

УДК 602.3:579.6

ПОИСК НОВЫХ БАКТЕРИОФАГОВ *VACILLUS COAGULANS*

К.В. Белова, аспирант, 8(8422) 55-95-47, belova_ksenya@mail.ru,

Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,

8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru,

Г.Ш. Тялягина, студент, 8(8422) 55-95-47, usxa@yandex.ru,

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,

8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru

ФГБОУ ВО УльяновскаяГСХА

Ключевые слова: бактериофаг, *Vacillus coagulans*, метод выделения, параметры, культивирование

В статье описаны результаты исследований по выделению бактериофагов, специфичных *Vacillus coagulans*, из проб пищевых консервированных продуктов питания, содержащих томатопродуктов, и подбору оптимальных параметров их культивирования. Был выделен 1 бактериофаг *V. coagulans* из пробы томатного соуса.

Согласно литературных данных плоско-кислую порчу вызывают термоустойчивые бактерии *Vacillus coagulans*, иногда в ассоциации мезофильными и термофильными микроорганизмами *B. cereus*, *B. subtilis*. Она характеризуется прокисанием продукта без внешних изменений банки. Прокисший продукт может быть слегка разжижен, иногда в дальнейшем может произойти его расслоение, и масса продукта становится крупитчатой. Стенотермные термофильные бациллы могут развиваться в консервированных продуктах, активная кислотность которых 5,2 и выше. Обычно это происходит при количестве МАФАНМ консервов 10^7 - 10^8 клеток в 1 г продукта. Изменение активной кислотности продукта является одним из основных показателей, по которому судят о развитии в консервах термофилов. Развитие стенотермных термофилов протекает в консервах тем интенсивнее, чем выше величина pH продукта. Иногда внешние изменения выражены слабо, но консервы могут содержать токсины [1-3].

Патентный поиск и анализ литературных данных свидетельствует, что в настоящий момент в Российской Федерации не разработаны методики по фагоиндикации и фагоидентификации *V. coagulans*.

Цель - выделить новые бактериофаги, специфичные бактериям *Vacillus coagulans*.

Методика исследований. Штамм *B. coagulans* 566 *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 10468, полученные из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА.

Выделение бактериофагов проводили с использованием методик, опробованных сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА [4-8]. В исследованиях применяли питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой ((ГРМ-бульон) г. Оболensk Московская область Серпуховской район).

Результаты исследований. Исследования были посвящены выделению бактериофагов из объектов внешней среды. Для проведения исследований мы брали консервированные продукты питания, в состав которых входили томатопродукты. Всего были исследованы 12 проб. Первоначально готовили разведения объектов исследований в мясо-пептонном бульоне в соотношении 1:10, добавляли в концентрации 10^4 КОЕ /мл по 1,0 мл штаммов бактерий *B. coagulans* 566, *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 10468. Колбы с пробами ставили в термостат на 24 часа при температуре 37 °С. Затем пробы фильтровали через ватно-марлевый фильтр для освобождения от механических примесей. После этого содержимое колбы разливали в стерильные пробирки, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 30 минут, далее прогревали в водяной бане при 60 °С в течение 45 минут с целью подавления роста грамотрицательных бактерий.

Исследуемые фильтраты исследовали на наличие фага методом нанесения «дорожки» на газон культуры, который был предварительно нанесен на мясо-пептонный агар (МПА) в чашках Петри и «подсушен» в термостате в течение 35-40 минут. В качестве контроля на газон культуры наносили стерильный МПБ с целью получения достоверного результата по выявлению присутствия фага в исследуемом субстрате. Посевы инкубировали в условиях термостата в течение 18 часов при температуре 35 ± 2 °С. Положительным результатом эксперимента было наличие на газоне культуры зоны лизиса в виде «дорожки» (рисунок 1-3).

В результате проведенных исследований нами был выделен 1 бактериофаг, специфичный для штамма *B. coagulans* 566, из пробы томатного соуса.

Дальнейшая работа была посвящена подбору параметров культивирования бактериофагов.

