

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ РОДА *PROTEUS*

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Золотухин Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; 8(8422)55-95-47,

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: *Proteus*, бактериофаги, биологические свойства, лизис, культура

В статье описаны результаты исследований по изучению биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*. Были изучены основные биологические свойства протейных фагов Pr-1, Pr-2, Pr-3, Pr-4, Pr-5, Pr-6 Pr-7, Pr-8 серии УГСХА, выделенных в 2017 году из патологического материала и объектов санитарного надзора животноводческих и птицеводческих помещений в хозяйствах, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям. Установлено, что изучаемые протейные бактериофаги характеризуются различными показателями литической активности в диапазоне от $4,2 \pm 0,2 \times 10^6$ до $1,9 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл (по методу А. Gratia) и от 10^5 до 10^8 (по методу Аппельмана). Морфология негативных колоний фагов представлена бляшкообразующими единицами с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от $0,2 \pm 0,1$ до $0,6 \pm 0,1$ мм. Определено, что изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса восьми бактериофагов на 42 культурах составил 100%. Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Providencia* spp. Изученные свойства протейных бактериофагов позволяют систематизировать биологические особенности каждого из выделенных клонов и произвести отбор двух фагов – Pr-4 и Pr-8 серии УГСХА – с целью последующего конструирования фагового биопрепарата для диагностики, профилактики и лечения дисбиозов, возбудителем которых являются протей в смешанной или монокультурах.

Введение

Роль бактериофага как средства диагностики, терапии и профилактики инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных и птицы в настоящее время невелика [1]. С каждым годом повышается значимость бактериофагов как высоко специфического диагностического средства, позволяющего надежно дифференцировать возбудителей бактериальных видов, а порой проводить более детальную дифференциацию отдельных типов и вариантов внутри данного вида [2]. 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 [3]. Как указывали В.Д. Тимаков и Д.М. Гольдфарб, идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при помощи бактериофагов является очень тонким методом, превосходящим по чувствительности все иммунологические реакции [4].

Поэтому все большее число исследователей предпочитают обращаться к бактериофагам, как универсальному механизму, способному инактивировать специфичные бактерии и применять этот биологический феномен в качестве средства диа-

гностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний [5]. Конструирование биопрепаратов на основе бактериофагов требует изучения их основных биологических свойств с целью получения высокоэффективного средства с широким спектром действия.

Протеи выделяются при маститах, эндометритах, раневых инфекциях и других воспалительных процессах у различных видов животных. Особое внимание заслуживают работы по изучению этиологической роли протей в возникновении желудочно-кишечных заболеваний новорожденных животных [6-11]. Разработка фаговых биопрепаратов для диагностики, лечения и профилактики дисбиозов, возбудителем которых являются протей, включает этап изучения их основных биологических свойств.

Цель работы – изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, выделенных из патологического материала и объектов санитарного надзора животноводческих и птицеводческих помещений в хозяйствах, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести эксперименты по определению

Показатели некоторых биологических свойств изучаемых протейных бактериофагов

№	Название бактериофага и индикаторной культуры	Название биологического свойства		
		Литическая активность (по методу агаровых слоев по A. Gratia), БОЕ /мл	Литическая активность (по методу Аппельмана)	Диаметр негативных колоний фага, мм
1	Pr - 1 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 1</i>	2,3±0,1x10 ⁸	10 ⁻⁷	0,3±0,1
2	Pr - 2 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 3</i>	1,7±0,2x10 ⁷	10 ⁻⁶	0,2±0,1
3	Pr - 3 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 13</i>	4,5±0,1x10 ⁸	10 ⁻⁷	0,4±0,1
4	Pr - 4 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 16</i>	1,9±0,1x10 ⁹	10 ⁻⁸	0,4±0,1
5	Pr - 5 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 33</i>	5,6±0,3x10 ⁷	10 ⁻⁶	0,3±0,1
6	Pr - 6 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 28</i>	1,3±0,2x10 ⁹	10 ⁻⁸	0,5±0,1
7	Pr - 7 УГСХА / <i>Pr. vulgaris 38</i>	4,2±0,2x10 ⁶	10 ⁻⁵	0,6±0,1
8	Pr - 8 УГСХА / <i>Pr. mirabilis 12</i>	3,9±0,1x10 ⁸	10 ⁻⁷	0,3±0,1

