

## BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE METABOLISM OF CARBOHYDRATES BY BACTERIA OF THE GENUS BORDETELLA

Lomakin, A. A., Mastilenco A.V., Vasiliev D.A.

**Key words:** *Bordetella*, metabolism of carbohydrates, features, and *B. bronchiseptica*.

**Summary.** The article presents a literature review on the problem of biochemical characteristics of carbohydrate metabolism in bacteria of the genus *Bordetella*. The authors have conducted their own studies of the metabolism of simple and complex carbohydrates for example bacterial cultures of *B. bronchiseptica*. The results indicate a poorly-defined the metabolism of glucose and xylose data bacterial cultures, incubation time and results were significantly increased in comparison with the conventional technique to 48 hours.

УДК 616:619

## РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ *CORYNEBACTERIUM ULCERANS* НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Ломакин А.А., студент 2 курса факультета ветеринарной медицины  
Научные руководители - Полетаева Т.Н., Макшанова Н.В., младшие  
научные сотрудники

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им П.А. Столыпина»

**Ключевые слова:** ПЦР, молекулярно-генетическая идентификация, *C. ulcerans*, *C. diphtheria*

**Аннотация.** Статья посвящена разработке молекулярно-генетической идентификации *C. ulcerans* на основе метода ПЦР в режиме "реального времени". В результате проведенных экспериментов нами было обнаружено, что олигонуклеотиды и флуоресцентный зонд с красителем R6G, фланкирующие фрагмент гена *uvrB* системы *UvrABC* protein B являются видоспецифичными для *C. ulcerans*.

**Таблица 1 – Ср Нех при RT-PCR проб с содержанием ДНК**  
*C. ulcerans*, *C. diphtheriae*, *C. xerosis*, *C. jeikeium*, *C. minutissimum*

| Лунка | Идентификатор                | Ср Fam | Ср Нех | Результат |
|-------|------------------------------|--------|--------|-----------|
| A5    | <i>C. diphtheriae</i> /A     |        |        | -         |
| A6    | <i>C. diphtheriae</i> /G     |        |        | -         |
| A7    | <i>C. ulcerans</i>           |        | 22.3   | +         |
| A8    | <i>C. xerosis</i>            |        |        | -         |
| A9    | <i>C. jeikeium</i>           |        |        | -         |
| A10   | <i>C. minutissimum</i>       |        |        | -         |
| A11   | <i>C. ulcerans</i> x 10      |        | 25.5   | +         |
| A12   | <i>C. ulcerans</i> x 100     |        | 28.9   | +         |
| B1    | <i>C. ulcerans</i> x 1000    |        | 32.2   | +         |
| B2    | <i>C. ulcerans</i> x 10000   |        | 35.5   | +         |
| B3    | <i>C. ulcerans</i> x 100000  |        | 39.1   | +         |
| B4    | <i>C. ulcerans</i> x 1000000 |        | 40.6   | +         |
| B5    | Patient102(соскоб носогл.)   |        |        | -         |
| B6    | K+ (DNA <i>C. ulcerans</i> ) |        | 22.3   | +         |
| B7    | K-                           |        |        | -         |

В последнее время инфекциям, ассоциированным с *Corynebacterium ulcerans*, стали уделять особое внимание как в ветеринарной практике, так и в медицине. Так D. Taylor et al. (2002) сообщили об изоляции вирулентных штаммов этого возбудителя от домашних кошек. *C. ulcerans* способна вызывать инфекции верхних дыхательных путей, чаще всего ассоциированные с клиническими симптомами фарингита.

Почти все случаи поражения вирулентными штаммами *C. ulcerans* характеризовались симптомами схожими с классической дифтерией. Это объясняется наличием в хромосоме возбудителя генов умеренного конвертирующего β-профага, названного коринефагом, и несущим оперон дифтерийного токсина [1].

Бактериологическая идентификация представителей рода *Corynebacterium* достаточно сложна, поэтому неоднократно были предприняты попытки их межвидовой дифференциации с применением молекулярно-генетических методов. Частичное секвенирование 16s рРНК гена используют для сложнодифференцируемых бактериальных видов, однако этот подход обладает существенными ограничениями для межвидовой дифференциации членов одного рода.

Нами была поставлена цель разработать систему детекции *C. ulcerans* на основе ПЦР в режиме «реального времени».

**Материалы и методы.** Работа была выполнена на базе отдела молекулярной биотехнологии кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА им П.А. Столыпина.

В работе были использованы штаммы *C. ulcerans*, *C. diphtheriae*, *C. xerosis*, *C. jeikeium*, *C. minutissimum* из музея кафедры, олигонуклеотиды CUC-f GACGCAGCTATTGCGGAGAA и CUC-r TGAGCTCGGATATAAGCGCC, и флуоресцентный зонд CUC-oligo R6G-GCGCGATCTTTCTACTATGCCCGC –BHQ. Для амплификации в работе использовали «Набор реагентов для проведения ПЦР-PB с Taq-ДНК-полимеразой и ингибирующими активностью фермента антителами» («Синтол», Москва), а также детектирующий амплификатор ДТ-96 («ДНК-Технология», Москва).

**Результаты исследований.** Нами были разработаны олигонуклеотиды и флуоресцентный зонд для детекции *C. ulcerans* при использовании метода ПЦР в режиме «реального времени». В качестве мишени был выбран участок гена *uvrB* системы *UvrABC protein B*. Результаты амплификации отражены в таблице 1.

