

проверяли на среде УГСХА-тр.А.н. и плотной селективной среде УГСХА-2А.н., при -4, +5, +30, +41, +45 °С, в течение от 1 до 4 суток. Рост бактерий *A. hydrophila* при -4 °С не наблюдался, но при высевании из пробирок с замороженными бульонными культурами на агар и инкубации чашек в термостате при оптимальной температуре (30 °С), наблюдался характерный рост бактерий *A. hydrophila*. Данные бактерии могут находиться в замороженном состоянии на среде УГСХА-тр.А.н. до 12 месяцев, в бытовом холодильнике (при температуре +5 °С) до 4 месяцев. При температуре +5 °С в пробирках со средой УГСХА-тр.А.н. наблюдали рост аэромонад спустя 48 часов, в то время как на чашках, выросли мелкие колонии уже через 24 часа. Температура +30 °С является оптимальной для роста бактерий *A. hydrophila*, спустя 24 часа в пробирках наблюдается характерный рост, а на чашках с УГСХА-2А.н. образование колоний. Температура +41 °С считается не приемлемой для роста аэромонад, однако 10 из 12 проверяемых нами штаммов росли при данной температуре как в пробирках с транспортной средой, так и на чашках с УГСХА-2А.н. Референс-штамм также имел характерный рост на данных средах, спустя 24 часа. А вот при температуре +45 °С не наблюдалось роста ни в пробирках, ни на чашках Петри. Соответственно температурные границы роста бактерий *A. hydrophila* составляют от +5 °С до +41 °С и выживаемость бактерий на среде УГСХА-тр.А.н. при температуре +5 °С достигает 4 месяцев.

ПОДБОР СРЕД ДЛЯ НАРАЩИВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ *LISTERIA MONOCYTOGENES*

А.В. Козловский - 4 курс, факультет ветеринарной медицины, специальность
«Микробиология»

Научный руководитель – аспирант Д.Н. Хлынов

ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и биотехнологии

В настоящее время проблема листериоза приобретает все большую актуальность в связи с тем что:

- возрастает значение листериоза в инфекционной патологии. Увеличивается число зарегистрированных случаев у людей.
- 1,6% клинически здоровых женщин являются носителями патогенных видов листерий;
- растет роль групповой и вспышечной заболеваемости, связанных с потреблением пищевых продуктов. Многочисленные эпидемические вспышки и спорадические случаи листериоза в высокоразвитых странах мира (США, Великобритания, Швейцария, Канада, Франция) были связаны с употреблением готовых продуктов пищевой индустрии (сыры, особенно мягкие, мясные полуфабрикаты, салаты и др.), после чего данное заболевание стали рассматривать как одну из важных пищевых инфекций в мире.
- тяжелым течением заболевания у беременных и новорожденных, пожилых людей, лиц, получающих стероидные препараты,

иммунодепрессанты, злоупотребляющих алкоголем и наркотиками, ВИЧ-инфицированных;

- высоким уровнем летальности при генерализованных формах. Так, из 2518 больных листериозом, выявленных в США в 1997 г., госпитализация больных требовалась в 92% случаев, у 20% наступил летальный исход;
- недостаточными знаниями врачей этой патологии.

Целью исследования стал подбор сред для наращивания бактериальной массы *Listeria monocytogenes*. В нашем распоряжении имелись бактерии сероваров 1А и 4А, которые относятся к I и II серогруппам листерий.

Материалы и методы. В ходе наших исследований мы использовали следующие среды: мясопептонный бульон (МПБ); мясопептонный агар (МПА); Оксфорд – агар и глюкозо-глицериновый агар (МАГГА).

Результаты исследований. Бактериальная культура указанных штаммов хорошо растёт в мясопептонном бульоне (МПБ) при 30⁰С. МПБ в первые сутки слегка мутнеет, помутнение равномерное, при встряхивании пробирки наблюдаются так называемые «муаровые волны». Через 2-4 суток бульон в пробирке светлеет, а на дне её образуется слизистый осадок, который при встряхивании поднимается косичкой. Основной причиной отказа от МПБ, как от среды для наращивания бактериальной массы, послужил большой расход и малая выработка, на 4 мл среды получали 0,02 мг бакмассы.

