

УДК 619:616-07

**БАКТЕРИОФАГИ РОДА STAPHYLOCOCCUS**

**Краснов М.В., студент 2 курса ФВМиБ, [topk96@mail.com](mailto:topk96@mail.com)  
Научный руководитель – Пульчеровская Л.П., кандидат  
биологических наук, доцент  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГАУ**

**Ключевые слова:** бактерии рода *Staphylococcus*, бактериофаги, объекты окружающей среды, патологический материал, биологические свойства фагов.

В статье представлены результаты исследований по выделению и изучению биологических свойств фагов, идентифицированных из объектов окружающей среды и активных в отношении бактерий рода *Staphylococcus*.

Среди эпидемиологов, микробиологов и клиницистов довольно распространенное убеждение, что сегодня непатогенных стафилококков не существует. Все учащаются случаи выделения из крови, тканей и органов культур стафилококков без каких-либо маркеров патогенности. Однако, при элиминации их из организма исчезают все симптомы заболевания. Все это необходимо учитывать при проведении лабораторной диагностики стафилококковых инфекций. К сожалению, в рутинных бактериологических лабораториях нашей страны пока возможна идентификация лишь *S. aureus*, *S. epidermidis* и *S.saprophyticus*.

Стафилококки чаще поражают кожу, ее придатки и подкожную клетчатку. Они вызывают фурункулы, карбункулы, панариции, паронихии, абсцессы, флегмоны, маститы, лимфадениты, нагноения ран, в том числе операционных. У детей стафилококки являются возбудителями стафилодермий, эпидемических пухирчаток, импетиго. их выделяют при плевритах, бронхитах, пневмониях, перитонитах. Они могут вызвать ангины, тонзиллиты, гаймориты, отиты, конъюнктивиты, несколько реже - менингиты, абсцессы мозга, миокардиты, эндокардиты, артриты, инфекции сосудистых протезов. Очень опасные пищевые токсикоинфекции, энтероколиты, холециститы, циститы, пиелит, пиелонефрит. При проникновении в кровь или костный мозг вызывают сепсис, остеомиелит, синдром токсического шока. Однако все заболевания стафилококковой этиологии не рассматриваются как острозаразное.

Огромное значение при проведении лечения данных заболеваний все возрастающая антибиотикорезистентность микроорганизмов и стафилококков в частности.

В связи с перечисленными сложностями возникла необходимость в поиске альтернативных методов лабораторной диагностики, которые были бы менее трудоемкими, более быстрыми и доступными для лабораторий любого уровня. Таким методом является фагодиагностика

Исходя из выше сказанного целью наших исследований стало выделение бактериофагов *Staphylococcus* и объектов окружающей среды.

**Объекты и методы исследований.** Материалом для исследования послужили почва из загонов для лошадей, вода открытых водоемов (р. Волга), песок песочниц.

Суточные культуры полевых штаммов бактерий рода *Staphylococcus*.

В работе использовали методы для выделения из объектов окружающей среды методом, предложенным Адельсон (1962). Изучение биологических свойств фагов проводили по методам, предложенным М.Адамс. Селекцию бактериофагов и повышение их литической активности проводили по методике, описанной и использованной в исследованиях Пульчеровской Л.П. [1] и С.Н. Золотухина [2].

Исследуемый материал (почва, вода, песок) засеивали с бактериями рода *Staphylococcus* в МПБ. Использовали метод поиска бактериофагов предложенный Грация и описанные в диссертационных работах Золотухина С.Н. [3], Пульчеровской Л.П [4] и др. В литровую колбу, содержащую 0,5 литра мясопептонного бульона, добавили по 1,0 мл 18-ти часовых культур, имеющихся у нас штаммов *Staphylococcus*. Колбу термостатировали при 37°C в течение 24 часов. Затем смесь микроорганизмов центрифугировали при 2000 об/мин в течение 30 минут, далее фильтровали. Полученный фильтрат для освобождения от сопутствующей микрофлоры использовали два способа:

- 1-й - прогревали при 60°C в течение 30 минут;
- 2-ой – обрабатывали хлороформом в соотношении 1:10 в течение 30 минут;

Наличие фага в фильтрате выявляли при его посеве на плотные питательные среды методом агаровых слоев.

Методы освобождения исследуемого фильтрата температурой и хлороформом позволили нам полностью освободить исследуемый материал от сопутствующей микрофлоры на что нам показал контроль стерильности исследуемого фильтрата. Поэтому во всех исследованиях использовали оба метода [3-5].

Таблица 1 - Источники выделения бактериофагов *Staphylococcus*

Индикаторные штаммы <i>Staphylococcus</i>	Объект исследования		
	Почва из загона для лошадей	вода открытых водоемов	песок песочницы
№1	+	-	-
№2	+	-	-
№3	+	-	-

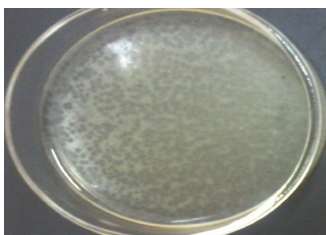


Рисунок 1 – Морфология негативных колоний

В результате исследований 3 проб объектов окружающей среды удалось по указанной схеме выявить 1 изолят искомого бактериофага двумя методами. Результаты опыта представлены в таблице 1.

