

- Flavobacterium hydatis. /Bernardet J.F Segers P., Vancanneyt M., et al.// Int J Syst Bacteriol-1996.- 46:128-48.
4. Naoyuki Misaka1. Quantitative Detection of Viable *Flavobacterium psychrophilum* in Chum Salmon *Oncorhynchus keta* by Colony Blotting and Immunostaining. / Naoyuki Misaka1, Toyohiko Nishizawa and Mamoru Yoshimizu.// Fish Pathology-2008- 43 (3), 117–123,.
 5. Б.Б. Намсараев. Экология микроорганизмов экстремальных водных систем: учеб. пособие / Б.Б. Намсараев, Е.Ю. Аби-дугева, Е.В. Лаврентьева и др. – Улан-Удэ: Издательство Бурятского государственного университета, 2008. – 94 с.
 6. Alvarez B. Development of genetic techniques for the psychrotrophic fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. / Alvarez B, Secades P, McBride MJ, Guijarro JA// Appl Env Microbiol 2004, 70:581-587.

BIOCHEMICAL PROPERTIES OF *FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM*.

Vorotnikov.A.P.

Keywords: *Flavobacterium psychrophilum*, biochemical properties, urea, lactose.

This paper studies the biochemical properties of the bacterium *Flavobacterium psychrophilum*. During study researches it was established that these bacteria utilize urea and lactose.

УДК 579.62

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РНФ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ *ESCHERICHIA COLI* O157 В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Воротников. А.П., 3 курс факультета ветеринарной медицины
Научный руководитель: к.б.н., доцент Молофеева Н.И.
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: *E.coli* O157, бактериофаги, БОЕ, РНФ.

Работа посвящена исследованию нового способа обнаружения *E.coli* O157 в продуктах питания (в том числе в мясе). Данный метод подходит для исследования воды на зараженность кишечной палочкой.

При проведении исследований было установлено, что РНФ способна указать на наличие патогена при его концентрации от 10^3 м.к./г.

Введение

Согласно литературным данным, заражение людей *E.coli* O157 происходит чаще всего при употреблении пищевых продуктов, поэтому разработка методов выявления вышеуказанных микроорганизмов в мясе и в других продуктах питания имеет актуальное значение [5, 8].

Исследование проб мяса искусственно контаминированного эшерихиями с помощью РНФ

Кусочки свинины массой 5-10 г растирали в стерильной фарфоровой

ступке и вносили в колбы объемом 100 мл, заливали стерильным МПБ из расчета 10 мл бульона на 1 г. В опытные колбы вносили индикаторную культуру *E.coli* O157 штамм РЛ и №51659 в концентрации 10^5 10^4 ; 10^3 ; 10^2 ; 10^1 м.к./мл и брали колбы с пробой мяса не контаминированного бактериями *E.coli* O157.

Содержимое колб встряхивали в шуттель-аппарате с последующим отстаиванием взвеси в течение 10 минут. Приготавливали для опытной и контрольной проб по 6 широких пробирок (диаметр 20 мм) и нумеровали их (1, 2, 3 и соответственно 1к, 2к и 3к – для каждого разведения культуры). В пробирки № 1, 2 и 1к, 2к вносили по 9 мл исследуемой взвеси мяса, в пробирки № 3 и 3к – 9 мл стерильного МПБ. Затем в пробирки №1, 3 и 1к и 3к добавляли 1 мл индикаторного фага в рабочем разведении, а в пробирки №2 и 2 к вносили по 1 мл МПБ (контроль на присутствие свободного фага).

Рабочее разведение фага должно содержать 1×10^4 БОЕ в 1 мл. При титре фага, равном 2×10^8 БОЕ в 1 мл, фаг разводили 1:10000, при титре фага, равном $1-2 \times 10^9$ БОЕ в 1 мл – 1:100000.

Пробирки №1 и 1к, в которых находились взвеси мяса и индикаторный фаг, являлись опытными. Пробирки №2 и 2к – без фага были контрольными для выявления в пробах мяса свободного фага. Пробирки №3 и 3к – контроль на титр индикаторного фага.

После культивирования при температуре 37°C содержимое каждой пробирки разводили МПБ (рН 7,4-7,6) так, чтобы при высеве 1 мл содержимого из пробирки №3 и 3к (контроль на титр фага) на чашках образовалось несколько десятков негативных колоний (зон лизиса) фага. В пробирке № 3 и 3к индикаторный фаг находился в концентрации нескольких тысяч БОЕ в 1 мл, и для того, чтобы получить в конечном разведении несколько десятков БОЕ в 1 мл, содержимое пробирки № 3 разводили в 20 раз, т.е. 0,25 мл исследуемой смеси вносили в 4,5 мл МПБ. Содержимое опытных пробирок № 1,1 и №2, 2 к разводили аналогично [1, 2, 3, 4].

Ввиду того, что селекционированные нами фаги являются термостабильными, то инактивацию микрофлоры разведенных смесей пробирок №1 и 1к, № 2 и 2к, № 3 и 3к мы проводили путем прогревания в водяной бане при температуре 58-60°C в течение 30 минут. После этого содержимое пробирок исследовали на количество БОЕ бактериофага методом агаровых слоев по Грациа.

Для исследования методом агаровых слоев использовали МПА, содержащий 1,5%; 0,7% агара. 1,5% мясопептонный агар разливали в чашки по 25–30 мл. Чашки подсушивали в термостате в течение 2–3 часов.

Индикаторные культуры эшерихий выращивали в МПБ в течение 18 часов. МПА с 0,7%-ным содержанием агара заготавливали заранее в пробирках по 2,5 мл, расплавляли, охлаждали до температуры 46-48°C. В пробирку вносили 0,2 мл бульонной культуры и 1 мл разведенной и прогретой исследуемой смеси, перемешивали и выливали вторым слоем на чашки с 1,5%-ным МПА. Через 20-30 минут после застывания верхнего слоя агара чашки помещали в термостат на 12-16 часов.