показателей литической активности бактериофагов *Proteus*;

- изучить морфологию негативных колоний бактериофагов *Proteus*;

- установить спектр литического действия бактериофагов *Proteus*;

- определить специфичность действия бактериофагов *Proteus*.

Объекты и методы исследований

Бактериофаги рода *Proteus*: Pr-1 УГСХА, Pr-2 УГСХА, Pr-3 УГСХА, Pr-4 УГСХА, Pr-5 УГСХА, Pr-6 УГСХА, Pr-7 УГСХА, Pr-8 УГСХА, выделенные и селекционированные авторами в 2017 году. В работе было использовано 42 штамма бактерий рода *Proteus*; 69 штаммов бактерий *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, которые были получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Все культуры характеризовались типовыми свойствами и хранились при температуре 2–4 °С в столбике 0,7 % мясопептонного агара (МПА). В исследованиях использовали 20±2 часовые культуры микроорганизмов (температура культивирования 36±1°С).

В исследованиях применяли питательный бульон ТУ 10-02-02-789-176-94 (ООО «БиоКомпас-С», РФ), питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ТУ 9398-020-78095326-2006 (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), генцианвиолет 548-62-9 (ЗАО «Вектон», РФ).

Изучение биологических свойств бактериофагов проводили при температуре культивирования 36±1°С, время термостатирования посевов 18±2 часа, по отработанным ранее методикам [12-15]. Литическую активность фагов (концентрацию фаговых частиц) определяли методом агаровых слоев – по A. Gratia – в двухслойном мясопептонном агаре и методом разведений (титрования) – по Аппельману [16].

Результаты исследований

Наиболее важным показателем из спектра изучаемых биологических свойств фагов можно считать его титр, то есть максимальное его разведение, при котором бактериофаг способен лизировать гомологичную микробную культуру. Посевы последовательных разведений бактериофага с целью повышения точности эксперимента проводили трехкратно. Результаты экспериментов по определению литической активности бактериофагов рода *Proteus*, представленные в таблице 1, позволяют нам утверждать, что изучаемые фаги характеризуются различными показателями титра в диапазоне 4,2±0,2x10⁶ до 1,9±0,1x10⁹ БОЕ/мл (по методу A. Gratia) и от 10⁻⁵ до 10⁻⁸ (по Аппельману).

При визуальном осмотре результатов посева чашечным методом по методике A. Gratia изучалась морфология негативных колоний протейных фагов. Этот показатель является основным биологическим признаком клонов бактериофагов, позволяющим проводить скрининговые (отборочные) дифференциальные тесты бактериальных патогенов на газоне индикаторной культуры. Установлено, что при высева на МПА бактериофаги *Proteus* образуют блестящие единицы с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от 0,2±0,1 до 0,6±0,1 мм (таблица 1 и рисунок 1).

С целью определения спектра литического действия изучаемых протейных бактериофагов были проведены исследования на 42 штаммах бактерий рода *Proteus*. Культуры для исследований готовили стандартным образом, исследования проводили методом «стекающая капля» по Отто. Полученные данные были сгруппированы в таблице 2 и свидетельствуют о том, что изучаемые бактериофаги рода *Proteus* активно работают в широком диапазоне изучаемых культур. Совокупный процент лизиса у 8 бактериофагов составляет 100 %.

