

Предлагаемая схема позволяет выделить культуры *Bordetella bronchiseptica* в течение 96 часов.

Литература

1. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. Справочник под редакцией М. А. Сидорова. М., 206 с.

УДК 616:619

ВЫДЕЛЕНИЕ ФАГОВ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* ISOLATION OF PHAGES *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

**Е.Н. Семанина, Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев
E.N. Semanina, Yu.B. Vasilyeva, D.A. Vasilyev**

**Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и
биотехнологии Ульяновской ГСХА
The research innovation centre of microbiology and biotechnology
Ulyanovsk state academy of Agriculture**

*In the domestic veterinary and medical practice, the question selection bacteriophage bacteria *Bordetella bronchiseptica*, and their use for diagnostic purposes has not been studied. Addressing these issues is of great scientific and practical interest, since phage diagnosis infections is low-cost, economical and effective method. The aim of our work was to study the possibility of separating phages *B.bronchiseptica* from pets and using the induction of bacteria with ultraviolet rays.*

Каждый день в мире появляются новые опасные инфекции, вследствие которых гибнут миллионы людей и животных. В отечественной ветеринарной и медицинской практике вопрос выделения бактериофагов бактерий *Bordetella bronchiseptica* и их применения с диагностической целью не изучался [3].

Разработка диагностики малоизученных инфекционных заболеваний, характеризующихся тяжелым течением, а нередко и летальным исходом, таких, как бордетеллёз является крайне актуальной. Зарубежные ученые занимались выделением фага бордетелл путём индукции ультрафиолетовым лучом из профага, находящегося в бактерии [4]. Способы получения бордетеллёзных фагов от животных не описаны в литературе.

Решение этих вопросов представляет научный и практический интерес, так как фагодиагностика инфекций является малозатратным, экономичным и эффективным методом.

Вследствие актуальности проблемы целью нашей работы явилось изучение возможности выделения фагов *B. bronchiseptica* от домашних животных и при помощи индукции бактерий ультрафиолетовыми лучами.

Работа проводилась в научно-инновационном исследовательском центре микробиологии и биотехнологии УГСХА.

Выделение фагов от животных. Для проведения экспериментов были использованы животные вивариев в количестве 4-х собак и 6-ти кошек в возрасте от 6 месяцев до 1,5 лет. Для исследования подбирали животных с клиническими признаками воспаления верхних дыхательных путей: выраженное угнетение, температурная реакция, чихание, кашель, выделения из носовых отверстий.

Для выделения фагов мы использовали методы взятия глубоких мазков из глотки, истечений из носовой полости от живых животных и исследования патматериала (трахеи) от павших животных. Эти методы были апробированы нами ранее для выделения *B. bronchiseptica* от животных.

Животных фиксировали при взятии проб из носовой полости в стоячем или сидячем положениях, удерживая голову одной рукой за кожную складку на шее, а другой – за челюсти. При взятии проб из глотки в стоячем или сидячем положениях, разводя челюсти руками или с помощью инструментов. При взятии материала от павшего животного брали трубку трахеи длиной 5-6 см с содержимым.

Для взятия материала из носовой полости и глотки использовали стерильные ватные палочки и мясо-пептонный бульон. Палочки помещали в носовые ходы или глотку животных и совершали несколько вращательных движений, касаясь внутренней стенки носовой полости или глотки.

Затем в каждую пробирку с 9 мл МПБ добавляли исследуемый материал и 1 мл суточной культуры 5-ти штаммов *B. bronchiseptica* и подрачивали в термостате при t 37°C в течение 3-х суток. Далее добавляли хлороформ для бактерицидного эффекта, интенсивно взбалтывали в течение 15 минут, центрифугировали при 3000 об/мин 15 минут. Потом стерильными пипетками отсасывали надосадочную жидкость в количестве 3-4 мл и помещали в стерильную пробирку. Центрифугат исследовали по методу стекающей капли. Для этого на мясопептонный агар газоном засекали *B. bronchiseptica* и наносили пипеткой фильтрат. Культивировали в течение 12-18 ч при t 37°C и оценивали результаты.

При исследовании патматериала мы измельчали его и далее действовали по вышеуказанной методике.

Выделение фагов индукцией бактерий при помощи УФЛ.

1й день: Посев газоном суточной культуры *B. bronchiseptica*, подсушивание в термостате 10-15 мин, облучение бактерий УФЛ (длина волны 253 нм) с расстояния 1метра, экспозиция 5-7 минут. Помещение чашек в термостат (37C) на сутки.

2й день: Распределение шпателем бактерий по поверхности агара. облучение бактерий УФЛ (длина волны 253 нм) с расстояния 1метра, экспозиция 7-10 минут. Помещение чашек в термостат (37C) на сутки.

