

Таблица 2

**Влияние дельта-эндотоксина на морфологические показатели
*Capsicum annuum***

Вариант опыта	Сырая масса проростка (стебель + корень), г	длина стебля, мм	Длина корня, мм	длина листа по средней жилке, мм	Обхват стебля, см
11 Контроль	0,173	37	31	20	3,5
22 Дельта-эндотоксин (первичная обработка)*	0,264	35	38	21	5
33 Дельта-эндотоксин	0,191	37	36	20	5

* Семена обработали дельта-эндотоксином только при посадке, в дальнейшем поливка осуществлялась дистиллированной водой

В результате проделанной работы можно сделать выводы:

1. В лабораторных условиях было показано, что предварительная обработка семян перца стручкового (*Capsicum annuum*) раствором кристаллов дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* в концентрации 0,3% положительно влияет на такие морфометрические показатели как длина листа по средней жилке, обхват стебля, масса растения, длина корня, но слегка ингибирует длину стебля.
2. Предположительным механизмом ростостимуляции растений дельта-эндотоксином *Bacillus thuringiensis* является возникновение системного иммунитета и стимуляция синтеза фитогормонов.

УДК 619:579

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА AEROMONAS CAVIAE
ALLOCATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF KIND AEROMONAS CAVIAE**

**О.В. Коровёнок, Т.И. Канаева, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев
O.V.Korovenkova, T.I. Kanaeva, S.N. Zolotuthin, D.A.Vasilev**

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

At research of tests of water from open reservoirs, waste and sewer waters, and also children's excrements presence of bacteria of kind A.caviae. As, possessing facultative pathogenic properties, bacteria of kind A.caviae (as well as other representatives of the given sort) can potentially become the reason of occurrence of sharp intestinal diseases at people with the weakened immunity.

Прошрое десятилетие засвидетельствовало взрыв научного интереса в отношении представителей рода *Aeromonas* как болезнетворных микроорганизмов животных и человек. Данный интерес, по-видимому, возникает из-за ассоциации этой грамтрицательной бациллы с желудочно-кишечной болезнью у людей, а также

со сложной таксономии рода и факторов токсичности, потенциально действующих в макроорганизме. В течение прошлых лет число медицинских и научных публикаций по аэромонадам пятикратно увеличилось. Было проведено несколько международных семинаров по проблеме аэромонадной инфекции. Эти коллективные работы помогли расширить медицинский и микробиологический интерес в роду *Aeromonas* на глобальной основе.

Для общей информации относительно микробиологии аэромонад и вызываемой ими инфекции читателю советуем проконсультироваться с одной из нескольких недавно опубликованных обзорных статей на эту тему [5,12,13].

Aeromonas spp. - это семейство грамотрицательных палочковидных бактерий, являющихся факультативными анаэробами (т.е. могут развиваться как в бескислородной, так и в кислородной среде). По типу питания бактерии относятся к хемоорганотрофам. Некоторые виды подвижны благодаря наличию полярного жгутика. Наиболее изученными из семейства *Aeromonas* являются бактерии вида *Aeromonas hydrophila*, все другие виды бактерий, включая *Aeromonas caviae*, малоизученны, тем самым вызывают научный интерес.

Как и другие бактерии этого семейства (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas veronii* и т.п. - всего на данный момент известно 25 видов), *A. caviae* встречается в природных пресных водоемах, а также в придонных осадках и в почве. Известно, что бактерии *Aeromonas* spp. (в частности отдельные штаммы *A. caviae*) являются патогенами для рыб и земноводных. Однако могут встречаться также и в кишечном тракте млекопитающих, в том числе и человека. С 1968 *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* и *A. Sobria* признаны факультативными патогенами для людей с ослабленным иммунитетом. Таким образом, бактерии *A. caviae* потенциально способны вызывать гастроэнтериты и у здоровых людей.

Немаловажным является поиск методов ранней и надежной идентификации возбудителя инфекции в патологическом материале, пробах из объектов окружающей среды, пищевого сырья и пищевых продуктов. До настоящего времени в России единственным нормативным документом по методам определения аэромонад в различных видах исследуемого материала являются Методические рекомендации «Методы исследований объектов окружающей среды и патологического материала на аэромонады», разработанные в Московском научно-исследовательском институте гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана в 1980 году.