Важнейшей характеристикой бактериофага, который может входить в состав биопрепарата для диагностики, лечения и профилактики заболе-

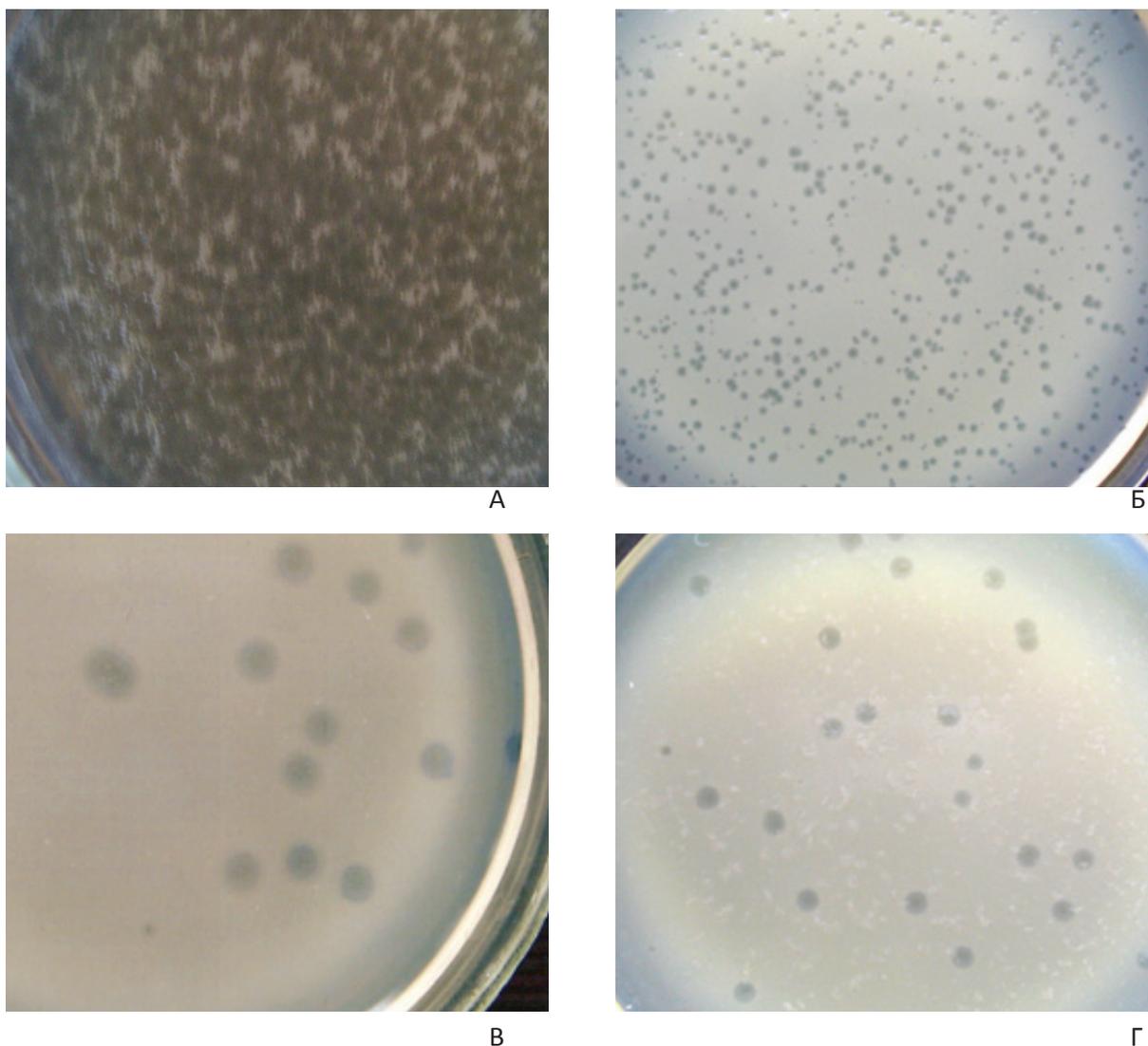


Рис. 1 – Морфология негативных колоний фага: А) Pr – 4 УГСХА, Б) Pr – 2 УГСХА; В) Pr – 6 УГСХА; Г) Pr – 3 УГСХА (культивирование при температуре 36 ± 1 °С в течение 18 ± 2 часов)

