

**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.**

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 много летних 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. В В Е Д Е Н И Е

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 точных 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 лизической активности, серологическим свойствам, морфологии стерильных пятен, специфическим изменениям устойчивости к фагу при лизогенизации индикаторного штамма, термо-чувствительности. Этот принцип был предложен Барнетом в 1932 году и носит название прямое типирование бактерий. Указанным способом подразделяют некоторые виды сальмонелл, 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 о 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, корине-бактерий, 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 лизического 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, сальмонелл, тифимуриум, паратифа А.

Типовые умеренные фаги, обладающие различными спектрами лизического 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 (41 фаг в наборе), паратифа В (10 фагов), паратифа А (6 фагов). В стадии лабораторной разработки находится фаготипирование сальмонелл тифимуриум, шигелл Флекснера и Зонне.

#### 5. Фаготипирование бактерий брюшного тифа

Классическая схема фаготипирования бактерий брюшного тифа разработана Креджи и Иеном в 1938 году и основана на том, что культуры этих бактерий, содержащие Vi - антиген, с помощью специфических V<sub>1</sub> - фагов подразделяются на ряд стабильных фаготипов. Эта схема принята Международным комитетом по фаготипированию.

Перечень типовых фагов и штаммов непрерывно пополняется. В 1947 году было известно 24 типовых фага, в 1955 - 33, а в 1962 году на Международном конгрессе в Монреале было сообщено

уже о 72 фагах:

Фаготип А

3 подтипа З группы В (В<sub>I</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>)  
9 - подтипов группы С (от С<sub>I</sub> до С<sub>9</sub>)  
10 - подтипов группы Д (от Д<sub>I</sub> до Д<sub>II</sub>).

подтип Д<sub>3</sub> - отсутствовал.

10 - подтипов группы Е (от Е<sub>I</sub> до Е<sub>10</sub>).

5 - подтипов группы Р (от Р<sub>I</sub> до Р<sub>5</sub>).

Фаготипы Q и Н.

3 - подтипа группы I (от I<sub>I</sub> до I<sub>3</sub>)  
2 - подтипа группы К (К<sub>I</sub>, К<sub>2</sub>),  
2 - подтипа группы L (L<sub>I</sub>, L<sub>2</sub>),  
3 - подтипа группы М (М<sub>I</sub>, М<sub>2</sub>, М<sub>3</sub>).

Фаготипы № 0, Т, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 35, 34, 36, 37,

38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46.

На IX-Международном конгрессе микробиологов в Москве официально включено ещё 12 новых фаготипов и подтипов, открытие которых связано с активной работой некоторых центров по фаготипированию.

Новые фаготипы: С<sub>10</sub>, С<sub>II</sub>, I<sub>4</sub>, I<sub>5</sub>, М<sub>4</sub>, К<sub>3</sub>, 47, 48,

Р<sub>7</sub>, Р<sub>8</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, 48, 50.

В 1972 году им Международного центра по фаготипированию кишечных бактерий в Лондоне доктором Е.С.Андерсон в адрес региональной лаборатории ХНИИЭМ присланы новые фаги: Д<sub>12</sub>, Е<sub>II</sub>, Р<sub>6</sub>, Q<sub>4</sub>, Q<sub>5</sub>, 51, 52, 53, 54, 55.

В итоге всех этих дополнений современная международная схема фаготипирования бактерий брюнного 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 представляют варианты фага  $\text{VI}$  - 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 Фрэзер (1955) считают, что фаготип А является самым примитивным фаготипом в схеме, а фаг  $\text{II}$  А представляет собой природную форму  $\text{VI}$  фага II.

Объединение подтипов в группы В, С, Д, Е, F и другие основано на том, что штаммы с порядковым номером I ( $\text{E}_1$ ,  $\text{D}_1$  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  $\text{C}_3$  в критическом тест разведения, кроме гомологичного хорошо лизируется фагом  $\text{C}_2$ , тип  $\text{D}_3$  - фагами  $\text{C}_2$ ,  $\text{D}_6$ ,  $\text{D}_8$ ,  $\text{D}_9$ ,  $\text{E}_9$ , тип Т - фагом Т, 28, 39, 40 и тип 28 - фагом  $\text{II}$  и 28.