Пробы воды и их разведения высевают по 0,5 мл в жидкую среду накопления, в состав которой входят: сульфат магния, K_2HPO_4 , желатин, крахмал (среда А-1). Через 24 ч инкубирования посевов в термостате при температуре 30°C производят пересев на плотную дифференциально-элективную среду, в состав которой кроме перечисленных компонентов (среда А-1) входят: водный раствор кристаллического фиолетового и трифенилтетрахлорид (среда А-2). Посевы на плотной элективной среде инкубируют в термостате при температуре 28-30°C в течение 42-48 ч. Характеристика колоний аэромонад на плотной дифференциально-элективной среде (среда А-2): крупные с вишневым центром и узким бесцветным ободком. Среды А-1 и А-2 являются многокомпонентными, требуют дополнительных затрат на приобретение ряда дорогих химических реактивов и ингредиентов.[1]

В научно-исследовательском инновационном центре микробиологии и биотехнологии УГСХА, в том числе в лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ была разработана среда накопления (УГСХА – 1А.н.), и плотная дифференциально-диагностическая среда для выделения и идентификации аэромонад (УГСХА-2 А.н.).

Среда накопления и обогащения имеет следующий состав: вода дистиллированная – 1000 мл, дрожжевой экстракт – 4,0г, мальтоза – 3,5г, K_2HPO_4 – 2,0г, $MgSO_4$ – 5,0г, желатин – 50,0г, конго-рот – 3,0г, кристаллический фиолетовый –

0,1г. Способ приготовления: дрожжевой экстракт вносили в холодную воду 1000 мл, после чего ее нагревали. Затем последовательно добавили калий фосфорнокислый двузамещенный и магния сульфат, мальтозу, конго-рот (в виде 0,3% водного раствора) и кристаллический фиолетовый (в виде 0,01% водного раствора). Кипятили 2-3 минуты, при постоянном помешивании. В бульон внести желатин и оставить для набухания на 1 час, затем подогреть в водяной бане при 40 – 50⁰С до полного расплавления желатина. После этого горячую среду фильтровали через ватно-марлевый фильтр и разлили в стерильные пробирки по 5 мл. Стерилизовать при 110⁰С 30 минут.[2]

Питательной основой этой среды является дрожжевой экстракт и мальтоза (по 4,0 г и 3,5 г соответственно). Хорошей минеральной базой оптимального состава для бактерий является набор солей фосфата калия двузамещенного (K₂HPO₄) 2,0 г и семиводного сульфата магния (MgSO₄) 5,0 г. Соли калия, магния и фосфора стимулируют синтез микробной клетки, а для образования бактериальных белков необходимы анионы, содержащие серу. Для уплотнения среды, а также во избежание выпадения элективного агента в осадок и равномерного распространения его во всей среде добавляется желатин (5%), кроме того желатин является растворимым белком. Бактерии *Aeromonas caviae* обладают протеолитической активностью и способны разжижать желатин, что можно использовать в качестве дифференциации. Красители выступают в качестве селективного агента.

После процедуры накопления и обогащения бактерии пересевает с жидких сред на плотные питательные среды, для изучения морфологических, культуральных, биохимических и антигенных свойств, по совокупности которых определяется видовая принадлежность исследуемого микроорганизма. Прототипом плотной селективной среды послужила среда накопления УГСХА-1А.н., к которой был добавлен агар-агар в количестве 15 г. на 1000 мл. дистиллированной воды. Цвет среды красно-коричневый.[2]

С помощью предложенной схемы выделения и идентификации аэромонад на базе кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской ГСХА были проведены исследования по изучению распространения бактерий вида *Aeromonas caviae*.

Материалом для исследования послужили пробы воды из открытых водоемов Ульяновской области. При обнаружении аэромонад исследовалась водопроводная вода, а также канализационные и сточные воды на территории Ульяновска. Известно, что бактерии рода *Aeromonas* являются достаточно частой причиной возникновения острых кишечных заболеваний (ОКЗ), особенно у детей в возрасте до 1 года. Связи с этим, из Детской инфекционной больницы г. Ульяновска нам были предоставлены пробы фекалий, взятых у детей с диарейным синдромом.