3й день: Распределение шпателем бактерий по поверхности агара. облучение бактерий УФЛ (длина волны 253 нм) с расстояния 0,5метра, экспозиция 7-10 минут. Помещение чашек в термостат (37C) на сутки.

4й день: смыв МПБ с чашек, помещение в пробирку со штаммами бордетелл, кроме исходного. Культивирование в термостате сутки.

5й день: обработка хлороформом 1:10 в течение 15 минут, центрифугирование при 3000 об/мин – 15 мин. Снятие надосадочной жидкости в стерильную пробирку. Метод стекающей капли на все штаммы.

Выделение фагов от животных

Исследуемый материал	Штаммы <i>B. bronchiseptica</i> (наличие фага ±)				
	B.br 1	B.br 7	B.br 214 IV 90	B.br 22-067	B.br. мелк.
Истечения из носа (n=2)	-	-	-	-	-
Глотка (n=9)	-	-	-	-	-
Трахея (n=1)	-	-	-	-	-

Данные нашего эксперимента (см табл.) показывают, что при исследовании материала от живых животных (слизь из носа и глотки) получение фага не эффективно. При исследовании материала от павших животных (трахея) мы также не получили фаги *B. bronchiseptica*.

При облучении бактерий УФЛ нам удалось выделить фаги *B. bronchiseptica*. На чашках Петри были обнаружены слабые зоны лизиса бактерий. Данные зоны располагались по пути стекания капель фаголизата.

Таким образом, из двух использованных нами методов, можно говорить об эффективности УФЛ при выделении бактериофагов из бактерий.

Литература

1. Адамс М. Бактериофаги. - М.: Медгиз, 1961. - 521 с.
2. Габрилович И.М. Лизогения. - Минск, 1970. - 72 с.
3. Mattoo, S., A. K. Foreman-Wykert, P. A. Cotter, and J. F. Miller. 2001. Mechanisms of *Bordetella* pathogenesis. *Front. Biosci.* 168-186.
4. Waldor, M. K., and J. J. Mekalanos. 1996. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science* 272.

УДК 619:578

БАКТЕРИИ ВИДА *BACILLUS MEGATERIUM* – ВОЗБУДИТЕЛИ ПОРЧИ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ BACTERIA OF TYPE *BACILLUS MEGATERIUM* – ACTIVATORS OF DAMAGE OF FOOD STUFFS

**О.А. Трусова, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, Д.С. Золотухин
O.A. Trusova, N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, D.S. Zolonukhin**

**Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и
биотехнологии Ульяновской ГСХА
The research innovation centre of microbiology and biotechnology
Ulyanovsk state academy of Agriculture**

*In article literary data on pollution of food stuffs by bacteria of type *Bacillus megaterium* are analyzed, capable to cause damage of foodstuff.*

Санитарно – микробиологические аспекты исследования продуктов питания широко представлены и отечественной и зарубежной литературе.

Микробиологические показатели продовольственных товаров зависят от исходной обсемененности, в первую очередь, термоустойчивыми бактериями, например, такими, как *Bac. megaterium*, так как увеличение срока хранения многих продуктов питания связано с их термической обработкой, с соблюдением мер предосторожности от повторного загрязнения.

Schonberg провел бактериологическое изучение причин порчи различных пищевых продуктов. Он установил, что среди выделяемых из пищевых продуктов микробных культур определялись и спорообразующие бактерии. В их числе чаще других были изолированы *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megaterium* и *Bac. cereus* [6].

Rogers приводит результаты анализа микрофлоры, содержащейся в тесте, пшеничной муке и зернах пшеницы. Из образцов охлажденного теста и пшеничной муки выделены и идентифицированы 95 штаммов бацилл. Среди 53 штаммов, выделенных из охлажденной теста, 24 штамма - *Bac. subtilis*, 17 - *Bac. cereus*, 10 - *Bac. pumilis*, 2 - *Bac. licheniformis*. Из пшеничной муки выделены *Bac. pumilis* - 11 штаммов, *Bac. subtilis* - 10, *Bac. brevis* и *Bac. cereus* - по два, *Bac. coagulans*, *Bac. licheniformis*, *Bac. megaterium* - по одному. Из пшеницы выделили *Bac. circulans* - 6, *Bac. subtilis* - 3, *Bac. cereus* - 1, *Bac. licheniformis* - 1 штамм. Таким образом, исследованные продукты существенно отличались по числу и видам выделенных из них штаммов бацилл [6].

Kahalafallaet определял содержание спорообразующих бактерий в пробах молока буйволиц до и после термической обработки. Автор установил, что летом количество спорных бактерий в молоке этих животных больше, причем для проб, взятых в летнее время, был характерен и более широкий диапазон колебаний их численности. После термической обработки молока (60 мин при 100° С) сезонные