

УДК 579.62
ГРНТИ 34.27.19

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ПРОТЕОМА БАКТЕРИЙ BORDETELLA AVIUM

Масиленко А.В.

кандидат биологических наук, доцент кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Васильева Ю.Б.

кандидат биологических наук, доцент кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Латыпова Ф.М.

студент-магистр кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Мукинова М.Р.

студент-магистр кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Васильев Д.А.

доктор биологических наук, заведующий кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза"
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES AND PROTEOM OF BACTERIA BORDETELLA AVIUM

Masilenko A.V.

Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Vasilyeva Yu.B.

Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Latypova F.M.

Master's student of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Muksinova M.R.

Master's student of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia

Vasiliev D.A.

Doctor of Biological Sciences,
Head of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia.

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена изучению основных биологических свойств *Bordetella avium* и изучение протеомного профиля бактерий. Данный вид растет на средах для выделения возбудителя коклюша, таких как среда Борде- Жангу и Бордетелагаре, так и на среде для энтеробактерий, агаре МакКонки. Бактерии *B. avium* проявляют биохимические свойства характерные для представителей рода. В результате проведенного исследования было проведено профилирование протеома *B. avium*, дана его биологическая характеристика по электрофореграмме и анализу in-silico.

ABSTRACT

The article is devoted to the study of the study of the basic biological properties of *Bordetella avium* and the study of the proteomic profile of bacteria. This species grows on media for isolation of the whooping cough pathogen, such as Bordet- Gengou and Bordetelagare, and on medium for Enterobacteriaceae, MacConkey agar. *B. avium* bacteria exhibit biochemical properties characteristic of the genus. As a result of the study, the *B. avium* proteome was profiled, and its biological characteristics were given by electrophoretogram and in-silico analysis.

Ключевые слова: *Bordetella*, *B. avium*, биологические свойства, культуральные, морфологические, биохимические, протеом, in-silico.

Key words: *Bordetella*, *B. avium*, biological properties, cultural, morphological, biochemical, proteome, in-silico.

Введение

Род *Bordetella* входит в состав семейства Alcaligenaceae относится к порядку Burkholderiales, подклассу Betaproteobacteria, классу Proteobacteria, царству Bacteria. В настоящее время род *Bordetella* насчитывает шестнадцать видов, двенадцать из которых являются, связаны с потенциальным заражением людей, хотя и редко в некоторых случаях [1,4].

Бактерии *B. avium* является этиологическим агентом бордетеллеза, респираторное заболевание, ответственное за существенные экономические потери для промышленного разведения индеек. Бактерии *B. avium* были выделены из дыхательных путей индеек и некоторых других птиц, таких как курица, утка и гусь. *B. avium* высоконтрагиозный биологический агент и может распространяться либо через бактериально загрязненный мусор или воду или при прямом контакте с инфицированными птицами [2,5].

До недавнего времени *B. avium* считался исключительно птичьим патогеном. Однако так же были выделены бактерии от людей с пневмонией или муковисцидозом, которые были идентифицированы как *B. avium* и новый *B. avium*-подобные штаммы. Таким образом, *B. avium* организмы являются патогенном человека [3,6].

Во всем мире бордетеллез был диагностирован у индеек по всему миру, например, в США, Турции, Венгрии, Польше и Индии (Raffel et al. 2002 ; Türkyilmaz et al. 2009 ; Szabó et al. 2015 ; Stenzel et al. 2017; Balouria et al. .2019). Однако надзор за инфекцией *B. avium* на территории нашей стороны не проводится.

Целью нашей работы является изучение основных биологических свойств *Bordetella avium* и изучение протеомного профиля бактерий.

Материалы. В работе был использован штамм музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ» *Bordetella avium* ATCC ВАА-1003.

Использовали питательные среды и реактивы: Агар МакКонки с хлоридом натрия, солями желчных кислот и лактозой (ТМmedia,

Индия) - агар Борде-Жангу с цефалексином и глицерином (BORDET GENGOU AGAR BASE), «Becton, Dickinson and Company», США - Селективная добавка для бордетелл (BORDETELLA SELECTIVE SUPPLEMENT, ТМMEDIA, Индия), питательная среда для выделения коклюшного микроба- Бордетелагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) -среда Симмонса (Биокомпас-С, Углич), среда Кристенсена с мочевиной (Himedia, Индия), бульон для определения декарбоксилазы по Мюллеру с лизином, орнитином, аргинином (Himedia, Индия), Набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама (ЗАО «НИЦФ», Россия), Оксидазный тест для обнаружения цитохромоксидазы в микроорганизмах (50 тест–полосок), 6% перекись водорода(Россия).