Фаготипы  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $C_1$  и  $4I$  по спектру чувствительности напоминают тип  $A$ , 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 брунного типа отмечен параллелизм между чувствительностью к типовым фагам и наличием  $Vi$  – антигена в культуре. Кауфман (1935) ввел термины  $v$ ,  $vw$  и  $w$  – формы для обозначения культур, содержащих разные количества  $Vi$  – антигена и не содержащих его.

Культуры, лишенные  $Vi$  – антигена, относятся к  $w$  – форме, не лизируются  $Vi$  – фагами и не агглютинируются  $Vi$  – сывороткой. В среднем такие культуры встречаются в 5–10%.

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

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

И наконец, третья группа нетепирующихся культур объединяет полилизабильные  $V_1$  - штаммы, проявляющие высокую чувствительность к нескольким типовым фагам. Такие культуры называют ещё деградированными  $V_1$ - формами. Нередко при длительном хранении они превращаются в тип А, лизирующийся всеми фагами  $V_1$  - II. М.Д.Крылова отмечает, что в литературе появленной вопросам фаготипирования, термин "деградация" штаммов употребляется в двух значениях: 1) деградация как постепенная потеря культурой  $V_1$  - антигена и переход его через  $V_W$  - форму в  $V$  - 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 Банкером (1955).

Паратифозный А фаг был выделен из сточных вод в Бомбее и позволил подразделить культуры паратифа А на две группы. Идентифицируя этот фаг к разнотипным культурам, Банкер 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 парагрифа А

| Фаготип культуры | Типовые фаги |    |     |    |     |    |
|------------------|--------------|----|-----|----|-----|----|
|                  | 1            | 2  | 3   | 4  | 5   | 6  |
| 1                | сл           | сл | псл | сл | сл  | сл |
| 2                | -            | сл | -   | -  | -   | сл |
| 3                | -            | -  | сл  | -  | -   | -  |
| 4                | ++           | ++ | -   | сл | +++ | +  |
| 5                | -            | -  | -   | -  | сл  | -  |
| 6                | -            | -  | -   | -  | -   | сл |

Обозначения: сл - оливной лизис

псл - полусливной лизис

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

± - непостоянные реакции,

- - отсутствие лизиса.

## 6. Фаготипирование бактерий парагрифа В.

Метод фаготипирования бактерий парагрифа В разработан Феликсом и Келлоу (1943-1951) по принципу Кредки и Иена. Этот метод стандартизирован и рекомендован Международным

конгрессом для интернационального использования. По своей специфичности типовые фаги парагифа 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 и какому-либо фаготипу устанавливается по чувствительности к различным сочетаниям фагов, как и гомологичным, так и гетерологичным.

Лизическая активность 10 стандартных фагов в отношении фаготипов в общепринятой сейчас форме представлена в табл. 3.

Таблица 3

Схема фаготипирования бактерий парагифа В

| Фаготип | Типовые фаги |    |     |    |              |       |              |      |            |              |
|---------|--------------|----|-----|----|--------------|-------|--------------|------|------------|--------------|
|         | I            | 2  | 3a  | 3b | Джер-<br>сей | Биклз | Таун-<br>тон | БАОР | Дан-<br>ди | Ворк-<br>сон |
| I       | сл           | сл | ++  | -  | сл           | -     | -            | -    | пол        | -            |
| 2       | -            | сл | -   | -  | -            | -     | -            | -    | пол        | -            |
| 3a      | -            | -  | «сл | мл | -            | «сл   | «сл          | мл   | «сл        | -            |
| 3b      | -            | -  | -   | мл | -            | «сл   | «сл          | мл   | «сл        | +            |
| Джерсей | -            | -  | -   | -  | «сл          | «сл   | «сл          | «сл  | «сл        | -            |
| Биклз   | -            | -  | -   | -  | -            | «сл   | «сл          | -    | «сл        | -            |
| Таунтон | -            | -  | -   | -  | -            | -     | «сл          | -    | «сл        | -            |
| БАОР    | -            | -  | -   | -  | -            | -     | -            | мл   | -          | -            |
| Данди   | -            | -  | -   | -  | -            | -     | -            | -    | «сл        | -            |
| Ворксон | -            | -  | -   | -  | -            | -     | -            | -    | -          | сл           |

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

Кроме 10 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 неядру с фагами Феликса и Келлоу ряд умеренных фагов одного серотипа, но с различными спектрами лизитического действия.

