

УДК 616:619

## ПОЛУЧЕНИЕ ФАГА КЛИНИЧЕСКИХ КУЛЬТУР *PS. AERUGENOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

*Шишова А.Д., студентка 3 курса факультета ветеринарной  
медицины и биотехнологии, da2307@ya.ru*

*Научный руководитель – Сверкалова Д.Г., кандидат  
биологических наук, старший преподаватель  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

**Ключевые слова:** *бактериофаги, профаги Ps.aerugenosa, индукция.*

*Статья посвящена выделению и изучению некоторых биологических свойств штаммов фагов, полученных путем индукции от клинически больных мелких домашних животных.*

Выделение новых штаммов фагов имеет большое значение для ветеринарии и медицины. В последнее время в связи с развивающейся антибиотикорезистентностью микроорганизмов, вызывающих патологические процессы у человека и животных, применение фагов в качестве биологического антимикробного агента становится наиболее актуальной.

Выделение фагов довольно трудоемкий процесс. И не все выделенные фаги подходят для поставленной цели – фаготерапии. Поэтому важно получить как можно больше исходного материала для изучения и выявления наиболее подходящих.

Цель работы – получение профагов от клинических штаммов *Ps. Aerogenosa* выделенных от больных домашних животных.

Материалы и методы исследования: метод повышения литической активности фагов В.В. Аверх (1955), метод определения тира фага Грация (1936), использовались методы, применяемые сотрудниками кафедры Микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы [1-11].

Суточные культуры *Ps.aerugenosa* высевались газоном на поверхность мясопептонного агара, обрабатывались ультрафиолетовым излучением в темной комнате в течении семи минут трехкратно с 20-минутными перерывами в 20-ть минут. Культивировались сутки при 37 С. Затем, делались смывы с поверхности чашек. Смыв фильтровали через бактериальный фильтр с диаметром пор 0,2 нм. С 0,2 фильтрата вносили в мясопептонный бульон, туда же вносилось 0,2 см суточной культу-

ры и термостатировались при 32 °С сутки. Спустя сутки субстрат с предполагаемыми фагами освобождали от бактерий тем же фильтрованием даже если видимо пробирки по мутности не отличались с контролем. С фильтратом ставился скрин-тест. При положительном тесте, проводился глубинный посев, изучался титр фага и его биологические свойства. чтобы повысить литическую активность полученных фагов, мы пассировали их на гомологичных свежевыделенных штаммах синегнойной палочки. Для этого в пробирку с бульоном (4,5 мл) добавляли 0,5 мл фаголизата и I каплю (0,1 мл) смыва культуры (10 разведения) инкубировали в термостате при температуре 37°C 3-4 часа, а затем при комнатной температуре в течение 18-20 часов.

Из двадцати штаммов полевых культур лизогенными оказались 13-ть. Свойства полученных фагов представлены в таблице 1.

**Таблица 1 – Биологические свойства профагов *Ps.aeruginosa***

| № | Штамм бактериофага | Морфология колоний                              | Проявления при пересевах                                       | Литический спектр           | Титр фага         |
|---|--------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| 1 | F.ps 1             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,1 мм в диаметре, прозрачные                | Лизирует 7 полевых культур  | $1,2 \times 10^7$ |
| 2 | F.ps 2             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Литическое действие фага проявляются не постоянно при пассажах | Лизирует 2 полевых культур  | $2,2 \times 10^2$ |
| 3 | F.ps 3             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные                | Лизирует 16 полевых культур | $1,3 \times 10^7$ |
| 4 | F.ps 4             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,3 мм в диаметре, прозрачные                | Лизирует 18 полевых культур | $1,4 \times 10^8$ |
| 5 | F.ps 5             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные                | Лизирует 16 полевых культур | $2,2 \times 10^6$ |

| №  | Штамм бактериофага | Морфология колоний                              | Проявления при пересевах                                        | Литический спектр           | Титр фага         |
|----|--------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| 6  | F.ps 6             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,1 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 13 полевых культур | $1,3 \times 10^5$ |
| 7  | F.ps 7             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 17 полевых культур | $1,2 \times 10^7$ |
| 8  | F.ps 8             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 16 полевых культур | $1,2 \times 10^7$ |
| 9  | F.ps 9             | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, мутные     | Литическое действие фага проявляются не постоянно при пассажах  | Лизирует 5 полевых культур  | $1,2 \times 10^3$ |
| 10 | F.ps 10            | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,3 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 15 полевых культур | $1,2 \times 10^5$ |
| 11 | F.ps 11            | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,3 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 17 полевых культур | $1,2 \times 10^8$ |
| 12 | F.ps 12            | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, прозрачные | Колонии мелкие до 0,3 мм в диаметре, прозрачные                 | Лизирует 14 полевых культур | $1,2 \times 10^7$ |
| 13 | F.ps 13            | Колонии мелкие до 0,2 мм в диаметре, мутные     | Литическое действие фага проявляются не постоянно при пассажах. | Лизирует 6 полевых культур  | $1,2 \times 10^5$ |

Как видно из результатов исследования, представленных в таблице, наиболее предпочтительными свойствами обладали фаги 4,7,11, так как обладают широким литическим спектром.