ваний, возбудителем которых являются бактерии рода *Proteus*, является его специфичность в пределах вида. Результаты исследований, которые проводились по методу «стекающая капля» по Отто, отражены в таблице 3. Экспериментально установлено, что на чашках Петри, засеянных газонами культур *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, зон лизиса, при нанесении бактериофагов *Proteus*, при визуальном осмотре обнаружено не было. Особое внимание было уделено специфичности бактериофагов по отношению к бактериям *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, которые ранее составляли с бактериями рода *Proteus* одну группу [3].

Выводы

Были изучены основные биологические свойства бактериофагов рода *Proteus* (Pr-1 УГСХА, Pr-2 УГСХА, Pr-3 УГСХА, Pr-4 УГСХА, Pr-5 УГСХА, Pr-6 УГ-

СХА Pr-7 УГСХА, Pr-8 УГСХА), выделенных авторами в 2017 году из патологического материала и объектов санитарного надзора животноводческих и птицеводческих помещений из хозяйств, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям.

В экспериментах установлено, что изучаемые протейные бактериофаги характеризуются различными показателями литической активности в диапазоне от $4,2\pm 0,2 \times 10^6$ до $1,9\pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл (по методу А. Gratia) и от 10^{-5} до 10^{-8} (по методу Аппельмана). Наиболее высокие титры имели фаги Pr-4 УГСХА ($1,9\pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^{-8}) и Pr-8 серии УГСХА ($1,3\pm 0,2 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^{-8}).

Морфология негативных колоний изучаемых фагов представлена бляшкообразующими единицами с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от $0,2\pm 0,1$ до $0,6\pm 0,1$ мм.