Из данных таблицы 1 можно сделать вывод, что увеличение титра фагов E-61 УГСХА и E-67 УГСХА более чем в 5 раз произошло уже при концентрации 10^3 микробных клеток эшерихий в 1 г мяса.

При исследовании контаминированного эшерихиями МПБ, водопроводной воды, мяса, были получены схожие результаты: положительная РНФ была при минимальной концентрации эшерихий в материале 10^3 м.к./г.

При концентрации бактерий 10^1 м.к./г исследуемого материала увеличение количества БОЕ было в пределах; 1,1 и 1,4 раз – при исследовании мяса (отрицательная реакция); 1,1 и 1,5 раз (отрицательная реакция) – при исследовании воды.

Изменение концентрации микроорганизмов до 10^2 м.к./г увеличивало количество БОЕ фагов в 1,3 и 1,6 раза – при исследовании мяса (отрицательная реакция); 1,3 и 1,7 раз (отрицательная реакция) – при исследовании воды.

Выводы

Таким образом, результаты проведенной серии опытов свидетельствуют о положительной РНФ при концентрации эшерихий 10^3 м.к./г и более как в МПБ так и в воде и мясе.

Библиографический список

1. Васильев Д.А. Детекция *Aeromonas hydrophila* в пищевой продукции из гидробионтов с применением биосенсоров на основе гомологичных бактериофагов / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, И.Р. Насибуллин, С.Н. Золотухин, А.А. Нафеев, И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Н.Г. Барт // *Фундаментальные исследования*. – Пенза: Издательский Дом "Академия Естествознания", 2014. – № 5. – Ч. 1. – С. 50-54.
2. Васильев Д.А. Разработка методов фагоидентификации и фагодетекции бактерий *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Т.А. Гринева, Е.А. Ляшенко // *Фундаментальные исследования*. – Пенза: Издательский Дом "Академия Естествознания", 2014. – № 5. – Ч. 1. – С. 55-58.
3. Викторов Д.А. Индикация бактерий *Pseudomonas fluorescens* методом реакции нарастания титра фага / Д.А. Викторов, Д.А. Васильев, А.М. Артамонов // *Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013*. – Т. 1. – Ульяновск, 2013. – С. 159-162.
4. Насибуллин И.Р. Применение реакции нарастания титра фага для индикации аэромонад в рыбной продукции / И.Р. Насибуллин, И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев, А.А. Нафеев // *Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013*. – Т. 2. – Ульяновск, 2013. – С. 158-161.
5. *Escherichia coli O157:H7*. CDC Division of Bacterial and Mycotic Diseases.
6. Feng P, Weagant S, Grant, M. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological Analytical Manual FDA/Center for Food Safety & Applied Nutrition*
7. Chalmers, R.M.; H. Aird, F.J. Bolton (2000). «*Waterborne Escherichia coli O157*». *Society for Applied Microbiology Symposium Series (29)*: 124S–132S
8. http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%F0%E5%F7%ED%E0%FF_%EF%E0%EB%EE%F7%EA%E0

USING REACTION RISE TITER BACTERIOPHAGE FOR DETECTING *ESCHERICHIA COLI* O157 IN FOODS

Vorotnikov A.P., Molofeeva N.I.

Keywords: *E.coli* O157, bacteriophages, PFU.

The paper studies a new method for detecting *E.coli* O157 in food and privately in the meat. Also, this method is suitable for research of water contamination with *Escherichia coli*.

During study researches it was established that RNF able indicate the presence of a pathogen, even if it is present at a concentration of 10^3 МК / g.

УДК 619:579

ИССЛЕДОВАНИЕ СРЕДСТВ ЛИЧНОЙ ГИГИЕНЫ СОДЕРЖАЩИЕ БАКТЕРИОФАГИ

Гановичева Е.П., Низамова Р.Р., Насибуллина Д.М., Ибрагимова Р.Р.,
Галушко И.С., 4 курс факультета ветеринарной медицины
Научный руководитель: к.б.н., ст.преподаватель Барт Н.Г.
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: бактериофаги, бактерии, вирусы, патогенный, специфичность.

Работа посвящена применению бактериофагов в косметологии. Исследованию бактериофагов применяемых при производстве косметики «Сенгара» на специфичность.

В 1896 году английский бактериолог Эрнест Ханкин обнаружил, что вода в индийских реках Ганг и Джамна обладает антибактериальной активностью, и предположил, что в этой воде содержится некая субстанция, не допускающая распространения эпидемии холеры. Первым явление разрушения палочки сибирской язвы наблюдал русский микробиолог Н. Ф. Гамалея в 1898 году. А в 1917 году ученый из института Пастера Феликс Д'Эрель сообщил, что нашел «невидимого микроба», поражающего дизентерийную палочку. Он и дал название «бактериофаг» («пожиратель бактерий») новому микроорганизму. Позднее Д'Эрель описал случай успешного лечения дизентерии с использованием бактериофагов, доказав, что они обеспечивают выздоровление больного организма, а затем и создают специфический иммунитет. Это привлекло к бактериофагам внимание многих исследователей, которые предполагали найти в них действенное средство борьбы с опасными инфекционными болезнями. Бактериофаг состоит из белковой оболочки и генетического материала – нуклеиновой кислоты (ДНК или, реже, РНК). Его размер составляет от 20 до 200 нм. Типичный фаг имеет головку и хвост, который обычно в 2–4 раза превышает диаметр головки. Бактериофаги – самая многочисленная и широко распространенная, а возможно, и наиболее древняя