

УДК 619

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ *ESCHERICHIA COLI* O157 ПРИ ХРАНЕНИИ

*Н.И. Молофеева, кандидат биологических наук, доцент,
тел.(88422) 55-95-47, tolo-na@mail.ru,
Д.А.Васильев, доктор биологических наук, профессор,
тел.(88422) 55-95-47, dav ul@mail.ru,
С.В.Мерчина, кандидат биологических наук, доцент,
тел.(88422) 55-95-47, sv2309@jandex.ru
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА*

Ключевые слова: бактериофаг, литическая активность, специфичность, *E.coli*.

*Работа посвящена изучению морфологии, активности, спектра литической активности и специфичности фагов *E.coli* O157 при хранении.*

Введение. С каждым годом повышается значимость бактериофагов как высоко специфического диагностического средства, позволяющего надёжно дифференцировать возбудителей бактериальных видов, а порой проводить более детальную дифференциацию отдельных типов и вариантов внутри данного вида. Возможность фагоидентификации вытекает из специфичности действия фагов, которая может быть настолько выражена, что позволяет дифференцировать не только отдельные виды, но и серологически неотличимые штаммы в пределах одного вида [1].

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований явились бактериофаги *E.coli* O157, бактерии рода *E.coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*.

Результаты исследований и обсуждение. Основной задачей проведённых исследований являлось изучение биологических свойств бактериофагов с типоспецифическими свойствами в отношении бактерий *E.coli* O157 при хранении. Лизаты фага хранились в условиях холодильника при +4^о- 8^о С. Выделенные бактериофаги из объектов внешней среды были изучены по основным свойствам, которые могут иметь таксономическое значение: 1) морфологии негативных колоний; 3) литической активности; 4) спектру литической активности; 4) специфичности действия [2].

Таблица 1 - Результаты изучения литической активности эшерихиозных фагов

Литическая активность	ФАГИ	
	Е-61 УГСХА	Е-67 УГСХА
По Аппельману	10^{-7}	10^{-7}
По Грация	3×10^8	$1,5 \times 10^8$

Морфология негативных колоний изучалась при посевах фагов методом агаровых слоёв по Грация на питательном агаре. Учёт производился через 18-20 часов инкубации при температуре 37°C. Бактериофаг Е-61 УГСХА образовывал негативные колонии, прозрачные колонии, округлые с ровными краями от 1,0 до 2 мм в диаметре, Е-67 негативные колонии - округлые с ровными краями, от 1,3 до 2,0 мм в диаметре.

Изучение изменения литической активности бактериофагов при хранении связано с изысканием оптимальных условий хранения и кратности посева производственных штаммов, а также со сроком годности фаговых препаратов.

Литическую активность селекционированных бактериофагов проводили по методу Аппельмана и Грация (Д.М.Гольдфарб, 1961). Определение активности фага Е-61 УГСХА по методу Аппельмана составила 10^{-7} , фага Е-67 УГСХА составила 10^{-7} . Результаты изучения литической активности выделенных фагов по Грация представлены в таблице №2 и на плотном питательном агаре по Грация *E.coli* $3,0 \times 10^8$ до $1,5 \times 10^8$ фаговых корпускул в 1 мл [3].

Диапазон литической активности является характерной особенностью фага, и им пользуются для его идентификации (М.Адамс, 1961). Для изучения спектра литической активности двухселекционированных фагов (Е - 61 УГСХА, Е-67 УГСХА) мы использовали референс штаммы *E.coli* серологической группы О157 (шт. РЛ, ХЛ1) и эпизоотические штаммы бактерий *E.coli* других серологических групп (11 штаммов) и проводили его методом нанесения фага на газон бактериальной культуры (автор, год). Эти исследования показали, что наиболее широким диапазоном литической активности по отношению к изучаемым культурам обладает штамм фага Е-67 УГСХА, который лизировал все имеющиеся у нас штаммы *E.coli* серологической группы О157. Фаги Е-61 УГСХА, Е-67 УГСХА проявили одинаковую литическую активность в пределах 66,6 %.

Специфичность действия бактериофагов *E.coli* О157 определяется прежде всего сродством их к антигенной структуре лизируемых

Таблица 2 - Специфичность фагов

Штаммы бактерий	Фаг E-61 УГСХА	Фаг E-67 УГСХА
<i>E.coli</i> O157 (2 штамма)	+	+
<i>E.coli</i> (11 штаммов)	-	-
<i>Proteus</i> (5 штаммов)	-	-
<i>Salmonella</i> (1 штамм)	-	-
<i>Bacillus cereus</i> (2 штамма)	-	-
<i>Klebsiella</i> (2 штамма)	-	-

бактерий и используется в практике для дифференциации бактерий. Изучения специфичности четырех бактериофагов *E.coli* O157 (E-61 УГСХА, E-67 УГСХА) проводили по отношению к представителям полевых штаммов *E.coli* - 11 штаммов, *Proteus* - 5 штаммов, *Klebsiella* - 2 штамма, *Salmonella* - 1 штамм, *Bacillus cereus* - 2 штамма [4].

Установлено, что фаги не лизировали ни одну из испытываемых бактерий *E.coli* других сероваров, поэтому можно сделать вывод, о том, что селекционированные фаги являются специфичными по отношению к *E.coli* O157. Фаги неактивны к представителям бактерий других видов [5].

Заключение. При хранении бактериофагов в условиях 2–4 °С в течение 12 месяцев морфология негативных колоний не изменилась, показатели литической активности незначительно снизились, однако оказались высокоспецифичными и лизировали только штаммы *E.coli* O157. Они проявили себя не активными в отношении как других серологических групп *E.coli*, так и других представителей семейства *Enterobacteriaceae*. На основе проведенных исследований бактериофагов являются высокостабильными и могут храниться в течение достаточно длительного периода времени (до 12 месяцев) при температуре 2–4 °С.

Библиографический список

1. Молофеева Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* O157 и их применение в диагностике /Молофеева Н.И./ Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук /Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов. – 2004. – 21с.

2. Молофеева Н.И. Проблема диагностики *Escherichia coli* O157:H7./Молофеева Н.И., Васильев Д.А./ В книге: Технологические и экологические основы земледелия и животноводства в условиях лесостепи Поволжья Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые агропромышленному комплексу». Редколлегия: Б.И. Зотов, В.И. Морозов, А.Х. Куликова и др.. - 2001. - С. 79-80.
3. Садртдинова Г.Р. Селекция выделенных клонов бактериофагов, активных к *Klebsiella oxytoca*/ Г.Р. Садртдинова // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения» - Ульяновск: УГСХА, 2016. Т. III. – С.266-269.
4. Молофеева Н.И. Ветеринарно-санитарный контроль продуктов питания на наличие энтеропатогенных бактерий *Escherichia coli* серотипа O157 /Молофеева Н.И., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Т. 1. - 2012. - С. 299-303.
5. Ефрейторова Е.О. Разработка биотехнологических параметров для обнаружения бактерий вида *Serratia marcescens* в пищевых продуктах и объектах окружающей среды /Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Молофеева Н.И. В сборнике: Биотехнология: реальность и перспективы Международная научно-практическая конференция. - 2014. - С. 14-17.

THE STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES OF *ESCHERICHIA COLI* O157 DURING STORAGE

Molofeeva N.I., Vasilyev D.A., Merchina S.V.

Key words: bacteriophage, lytic activity, specificity, E. coli.

*This study focuses on the morphology, activity, spectrum of lytic activity and specificity of the phages of *E. coli* O157 during storage.*