

УДК 579.6

НОВЫЕ ЦИТРОБАКТЕРНЫЕ БАКТЕРИОФАГИ ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПЕСКА ДЕТСКИХ ПЕСОЧНИЦ

Л.П. Пульчеровская, кандидат биологических наук, доцент,

тел. 8(84231)55-95-47, pulcherovskaya.lidia@yandex.ru,

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,

тел. 8(84231)55-95-47, dav ul@mail.ru,

О.В. Кузнецова, аспирант, тел. 8(84231)55-95-47,

Е.О. Ефрейторова, аспирант, тел. 8(84231)55-95-47

ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

Ключевые слова: *цитробактеры, бактерии рода Citrobacter, фаги, объекты окружающей среды, морфология негативных колоний, специфичность, спектр литической активности*

В статье описаны свойства бактериофагов Citrobacter, выделенных из песка песочниц.

Цитробактеры – обитают в сточных водах, почве и других объектах внешней среды, а также в испражнениях здоровых и больных острыми кишечными инфекциями людей. Относятся к группе условно-патогенных бактерий и являются санитарно-показательными микроорганизмами. Наряду с представителями различных родов – *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Serratia* - *Citrobacter* относится к бактериям группы кишечных палочек. Все они выделяются в окружающую среду из кишечника человека и животных. В связи с этим обнаружение их в окружающей среде следует рассматривать, как показатель фекального загрязнения. Названные микроорганизмы очень хорошо выживают в условиях окружающей среды и способны вызывать заболевания. Штаммы названных микроорганизмов проявляют высокую антибиотикоустойчивость, что сильно затрудняет лечение заболеваний, вызванных данными микроорганизмами. [1-4]

Коллективом кафедры были проведены исследования по индикации и идентификации бактериофагов *Citrobacter* в песке детских песочниц поселка Октябрьский. Выделение бактериофагов проводили по общепринятым методикам. Всего было обследовано 9 песочниц в результате проведенных исследований было выделено 8 штаммов фагов *Citrobacter*. У выделенных фагов были изучены основные биологические свойства: морфология негативных колоний, литическая активность, диапазон литической активности, специфичность. [5,6,8]

Таблица 1 -Спектр литической активности выделенных штаммов фагов

Фаги	Количество испытанных штаммов	Из них чувствительных к фагу	№ лизируемых штаммов	% лизируемых штаммов
С-1	7	6	1,2,3,5,6,7	85,6
С-2	7	6	1,2,3,4,6,7	85,6
С-3	7	7	1,2,3,4,5,6,7	100
С-4	7	6	1,2,3,4,6,7	85,6
С-5	7	5	1,2,3,4,7	71,3
С-6	7	6	1,2,3,4,6,7	85,6
С-7	7	7	1,2,3,4,5,6,7	100
С-8	7	7	1,2,3,4,5,6,7	100

Морфологию негативных колоний изучали при посевах фагов методом агаровых слоев по Грация на МПА. Негативные колонии, образуемые изучаемыми бактериофагами, нами были разделены на два типа: 1 тип - прозрачные негативные колонии округлой формы с ровными краями. 0.5-1.0 мм в диаметре 5 фагов и 2-ой тип - круглые колонии с ровными краями, в диаметре 2,0-2,5 мм. прозрачные, без вторичного роста, с зоной неполного лизиса по периферии, ширина зоны 0.5 мм:- 3 фага. [7,9]

Выделенные бактериофаги обладали разной литической активностью. Ее оценивали по способности фага вызывать лизис бактериальной культуры в жидких и плотных питательных средах и выражалось это тем максимальным разведением, в котором исследуемый бактериофаг проявлял свое литическое действие. Изучаемые фаги проявляли активность в пределах от 1×10^5 до $5,1 \times 10^9$.

Для изучения диапазона литической активности, выделенных бактериофагов использовали 7 штаммов бактерий рода *Citrobacter*. Исследования проводили методом «Стекающая капля». Опыты показали, что изученные фаги характеризуются различным спектром литической активности. [1-9] Результаты представлены в таблице 1.

