

УДК 579.6

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* ИЗ ОБЪЕКТОВ САНИТАРНОГО НАДЗОРА

*Зонова Ю.В., магистрант 1 курса факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии
Научные руководители: Феоктистова Н.А., кандидат
биологических наук, доцент, Сульдина Е.В., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, ферментативные свойства, бактерии, штаммы.

*Работа посвящена выделению бактерий *Bacillus subtilis* из объектов санитарного надзора. В результате бактериологических исследований 25 проб объектов санитарного надзора нами было выделено 5 культур бактерий *Bacillus subtilis* из 5 проб.*

Бактерии *Bacillus subtilis* является одним из представителей вида аэробных спорообразующих почвенных бактерий, положительных по Граму. В связи с тем, что для получения накопительных культур данного микроорганизма используют сенный экстракт, второе название бациллы – сенная палочка [1-3].

На сегодняшний день это один из наиболее известных и тщательно изученных представителей рода бацилл. На основе этих спорообразующих аэробных бактерий, являющихся представителями рода бацилл, уже в течение длительного времени успешно создают суперэффективные продуценты разных биологически активных веществ [4].

Цель работы - выделения бактерий *Bacillus subtilis* из объектов санитарного надзора. Исследования проводились на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ Ульяновский ГАУ с применением методических разработок сотрудников [5-10].

Материалы и методы. В работе были использован референс-штамм *Bacillus subtilis* ATCC 6633 из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ул ГАУ и 5 штаммов выделены из проб пищевых продуктов и объектов санитарного надзора.

Результаты исследований. Элективную питательную среду разливали стерильно в пробирки по 5 мл. и засеивали по 0,1 мл. исследуемой пробы. Посевы помещали в термостат при 37 °С на 4-5 дней. При на-

личии роста посе́вы прогревали при 80 °С в течении 45 мин и делали высевы на агаризованные питательные среды для изолирования чистых культур [3]. Прогревание выросших культур необходимо, так как в среде наблюдается рост отдельных штаммов *Pseudomonas*, которые при последующем высеве на твердые среды могут подавлять спорообразующие бактерии [4]. Видовую принадлежность культур устанавливали на основе определения морфологических и культурально-биохимических свойств. Ферментативные свойства изучали у агаровых культур бактерий, выделенных из одного исследуемого материала, на наборе полужидких сред с углеводами и индикатором ВР, куда входят среды с глюкозой, лактозой, а также на среде с мочевиной и т.п. В качестве дополнительных тестов определяли подвижность микроорганизмов. Посевы инкубировали при температуре 37°С в течение 24-48 часов. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Ферментативные свойства выделенных культур

Выделенная культура	Название теста													
	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Сорбит	Адонит	Манноза	Арабиноза	Триптофандезамина	Фенилаланиндезаминаза	Лизиндекарбоксилаза	Аргининдегидролаза	Уреаза	Подвижность	Маннит
Культура №1	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Культура №2	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Культура №3	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Культура №4	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Культура №5	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+

Примечания:

“+” - ферментация сахара с образованием кислоты, газа и т.д.

“-” - отрицательный результат.

Полученные нами результаты изучения биохимических свойств выделенных бацилл были сравнены с данными по изучению биохими-

ческих свойств референс-штамма бактерий *Bacillus subtilis*. Результаты исследований представлены в таблице 2. Экспериментальным путем было доказано, что музейные штаммы бактерий вида *Bacillus subtilis* и выделенные нами культуры бацилл обладают аналогичными биохимическими свойствами.

Таблица 2 - Ферментативные свойства референс-штамма *Bacillus subtilis* ATCC 6633

№/№	Выделенная культура	Название теста													
		Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Сорбит	Адонит	Манноза	Арабиноза	Триптофандезаминидаза	Фенилаланиндезаминидаза	Лизиндекарбоксилаза	Аргининдегидролаза	Уреаза	Подвижность	Маннит
1	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+

Примечания:

“+” - ферментация сахара с образованием кислоты, газа и т.д.

“-” - отрицательный результат.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами было выделено из объектов внешней среды и патологического материала было выделено 5 культур бактерий, которые мы классифицировали по ферментативным свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и результатах изучения биохимических свойств референс-штамма *Bacillus subtilis* ATCC 6633, полученного из музея кафедры МВЭ и ВСЭ УЛГАУ) и отнесли к виду *Bacillus subtilis*. Результаты представлены в таблице 3.

Из данных таблицы 3 видно, что источники выделения бактерий вида *Bacillus subtilis* различны, что говорит о широком распространении данных бактерий и их устойчивости к условиям окружающей среды.