Индикаторная культура *B. coagulans* 566 хранилась на полужидком МПА (рН 7,2-7,4) с содержанием 0,3 % бактериологического агара при температуре 2-4 °С, которая пересевалась каждые 4 месяца. Для

пассирования бактериофага использовали коммерческий МПБ (питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон) г. Оболенск Московская область Серпуховской район). Температурным оптимумом для культивирования бактериофага с индикаторной культурой была температура 35 ± 2 °С.

Заключение. В результате проведенных исследований был выделен 1 бактериофаг *Bacillus coagulans* из пробы томатного соуса. Полученные результаты не расходятся с данными исследователей, занимавшихся выделением бактериофагов рода *Bacillus*, утверждающих, что наиболее перспективным является методика выделения бактериофагов из объектов окружающей среды [9-13].

Библиографический список

1. Белова, К.В. Бактериофаги *Bacillus coagulans*: способ выделения и параметры культивирования / К.В. Белова, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2016. - № 2 (34). - С. 80-86.
2. Феоктистова, Н.А. Выделение и селекция бактериофагов *Bacillus coagulans* / Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. [и др.] // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. – Москва: Медицинское маркетинговое агентство. - С. 87.
3. Феоктистова, Н.А. Методы идентификации *Bacillus coagulans*, включая фагоидентификацию / Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. [и др.] // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. – Москва: Медицинское маркетинговое агентство. - С. 89-90.
4. Юдина, М.А. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - № 3. - С. 61-67.
5. Золотухин, С.Н. Штаммы бактериофагов малоизученных патогенных энтеробактерий и их практическое применение / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова [и др.] // Научные разработки и научно-консультационные услуги Ульяновской ГСХА: Информационно-справочный указатель. – Ульяновск, 2006. – С.45-49.
6. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерий *Bacillus subtilis* / Н.А. Феоктистова // В книге: «Бак-

- териофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». – Ульяновск, 2013. – С. 186-197.
7. Феоктистова, Н.А. Биологические свойства сибиреязвенного бактериофага / Н.А. Феоктистова, Е.И. Климушкин, Д.А. Васильев, К.В. Белова // Вестник ветеринарии. - 2015. - №3 (74). - С. 46-49.
 8. Феоктистова, Н.А. Подбор перспективного производственного штамма *Bacillus anthracis* для конструирования фагового биопрепарата / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, Е.И. Климушкин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 3 (31). - С. 69-76.
 9. Феоктистова, Н.А. Выделение бактерий вида *Bacillus mesentericus* из объектов санитарного надзора / Н.А. Феоктистова Н.А., М.А. Юдина, Д.А. Васильев [и др.] // В Молодежь и наука XXI века: материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых ученых. - Ульяновск, 2010. - С. 82-84.
 10. Юдина, М.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерий вида *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова // В книге: «Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». - Ульяновск, 2013. - С. 197-211. (315 с.)
 11. Садртдинова, Г.Р. Особенности селекции фагов активных к *Klebsiella oxytoca* / Г.Р. Садртдинова, Е.А. Ляшенко, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. – Москва: Медицинское маркетинговое агентство, 2016.-С.82.
 12. Садртдинова, Г.Р. Селекция выделенных клонов бактериофагов, активных к *Klebsiella oxytoca* / Материалы VII Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения» - Ульяновск: УГСХА, 2016. Т. III. – С.266-269.
 13. Садртдинова, Г.Р. Селекция выделенных клонов бактериофагов, активных к *Klebsiella pneumonia* / Е.А. Ляшенко, Г.Р. Садртдинова, Д.А. Васильев // Инфекция и иммунитет. - 2014. - №5. - С.95.

SEARCH OF NEW BACTERIOPHAGES OF *BACILLUS COAGULANS*

Belova K. V. , Feoktistova N. A. , Talyagina G. Sh. , Vasilyev D. A.

Keywords: bacteriophage, Bacillus coagulans, allocation method, parameters, cultivation

In article results of researches on allocation of bacteriophages, specific Bacillus coagulans, from tests of food preserved foods of food, the containing tomato-product, and to matching of optimum parameters of their cultivation are described. 1 bacteriophage of B. coagulans from test of tomato sauce was allocated.