

УДК 619:578.832.1

**БАКТЕРИОФАГИ *AEROMONAS HYDROPHILA*  
BACTERIOPHAGES OF *AEROMONAS HYDROPHILA***

**И.Р. Насибуллин, Т.И. Канаева, Д.А. Васильев  
I.R. Nasibullin, T.I. Kanaeva, 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**

*Bacteria of sort Aeromonas are activators of various infectious diseases. The offered method фагодиагностики is simple and effective for identification and indication of the given bacteria.*

Интерес к бактериям рода *Aeromonas* возрос в связи с этиологическим значением этих микроорганизмов в инфекционных заболеваниях человека и животных. Бактерии рода *Aeromonas* являются возбудителями диарейных заболеваний и представляют серьезную проблему для многих стран Азии, Европы и Америки, в которых аэромонадная инфекция составляет от 1 до 10% острых кишечных заболеваний у взрослых, и до 50% у детей (3). Обладая психрофильными свойствами, бактерии *Aeromonas* способны сохраняться, размножаться и вызывать порчу замороженных продуктов. Род *Aeromonas* широко распространен в окружающей среде: их выделяют из речной и морской воды, сточных вод, почвы, от гидробионтов, растений и теплокровных животных. Бактерии *Aeromonas* хорошо растут при 20-30 °С, рН 7,0 на простых питательных средах. Хорошо переносят низкие температуры (5). Целенаправленного поиска *Aeromonas* в объектах ветеринарно-санитарного надзора в нашей стране не проводится, так как наличие этих микроорганизмов не регламентируется действующими нормативными документами. Существующие методические разработки НИИ гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана мало известны и являются дорогостоящими, трудоемкими и длительными (3). Предлагаемый нами метод фагодиагностики является менее трудоемким и более доступным для лаборатории любого уровня. В нашей стране отсутствуют стандартные наборы специфических бактериофагов *Aeromonas* (1), поэтому целью наших исследований является выделение активных фагоизолятов, лизирующих бактерии *Aeromonas hydrophila*, изучение их биологических свойств и создание на их основе диагностического биопрепарата, для идентификации и индикации с помощью РНФ (4) бактерий рода *Aeromonas* в объектах ветеринарно-санитарного надзора.

Материалы: в работе использованы 8 штаммов *Aeromonas hydrophila*. В качестве питательных сред использовали МПБ; 1,5% МПА с 1% водным раствором генцианвиолета; 0,3% и 0,7% МПА. Бактерии рода *Aeromonas* культивировали в термостате при 27-30° С в течении 18-24 часов на МПБ. Для выделения фагов использовались сточные воды животноводческих помещений Ульяновской области, больниц г. Ульяновска, вода озер и рек Ульяновской области. Фаги выделяли методом агаровых слоев по Грация с предварительным центрифугированием 40 минут 3000 об/мин и фильтрованием через 0,45µm фильтр на установке вакуумной фильтрации фирмы «Миллипор».

Выделение и изучение биологических свойств фагов проводили по общепринятым методикам (2).

В результате исследований нами выделено и селекционировано 2 штамма фагов бактерий *Aeromonas hydrophila*. На индикаторных штаммах *Aeromonas hydrophila*, выделенные штаммы фагов образуют круглые, прозрачные колонии

диаметром 0,5 - 1 мм и отсутствием зон неполного лизиса. Литическая активность выделенных фагов по методу Грация от  $9 \times 10^6$  до  $2 \times 10^7$ , а по методу Аппельмана от  $10^{-5}$  до  $10^{-7}$ . Для определения спектра литического действия бактериофагов использовали 8 штаммов *Aeromonas hydrophila*. Установлено, что фаги проявили литическое действие в отношении 80% всех исследованных культур. Обработка хлороформом в соотношении 1:10 в течение 15 минут полностью инактивировали фаги. Обработка фагов температурой 58°C - 60°C в течении 30 минут приводит к их полной гибели.

С целью конструирования диагностикума в дальнейшем необходимо более детально изучить биологические свойства выделенных фагов.

#### Литература

1. Адамс М. Бактериофаги. – М, 1961. – с.521.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – с.297.
3. Канаева Т.И., Васильев Д.А. Разработка бактериологической схемы диагностики аэромоназа рыб // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных: Труды Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию ВНИИВВиМ, 2-5 декабря 2008. – Покров, 2008. – С.111-114.
4. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: «Урожай», 1978. – с.160. с.86
5. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Ф. //Определитель зоопатогенных микроорганизмов. Справочник – М., 1995.- с.227.

УДК 619:578.832.1

#### **РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ВЫЯВЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО УЧАСТКА ДНК ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE С ПОМОЩЬЮ ПЦР В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» DEVELOP A METHODOLOGY TO IDENTIFY SPECIFIC DNA SEQUENCE ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE BY PCR IN "REAL TIME"**

**А.С. Разорвина, А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, Н.И. Молофеева, Е.Г. Логинова  
A.S. Razorvina, A.V. Mastilenko, D.A. Vasilyev, N.I. Molofeeva, E.G. Loginova**

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

*The aim of this work was the development of specific primers for DNA *Ornithobacterium rhinotracheale*, the creation and validation of a PCR protocol.*

Целью настоящей работы была разработка специфических праймеров к ДНК *Ornithobacterium rhinotracheale*, создание и апробация ПЦР-протокола.

Для анализа нуклеотидного состава ДНК *Ornithobacterium rhinotracheale* были использованы базы данных GeneBank и Afsa. Для поиска уникальных последовательностей специфического гена были использованы ресурсы GeneBank – on-line Blast.

Для подбора праймеров были использованы программы Gene Runner Version 3.05 и Primer Blast (ресурсы GeneBank).

Для проведения амплификации был использован детектирующий термоциклер «ДТ-322» производства ООО «ДНК-Технология», г.Москва,