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

#### **7. Фаготипирование сальмонеллы тифимурум**

Фаготипирование бактерий тифа мурум проводилось как прямым типированием, так и по чувствительности к стандартным фагам. Было составлено несколько схем фаготипирования. Наибольшее признание получили метод Феликса и Келлоу. В предложенный ими стандартный набор входит 13 адаптированных типовых фагов.

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

По схеме фаготипирования сальмонеля тифи мурциум, представленной в таблице 4, принадлежность культур к какому-либо фагогруппе устанавливается по чувствительности их к различным сочетаниям фагов.

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

Таблица 4.

Схема фаготипирования бактерий тифи мурциум.

| Фаготип            | Типовые фаги |    |      |     |     |     |     |     |     |    |     |     |    |
|--------------------|--------------|----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|
|                    | I            | Ia | Var1 | Ib  | 2   | 2a  | 2b  | 2c  | 2d  | 3  | 3a  | 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 <sub>Var1</sub> | -            | мл | <сл  | <сл | -   | ±   | мл  | -   | мл  | мл | сл  | -   | ++ |
| Ib                 | -            | -  | <сл  | <сл | сл  | сл  | мл  | сл  | мл  | сл | сл  | -   | -  |
| 2                  | -            | -  | -    | -   | сл  | сл  | -   | сл  | -   | -  | -   | -   | -  |
| 2a                 | -            | -  | -    | -   | -   | сл  | <сл | сл  | <сл | -  | -   | -   | -  |
| 2b                 | -            | -  | -    | -   | -   | -   | -   | мл  | -   | мл | -   | -   | -  |
| 1c                 | -            | -  | -    | -   | <сл | <сл | <сл | <сл | <сл | -  | -   | -   | -  |
| 2a                 | -            | -  | -    | -   | ±   | ±   | ±   | ±   | <сл | -  | -   | -   | -  |
| 3                  | -            | -  | ±    | ++  | -   | -   | -   | -   | -   | мл | ++  | -   | -  |
| 3a                 | -            | -  | ±    | -   | -   | -   | ++  | -   | пол | +  | <сл | -   | -  |
| 4                  | -            | -  | -    | -   | -   | ±   | -   | ±   | ±   | -  | -   | <сл | -  |
| 5                  | -            | -  | -    | II  | -   | -   | -   | -   | -   | ++ | -   | -   | мл |

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

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

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

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

Лилиенген (1950, 1952) с помощью неспецифических О-фагов различного происхождения установил фаготипы у сальмонелл энтеритidis, дублин, ~~холмидум~~ галлинарум, пуллорум.

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

Необычайно широкое распространение среди сальмонеллезных бактерий лизогении позволяет проводить их типирование методом Бойда, основанном на подробном и всестороннем изучении выделенных из сальмонелл фагов. Этот метод обеспечивает получение постоянных результатов, но является трудоёмким и длительным. Аткинсон с сотрудниками (1952 – 1957) предложили для фаготипирования сальмонелл упрощенную модификацию прямого метода Бойда, основанную на определении круга лизической 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 Креджи и Феликса метод Аткинсона технически несколько сложнее.

На основании применения упрощенной модификации были разработаны схемы фаготипирования сальмонелл: аделаиде, бовис морбификане, потсдам, вайкрос (Аткинсон, 1952-1957); монтави-дес (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 Хаммерстреме (1947, 1949). В ней используют 12 фагов, изолированных из лизогенных культур. Фаги дифференцируют только R-форму шигелл Зонне. В.Н.Кузнецова (1956) предложила схему фаготипирования R-форм шигелл Зонне тремя изолированными из испражнений больных фагами позволяющими дифференцировать 5 фаготипов.

Для шигелл Флекснера, Мульчик и Словек (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 еще не получили всеобщего признания (коллекция типовых фагов нуждается в расширении, а схемы типирования - в уточнении).

Николь, Ля Минор А, Ля Минор С, Бутьо (1957) разработали схему фаготипирования патогенных эшерихий по чувствительности к 25 фагам, тесту Александро и Комо и Н-антителу. Им удалось дифференцировать серотип O111B4 HI2 на 11 фаготипов, 055 B5 - на 10, 026 B6 - на 7. Фаготипы обозначены по названиям городов и стран, откуда они происходили.

Одни 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 B6.

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 брюннотифозных бактерий в лабораторных условиях и различных эпидемических ситуациях.

В настоящее время считается, что специфичность фагочувствительности бактерий в большинстве случаев детерминируется типоопределяющими умеренными фагами. Из брюннотифозных 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* – II, 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 реализуется 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* – II.