От 20-ти культур было получено 13 фагов. Три штамма фага обладали широкой литической активностью и высоким титром. Шесть штаммов средней литической активностью и высоким или средним титром и четыре штамма проявляли свойства умеренных фагов со слабой и нестабильной литической активностью. Таким образом, был получен био-

логический материал для дальнейшей работы по созданию комплексного бактериофага для терапии и диагностики инфекций, вызываемых *Ps.aeruginosa*.

*Библиографический список:*

1. Золотухин С.Н. Гемолитические свойства энтеробактерий, изолированных от животных при патологиях / С.Н.Золотухин, А.С.Мелехин, Ю.В.Пичугин, Д.С. Золотухин // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы I международной научно-практической конференции. 2018. С. 64-67.
2. Золотухин С.Н. Изучение биологических свойств условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из ран собак / С.Н.Золотухин, Ю.В.Пичугин, А.С.Мелехин, Д.С. Золотухин // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина. 2018. С. 44-50.
3. Золотухин С.Н. Биологические свойства энтеробактерий, выделенных при патологиях животных / С.Н.Золотухин, А.С.Мелехин, Ю.В. Пичугин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 2 (42). С. 142-147.
4. Карамышева Н.Н. Выделение фага бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans* методом индукции рентгеновским облучением / Н.Н.Карамышева, Д.А.Васильев, А.М.Семенов, Ю.В.Пичугин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 73.
5. Карамышева Н.Н. Индукция культуры бактерий *Desulfovibrio gigas* рентгеновским облучением с целью возможного получения профага / Н.Н.Карамышева, Д.А.Васильев, А.Г.Шестаков, Д.Г.Сверкалова, Ю.В.Пичугин, А.Л. Игнатов // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов: Всероссийский симпозиум с международным участием. 2014. С. 110.
6. Шевалаев Г.А. Подбор химиотерапевтических препаратов для профилактики падежа сельскохозяйственных животных от условно-патогенной микрофлоры / Г.А.Шевалаев, Ю.В.Пичугин, Д.Г. Сверкалова // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве: материалы Международной научно-практической конференции. 2013. С. 133-135.
7. Мидленко В.И. Микробиологическое обоснование применения бактери-

- офагов для лечения больных с инфекционными осложнениями в клинике травматологии и ортопедии / В.И.Мидленко, С.Н.Золотухин, Г.А.Шевалаев, И.М.Ефремов, Ю.В. Пичугин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Международной научно-практической конференции. 2013. С. 40-44.
8. Карамышева Н.Н. Выделение профага бактерий *Desulfovibrio desulfuricans* методом индукции рентгеновским облучением/ Н.Н.Карамышева, Д.А.Васильев, Ю.В.Пичугин, С.Н. Золотухин // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. 2012. Т. 1. С. 267-271.
  9. Биоиндикация *Bacillus anthracis* в пробах почвы методом постановки реакции нарастания титра фага/ С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.И. Климускин, К.В. Белова, Б.И. Шморгун, И.Г. Швиденко //Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2016. № 4 (20). С. 55-64.
  10. Molecular-genetic characteristics of bacteriophage *Bacillus cereus* FBC - 28 ugsha/ N.A. Feoktistova, D.A. Vasilev, A.V. Mastilenko, E.V. Suldina, S.N. Zolotukhin, A.L. Toigildin, I.A. Toigildina, A.V. Dozorov, V.A. Isaichev, I.L. Obukhov, B.I. Shmorgun //Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Т. 9. № 4. С. 345-354.
  11. Схема идентификации *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, В.А. Макеев, А.И. Калдыркаев, К.В. Маслюкова, А.В. Алешкин, Б.И. Шморгун // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 88.

## **OBTAINING CLINICAL CULTURES PHAGE OF *PS. AERUGENOSA* ISOLATED FROM SMALL ANIMALS**

***Shishova A.D.***

**Keywords:** *bacteriophage, prophage *Ps.aerugenosa*, induction.*

*The article is devoted to the isolation and study of some biological properties of phage strains obtained by induction from clinically ill small Pets.*