**Выводы.** В результате проведенных экспериментов нами было обнаружено, что олигонуклеотиды и флуоресцентный зонд с красителем R6G, фланкирующие фрагмент гена *uvrB* системы *UvrABC protein B* являются видоспецифичными для *C. ulcerans*. При исследовании чувствительности данной системы с последовательными 10-и кратными разведениями исходной ДНК были получены результаты накопления флуоресцентного сигнала амплификации в максимальном разведении  $\times 10^6$  с данными  $C_p=40,6$ .

Данная система праймеров и флуоресцентного зонда может быть использована для видовой идентификации *Corynebacterium ulcerans*.

#### Библиографический список:

1. Васильева, Ю.Б. Изучение чувствительности и диагностической эффективности тест-системы индикации и идентификации бактерий *B. bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, Р.Р. Бадаев, С.В. Мерчина, И.Г. Швиденко, А.С. Скорик // Современные проблемы науки и образования. -2014. -№ 5; URL: <http://www.science-education.ru/119-14770>.
2. Сверкалова Д.Г. Создание транспортной и накопительной сред для *Bordetella bronchiseptica* / Д.Г. Сверкалова, А.В. Мастиленко, Д.Н. Хлынов, Ю.Б. Никульшина, Д.А. Васильев // Актуальные вопросы аграрной науки и образования Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. Ульяновск. - 2008. - С. 134-136.
3. Никульшина Ю.Б. Культивирование *Bordetella bronchiseptica* на различных селективных средах / Ю.Б. Никульшина, Д.Г. Сверкалова, А.В. Мастиленко, Д.Н. Хлынов, Д.А. Васильев // Актуальные вопросы аграрной науки и обра-

- зования Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. Ульяновск - 2008. - С. 57-59.
4. Васильев Д.А. Индикация *Bordetella bronchiseptica* из объектов внешней среды и клинических образцов / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина. -2013. - С. 18-22.
  5. Васильев Д.А. Бордетеллэз животных: характеристика заболевания и возбудителя, разработка методов диагностики / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Е.Н. Семанина, О.Ю. Борисова, С.Н. Золотухин, И.Г. Шведенко. Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2014. – 206 с.
  6. Никульшина Ю.Б. Разработка методов индикации и идентификации *Bordetella bronchiseptica*, выделенных у домашних животных / Ю.Б. Никульшина, Д.Г. Сверкалова, Е.Н. Никулина // Ветеринарная патология. 2007. - № 4. - С. 103-106.
  7. Потатуркина-Нестерова Н.И. Атомно-силовая микроскопия как метод исследования в микробиологии / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, А.В. Даньшина // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3. - С. 316.
  8. Елистратова Л.Л. Современное состояние проблемы демодекоза / Л.Л. Елистратова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 9-1. - С. 67-69.13.
  9. Потатуркина-Нестерова Н.И. Изменение вирулентных свойств урогенитальных энтерококков в условиях межмикробных взаимоотношений / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, М.Н. Артамонова, Е.Б. Хромова, О.Е. Хохлова, Н.В. Трофимова, О.В. Теплякова, И.А. Кочергина // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 1. - С. 8.
  10. Белозерова Е.А. Влияние хронического поступления солей меди, цинка и свинца на микробиологический баланс толстой кишки в условиях эксперимента / Е.А. Белозерова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, Е.С. Климов. -Токсикологический вестник. - 2007. - № 4. - С. 26-30.
  11. Яцишина С.Б. Применение мультиплексной ПЦР для идентификации вирулентных форм возбудителя сибирской язвы / С.Б. Яцишина, И.Л. Обухов, Л.С. Саленко, Б.И. Шморгун и др. // Сб. тезисов Генодиагностика инфекционных заболеваний. Всеросс. науч.-практич. Конференция. – 2002.

## DEVELOPMENT OF A SYSTEM OF MOLECULAR-GENETIC IDENTIFICATION OF CORYNEBACTERIUM ULCERANS PCR-BASED IN “REAL TIME”

Lomakin, A. A., Poletaeva T. N., Makshanova N.

**Key words:** PCR, molecular genetic indelicacy, *C. ulcerans*, *C. diphtheria*

**Summary.** *The article discusses the development of molecular geneticheskoi identification of C. ulcerans-based PCR method in “real time”. As a result of the experiments, we have found that oligonucleotides and fluorescent probe dye R6G flanking fragment of the uvrB gene UvrABC system protein B are species-specific for C. ulcerans.*

УДК 616.99+619:616.99

## БАКТЕРИИ РОДА HELICOBACTER У БЕЛЫХ МЫШЕЙ И КРЫС

Луконина А.А., Савельева А.В., студенты 3 курса факультета ветеринарной медицины  
Научный руководитель – Нургалеев Ф.М., кандидат ветеринарных наук, доцент

ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана»

**Ключевые слова:** бактерии рода *Helicobacter*, хеликобактериоз, крысы, мыши.

**Аннотация.** *Работа посвящена изучению распространения бактерий рода Helicobacter среди белых мышей и крыс, выявление связи этих микроорганизмов с патологическими изменениями в организме исследуемых животных.*

Бактерии рода *Helicobacter* были открыты в 1983 году Б. Маршаллом и Р. Уорреном, в 2005 году эти ученые получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за открытие влияния бактерии данного рода на развитие гастрита, язвы и рака желудка у человека [1]. Открытым остается вопрос, связанный с механизмом заражения хеликобактерами: большинство исследователей считают, что основными источниками заражения являются больной че-