Определено, что изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают

Спектр литического действия бактериофагов рода *Proteus*

№	Название культуры	Наличие зоны лизиса на газоне анализируемой культуры при нанесении фага							
		Pr – 1 УГСХА	Pr – 2 УГСХА	Pr – 3 УГСХА	Pr – 4 УГСХА	Pr – 5 УГСХА	Pr – 6 УГСХА	Pr – 7 УГСХА	Pr – 8 УГСХА
1.	<i>Proteus mirabilis</i> Тр. 1 Культ.	+	-	-	-	-	+	-	-
2.	<i>Proteus mirabilis</i> 95/98	-	+	+	-	-	+	+	-
3.	<i>Proteus mirabilis</i> 31/82	-	+	-	+	++	-	-	++
4.	<i>Proteus mirabilis</i> 14 3"П"	+	-	-	-	+	++	-	-
5.	<i>Proteus mirabilis</i> 4/2 3"П"	+	-	-	+	-	-	-	-
6.	<i>Proteus mirabilis</i> 31/32	-	+	-	-	-	+	++	-
7.	<i>Proteus mirabilis</i> 523	-	++	-	-	-	+	-	+
8.	<i>Proteus mirabilis</i> 491	+	-	-	-	-	+	-	-
9.	<i>Proteus vulgaris</i> Куз.с/х Тр. 1 цел.	-	-	+	++	-	-	-	+
10.	<i>Proteus vulgaris</i> Куз. с/х фекал	-	-	-	-	+	+	-	-
11.	<i>Proteus vulgaris</i> 82/98	-	-	-	++	-	-	-	-
12.	<i>Proteus vulgaris</i> 3"П" №3	-	-	-	-	-	++	-	-
13.	<i>Proteus vulgaris</i> 85/98	-	+	+	-	-	+	-	++
14.	<i>Proteus vulgaris</i> 55A	++	+	-	-	-	+	+	-
15.	<i>Proteus vulgaris</i> 261	-	+	-	-	-	+	-	-
16.	<i>Proteus vulgaris</i> 1	-	-	-	-	++	+	-	-
17.	<i>Proteus vulgaris</i> 2	-	-	-	+	-	-	-	-
18.	<i>Proteus vulgaris</i> 3	-	-	+	-	+	+	++	-
19.	<i>Proteus vulgaris</i> 4	-	-	-	++	-	-	-	-
20.	<i>Proteus vulgaris</i> 5	-	+	-	-	-	+	-	-
21.	<i>Proteus vulgaris</i> 6	-	-	++	-	-	+	-	-
22.	<i>Proteus vulgaris</i> 7	-	+	-	-	+	+	-	+
23.	<i>Proteus vulgaris</i> 8	-	-	-	++	-	-	+	-
24.	<i>Proteus vulgaris</i> 9	-	+	-	-	++	++	-	-
25.	<i>Proteus vulgaris</i> 10	++	-	-	-	-	+	-	-
26.	<i>Proteus mirabilis</i> 1	-	-	-	+	-	-	++	-
27.	<i>Proteus vulgaris</i> 1 УГСХА	+	+	-	-	-	++	-	-
28.	<i>Proteus vulgaris</i> 3 УГСХА	-	+	-	++	-	-	-	-
29.	<i>Proteus mirabilis</i> 12 УГСХА	-	-	-	-	+	+	-	+
30.	<i>Proteus vulgaris</i> 13 УГСХА	+	-	-	+	-	-	-	+
31.	<i>Proteus vulgaris</i> 16 УГСХА	-	-	+	+	-	-	++	-
32.	<i>Proteus mirabilis</i> 18 УГСХА	-	-	-	-	++	+	-	-
33.	<i>Proteus vulgaris</i> 21 УГСХА	-	-	-	+	-	-	-	-
34.	<i>Proteus mirabilis</i> 24 УГСХА	+	-	-	+	-	-	+	-
35.	<i>Proteus mirabilis</i> 25 УГСХА	-	+	-	+	-	-	+	-
36.	<i>Proteus vulgaris</i> 28 УГСХА	-	++	-	+	-	-	-	+
37.	<i>Proteus vulgaris</i> 32 УГСХА	+	+	+	-	-	+	-	+
38.	<i>Proteus vulgaris</i> 33 УГСХА	+	+	+	-	+	-	-	+
39.	<i>Proteus mirabilis</i> 36 УГСХА	-	+	+	-	+	-	-	+
40.	<i>Proteus mirabilis</i> 37 УГСХА	-	-	+	++	++	-	-	-
41.	<i>Proteus vulgaris</i> 38 УГСХА	-	-	-	+	-	+	+	-
42.	<i>Proteus mirabilis</i> 40 УГСХА	+	-	-	+	-	+	-	-
Количество лизируемых культур		12	17	10	18	12	24	10	11
Совокупный процент лизиса		100							

Примечание:

«+» - отмечена зона лизиса по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры;

«++» - отмечена зона лизиса по ходу стекания капли бактериофага с проявлением стерильных пятен на газоне культуры.

Специфичность протейных бактериофагов

№ \ №	Род культур, нанесенных газонном на чашки Петри / количество использованных в эксперименте штаммов	Наличие зоны лизиса на газоне анализируемой культуры при нанесении фага							
		Pr – 1 УГСХА	Pr – 2 УГСХА	Pr – 3 УГСХА	Pr – 4 УГСХА	Pr – 5 УГСХА	Pr – 6 УГСХА	Pr – 7 УГСХА	Pr – 8 УГСХА
1	<i>Escherichia spp.</i> / 5 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
2	<i>Citrobacter spp.</i> / 12 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
3	<i>Enterobacter spp.</i> / 4 штамма	Отсутствие зон лизиса							
4	<i>Morganella spp.</i> / 13 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
5	<i>Klebsiella spp.</i> / 8 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
6	<i>Salmonella spp.</i> / 5 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
7	<i>Yersinia spp.</i> / 4 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
8	<i>Providencia spp.</i> / 9 штаммов	Отсутствие зон лизиса							
9	<i>Staphylococcus spp.</i> / 2 штамма	Отсутствие зон лизиса							
10	<i>Streptococcus spp.</i> / 2 штамма	Отсутствие зон лизиса							
11	<i>Bacillus spp.</i> / 3 штамма	Отсутствие зон лизиса							
12	<i>Pseudomonas spp.</i> / 2 штамма	Отсутствие зон лизиса							

перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса восьми бактериофагов на 42 культурах составил 100%.

Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры: *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Providencia spp.*

Изученные свойства протейных фагов позволяют систематизировать биологические особенности каждого из выделенных клонов вирулентных бактериофагов и произвести отбор двух фагов – Pr-4 и Pr-8 серии УГСХА – с целью последующего конструирования фагового биопрепарата для диагностики, профилактики и лечения дисбиозов, возбудителем которых являются протей в смешанной или монокультурах.

Исследования проводятся при поддержке государства в лице ФГБУ «Российский фонд фундаментальных исследований» по научному проекту «Геномика и биология кандидатных бактериофагов для терапии энтеробактериальных инфекций в ветеринарной медицине» №16-44-732038/16 от 03.11.2016 г.

Библиографический список

1. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных / С.Н. Золотухин. – Ульяновск: Копиринг, 2004. – 130с.
2. Критерии отбора бактериальных штаммов и бактериофагов для формирования производственной коллекции, специфически лизирующих бактерии родов: *Klebsiella*, *Echerichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* / Е.Н. Сятчихина, П.А. Набатников, С.А. Коровкин, А.В. Катлинский, Г.М. Игнатьев // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. – 2016. – Том 16, № 2 (58). – С.90-95.
3. Феоктистова, Наталья Александровна. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения: дис. ...канд. биологических наук: 03.00.07, 03.00.23 / Н.А.Феоктистова. – Саратов, 2006. –166с.
3. Тимаков, В.Д. Реакция нарастания титра фага (РНФ) / В.Д. Тимаков, Д.М. Гольдфарб. – М: Медгиз, 1962. –71с.
4. Золотухин, Сергей Николаевич. Создание и разработка схем применения диагностических био-

препаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: дис. ... д-ра биологических наук: 03.00.07, 03.00.23 / С.Н. Золотухин. – Ульяновск, 2007. –341с.

5. Влияние микробного фактора на возникновение скрытого эндометрита у коров / Л.Г. Войтенко, Т.И. Лапина, И.А. Головань, Д.И. Шилин // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. - 2015. - № 1. - С. 23-25.

6. О действии подкислителей на микрофлору желудочно-кишечного тракта телят / О.Ж. Хапцева, З.Ю. Хапцев, Е.А. Фауст, О.С. Ларионова, А.А. Щербаков // Научная жизнь. - 2015. - № 2. - С. 103-109.

7. Формирование кишечного микробиоценоза у телят с синдромом гипотрофии в молочный период / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Д.В. Федосов, Т.Е. Ерина, Ю.Н. Алехин // Сельскохозяйственная биология. - 2014. - № 2. - С. 105-111.

8. Сравнительная возрастная динамика становления микробиоценоза слепой кишки кур и перепелов / М.В. Каминская, О.М. Стефанышин, Г.И. Нечай, Н.И. Борецкая, С.В. Гураль, И.Н. Попык, Н.И. Цепко, В.В. Литвин // Биология животных. - 2014. – Том 16, № 4. - С. 50-58.

9. Эпидемиология, клиника и лабораторная диагностика бактериальных и вирусных диарей / В.Б. Сбойчаков, С.М. Захаренко, Ю.П. Финогеев, В.Ф. Крумгольц // Лечение и профилактика. - 2012. - № 3. - С. 77-81.