Для изучения биохимических свойств будет использован набор тест системы API 20E, для биохимической идентификации грамотрицательных палочек, "Bio Merieux", Франция

Для проведения SDS- PAGE электрофареза по Лемли нами были использованы: ультразвуковой дезинтегратор Soniprep 150 MSE (Великобритания), центрифуга встряхиватель CM-50M (ELMI), полиакриламидные гели 4-20% (Bio-Rad), натрий додецилсульфат (SDS) (Panreac), краситель Кумасси R-250 (Thermo FS), глицерин (Difco), 10x трис-глициновый буфер (Bio-Rad), маркеры белковые молекулярного веса Prism Ultra, 3.5-245 кДа (Abcam).

Результаты исследования .

При микроскопии бактерий вида *Bordetella avium* окрашенных методом Грамма препарате обнаружены мелкие, короткие, прямые или немного изогнутые с закругленными концами палочки, располагающиеся парами или одиночно.

При культивировании в течение 24 часов исследуемый штамм на среде Борде-Жангу дал рост в виде мелких круглых диаметр около 1,0 мм, беловато- прозрачных, плоских, гладких, влажных глянцевого с ровными краями колоний. В течение последующих 48-72 ч. наблюдается увеличение диаметра колоний и изменение цвета на кремовый.

При культивировании штамма на среде Борде-Жонгу с цефалексином наблюдается рост колонии диаметром менее 1,0 мм, плоские, глянцевые с ровным краем серовато-прозрачного цвета.

При культивировании штамма *Bordetella avium* ATCC ВАА-1003 на Бордетелагаре, питательной среде для культивирования и выделения коклюшного микроба, наблюдается рост колоний диаметром менее 1,0 мм, белых, гладких, круглых, выпуклых глянцевых с ровными краями. При культивировании на среде МакКонки в течение 24 ч. бактерии дали рост в виде мелких (d около 1,0 мм), беловато-розовых, выпуклых, гладких, глянцевых, с ровным краем колоний.

Так же нами было установлено, что штамм *B. avium* обладает каталазой и оксидазой активностью. При помощи классических методов было установлено, что бактерии этого вида обладают уреазной активностью, но не расщепляют цитрат натрия, орнитин и аргинин.

При определении ферментативных свойств *B. avium* в тест-системе API 20E получены

следующие результаты : положительные- триптофан деаминаза, разжижение желатина; отрицательная - аргинин-, лизин- и орнитин-декарбоксилазу, утилизацию цитратов, уреазу, продукцию H₂S и индола, восстановления нитратов до нитритов и газообразования азот, сбраживание/ окисление глюкозы, манита, инозита, сорбита, рамнозы, сахарозы, мелибиоза, амигдалина, В-галактозидаза, арабинозы.

Нами был проведен анализ протеома *Bordetella avium* методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле (4-20 %) в денатурирующих условиях с SDS по Лэмли (Shivanandappa, 2016). Результаты протеомного разделения представлены на рис. 1. Затем в программном обеспечении GelAnalyzer был проведен анализ полученной электрофореграммы. В соответствии с данными маркера молекулярного веса был построен калибровочный график. В результате анализа был установлен вес белковых молекул.

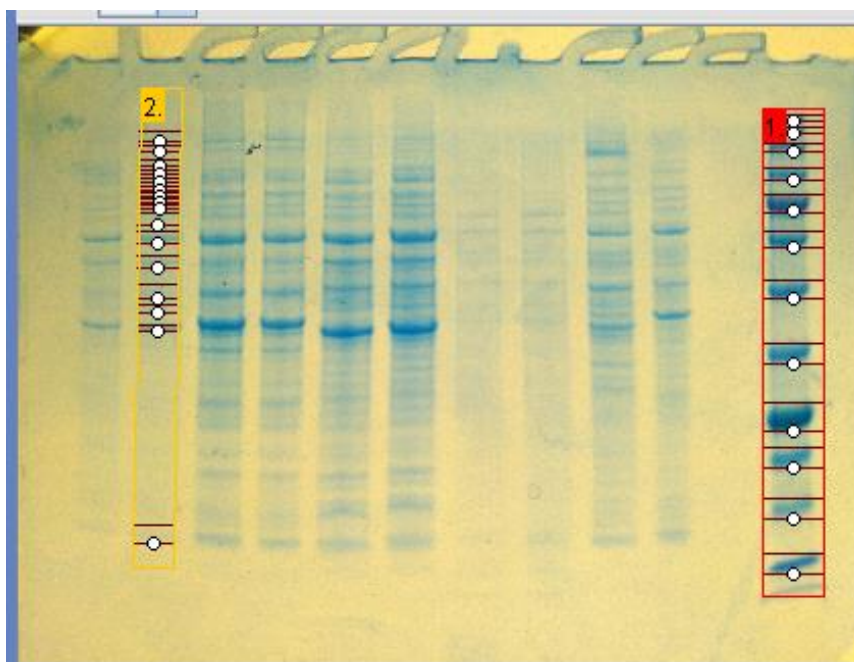


Рисунок 1. Электрофореграмма (Результат протеомного разделения штаммов: 2 *Bordetella avium*, 1 белок-маркер молекулярного веса)

Таблица 1.