Видовая специфичность фагов используется широко в практике для дифференциации бактерий. Эта способность фагов определяется, прежде всего, сродством их к рецепторам лизируемых бактерий. Определение проводили на агаровых средах путем нанесения фага на газон культуры к представителям других семейств и родов использовали: *Proteus* 4 штамма, *Morganella* 3 штамма, *Klebsiella* 4 штамма, *Salmonella*

Таблица 2 - Специфичность, выделенных бактериофагов

№	Вид бактерий	Количество штаммов	Штаммы фагов							
			1	2	3	4	5	6	7	8
1.	<i>E.coli</i>	7	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	<i>Proteus</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	<i>Y.enterocolitica</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-
4.	<i>Morganella</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-
5.	<i>Salmonella</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-
6.	<i>Klebsiella</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-
7.	<i>Pseudomonas</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-
8.	<i>Bacillus</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-
9.	<i>Enterobacter</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечания:

"+" - лизис культуры;

"-" - отсутствие лизиса.

2 штамма, *Pseudomonas aureginosa* 4 штамма, *Bacillus cereus* 3 штамма, *E.coli* 7 штаммов, *Enterobacter* 4 штамма, *Y.enterocolitica* 2 штамма. Результаты представлены в таблице 2.

Установлено, что данные фаги не лизировали ни одну из испытываемых культур других видов бактерий. На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что селекционированные фаги являются специфичными по отношению к бактериям рода *Citrobacter* и не активны к представителям других видов бактерий. Бактериофаги были строго специфичны.

На основании полученных данных, выделенные фаги, обладали свойствами, благодаря которым их можно использовать для проведения индикации и идентификации бактерий рода *Citrobacter* в различных объектах.[1-9]

Библиографический список

1. Ефрейторова, Е.О. Распространенность бактерий вида *S. marcescens* в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VII Международной научно-практической конференции. 2016. С. 204-211.

2. Пульчеровская, Л.П. Биологические свойства выделенных из песка детских песочниц цитробактерных бактериофагов Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Ефрейторова Е.О. В книге: Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 81
3. Пульчеровская, Л.П. Индикация бактерий рода *Citrobacter* с применением индикаторных бактериофагов с помощью реакции нарастания титра фага (РНФ) Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А., Ефрейторова Е.О. Инфекция и иммунитет. 2014. № 5. С. 105
4. Васильев, Д.А. Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека// Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Алёшкин А.В., Барт Н.Г., Богданов И.И., Васильева Ю.Б., Викторов Д.А., Золотухин Д.С., Журавская Н.П., Калдыркаев А.И., Карамышева Н.Н., Ковалева Е.Н., Коритняк Б.М., Ляшенко Е.А., Молофеева Н.И., Пожарникова Е.Н., Пульчеровская Л.П., Семанина Е.Н., Феоктистова Н.А., Шестаков А.Г. и др. Ульяновск, 2013.
5. Пульчеровская, Л.П. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике/ Пульчеровская Л.П. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук/ Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина. Ульяновск, 2004
6. Пульчеровская, Л.П. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике/ Пульчеровская Л.П. автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов, 2004
7. Садртдинова, Г.Р. Особенности селекции фагов активных к *Klebsiella oxytoca*/ Г.Р.Садртдинова, Е.А.Ляшенко, Д.А.Васильев, С.Н.Золотухин// Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы 3-й научно-практической конференции с международным участием: к 100-летию открытия бактериофагов, Москва, 13–15 октября / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [и др.]. – Москва: Медицинское маркетинговое агентство, 2016.-С.82.
8. Садртдинова, Г.Р. Селекция выделенных клонов бактериофагов, активных к *Klebsiella pneumoniae* /Е.А.Ляшенко, Г.Р. Садртдинова, Д.А.Васильев// Инфекция и иммунитет.2014.-№5.-С.95.
9. Sadrtdinova, G.R. Sanitary assessment of environmental objects by isolation of virulent phages// G.R.Sadrtdinova, L.P.Pulcherovskaya, D.A.Vasiliev,

S.N.Zolotuhin//Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences.20
16.Т.58.№10.С.165-170.

NEW NITROBACTERIA BACTERIOPHAGE ISOLATED FROM SAND OF THE CHILDREN'S SANDBOX

Pulitserovskaya L. P., Vasilyev D.A., Kuznetsova O. V. , Amatarou E. O.

Keywords: *Citrobacter, bacteria of the genus Citrobacter, bacteriophages, objects of the environment, the morphology of the negative colonies, the specificity, spectrum of lytic activity*

The article describes the properties of bacteriophages of Citrobacter isolated from sand of the sandbox.