

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
Ульяновский государственный аграрный университет
имени П.А.Столыпина

Научно-исследовательский инновационный центр
микробиологии и биотехнологии

Кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

**Материалы
XIII-й Международной
студенческой научной конференции**

14-15 мая 2020 года

Ульяновск - 2020

УДК 570:619

Актуальные проблемы инфекционной патологии и битехнологии: Материалы XIII-й Международной студенческой научной конференции. 14-15 мая 2020 года. - Ульяновск, ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, 2020. - 354 с.

Редакционная коллегия:

Васильев Д.А. - доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ
Сульдина Е.В. - ассистент кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ, председатель Совета молодых ученых
Данько В.В. - технический редактор

Авторы опубликованных статей несут ответственность за патентную чистоту, достоверность и точность приведенных фактов, цитат, экономико-статистических данных, собственных имен, географических названий и прочих сведений, а также за разглашение данных, не подлежащих открытой публикации. Статьи приводятся в авторской редакции.

ISBN 978-5-6043484-3-7

© ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, 2020

УДК 619

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ *FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM*

*Морозова Е. А., студентка 4 курса факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии
Научные руководители: Молофеева Н.И., доцент,
кандидат биологических наук;
Мерчина С.В., доцент, кандидат биологических наук
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Flavobacterium psychrophilum*, биохимические свойства, пробирки, суточная культура.

*Статья посвящена изучению биохимических свойств бактерии вида *Flavobacterium psychrophilum*, вызывающий заболевание рыб.*

Flavobacterium psychrophilum обладает строго аэробным метаболизмом, но не способен использовать углеводы в качестве источника углерода и энергии. Вместо этого он полагается на пептиды для получения углерода и энергии. Скрытые протеазы приводят к образованию смеси аминокислот и олигопептидов, которые являются основным источником углерода, азота и энергии. Пептидазы разлагают импортированные пептиды до аминокислот, которые затем обрабатываются аминокислотами катаболического пути. Деградация липидов до жирных кислот достигается фосфолипазой и тремя ферментами семейства эстераза-липаза-тиоэстераза. Бета-окисление жирных кислот осуществляется длинноцепочечной жирнокислотной КоА-лигазой, тремя дегидрогеназами жирных кислот, кротоназой и тремя тиолазами. Большинство продуктов распада белков-хозяев и липидов *F. psychrophilum* доступны в качестве предшественников цикла трикарбоновых кислот[1].

Филогения. Из-за своего желтого пигмента, *Flavobacterium psychrophilum* первоначально думали что это микобактерии. Однако его неспособность производить плодовые тела или разлагать сложные полисахариды считала эту классификацию неуместной, и тогда было предложено отнести его к роду *Flexibacter*. Низкое содержание G+C ДНК *F. psychrophilum* было несовместимо с высоким содержанием g+c у видов *Flexibacter*. Его G+КДНК показала, что он был более тесно связан с таковыми у видов *Flavobacterium*. Анализ рибосомного гена 16 показал, что *F. psychrophilum*, *F. columnare* и *F. maritimum* были близкими родственниками и, вероятно, имели общее происхождение[2].

В результате работы было выявлено, что одним из биохимических свойств *F. psychrophilum* является способность утилизировать мочевины.

Для определения сахаролитических свойств используют среды Гисса с глюкозой, лактозой, мальтозой, маннитом, сахарозой, дульцитом, сорбитом, крахмалом, декстрозой. Приготовленную по рецептуре среду разливают в стерильные пробирки по 4 мл и автоклавируют в течение 30 мин при температуре 112 °С. исследуемые культуры штаммов высевают в пробирки со средней игольчатой петлей. Культивировать в течение 7 дней с ежедневным просмотром результатов при температуре 25 °С [3].

Для определения протеолитического разведения желатина используют питательный бульон, содержащий 12% пищевого желатина. Желатин добавляют в мясопептонный бульон и оставляют набухать на 30 минут. Затем полученную смесь нагревают на водяной бане при температуре 45 °С до полного расплавления желатина. Установите pH-7.2. Полученную среду заливают в стерильные пробирки по 8 мл и автоклавируют в течение 30 мин при температуре 110°С. Посев суточной культуры исследуемых штаммов проводят уколом в колонку среды. В качестве контроля используется пробирка с не засеянной средой. Пробирки культивируют в течение 48 часов при температуре 25°С. После культивирования экспериментальные и контрольные (не засеянные) пробирки охлаждают в холодильнике в течение 30 минут и по» текучести « желатина делают вывод о наличии фермента.

Данные по исследованиям представлены в таблице 1.

Также, согласно инструкции, используется тест-система «Rapid-entero 200 M» для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий (научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург). Этот набор позволяет ставить тесты на следующие показатели: эскулин, индол, уреазы, манноза, арабиноза, лизин-декарбоксилаза, орнитин-декарбоксилаза, адонит, триптофанаминаза, маннит и нитратредуктаза [4].

Тест на активность каталазы проводят с использованием 3% - ного раствора перекиси водорода. Положительным результатом стало образование газовых пузырьков. Оксидазный тест проводят с использованием 1% раствора N-N-диметил-пара-фенилендиамина. Этот раствор капали на отдельно стоящую колонию и наблюдали за изменением цвета колонии в течение 10-60 секунд [5].