10. Лукин, О.А. Особенности диагностики протозооза среди новорожденных телят / О.А. Лукин, О.В. Поворова // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – № 3 (23). - 2012. – С. 34-36.

11. Юдина, М.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерий вида *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Н.А. Феокти-

стова // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. - С. 197-211.

12. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. - С. 171-185.

13. Васильев, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств протейных бактериофагов, разработка метода фагоиндикации / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных. Материалы международной научно-практической конфе-

ренции. – Покров, 2008. - С. 253-256.

14. Бактериофаги рода *Proteus* и их практическое применение в лабораторной практике / С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, Д.А. Васильев, И.Г. Швиденко, А.В. Алешкин // Материалы VII ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – Москва, 2015. - С. 132.

15. Изучение некоторых биологических свойств выделенных фагов бактерий рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова, А.С. Мелехин, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Современное развитие АПК: региональный опыт, проблемы, перспективы. Материалы всероссийской научно-практической конференции. – Ульяновск, 2005. - С. 176-179.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES OF PROTEUS GENUS

Feoktistova N.A., Vasiliev D.A., Zolotukhin S.N.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU
432017, Ulyanovsk, Noviy Venets bld., 1;
8 (8422) 55-95-47, E-mail: feokna@yandex.ru

Keywords: *Proteus*, bacteriophages, biological properties, lysis, culture

The article describes results of the studies on biological properties of bacteriophages of *Proteus* genus. Basic biological properties of *Proteus* phages such as Pr-1, Pr-2, Pr-3, Pr-4, Pr-5, Pr-6 Pr-7, Pr-8 UGSKHA series were studied, the above phages were isolated from pathological material and objects of sanitary supervision of livestock and poultry farms, where gastrointestinal diseases were found in 2017. It is stated that the studied *Proteus* bacteriophages are characterized by different indices of lytic activity in the range of from $4,2 \pm 0,2 \times 10^6$ to $1,9 \pm 0,1 \times 10^9$ PFU / ml (by method of A. Gratia) and from 10^5 to 10^8 (by method of Appelman). The morphology of the negative colonies of phages is represented by plaque-forming units with a clear edge and a transparent center of various diameters ranging from $0,2 \pm 0,1$ to $0,6 \pm 0,1$ mm. It is determined that the studied *Proteus* bacteriophages are specific within the genus, they have excellent lysis within the species of *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis*. The cumulative percentage of lysis of eight bacteriophages in 42 cultures was 100%. *Proteus* phages are strictly specific within the genus and they do not lyse such cultures as, *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Providencia* spp. The studied properties of *Proteus* bacteriophages allow to systematize biological features of each of the isolated clones and make selection of the two phages - Pr-4 and Pr-8 series UGSKHA for subsequent construction of phage biological product for the diagnosis, prevention and treatment of dysbiosis, the causative agent of which is *Proteus* of mixed or monoculture.