На мясопептонном агаре (МПА) в первые сутки роста обнаруживают мелкие (0,2-0,5 мм в диаметре), прозрачные в проходящем свете, слегка выпуклые колонии. Через 2-3 суток колонии увеличиваются в размере (до 1-3 мм в диаметре) становятся более плоскими и приобретают сероватый оттенок при падающем свете. Выработка бактериальной массы весьма удовлетворительна на 4 миллилитра 0,12 мг. Одним из важных плюсов является относительно дешёвая цена среды.

На Оксфорд – агаре с селективными добавками, листерии выращенные в течении суток выглядят как мелкие (1 мм), серые колонии окружённые чёрным ореолом. Через 48 часов колонии становятся более тёмными и увеличиваются в размерах (до 2-х мм в диаметре) с чёрным ореолом и углубленным центром. Важным плюсом этой среды послужила выработка бактериальной массы которая составила на 4 мл 0,15 мг. Недостатком же в свою очередь оказалась высокая стоимость этой селективной среды.

Последней средой подвергшейся нашим изучением стал глюкозо-глицериновый агар. Рост *L. monocytogenes* на МАГГА во многом схож на рост листерий на МПА, в первые сутки мелкие колонии (от 0,2 мм до 0,5 мм в диаметре) прозрачные на свет слегка выпуклые и гладкие. Количество бактериальной массы выработанной с этой среды составило на 4 мл 0,2 мг. По сравнению с вышеперечисленными, наиболее приемлема.

Выводы. Для наращивания бактериальной массы лучше всего послужит глюкозо-глицериновый агар в связи с его относительно дешёвой стоимостью и высокопродуктивной выработки бактериальной массы. МПА и Оксфорд-агар следует использовать как среды для расплодки данной культуры

клеток, которую в дальнейшем мы будем использовать при разработке метода иммуноферментного анализа листериоза.

Литература

1. Актуальность проблемы, этиология и эпидемиология листериоза <http://www.infekcii.net/aktualnost-problemy-etiologya-i-epidemiologiya-listerioza/#more-3552>.
2. Бакулов И.А Котляров В.М. Васильев Д.А. Белоусов В.Е. О серологической диагностике листериоза // Ветеринария, 1988, №10. - С-64-65.
3. Бакулов И.А Котляров В.М. Фирсова Т.Е., Кольпикова Т.Н., Чевелева С.С. Листериоз как пищевая инфекция и современные методы лабораторной диагностики.
4. Воробьев А.В., Быков А.С., Пашков Е.П. Микробиология, 2003 г.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

Л. Ракова, Л. Укстина - 4 курс, факультет ветеринарной медицины

Научный руководитель – научный сотрудник А.В. Мاستиленко

ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и биотехнологии

Бордетеллез – инфекционное заболевание, вызванное мелкой (0,2-0,3x0,5-1,0 мкм) грамотрицательной коккобациллой и характеризующееся развитием острого или хронического воспалительного процесса слизистой оболочки респираторного тракта, сухим кашлем, который часто принимает пароксизмальный характер, снижением общей активности организма, а в совокупности осложнений другими бактериальными или вирусными инфекциями – развитием тяжелых симптомов, характерных для пневмонии [1].

Целью настоящей работы является применение современного молекулярно-генетического метода (ПЦР) для обнаружения *Bordetella bronchiseptica* [2, 3].

Материалы и методы. В качестве основного метода обнаружения ДНК *Bordetella bronchiseptica* использовалась полимеразная цепная реакция.

Для обнаружения ДНК *Bordetella bronchiseptica* были использованы праймеры («затравки»), разработанные на кафедре МВЭиВСЭ ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Для проведения полимеразной цепной реакции были использованы стандартные реакционные смеси производства ООО «Синтол» (г. Москва).

На последнем этапе индикации (детекции) ДНК применялся горизонтальный электрофорез в 2,3% агарозном геле в Трис-борат буфере с рН-8,3.

Для апробации предложенной методики были использованы штаммы *Bordetella bronchiseptica* из коллекции музея кафедры МВЭиВСЭ ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Метод полимеразной цепной реакции заключается в многократном копировании (амплификации) участка ДНК. Этот участок выбирается экспериментатором и ограничивается синтетическими одноцепочечными ДНК (праймерами).