

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ФАГОВ  
БАКТЕРИЙ *BACILLUS MEGATERIUM***

Н.А. РОМАНОВА, Н.А. ФЕОКТИСТОВА,  
С.Н. ЗОЛОТУХИН, Д.А. ВАСИЛЬЕВ, А.В. АЛЕШКИН

**РОМАНОВА Надежда Александровна** - аспирант ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

**ФЕОКТИСТОВА Наталья Александровна** - доцент кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», кандидат биологических наук

**ЗОЛОТУХИН Сергей Николаевич** - профессор кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», доктор биологических наук

**ВАСИЛЬЕВ Дмитрий Аркадьевич** - профессор кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», доктор биологических наук

**АЛЕШКИН Андрей Владимирович** - директор ООО КИПКО, ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского», доктор биологических наук

Адрес: бульвар Новый Венец, д.1, г. Ульяновск, РФ, 432063. Тел. (+7)-902-122-26-92, (+7)-937-274-58-76, (+7)-927-270-34-80. E-mail: romawecka89@mail.ru; feokna@yandex.ru; fym.zol@yandex.ru

**Ключевые слова:** бактерии, *Bacillus megaterium*, бактериофаги, профаги, почва, выделение, методика.

В статье описаны результаты опытов по выделению фагов бактерий *Bacillus megaterium* из объектов внешней среды. Библ. 4.

Степень загрязненности продовольственных товаров микрофлорой в большой мере зависит от исходной обсемененности, в первую очередь, термоустойчивыми бактериями, например, такими как *Bac. megaterium*.

В настоящий момент идентификация бактерий *Bacillus megaterium*, вызывающих порчу пищевых продуктов и способных вызывать пищевые отравления, основана на схеме дифференциации бактерий Gordon (1973) [3]. Эффективное использование бактериофагов для идентификации бацилл вытекает из их специфичности действия. В естественных природных условиях фаги встречаются в тех местах, где есть чувствительные к ним бактерии. Так, фаги, лизирующие клетки всех видов почвенных сапрофитных микроорганизмов, находятся в почвах. Особенно богаты фагами черноземы и почвы, в которые вносились органические удобрения.

**Цель и задачи исследования** - выделить фаги бактерий видов *Bacillus mesentericus*, вызывающих порчу пищевых продуктов.

**Материал и методы исследования.** Штамм бактерий *Bacillus megaterium* 182.

При проведении исследований использовать три методики: выделение фагов из культур без воздействия на них индуцирующего фактора [2], выделение фагов из культур с использованием индуцирующего фактора [2], выделение фагов из объектов внешней среды [1].

В первой серии опытов использовали методику, предложенную С. Лурия, Д. Дарнеллом [2], для выделения бациллярных бактериофагов из бактерий без воздействия на них индуцирующего фактора. Сущность методики: в 1,0 литровую колбу, содержащую 0,5 литра мясопептонного бульона, добавляли 1,0 мл 18 часовой культуры *Bacillus megaterium*. Колбу ставили в термостат при 37 °С на 24 часа. Затем смесь бактерий центрифугировали при 3000 об./мин в течение 30 минут, прогревали надосадочную жидкость на водяной бане при 80 °С в течение 45 минут. Прогретый центрифугат исследовали на наличие фага методом агаровых слоев по Грациа [4] на исходном штамме бактерий.

Во второй серии опытов на штамм *Bacillus megaterium*, исследуемые как «лизогенные», мы воздействовали индуцирующим фактором. (Применялось воздействие на бактерии ультрафиолетовых лучей с продолжительностью от 5 до 23 минут с интервалом две минуты. Источником света была бактерицидная лампа, 80 % энергии которой приходится на длину волны 2537 Å. Лампа была расположена на расстоянии 50 см от объекта). На подсушенный газон 18-ти часовой культуры *Bacillus megaterium* воздействовали индуцирующим фактором, затем делали смыв культуры стерильным физиологическим раствором, смыв фильтровали и полученный фильтрат исследовали на наличие фага на культуре методом агаровых слоев по Грациа [4].

Для проведения исследований по методике Л.И. Адельсона [1]. мы брали пробы почвы различного хозяйственного назначения (огород – 7 проб, поле – 6 проб, плодовый сад – 5 проб). Всего было использовано 18 проб. Первоначально готовили разведения почвы в мясо-пептонном бульоне в

соотношении 1:10, добавляли в концентрации  $10^4$  КОЕ /мл 1,0 мл бактерий *Bacillus megaterium*. Колбы с пробами почв ставили в термостат на 24 часа при температуре 37 °С. Затем взвеси фильтровали через бумажный фильтр. Далее содержимое колбы разливали в стерильные пробирки, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 45 минут, затем прогревали в водяной бане при 80 °С в течение 45 минут. Исследуемые фильтраты исследовали методом агаровых слоев по Грациа [4]. Чашки ставили в термостат на 18 часов при 37 °С. Наличие зон лизиса на газоне роста индикаторной культуры свидетельствовало о присутствии в исследуемом материале бактериофага.