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, соро-

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

Культуры фаготипа A не содержат профагов, интерферирующих с адаптированными фагами VI - II - это универсальные индикаторные культуры, а фаг B является производным почти всех типовых бруннотифозных 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 A, на штаммах, не содержащих типоопределяющих профагов.

Воздействуя на культуру A умеренными фагами, переводят её в новый тип. Таким путем были получены фаги: C<sub>1</sub> , E<sub>1</sub> , E<sub>2</sub> , F<sub>1</sub> , G<sub>1</sub> , H , I<sub>1</sub> , I<sub>2</sub> , M , T , 27 , 32. При обратных пассажах на культуре A эти фаги быстро утрачивают приобретенные липидические свойства и реверсируют в исходный фаг A. Такие типовые фаги называют наследственно (фенотипически) измененными вариантами фага A.

Ко второй группе отнесены препараты, полученные адаптацией фага A на культурах, содержащих типоопределяющие фаги: B<sub>1</sub> , D<sub>1</sub> , D<sub>5</sub> , D<sub>6</sub> , K , O , W , 25 , 26 , 28 , 29.

При обратных пассажах на штамме типа A липидические свойства препаратов остаются неизмененными. Авторы считают эти фаги наследственно (генетически) измененными мутантами.

В третью группу включены фаги  $\Delta_2$ ,  $\Delta_4$ ,  $C_2$ ,  $F_2$ , 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 имеют 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 (в 1).

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

- в случаях, когда при едином источнике инфекции в очаге обнаруживаются разные фаготипы (A и D<sub>1</sub>, A и D<sub>6</sub>, A и E<sub>4</sub>) или наряду со специфическими фаготипами изолируются нетипирующиеся (W - формы) или V<sub>1</sub> - 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 одновременное 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 бактериосителей подтипов одной группы (F<sub>1</sub>, + F<sub>2</sub>, D<sub>1</sub> + D<sub>4</sub>, D<sub>1</sub> + D<sub>6</sub>, E<sub>1</sub> + E<sub>4</sub>, A + D<sub>1</sub>, A + D<sub>6</sub>).

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 F1, или D6 в D1).

Процесс деградации может привести к преобразованию фаготипов в тип А, V1 - деградированные формы или 7 - формы.

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

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

Больной Ц - гемокультура D2, копрокультура - имперфект.

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

У бактерионосителей также мы изолировали одновременно специфические фаготипы (D1, F1) 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 колицинотипа, колициногенотипа и др.).

#### 10. 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 бактериосителей культур.

Особое значение метод фаготипирования приобретает при распознавании роли бактериосителей 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 брюшно-тифозных культур является сохранность в культурах  $V_1$  - антигена. Культуры, лишенные  $V_1$  - антигена, не лизируются типовыми брюшно-тифозными бактериофагами. Поэтому также культуры после выделения их и определения вида должны немедленно пересыпаться в регионарную лабораторию для фаготипирования.

Недопустимы большие интервалы между выделением культуры и направлением на типирование. При типировании культур, выделенных несколько месяцев назад (от 1 до 8 месяцев), чаще наблюдается антигенная диссоциация, переход из  $V_1$  в  $V_R$  форму. Для восстановления  $V_1$  - антигена уходит много времени, расходуется большое количество сред. Нередко все усилия оказываются безуспешными. Культуры остаются в  $V_R$  форме, имперфект или полилизабильными.

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

Эффективность метода фаготипирования фактически сокращается.

Наш опыт также показывает, что в случае выделения от больного или носителей нескольких культур (например - гемоуриногенитальный, копро-биликультур), типирование 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.

Типирование необходимо подвергать не менее 5 колоний одной культуры.

Наилучшей питательной средой для сохранности в культурах Ви - антигена является среда Дорос. При отсутствии среды Дорос культуры сохраняют и пересылают на мисопептонном агаре столовиком или склоненном. Каульник и Колобакина рекомендуют в условиях практических лабораторий для сохранения в культурах Ви-антитела пользоваться глицериновой средой (МПА с 2% химически чистого глицерина, стерилизованного при режиме стерилизации углеводных сред).

## II. Пейзаж фаготипов патогенных бактерий 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 неситов 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, Д3, Д7, Д8, Е1, Е2, Е3, Е5, Р1, Р2, У2, М, Т, 428, 40, 46. Преобладающими, как правило были: А (38 - 43%), Р1 (10-12%), Е1 (8-9%), С1 (8%). Культуры в  $\Phi$  - форме обнаруживались более чем в 10%, имперфект до 14-15%; полилизабильные - 1,5%.

