

Разработанные биологические препараты позволяют осуществить раннюю и точную детекцию бактерий *Bordetella bronchiseptica*.

Т020 БАКТЕРИОФАГИ, АКТИВНЫЕ В ОТНОШЕНИИ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ, И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ЦЕЛЯХ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ

Д.А. Викторов, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев, И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Бактериальные инфекции рыб, в наибольшей степени аэромоназы и псевдомоназы, наносят ощутимый экономический ущерб интенсивно развивающейся аквакультуре. К экономическим потерям приводят повышенные уровни смертности рыбы, уменьшение темпов роста из-за инфекции и потеря товарного вида рыбы.

В настоящее время лечение бактериальных заболеваний рыб заключается в применении антибиотиков широкого спектра действия, высокомолекулярных соединений, содержащих йод, а также формалина. Для диагностики используются трудоемкие и продолжительные по времени схемы. Альтернативным диагностическим методом может стать применение бактериофагов, позволяющих надежно дифференцировать возбудителей бактериальных инфекций, а порой проводить детальную дифференциацию отдельных типов и вариантов внутри вида. Применение бактериофагов не ограничивается диагностикой, рассматриваются перспективы их применения как профилактических и лечебных средств.

В ходе проведенных исследований из объектов внешней среды были выделены бактериофаги, специфичные для бактерий *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*. Исследованы их основные биологические свойства: морфология негативных колоний, устойчивость к обработке хлороформом, температурная устойчивость, видовая и родовая специфичность, литическая активность.

Выделенные группой авторов бактериофаги F43-УГСХА, Ars25-УГСХА, Aer.sobr.3-УГСХА, Pf01F1-УГСХА, Pc55F-УГСХА, Psp10-УГСХА обладают широким спектром литического действия, относительно просты в получении в высоком титре, устойчивы к процедурам очистки от бактерий, и могут быть рассмотрены в качестве потенциальных компонентов при создании препарата для лечения и профилактики бактериальных заболеваний рыб, и использоваться для идентификации *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. sobria*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. putida* в объектах окружающей среды и при диагностики инфекций рыб.

Т021 ФАГОИНДИКАЦИЯ AEROMONAS HYDROPHILA

Д.А. Викторов, И.Р. Насибуллин, И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Бактерии *Aeromonas hydrophila* широко распространены в окружающей среде и известны как возбудители аэромоназа — инфекционного заболевания многих видов рыб и других гидробионтов. Аэромоназ встречается повсеместно и наносит значительный экономический ущерб рыбоводческим хозяйствам. Контаминированная аэромонадами рыбная

продукция представляет собой источник пищевых инфекций человека.

Индикация и идентификация аэромонад является трудоемким и длительным (до 120 ч) процессом. Типирование до рода *Aeromonas* требует применения сложных и дорогостоящих сред и проведения ряда узких тестов, что обуславливает недостоверность исследования. Внутривидовая идентификация из-за незначительных различий между видами сложна и может служить причиной ошибок.

В результате проведенных исследований из объектов окружающей среды (103 пробы воды из водоемов Ульяновской области) были выделены бактериофаги, активные в отношении бактерий *Aeromonas hydrophila*, исследованы их основные биологические свойства и разработан диагностический биопрепарат. На основе созданного биопрепарата предложен новый метод индикации *Aeromonas hydrophila* с применением реакции нарастания титра фага.

Препарат бактериофага F43-УГСХА обладает всеми необходимыми для проведения РНФ свойствами: титр бактериофага $2,0 \times 10^8$, спектр литической активности 86,7%, строгая специфичность по отношению к бактерии *A. hydrophila*.

Разработана схема постановки РНФ с использованием биопрепарата бактериофага F43-УГСХА, которая позволяет проводить индикацию *Aeromonas hydrophila* в различных объектах количестве от 10^3 м.к./мл в течение 24 ч. Реакция обладает высокой чувствительностью, специфичностью, не требует выделения чистой культуры возбудителя, дорогостоящего оборудования и материалов, методика достаточно проста.

Все перечисленное позволяет судить о высокой экономической эффективности метода РНФ в сравнении с существующими методами индикации аэромонад.

Т022 ЭКОЛОГИЯ ПИТАНИЯ — ЭТО ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

А.В. Витавская, Г.Н. Дудикова, Д.Б. Баймуханова, А.Ж. Рустемова, Ю.Г. Пронина

Алматинский технологический университет, Казахский НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности, г. Алматы, Республика Казахстан

Почвенные микроорганизмы *B. subtilis*, попадающие с земли на зерно, а затем в муку в споровой форме при соприкосновении с водой, т.е. на стадии приготовления теста, остаются в физиологически активном состоянии до зоны выпечки, когда при температуре 92–96°C они снова переходят из вегетативной формы в спору и ожидают благоприятного момента, когда можно снова дать рост и проявлять ферментативную активность.

Цель — выявить наличие продуктов жизнедеятельности молочнокислых бактерий в тесте, в том числе антибиотико-подобные вещества, подвергающиеся влиянию высоких температур.

В момент выхода горячего хлеба из печи посевы контрольных (без добавления закваски) и опытных проб (с добавлением закваски) выявили одинаковую картину — на чашках Петри дали рост колонии *B. subtilis* одинаковое количество. Однако, по мере хранения хлеба в провоцирующих условиях (температура 37°C, относительная влажность 85%), контрольный вариант заболел через 18 часов, а в опытном, куда добавляли 10% к массе муки высококислотной закваски мезофильных молочнокис-

лых бактерий, никаких признаков порчи хлеба не наблюдалось через 5 суток и более.

