

3. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических био-препаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий / С.Н. Золотухин // Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - Ульяновск, 2007. – 39 с.

4. Ковалева, Е.Н. Диапазон литического действия и специфичность бактериофагов *Enterococcus faecalis* / Е.Н. Ковалева, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – Москва, 2009. – Приложение 1. – Т. 11, № 2. – С.19.

5. Покровский В.И. Медицинская микробиология. / В.И. Покровский, О.К. Поздеев – М.: Медицина. – 1999. – С. 389 – 393.

6. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: Урожай. – 1978. – С. 41-88.

## SPECTRUM LYSIS BACTERIOPHAGES PROVIDENCIA

NG Barth, SN Zolotukhin, DA Vasiliev

**Keywords:** *Bacteriophages, bacteria of the genus Providencia, lytic activity, breeding, passaging of the spectrum.*

*Paper is to define the spectrum of lytic activity of bacteriophages Providencia. Using the method of applying drops of bacteriophages on the lawn culture under study authors found that the phages studied had a different range of political activity, from 10-5 to 10-10 on Appelmanu and from 108 to 109 by Grazia.*

УДК 619:578.832.1

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД В РАЗРАБОТКЕ МЕТОДА ИДЕНТИФИКАЦИИ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

Ю.Б. Васильева, кандидат ветеринарных наук, доцент  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, [ekaterinasema@mail.ru](mailto:ekaterinasema@mail.ru)

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, [dav\\_ul@mail.ru](mailto:dav_ul@mail.ru)

Е.Н. Семанина, ассистент кафедры микробиологии,  
вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, [ekaterinasema@mail.ru](mailto:ekaterinasema@mail.ru)

Е.Г. Семанин, ассистент кафедры микробиологии,  
вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ

**Ключевые слова:** фагоидентификация, *Bordetella bronchiseptica*, бордетеллез, бактериофаги

Предложена схема ускоренной идентификации *Bordetella bronchiseptica* с помощью индикаторных фагов *V.br.-1* УГСХА и *V.br.-7* УГСХА. Чувствительность культуры к указанным индикаторным фагам служит основанием для дифференциации исследуемой культуры как вида *B.bronchiseptica*. Срок исследования при этом составляет 66 часов.

### **Введение**

В настоящее время используют бактериологический метод выделения и идентификации бактерий *Bordetella bronchiseptica* (***B.bronchiseptica***), основанный на определении биохимических свойств выделенной культуры [3]. Сложность выделения *B.bronchiseptica* из внешней среды и от клинически больных животных стандартными бактериологическими методами обуславливает целесообразность разработки иных методов диагностики бордетеллеза [4].

Одним из актуальных диагностических методов является идентификация бактерий специфичными бактериофагами.

Фаговые тесты позволяют дифференцировать близкородственные штаммы [1-7]. Фагодиагностика основана на специфической способности фагов взаимодействовать с определенными видами (идентификация) или типами (фаготипирование) бактерий, в результате чего происходит их лизис. Феномен лизиса является основой для использования фага в диагностических целях. Метод фагодиагностики широко используется в лабораторной практике для идентификации различных видов микроорганизмов [1-7].

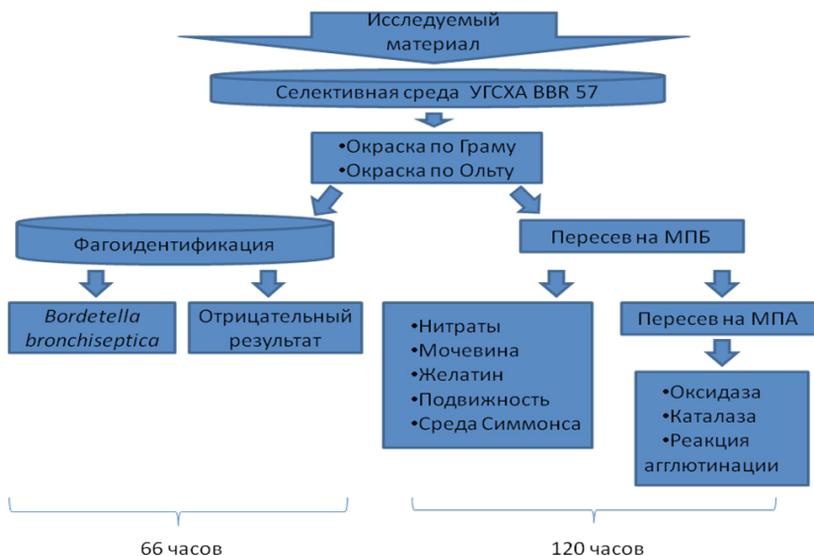
### **Материалы и методы**

Работа была выполнена в научно-исследовательском инновационном центре микробиологии и биотехнологии Ульяновской ГСХА. Для опыта были использованы 5 референс-штаммов *Bordetella bronchiseptica* из коллекции музея НИИЦМиБ Ульяновской УГСХА (№ 1, 7, 214, 22067, 8344), штаммы бактериофагов ***V.br.-1* УГСХА**, ***V.br.-7* УГСХА**, выделенные нами методом индукции.