Молекулярная масса белковых молекул *Bordetella avium* при анализе электрофореграммы

№ п/п	Rf	Интенсивность	Мол. масса, кДа
1	0,112	4191	129
2	0,133	2563	113
3	0,162	2182	95
4	0,18	1934	85
5	0,199	2067	77
6	0,214	1296	71
7	0,227	1904	66
8	0,239	1498	62
9	0,254	2279	58
10	0,288	5182	50
11	0,327	6329	43
12	0,375	5004	37

13	0,441	6203	31
14	0,47	2938	30
15	0,51	3726	28
16	0,54	2211	27
17	0,568	1927	26
18	0,664	3358	25
19	0,676	122	25
20	0,766	4625	24
21	0,815	4749	24
22	0,951	5118	24

В системе NCBI в соответствии с данными, полученными при секвенировании генома *B. avium* был проведён in-silico анализ соответствия аннотированным протеомам – идентифицировано 5574 белка. Среди них были отобраны те, которые соответствовали бы молекулярному весу протеомов, полученных нами при электрофоретическом их разделении.

Выводы

В результате проведенных исследований нами были изучены основные биологические свойства бактерий вида *Bordetella avium*. Данный вид растет на средах для выделения возбудителя коклюша, таких как среда Борде- Жангу и Бордетелагаре, так и на среде для энтеробактерий, агаре МакКонки. Бактерии *B. avium* проявляют биохимические свойства характерные для представителей рода.

В результате проведенного исследования было проведено профилирование протеома *B. avium*, дана его биологическая характеристика по электрофореграмме и анализу in-silico.

По результатам проведенного анализа становится очевидным, что каждому из выявленных белков может соответствовать антиген. Таким образом, данное исследование может быть использовано в дальнейшей работе изучения антигенной структуры *B. avium* и разработке соответствующих серологических диагностикумов.

Список литературы

- 1.Мастиленко А. В., Минаева А. Н., Ломакин А. А. Основные ростовые характеристики бактерий вида *Bordetella trematum* //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии № 2 (50), апрель-июнь 2020. – 2020.
- 2.Eldin W. F. S. et al. Prevalence, virulence attributes, and antibiogram of *Bordetella avium* isolated from turkeys in Egypt //Tropical Animal Health and Production. – 2020. – Т. 52. – №. 1. – С. 397-405.
- 3.Harrington A. T. et al. Isolation of *Bordetella avium* and novel *Bordetella* strain from patients with respiratory disease //Emerging infectious diseases. – 2009. – Т. 15. – №. 1. – С. 72.
- 4.Kadlec K., Schwarz S. Antimicrobial resistance in *Bordetella bronchiseptica* //Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals. – 2018. – С. 365-375.
- 5.Kerstens K. et al. *Bordetella avium* sp. nov., isolated from the respiratory tracts of turkeys and other birds //International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1984. – Т. 34. – №. 1. – С. 56-70.
- 6.McLaughlin K. et al. Biofilm formation and cellulose expression by *Bordetella avium* 197N, the causative agent of bordetellosis in birds and an opportunistic respiratory pathogen in humans //Research in microbiology. – 2017. – Т. 168. – №. 5. – С. 419-430.

ABOUT QUALITY OF PULSED ELECTRIC FIELDS PROCESSED MILK AND EGG PRODUCTS

Уразова Рано Станиславовна

Канд. биол. наук, доцент кафедры зоологии,
Самаркандский государственный университет,
Самарканд, Узбекистан

Rano Urazova

PhD in biology, associate professor,
Department of Zoology, Samarkand State University,
Samarkand, Uzbekistan

ABSTRACT

The objective of this work was to review the quality of influence of pulsed electric field processed milk and egg products. The PEF-treatment as a nonthermal method, which allows to preserve the natural quality, color, and vitamin constituents of food products. This processing is based on electroplasmolysis phenomena. Applications of PEF in food processing are discussed.

Key words: pulsed electric field, electroplasmolysis, treatment chamber, high voltage application, milk, egg products.