**В результате проведенных исследований** было установлено, что выделение бактериофага *Bacillus megaterium* из культуры бактерий без воздействия на них индуцирующего фактора не приводило к проявлению свободного фага.

В наших исследованиях не удалось также выделить фаг бактерий *Bacillus megaterium* с использованием индуцирующего фактора, то есть мы не обнаружили перехода профага в свободный фаг у имеющегося штамма по вышеизложенным методикам, поэтому дальнейшие исследования были посвящены выделению бактериофагов из объектов внешней среды по методике Л.И. Адельсона [1].

В результате проведенных исследований, используя методику Л.И. Адельсона [1] было выделено 3 бактериофага *Bacillus megaterium*. Все выделенные нами бациллярные бактериофаги из объектов внешней среды были вирулентными.

ЛИТЕРАТУРА. Адельсон Л.И. Бактериофаги, активные по отношению к энтеропатогенным кишечным палочкам // Вопросы микробиологической диагностики и бактериофагии. М., 1962. С. 184. 2. Лурия Д., Дарнелл Д. Общая вирусология. М., Мир, 1970. С.47. 3. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Споробразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. Киев: Наукова Думка, 1982. С.117-137. 4. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. Киев: Урожай, 1978. С. 41-88.

UDC 602.3:579.8

ALLOCATION OF PHAGES OF BACTERIA OF BACILLUS MEGATERIUM

ROMANOVA Nadejda Alexandrovna, graduate student FGBOU of VPO «The Ulyanovsk GSHA of P.A.Stolypin»

Address: Studencheskaya St., 6-419, item. October, Cherdaklinsky area Ulyanovsk region, Russian Federation, 433431.

Ph. 8-902-122-26-92. E-mail: romawecka89@mail.ru

FEOKTISTOVA Natalia Alexandrovna, the associate professor of microbiology, virology, an epizootologiya and VPO FGBOU'S VSE «The Ulyanovsk GSHA of P.A.Stolypin», Candidate of Biology

Address: Studencheskaya St., 18-50, item. October, Cherdaklinsky area Ulyanovsk region, Russian Federation, 433431.

Ph. 8-937-274-58-76. E-mail: feokna@yandex.ru

ZOLOTUKHIN Sergey Nikolaevich, the professor of chair of microbiology, virology, epizootologiya and VPO FGBOU'S VSE «The Ulyanovsk GSHA of P.A.Stolypin», the Dr.Sci.Biol.

Address: Studencheskaya St., 12-73, item. October, Cherdaklinsky area Ulyanovsk region, Russian Federation, 433431.

Ph. 8-927-270-34-80. E-mail: fvm.zol@yandex.ru

VASILYEV Dmitry Arkadyevich, the professor of chair of microbiology, virology, epizootologiya and VPO FGBOU'S VSE «The Ulyanovsk GSHA of P.A.Stolypin», the Dr.Sci.Biol.

Address: Verkhnyaya Polevaya St., 1-51, Ulyanovsk, Russian Federation,

Ph. 8-908-479-55-63. E-mail: dav\_ul@yandex.ru

ALESHKIN Andrey Vladimirovich, the director of open company KIPKO, FBUN «The Moscow research institute of epidemiology and microbiology of N Gabrichevsky», the Dr.Sci.Biol.

Address: Admiral Makarov St., 10-604, Moscow, 125212.

Ph. 8-495-452-18-16.

**Keywords:** Bacillus megaterium bacteria, bacteriophages, soil, allocation, technique.

**Summary.** In article results of researches on allocation of phages of bacteria of Bacillus megaterium with application of techniques pro-phage allocation from strains of bacteria without impact on them inducing factor, pro-phage allocation from strains of bacteria with use of an inducing factor and from objects of environment are described. 3 bacteriophages from soil tests were allocated.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES 1. Adelson L.I. Bacteriophages, active in relation to enteropatogeny intestinal sticks // Questions of microbiological diagnostics and a bakteriofagiya. M, 1962. P. 184. 2. Luriya D., Darnell D. The General virology. M, the World, 1970. P. 47. 3. Smirnov V. V., Reznik S.R., Vasilevsky I.A. Sporobrazuyushchiye aerobic bacteria – producers of biologically active substances. Kiev: Naukova Dumka, 1982. P. 117-137. 4. Revenko I.P. Bacteriophages and their use in veterinary practice. Kiev: Crop, 1978. P. 41-88.