В результате бактериологических исследований 25 проб объектов санитарного надзора нами было выделено 5 культур бактерий *Bacillus*

Таблица 3 - Выделенные культуры бактерий вида *Bacillus subtilis*

Номер культуры и присвоенное название	Объект выделения культуры	Место получения пробы
№ 1- <i>Bacillus subtilis</i> 1к	Смесь специй для плова	Прод. Рынок г.Ульяновска
№ 2 – <i>Bacillus subtilis</i> 2к	Молоко козье	Прод. Рынок г.Ульяновска
№ 3 – <i>Bacillus subtilis</i> 3к	Мясо	Прод. Рынок г.Ульяновска
№ 4 – <i>Bacillus subtilis</i> 4к	Мука пшеничная	Прод. Рынок г. Сенгилей
№ 5 – <i>Bacillus subtilis</i> 5к	Молоко коровье	Прод. рынок г. Сенгилей

subtilis в 5 пробах, что составило 25 %. Этот показатель свидетельствует об относительно широком распространении бактерий вида *Bacillus subtilis* в объектах санитарного надзора на территории Ульяновской области.

Библиографический список:

1. Васильев, Д.А. Методика выделения фагов бактерий вида *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus*, перспективы их применения / Д.А. Васильев, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев, М.А. Юдина // Естественные и технические науки.- 2011. - № 2 (52). - С. 83-86.
2. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев и др. // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы V Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. С. 178-185.
3. Феоктистова, Н.А. Разработка схемы исследования материала с помощью выделения и ускоренной идентификации бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* / Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, А.Х. Мустафин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. -2011.- № 4 (32).- С. 288-290.
4. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* для идентификации и мониторинга данного микроорганизма / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. – Ульяновск, 2013. – С. 211-225.
5. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев и др. // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их ре-

- шения: материалы V Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. С. 178-185.
6. Макеев, В.А. Изучение чувствительности бактерий рода *Bacillus* к различным концентрациям хлорида натрия / В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова и др. // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2011. – С. 185-187.
 7. Феоктистова, Н.А. Выявление бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВП) бактериологическими методами / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Юдина и др. // Актуальные вопросы ветеринарной науки: материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2015. – 103-110.
 8. Васильев, Д.А. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики / Д.А. Васильев, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин. – Ульяновск, 2013. – 98с.
 9. Феоктистова, Н.А. Рейтинговая оценка курсовых работ по дисциплинам «Товароведение и экспертиза мясных товаров» и «товароведение и экспертиза молочных товаров» / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Юдина // Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании: материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии. – Ульяновск: УГСХА, 2012. – С. 192-196.
 10. Феоктистова, Н.А. Организация научно-исследовательской работы обучающихся на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин и др. // Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании: материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии. – Ульяновск: УГСХА, 2015. – С. 190-197.
 11. Разработка системы ПЦР для идентификации бактериофагов *Proteus* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter* spp/ А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №2(42). с.187-192.
 12. Молекулярно-генетическая характеристика бактериофага *Bacillus cereus* FBC - 28 УГСХА/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №2(42). с.216-222.
 13. Феоктистова Н.А. Подбор специфических праймеров на основе гена 16s рРНК для бактерий «группы *Bacillus cereus*»/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №3(43). с.196-201.

14. Мاستиленко А.В. Изучение биологических свойств бактерий видов *V. petrii* и *V. trematum*/ А.В. Мастиленко, А.А. Ломакин, К.Н. Пронин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №3(43). с.160-165.
15. Феоктистова Н.А. Результаты протеомного анализа бактериофага *Bacillus cereus* FBC – 28 УГСХА/ Н.А. Феоктистова, С.В. Мерчина, А.В. Мастиленко // Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №4(44). с.216-221.
16. Климентова Е.Г. Фенотипические признаки патогенности у бактерий, выделенных из кишечника животных с экспериментальным дисбактериозом, вызванным применением δ -эндотоксинов *Bacillus thuringiensis*/ Е.Г. Климентова, Е.В. Рассадина, Н.А. Феоктистова //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №2(38). с.80-84.

ISOLATION OF BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS* OF OBJECTS SANITARY SUPERVISION

Zonova Yu.V.

Keywords: *Bacillus subtilis*, enzymatic properties, bacteria, strains.

*The work is devoted to the isolation of bacteria *Bacillus subtilis* from the objects of sanitary supervision. As a result of bacteriological researches of 25 samples of objects of sanitary supervision we allocated 5 cultures of bacteria of the *Bacillus subtilis* species in 5 samples.*