенных энтеробактерий на Дальнем Востоке.....

I2. Л и т е р а т у р а .....

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

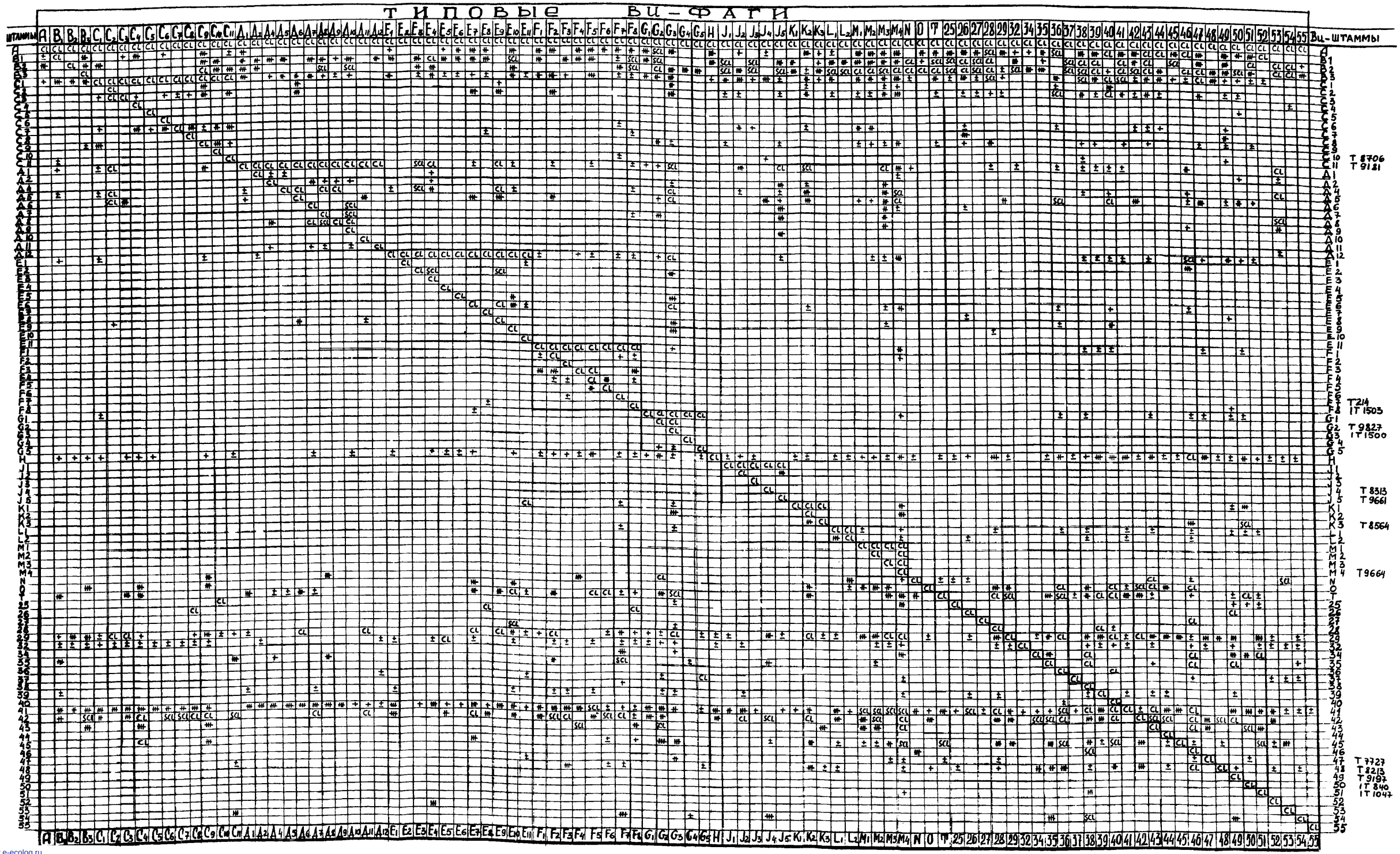
М.С. Ленкина. Фаготипирование патогенных энтеробактерий и его применение в противоэпидемической практике. Методические рекомендации.

УДК 576.8.858.д. 6.I6.97.

ВЛ II822 от 22 VIII 74г.

Тираж 800 экз. Цена 20 коп.

# МЕЖДУНАРОДНАЯ СХЕМА ФАГОТИПИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ БРЮШНОГО ТИФА




Условные обозначения: CL ⧻ - полный лизис, SCL ⧻ - не полный лизис

± до ⧻ - возрастающее количество негативных колоний

gost.e-ecolog.ru