С целью проверки активности лактобацилл в хлебе после термической обработки водную вытяжку из биомассы исследуемого штамма прогревали при 96°C в течение 30 минут (продолжительность выпечки хлеба) в кипящей водяной бане, затем в течение 18–20 часов проводили экстракцию при температуре 8°C с последующим определением антибиотической активности методом лунок и биоавтографии. Контрольную вытяжку термической обработке не подвергали.

В итоге у 35 из 78 исследуемых штаммов продуцируемые ими лактоцины полностью инактивируются. Лишь у 18 штаммов, представленных в основном видами *L. fermentum*, *L. casei* и *L. delbrueckii*, антимикробная активность незначительно уменьшилась. Так что отдельные штаммы молочнокислых бактерий пшеничных заквасок продуцируют термоустойчивый антибиотик, сохраняющийся в хлебе после выпечки и предохраняющий хлеб от порчи.

Известно, что антибиотики, продуцируемые молочнокислыми бактериями, относятся к полипептидам. В процессе тестоведения антибиотическое вещество, влияя на гнилостную микрофлору теста, с другой стороны, испытывает действие экзопротеаз бактерий группы *B. subtilis*, вызывающих разрушение белкового вещества. При отборе сильных штаммов – антагонистов из молочнокислых бактерий пшеничных заквасок важно установить влияние протеолитических ферментов на антибиотическую активность исследуемых лактобацилл. Для этого отцентрифугованную биомассу бактерий растирали с песком и экстрагировали дистиллированной водой. Полученную водную вытяжку разливали на три равные части, в две из которых вносили раствор протеолитических ферментов, а третья была контрольной. В качестве бактериального протеолитического фермента использовали 0,005% водный раствор протосубтилина, а животного происхождения – пепсин, приготовленный в буферном растворе с pH 2,0. Антибиотическую активность проверяли методом лунок и нанесением вытяжек на хроматографическую бумагу с дальнейшим биопроявлением на агаре.

Результаты показали, что обработка протосубтилином заметно снижает, а в отдельных случаях полностью инактивирует антибиотик, более чем у половины штаммов лактобацилл. Пепсин практически не влияет на активность лактоцинов – лишь у отдельных штаммов отмечено незначительное снижение. Наибольшее количество штаммов, продуцирующих лактоцины, устойчивые к действию протеолитических ферментов, представлены видами *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. plantarum*, *L. lieihmannii*.

С целью выделения активных штаммов мы изучали антагонистические свойства молочнокислых бактерий к картофельной палочке, выделенных из пшеничных заквасок хлебозаводов г. Алматы. На основании проведенных исследований, нами для приготовления заквасок на питательной среде, состоящей из пшеничной муки первого сорта и воды, установлено, что при непрерывном культивировании в среде создается симбиотическая ассоциация штаммов молочнокислых бактерий – сильных антагонистов гнилостной микрофлоры муки – *L. fermentum*-27, *L. plantarum*-149, *L. brevis*-105 и *L. casei var alactosus*-139, испытанных и подтверж-

денных на отсутствие токсигенности в лаборатории дизентерии и прочих острых кишечных заболеваний НИИ эпидемиологии микробиологии и инфекционных болезней Министерства здравоохранения РК, обеспечивающих невосприимчивость к болезни и надлежащую экологию хлеба.

Наш биологический способ защиты хлеба, основанный на антагонизме заквасок молочнокислых бактерий к условно-патогенной микрофлоре включает схему непрерывно-поточного приготовления закваски из цельнозерновой пшеничной муки крупного помола и воды. Такие закваски можно использовать для приготовления пребиотических и пробиотических продуктов питания.

Например, зерновые виды хлеба «Метелка», «Идеал», «Элитный», «Хлеб для мужчин» мы относим к пребиотическим или функционального назначения, режимы выпечки указанных видов хлеба традиционные, т.е. молочнокислые бактерии, находящиеся в тесте при температуре 92–96 °C погибают, но продукты их жизнедеятельности остаются. Как правило, в таких видах хлеба мы предусматриваем содержание клетчатки в 10–15 раз более.

В пробиотических продуктах питания, благодаря холодной технологии, мы сохраняем молочнокислые бактерии в жизнедеятельном состоянии называя продукты с приставкой «био». В настоящее время мы пытаемся получить не только хлебные биопродукты, но и напитки, биосласти.

На выставках мы демонстрируем сухие пробиотические напитки например, «Овес пророщенный измельченный», «Малиновый звон», напиток «Антидиабет», биопастилу плодово-ягодную или «Кулага по-казахстански» и др. Указанные новые продукты питания богаты продуктами жизнедеятельности молочнокислых бактерий, витамином С, группы В, Е, пищевыми волокнами, комплексом ферментов, биофлавоноидами, глюкозой, фруктозой, инулином, кремнием и другими биологически активными веществами. Указанные продукты должны стать нормой ежедневных рационов для всего населения Республики Казахстан, как наиболее уязвимого в силу насыщенности экологического опасного статуса для здоровья, из-за многочисленных испытательных регионов, а также рудников, нефтедобывающих и других объектов.

Т023 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА

Б.И. Вишневецкий, О.А. Маничева

ФГБУС Пб НИИ фтизиопульмонологии Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

В современных дефинициях вирулентности возбудителей инфекций указано, что вирулентность определяется как относительная способность патогена преодолевать защитные барьеры макроорганизма. Поэтому вирулентность зависит как от свойств самого инфекционного агента, так и от чувствительности (восприимчивости) либо иммунологической резистентности организма-хозяина, экологической внешней средой для патогена. Это особенно актуально для туберкулеза, поскольку примат макроорганизма при этом заболевании не вызывает сомнений.

Для проявления вирулентных свойств МБТ наибольшее значение имеют два феномена – это адаптация возбудителя к условиям макроорганизма-хозя-