Из открытых водоемов было взято 69 проб воды, из водопроводной воды – 6 проб, из сточных и канализационных – 7 проб. Кроме того, проводилось исследование 13 проб детских фекалий на контаминацию бактерий вида *A.caviae*. Пробы воды по 1 мл и пробы детских фекалий по 1 г засеивали в жидкую накопительную среду УГСХА-1А.н., культивировали в течение 24 часов при температуре 37С. По истечении времени наблюдали помутнение среды и разжижение желатина.

Затем со среды накопления пересевали культуру на плотную селективную среду УГСХА-2А.н., культивировали в термостате при 37С в течение суток. На плотной селективной среде отмечается рост округлых, выпуклых, светло- бежевых, блестящих колоний до 1 мм в диаметре.

Таблица 1

Результаты биохимических тестов

Тесты	Штаммы										A. caviae	A. hydrophyla	A. veronii	
	6(в.с)	K2/3(в)	5(в.п)	6(в.п)	П26	П27	П28	П29	П52(в)	П53				
Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Желатин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Грамм-тест	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ферментация:														
глюкозы	+g ⁻	+g ⁻	+g ⁺	+g ⁻	+g ⁻	+g ⁻	+g ⁺	+g ⁺	+g ⁺					
лактозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	В (87)	В (67)	В (10)
сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
маннит	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
сорбит	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	В(7)	-	-
дульцит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
арабиноза	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
адонит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
манноза	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	В (31)	+	+
Фогес-Проскауэ	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Проба метиловым красным	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Образование индола	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Образование H ₂ S	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Тест Хью-Лейвсона:														
глюкоза	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
арабиноза	F	F	F	F	F	F	F	-	F	F	F	F	F	-
Ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Инулин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лизиндекарбоксил аза	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	В (55)	В (57)	В (57)
Аргининдегидрол аза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	В (31)	-	-
Использование цитрата (среда Симмонса)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	В (97)

+-положительная реакция

- отрицательная реакция

F-расщепление углеводов ферментацией

В - возможно положительная реакция

(31) - % положительно реагирующих штаммов бактерий

Выделенные бактерии идентифицировали с помощью окраски по Грамму с последующей микроскопии, тестов на оксидазу, каталазу, образования индола и сероводорода, ферментации углеводов, OF-тест, пробы с метиловым синим, реакции Фогес-Проскауэ, использования цитрата на среде Симмонса, наличия аргининдегидролазы, лизиндекарбоксилазы и орнитиндекарбоксилазы.

Внутривидовая идентификация интересующей нас бактерии подтвердилось путем проведения ряд биохимических тестов.

Таким образом, можно сделать вывод, что при исследовании проб воды из открытых водоемов, сточных и канализационных вод, а также детских фекалий наблюдается контаминация бактерий рода *Aeromonas*.

Таблица 2

Результаты исследования проб воды открытых водоёмов, водопроводной воды, сточных и канализационных вод, а также детских фекалий на контаминацию бактерий вида *Aeromonas*

№ п/п	Название и количество проб	Контаминация бактериями (количество выделенных штаммов)		
		<i>A.caviae</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.veronii</i>
1	Вода из открытых водоёмов (69 проб)	+ (2 штамма)	+(5 штаммов)	+(1 штамм)
2	Сточные и канализационные воды (7 проб)	+ (1 штамм)	-	-
3	Водопроводная вода (6 проб)	-	-	-
4	Детские фекалии (13 проб)	+(1 штамм)	-	-

«+» случаи контаминации

«-» отсутствовала контаминация

Как видно из таблицы 2, из открытых водоемов Ульяновской области было выделено 2 штамма бактерий вида *A.caviae*, 5 штаммов бактерий вида *A.hydrophila*, 1 штамм бактерий вида *A.veronii*; из канализационных и сточных вод - 1 штамм бактерий вида *A.caviae*; из детских фекалий-1 штамм бактерий вида *A.caviae*. Из водопроводной воды выделить изучаемые бактерии не удалось.

Следовательно, медицинским работникам необходимо обратить свое внимание на контаминацию бактерий вида *A.caviae* в патологическом материале, пробах из объектов окружающей среды, пищевого сырья и пищевых продуктов. Поскольку, обладая факультативными патогенными свойствами, бактерии вида *A.caviae* (как и другие представители данного рода) потенциально могут стать причиной возникновения острых кишечных заболеваний у людей с ослабленным иммунитетом.