Наличие фермента уреазы определяют с помощью агара Кристенсена с мочевиной. Среду готовят по рецептуре, разливают в стерильные пробирки по 4 мл и стерилизуют жидким паром в течение 30 минут. Ис-

Таблица 1 – Биохимические свойства бактерий *Flavobacterium psychrophilum*

Тест	F.p №1	F.p №1	F.p №1
Сахароза	+	+	+
Глюкоза	+	+	+
Мальтоза	+	+	+
Маннит	-	-	-
Эскулин	-	-	-
Уреаза	+	+	+
Манноза	+	+	+
Арабиноза	+	+	+
Лизиндекарбоксилаза	-	-	-
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	-
Лактоза	+	+	+
Адонит	-	-	-
Триптофандеаминаза	-	-	-
Индол	-	-	-
Нитраты	+	+	+
Сорбит	-	-	-
Адениндегидрогеназа	+	+	+
Цитрат Na	-	-	-
Ацетат Na	-	-	-
H ₂ S	-	-	-
Дульцит	-	-	-
Каталаза	+	+	+
Оксидаза	-	-	-
Желатиназа	-	-	-

следуемые культуры штаммов высевают в пробирки со средней игольчатой петлей. Культивировать в течение 48 часов с ежедневным просмотром результатов при температуре 25 °С.

Для определения способности утилизировать цитрат натрия используют агар Симмонса. Приготовленную по рецепту среду разливают в стерильные пробирки по 4 мл. Стерилизуют в автоклаве при температуре 1,1 АТМ (121 °С) в течение 15 минут. Для выявления утилизации ацетата используют ацетатный агар приготовленный по рецепту врача и разлитый в стерильные пробирки, автоклавированные при 1,1 АТМ (121 °С) в

течение 15 минут. Эталонные штаммы флавобактерий высевают с помощью инъекции бактериологической петли. Культивировать в течение 48 часов с ежедневным просмотром результатов при температуре 25 °С [6].

Flavobacterium psychrophilum-грамотрицательный палочковидный гриб длиной 2-5 мкм, диаметром 0,3-0,5 мкм с закругленными или заостренными концами. Температурный оптимум находится в пределах 4-12 °С. В лабораторных условиях его выращивают при комнатной температуре. На агаре образуются колонии R-форм желтого цвета (от кремового до оранжевого). Они широко распространены в почвах и пресноводных водоемах [7-17].

Библиографический список:

1. Сульдина Е.В. Определение видовой принадлежности мяса методом полимеразной цепной реакции в режиме «Реального» времени/Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина//Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. -2012. -С. 241-244
2. Ковалева Е. Н. и др. Фагоиндикация бактерий рода *Listeria* с целью мониторинга почвенных экосистем //Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред. – 2013. – С. 97-97.
3. Мастиленко А. В. и др. Разработка системы ПЦР для идентификации бактериофагов *Proteus spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter spp* //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №. 2 (42)
4. Feoktistova N. A. et al. Molecular-genetic characteristics of bacteriophage *Bacillus cereus* FBC-28 ugsha //Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Т. 9. – №. 4. – С. 345-354.
5. Сульдина Е. В. и др. Изучение биологических свойств бактериофагов *Listeria* //Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве. – 2013. – С. 125-127.
6. Ковалева Е. Н., Васильев Д. А., Сульдина Е. В. Разработка системы фаготипирования листерий //Инфекция и иммунитет. – 2014. – №. S. С. 87-88.
7. Сульдина Е. В., Ковалева Е. Н., Васильев Д. А. Основные биологические свойства листериозных бактериофагов //Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. 6 февраля 2015 г.-Ульяновск: УГСХА им. ПА Столыпина, 2015.-Часть III. – УГСХА им. ПА Столыпина, 2015. С. 125-127.
8. Ковалева Е. Н. и др. Перспективы применения бактериофагов *Listeria monocytogenes* //Животноводство России в условиях ВТО: от фундаментальных и прикладных исследований до высокопродуктивного производства. –

2013. – С. 181-184.
9. Сульдина Е. В. и др. Выделение листериозных бактериофагов изучение их основных биологических свойств //Аграрный научный журнал. – 2015. – №. 3. – С. 37-41.
 10. Сульдина Е. В. и др. Бактериофаги бактерий *Enterobacter* и их основные биологические характеристики //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – №. 4 (40). С. 94-97.
 11. Васильев Д. А. и др. Установление видовой принадлежности штаммов энтеробактерий методом MALDI-TOF MS //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №. 2 (42). С. 110-113.
 12. Сульдина Е. В., Ковалева Е. Н., Васильев Д. А. Фаготипирование листерий // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов. – 2014. – С. 223
 13. Васильев Д. А. и др. Разработка фагового биопрепарата *Aeromonas hydrophila* для деконтаминации рыбного, мясного сырья и готовых продуктов питания из них //Естественные и технические науки. – 2018. – №. 1. – С. 21-26.
 14. Сульдина Е. В. и др. Характеристика бактериофагов бактерий *Enterobacter spp.* для оценки возможностей их использования в составе терапевтического биопрепарата //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №. 1 (41). С. 109-115.
 15. Сульдина Е. В., Васильев Д. А., Феоктистова Н. А. Идентификация штамма *Enterobacter spp* и специфичного ему фага E7 методом сравнительного геномного и филогенетического анализа //Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №. 4 (44). С. 229-234.
 16. Ковалева Е. Н. и др. Вопросы биоконтроля пищевого листериоза //Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – 2015. – С. 157
 17. Гранкина А., Сульдина Е. В. Идентификация штаммов листерий коллекции 1960-1970 гг. методом ПЦР //Молодежь и наука XXI века: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. 20-21 сентября 2017 г.-Ульяновск: УлГАУ, 2017.-Том II. – УлГАУ, 2017. С. 66-71.

STUDY OF THE BIOCHEMICAL PROPERTIES OF FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM BACTERIA

Morozova E.A.

Key words: *Flavobacterium psychrophilum*, biochemical properties, test tubes, daily culture.

The article is devoted to the study of the biochemical properties of the bacterium Flavobacterium psychrophilum, which causes fish disease.