

УДК 579.6

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИНДИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *BACILLUS PUMILUS (MESENTERICUS)*

**Зонова Ю.В., магистрант 1 курс 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 pumilus, mesentericus*, метод, индикация, среда.

В работе представлен обзор литературных источников по проблеме индикации бактерий *Bacillus pumilus (mesentericus)* без выделения чистой культуры. Описан экспресс-метод определения активности спорных бактерий в хлебопекарном сырье, микробиологический контроль методом мембранной фильтрации, питательная среда и индикация методом реакции нарастания титра фага.

В.П. Медведевым с сотр. (2010) был разработан экспресс-метод определения активности спорных бактерий *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis* в хлебопекарном сырье (в пшеничной и овсяной муке, пшеничных отрубях, прессованных дрожжах и др.) и готовой зерномучной продукции. Он позволяет в течение 6 часов выявить активность спорных бактерий, вызывающих картофельную болезнь хлеба. Данный экспресс-метод диагностики картофельной болезни по активности спорных бактерий в хлебопекарном сырье и готовой продукции, результаты которого свидетельствуют о качественных показателях бактерий в протеолитическом отношении, не являются информативными в плане количественной оценки зараженности и также часто представляют искаженную картину о реальной степени зараженности сырья [1].

Для количественной оценки степени зараженности зерна пшеницы использовался хорошо зарекомендовавший себя метод мембранной фильтрации микроорганизмов *Bacillus mesentericus* на оборудовании фирмы Sartorius. Микробиологический контроль методом мембранной фильтрации в настоящее время широко применяется в пищевой промышленности, для мониторинга микробиологической обсемененности безалкогольных напитков и пива. Данный метод позволяет избегать предварительной сложной и трудоемкой подготовки,

связанной с варкой питательных сред, сложной обработкой образцов, длительным культивированием, что позволяет сократить длительность анализа, проводить селективный анализ микроорганизмов, применять для широкого спектра хлебобулочных изделий. Метод стандартизирован в соответствии с международными требованиями, на его использование имеется разрешение МЗ РФ (№2000/373 от 04.08.2000 г.) [2]. А.А. Куриловой с сотр. (2006) была разработана питательная среда для культивирования сибиреязвенного микроба и близкородственных спорообразующих сапрофитов (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*). Цель настоящего изобретения заключается в подборе качественной дешевой основы питательных сред растительного происхождения, которая бы обеспечивала накопительный эффект и снижение ее стоимости, а также упрощение способа приготовления. Питательная среда содержит патоку рафинадную, водопроводную воду, натрия хлорид и дрожжевой экстракт. Известная питательная среда следующего состава, г/л: 1% пептона, 0,5% х. ч. натрия хлорида, мясная вода - до 1 л, pH 7,3±0,1. Недостатком данной среды является использование дорогостоящих ингредиентов. Наиболее близкой к предлагаемому изобретению является питательная среда бульон Хоттингера, включающая, г/л: гидролизат говяжьего мяса, разведенный дистиллированной водой до 1 л с содержанием общего азота 250-300 мг % и аминного азота 30-130 мг %; натрия хлорида 5,0; натрия дигидрофосфата 0,3, pH 7,4-7,6. Недостатками данной среды являются высокая себестоимость и сложная технология приготовления, обуславливаемые тем, что основу среды составляют продукты животного происхождения [3].

Для ускоренной индикации бактерий вида *Bacillus mesentericus* в пищевом сырье и продуктах питания без выделения чистой культуры была разработана модель постановки реакции нарастания титра фага на пищевом сырье и продуктах питания, максимально подверженных контаминации вышеназванными бактериями. Авторы использовали муку пшеничную высшего и первого сортов, персики, перец черный молотый, мясо - свинину. Подготовку и посев проб пищевых продуктов, подлежащих исследованию, проводили в соответствии ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов». Пробы растирали в фарфоровой ступке до получения гомогенной массы. Затем объекты исследований в количестве 10 г внесли в колбы с МПБ в соотношении 1:10 и искусственно контаминировали штаммами *Bacillus mesentericus* 66 и *Bacillus mesentericus* 2 в концентрации 10^1 – 10^5 м.к./мл. В качестве контроля использовали колбы МПБ

с пробами, неконтаминированными бактериями *Bacillus mesentericus* 66 и *Bacillus mesentericus* 2. Было доказано, что увеличение титра фагов Вm-3 и Вm-8 серии УГСХА в 5 раз произошло при концентрации 10^3 м.к. бактерий *Bacillus mesentericus* в 1 г объектов исследований. Данная концентрация бактерий в пищевом сырье и продуктах питания считается пороговой для их отбраковки или вторичной переработки с использованием соответствующих технологий [4-8].

Библиографический список:

1. Крючков, А.Г. Основные принципы и методология агроэкологического районирования зерновых культур в степи Южного Урала / А.Г. Крючков // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2006. – С. 704.
2. Медведев, П.В. Оценка уровня зараженности зерна пшеницы различных природно-географических зон Оренбургской области возбудителями картофельной болезни хлеба / П.В. Медведев, А.С. Степанов, В.А. Федотов // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2010. – № 2 (108). – С. 114–118.
3. Курилова, А.А. Питательная среда (жидкая) для культивирования сибиреязвенного микроба и близкородственных сапрофитов / А.А. Курилова, Л.С. Катунина, О.В. Малецкая, О.Л. [и др.] // Патент РФ 2288950.
4. Феоктистова, Н.А. Выявление бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) 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.
5. Юдина, М.А. Разработка параметров постановки реакции нарастания титра фага для индикации бактерий *Bacillus mesentericus* в объектах санитарного надзора / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2012. – № 3 (19). – С.69–73.
6. Юдина, М.А. Перспективы применения бациллярных фагов / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях: сборник докладов III международной научно-практической конференции. – Москва, 2011. – С.449–452.
7. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Д.А. Васильев, Е.О. Бахаровская [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – №1 (13). – С. 61–67.
8. Роль бактерий вида *Bacillus mesentericus* в контаминации объектов санитарного надзора / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] //

- Аграрная наука – сельскому хозяйству: материалы VI международной научно-практической конференции. – Барнаул, 2011. – Т. 3. – С. 353–355.
9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. Мاستиленко А.В. Изучение биологических свойств бактерий видов *B. petrii* и *B. trematum*/ А.В. Мاستиленко, А.А. Ломакин, К.Н. Пронин //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №3(43). с.160-165.
 13. Феоктистова Н.А. Результаты протеомного анализа бактериофага *Bacillus cereus* FBC – 28 УГСХА/ Н.А. Феоктистова, С.В. Мерчина, А.В. Мاستиленко // Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №4(44). с.216-221.
 14. 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.

METHODS OF ALLOCATION AND INDICATION OF BACTERIA OF *BACILLUS PUMILUS* (MESENTERICUS)

Zonova Yu.V.

Key words: *Bacillus pumilus*, *mesentericus*, method, indication, Wednesday.

*In work the review of references on a problem of indication of bacteria of *Bacillus pumilus* (mesentericus) without allocation of pure culture is submitted. The express method of determination of activity of sporous bacteria in baking raw materials, microbiological control by method of membrane filtration, nutrient medium and indication by method of reaction of increase of a caption of a phage is described.*