В Сахалинской области распространены фаготипы А, С1, С5, Д1, Е1, Р1, Т, 28, 40, 46; в Камчатской области - А, Д1, Д8, Е1, 28, 46; в Магаданской области - А, Р1, 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 Р1. 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, У, Х, М.

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

Пейзаж возбудителей паратифа В на территории Хабаровского края представлен 7 фаготипами: I, За, Бикдэ, Таунтон (от 40,5 до 70% в отдельные годы), БАОР, Данди, Ворксон.

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

области обнаружены сальмонеллы тифи мурциум фаготипов Ia, Ia varI (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 антибиотограмм <sup>и</sup> в случае необходимости определения терморезистентности

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

## 12. Л и т е р а т у р а

Основная      Литература рекомендуемая для дополнительного чтения.

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. М., 1961.
3. Каральник Б.В., Колобакина Н.В.. Среды прошлого состава

- для хранения брюнотифозных культур, подлежащих фаготипированию. Лабораторное дело, 1966, 4, 238.
4. Крылова М.Д. Фаготипирование бактерий, М., 1963.
5. Кувнечова В.Н. Фаготипирование бактерий Зонне. В ин.: Диаэнтерия. 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. Берикович с соавторами. Схема лизотипирования шигеля Бойда. X, гигиена, эпидемиология, микробиология, иммунология, 1967, II, 129 (Прага),

В. Литература по фаготипированию  
вому пекцажу бактерий брюнотифозного  
типа и паратифов А и В на  
Дальнем Востоке.

1. Белинская О.И., Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Фаготипы брюнотифозных бактерий, выделенных в Хабаровском крае в 1957-1962 г.г.. Материалы XX научной сессии Мединститута. Хабаровск, 1963, II2-II3.
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 брюннотифозных 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., Червоткина И.П.. Фаготиповой состав возбудителей брюшного тифа и паратифа В в Хабаровском крае (1957 - 1966 гг.). Кишечные инфекции и борьба с ними в областях и краях Дальнего Востока. Хабаровск, 1967, 20 - 23.

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

8. Ленкина М.С., Емельянов П.И., Юхименко Л.Н.. Опыт типирования паратифозных А и В бактерий по чувствительности к колицинам и бактериофагам. ХИЭИ. 1968, I, 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

Ю. Савельева Н.А., Ленкина М.С.. Распространенность фаготипов сальмонелл брюшного тифа и паратифов А и В в Хабаровском крае, Материалы II-Всероссийского съезда ЭМИ. (Горький). М., 1966., 221-223.

П. Шапиро С.Е., Ленкина М.С., Кулушева Н.К.. Фаготипы 7 культур паратифа В Поттмоллера, выделенных в Хабаровске в 1958-1962 г.г..

Материалы (Х) научной сессии Мединститута. Хабаровск., 1963., 109-III.

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. Красе-Зонис.

Труды ИЭМ им. Пастера. Т. УШ. Ленинград, 1945.

Соловьевников 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.. Использова-  
ние 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 образо-  
вания СССР и освобождения Дальнего Востока от интервентов  
и белогвардейцев. Хабаровск. 1972.

## СОДЕРЖАНИЕ

От редакционного Совета Хабаровского НИИЭМ

|                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I. Введение .....                                                                                                                      |
| 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 сальмонелл и других представителей семейства кишечных бактерий...                                            |
| 9. Специфичность, стабильность и изменчивость фаготипов брюшнотифозных бактерий в лабораторных условиях и эпидемических ситуациях..... |
| I0. Пути повышения эффективности использования метода фаготипирования в противоэпидемической практике .....                            |
| II. Цензаж фаготипов патогенных энтеробактерий на Дальнем Востоке.....                                                                 |
| I2. Литература .....                                                                                                                   |

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

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

УДК 576.8.858.д. 6.16.97.

ВЛ II 822 от 22 VIII 74г.

Тираж 800 экз. Цена 20 коп.

# МЕЖДУНАРОДНАЯ СХЕМА ФАГОТИПИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ БРЮШНОГО ТИФА

## типовые ви-фаги

Условные обозначения:  $CL_{\#}$  - полный лизис,  $SCL_{\#}$  - не полный лизис

± до 100 - возрастающее количество негативных колоний