Bibliography

1. Zolotukhin, S.N. Insufficiently studied enterobacteria and their role in animal pathology / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk: Copyring, 2004. - P.29-37 (130p).
2. Syatchikhina, E.N. Criteria for selection of bacterial strains and bacteriophages for formation of a production collection, specifically lysing bacteria of the genera: *Klebsiella*, *Echerichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* / E.N. Syatchikhina, P.A. Nabatnikov, S.A. Korovkin, A.V. Katlinskiy, G.M. Ignatiev // Biocompounds. Preventive measures. Diagnostics. Treatment. - 2016. - V. 16. - № 2 (58). - P.90-95.
3. Feoktistova Natalia Alexandrovna. Isolation and study of biological properties of bacteriophages of *Proteus* genus, the elaboration of the biocompounds on their basis and development of practical application parameters: dissertation of Candidate of Biology: 03.00.07, 03.00.23 / N.A. Feoktistova. - Saratov, 2006. - P.7 (166p).
4. Timakov, V.D. The reaction of increasing the phage titer / V.D. Timakov, D.M. Goldfarb. - M; Medgiz, 1962. - p. 65 (71p).
5. Zolotukhin Sergey Nikolaevich. Creation and development of schemes for application of diagnostic biocompounds based on isolated and studied bacteriophages of enterobacteria: dissertation of Doctor of Biology: 03.00.07, 03.00.23 / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk, 2007. - p. 8-9 (341p).
6. Influence of microbial factor on the latent endometritis of cows / L.G. Voitenko, T.I. Lapina, I.A. Golovan, D.I. Shilin // Izvestiya of Samara State Agricultural Academy. - 2015. - № 1. - P. 23-25.
7. Khaptseva, O.Zh. On the effect of acidulants on the microflora of the gastrointestinal tract of calves / O.Zh. Khaptseva, Z.Yu. Khaptsev, E.A. Faust, O.S. Larionova, A.A. Shcherbakov // Scientific life. - 2015. - № 2. - P. 103-109.
8. Shakhov, A.G. Formation of intestinal microbiocenosis of calves with a hypotrophy syndrome in the milk period / A.G. Shakhov, L.Yu. Sashnina, D.V. Fedosov, T.E. Erina, Yu.N. Alekhin // Agricultural Biology. - 2014. - № 2. - P. 105-111.
9. Comparative age dynamics of microbiocenosis formation of chicken and quail caecum / M.V. Kaminskaya, O.M. Stephanyshin, G.I. Nechay, N.I. Boretskaya, S.V. Gural, I.N. Popyk, N.I. Tsepko, V.V. Litvin // Biology of animals. - 2014. - V. 16. - № 4. - P. 50-58.
10. Epidemiology, clinic and laboratory diagnostics of bacterial and viral diarrhea / V.B. Sboychakov, S.M. Zakharenko, Yu.P. Finogeev, V.F. Krummholtz // Treatment and preventive measures. - 2012. - № 3. - P. 77-81.
11. Lukin, O.A. Proteosis diagnostics peculiarities among newborn calves / O.A. Lukin, O.V. Povorova // Vestnik of Bashkir State Agrarian University. - № 3 (23). - 2012. - P. 34-36.
12. Yudina, M.A. Isolation and study of basic biological properties of bacteriophages of *Bacillus mesentericus* species bacteria / M.A. Yudina, N.A. Feoktistova // Bacteriophages of microorganisms significant for animals, plants and humans. - Ulyanovsk, 2013. - P. 197-211. (315 p).
13. Feoktistova, N.A. Isolation and study of basic biological properties of bacteriophages of *Proteus* genus bacteria / N.A. Feoktistova // Bacteriophages of microorganisms significant for animals, plants and humans. - Ulyanovsk, 2013. - P. 171-185 (315p).
14. Vasiliev, D.A. Isolation and study of biological properties of *Proteus* bacteriophages, development of phage identification method / D.A. Vasiliev, N.A. Feoktistova, S.N. Zolotukhin // Problems of prevention and control of especially dangerous, exotic and insufficiently studied infectious diseases of animals: materials of the international scientific and practical conference. - Pokrov, 2008. - P. 253-256.
15. Zolotukhin, S.N. Bacteriophages of *Proteus* genus and their practical application in laboratory practice / S.N. Zolotukhin, N.A. Feoktistova, M.A. Lydina, D.A. Vasiliev, I.G. Shvidenko, A.V. Aleshkin // Materials of the VII annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with international participation. - Moscow, 2015. - P. 132.
16. Feoktistova, N.A. Study of some biological properties of isolated phages of *Proteus* genus bacteria / N.A. Feoktistova, A.S. Melekhin, S.N. Zolotukhin, D.A. Vasiliev // Modern development of agribusiness: regional experience, problems, prospects: materials of All-Russian science and practical conference. - Ulyanovsk, 2005. - P. 176-179.