Литература

1. Т.И. Канаева, Д.А. Васильев, М.А.Столярова, И.Р.Насибуллин. Выделение и идентификация бактерий вида *Aeromonas hydrophila*. Материалы Международной научно – практической конференции «Биотехнология, вода и пищевые продукты». М.,2008.-с.124-125.
2. Т.И.Канаева, Д.В.Васильев. Разработка селективных сред и бактериологической схемы диагностики бактерий *Aeromonas hydrophila*, вызывающих аэромоноз рыб. Современное состояние и перспективы исследований по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел. //Материалы международной научно-практической конференции. М., 2008.- с.378-382.
3. Коровёнкова О.В. Анализ распространения бактерий вида *Aeromonas caviae*. / Васильев Д.А., Канаева Т.И., Коровёнкова О.В. //Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и

- образования», посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. Ульяновск, ГСХА, 2009, т.4, 134-139с.
4. Abrutyn, E. 1988. Hospital-associated infection from leeches. *Ann. Intern. Med.* 109:356-358.
 5. Altwegg, M. 1989. *Aeromonas* as a human pathogen. *Crit. Rev. Microbiol.* 16:253-286.
 6. Altwegg, M., A. G. Steigerwalt, R. Altwegg-Bissig, J. Luthy-Hottenstein, and D. J. Brenner. 1990. Biochemical identification of *Aeromonas* genospecies isolated from humans. *J. Clin. Microbiol.* 28:258-264.
 7. Brook, I., J. Rogers, D. M. Rollins, J. C. Coolbaugh, and R. I. Walker. 1985. Pathogenicity of *Aeromonas*. *J. Infect.* 10:32-37.
 8. Hickman-Brenner, F. W., G. R. Fanning, M. J. Arduino, D. J. Brenner, and J. J. Farmer III. 1988. *Aeromonas schubertii*, a new mannitol-negative species found in human clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 26:1561-1564.
 9. Hickman-Brenner, F. W., K. L. MacDonald, A. G. Steigerwalt, G. R. Fanning, D. J. Brenner, and J. J. Farmer III. 1987. *Aeromonas veronii*, a new ornithine decarboxylase-positive species that may cause diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 25:900-906.
 10. Honma, Y., and N. Nakasone. 1990. Pili of *Aeromonas hydrophila*: purification, characterization, and biological role. *Microbiol. Immunol.* 34:83-98.
 11. Janda, J. M., and R. Brenden. 1987. Importance of *Aeromonas sobria* in *Aeromonas* bacteremia. *J. Infect. Dis.* 155:589-591.
 12. Janda, J. M., and P. S. Duffey. 1988. Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification, and infectious disease spectrum. *Rev. Infect. Dis.* 10:980-997.
 13. Khardori, J., and V. Fainstein. 1988. *Aeromonas* and *Plesiomonas* as etiological agents. *Annu. Rev. Microbiol.* 42:395-419.

УДК 619:579

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ «ТЕОТРОПИНА» НА БАКТЕРИИ *BACILLUS MESENERICUS*
STUDYING OF INFLUENCE «TEOTROPINA» ON A BACTERIUM *BACILLUS*
MESENERICUS

Н.Х. Курьянова, Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина, Д.А. Васильев
N.H. Kurjanova, N.A. Feoktistova, M.A. Udina, D.A. Vasiliev

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

*In article results of researches on influence of a disinfectant «Teotropina» on a bacterium *Bacillus mesentericus* are described.*

Чрезвычайно актуальна в настоящий момент проблема контаминации пищевого сырья и продуктов питания патогенными бациллами, в том числе и *Bacillus mesentericus*. На этапах технологического процесса производства продуктов питания происходит обсеменение сырья, полуфабрикатов и готовых продовольственных товаров бациллами из воздуха цеха, с инвентаря, рук работников. Бациллы – это почвенные микроорганизмы, имеющие плотную оболочку, не разрушаемую ни воздействием высоких и низких температур, ни применением в качестве консервантов для сохранения продуктов питания, высоких концентраций соли и