Для бактериологической дифференциации ***B.bronchiseptica*** предложены следующие тесты, необходимость которых обоснована результатами наших исследований: тест на оксидазу, каталазу, желатиназу, нитраты, мочевины, подвижность, реакцию агглютинации, окраску по Граму, окраску по Ольту, среда Симмонса, селективная среда УГСХА BBR 57.

### **Результаты и их обсуждение**

Ход исследования бактериологическим методом и методом фагоидентификации представлен на схеме.



Фагоидентификация заключалась в следующем: на поверхность МПА в чашках Петри пипеткой наносили 3 - 4 капли бульонной 18 часовой культуры исследуемых микроорганизмов. Нанесённую культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки Петри ставили в термостат для подслушивания на 15-20 минут. Агар в чашке Петри делили на три сектора. На поверхность засеянной среды пастеровской пипеткой на два сектора наносили по штамму фагов V.br.-1 УГСХА и V.br.-7 УГСХА, на третий сектор в качестве контроля наносили стерильный МПБ, наклоняли чашку Петри, чтобы капли стекли.

Чашки Петри подслушивали в боксе в течение 15-20 минут, затем культивировали в термостате при 37°C 12 часов.

Наличие зоны лизиса на сплошном газоне культуры, хотя бы одного из фагов, указывало на принадлежность исследуемого штамма к V.bronchiseptica. Отрицательным считали результат при отсутствии лизиса на газоне культуры.

### Выводы

Фагоидентификация V.bronchiseptica с помощью индикаторных бактериофагов V.br.-1 УГСХА и V.br.-7 УГСХА занимает 66 часов, бактериологический метод - 120 часов. Метод фагоидентификации возбудителя экономичнее, так как на его проведение затрачивается меньшее количество лабораторной посуды, сред и реактивов. Также методика фагодиагностики бордетеллёза является высоко специфичной.

### Библиографический список

1. Адамс М. Бактериофаги // - М.: Медгиз – 1961. 521 с.
2. Равилов А.З. Микробиологические среды. / А.З. Равилов, Р.Я. Гильмутдинов, М.Ш. Хусаинов // Казань: Фэн, 1999. – 398 с.

14. Васильев Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных // Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева Ю.Б. / Естественные и технические науки. – 2010. - № 5 – С. 233-235.
4. Катмакова Н.П. Разработка и применение диагностического биопрепарата «УР – 09 УГСХА» на основе бактериофагов *Yersinia pseudotuberculosis* / Н.П. Катмакова // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ульяновск, 2010 – 24 с.
5. Monack D.M., Falkow S. Cloning of *Bordetella bronchiseptica* urease genes and analysis of colonisation by a urease-negative mutant strain in a guinea-pig model // *Mol. Microbiol.* – 1993. – N 10. P. 545–553.
6. Goodnow R.A. Biology of *Bordetella bronchiseptica* // *Microbiological Reviews*, Dec. – 1980, p.722-738.
7. Bemis D.A., Greisen H.A., Appel M.J. Bacteriological variation among *Bordetella bronchiseptica* isolates from dogs and other species // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – N 5. – P. 471-480.

## IDENTIFICATION BORDETELLA BRONCHISEPTICA WITH SPECIFIC BACTERIOPHAGES

*Vasilyev D.A., Vasilieva Y.B., Semanina E.N., Semanin E.G.*

**Key words:** *fagoidentifikatsiya, Bordetella bronchiseptica, bordetellez, bacteriophages*

*A scheme for the accelerated identification Bordetella bronchiseptica using indicator phages B.br. - 1 UGSKHA and B.br. - 7 UGSKHA. Cultural sensitivity to these phages indicator (the phenomenon of lysis) is the basis for the differentiation of culture as a form of B.bronchiseptica. Term studies with a decrease from 120 to 66 hours with minimum media and glassware.*

УДК 619:578.832.1

## ИНДИКАЦИЯ BORDETELLA BRONCHISEPTICA ИЗ ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ И КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, dav\_ul@mail.ru*

*Ю.Б. Васильева, кандидат ветеринарных наук, доцент  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, ekaterinasema@mail.ru*

*Е.Н. Семанина, ассистент кафедры микробиологии,  
вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ*

*ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»  
тел. 8(8422) 55-95-47, ekaterinasema@mail.ru*