Селекцию штаммов бактериофагов производили методом пассивирования штаммов фагов на индикаторных культурах.

У выделенного фага бактерий рода *Staphylococcus* были изучены следующие свойства: морфология негативных колоний; литическая активность; специфичность действия;

Морфологию негативных колоний изучали при посеве фага методом агаровых слоев по Грация на мясопептонный агар. После культивирования в термостате при температуре 37°C в течении суток. Негативные колонии были прозрачные, округлой формы с ровными краями от 1,5 до 2 мм. Результаты опыта представлены на рисунке 1.

Активность выделенного бактериофага определяли по методу Грация и она составила  $5,3 \times 10^9$  БОЕ.

Видовая специфичность фагов используется в практике для дифференциации бактерий. Эта способность фагов определяется, прежде

всего, сродством их к рецепторам лизируемых бактерий.

Определение видовой специфичности фага бактерий рода *Staphylococcus* проводили на агаровых средах путём нанесения фага на газон культуры. [2-10].

В результате изучения специфичности выделенных бактериофага рода *Staphylococcus* по отношению к представителям бактерий других родов и семейств, полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ УлГАУ (*Proteus* 3 штамма, *Klebsiella* 2 штамма, *Salmonella* 4 штамма, *Pseudomonas aureginosa* 3 штамма, *E.coli* 2 штамма, *Bacillus cereus* 6 штаммов).

Установлено, что выделенный бактериофаг не лизировали ни одну из испытываемых культур других родов бактерий. На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что выделенный бактериофаг рода *Staphylococcus* является специфичными по отношению к бактериям рода *Staphylococcus* и не активны в отношении представителям других родов бактерий [4-9].

**Закключение.** В результате проведенных исследований нами был выделен бактериофаг рода *Staphylococcus*. Активность выделенного бактериофага по Грациа составила  $5,3 \times 10^9$  БОЕ. Фаг был высоко специфичен и лизировал все имеющиеся у нас штаммы бактерий рода *Staphylococcus*. Его можно использовать для дальнейших исследований [1-10].

#### Библиографический список

1. 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: 03.00.07, 03.00.23. - Ульяновск, 2004. - 186 с.
2. Золотухин, С.Н. Выделение фагов бактерий рода *Citrobacter* из объектов внешней среды и патологического материала/ Золотухин С.Н., Пульчеровская Л.П., Кирьянова Н.А., Васильев Д.А. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2002. № 8. С. 29-32.
3. Садртдинова, Г.Р. Бактериофаги клебсиелл: их роль и значение /Садртдинова Г.Р. В сборнике: Молодежь и наука XXI века Материалы IV Международной научно-практической конференции. 2014. С. 115-121
4. Садртдинова Г.Р. Селекция выделенных клонов бактериофагов, активных к *Klebsiella pneumonia* /Е.А.Ляшенко, Г.Р. Садртдинова, Д.А.Васильев// Инфекция и иммунитет. 2014.-№5.-С.95.
5. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и раз-

- работка параметров практического применения: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23 / Сарат. гос. аграр. ун-т им. Н.И. Вавилова. - Саратов, 2006. - 21 с.
6. Пульчеровская, Л.П. Мониторинг объектов окружающей среды на наличие бактерий рода *Citrobacter* и их фагов/ Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Ефрейторова Е.О. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VII Международной научно-практической конференции. 2016. С. 253-260.
  7. Пульчеровская, Л.П. Новые цитробактерные бактериофаги выделенные из песка детских песочниц/ Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А., Кузнецова О.В., Ефрейторова Е.О. В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения материалы VIII международной научно-практической конференции. 2017. С. 230-234.
  8. Ерофеева, Д.В. Личная гигиена человека/ Ерофеева Д.В., Столярова Н.А., Пульчеровская Л.П. В сборнике: СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ - 2017 IX Международная студенческая электронная научная конференция. 2017.
  9. Цапалина, Е.В. Антибиотикорезистентность бактерий рода *Citrobacter*/ Цапалина Е.В., Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н. В сборнике: СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ -2014 VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. 2014.
  10. Пульчеровская, Л.П. Индикация бактерий рода *Citobacter* с помощью реакции нарастания титра фага (РНФ) /Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 1 (21). С. 60-64.

## BACTERIOPHAGES OF THE GENUS STAPHYLOCOCCUS

*Krasnov M. V.*

**Key words:** *bacteria of the genus Staphylococcus, bacteriophages, objects of the environment, pathological material and biological properties of the phages.*

*The article presents the results of research on the allocation and study of the biological properties of phages identified from environmental objects and active against bacteria of the genus Staphylococcus.*