

УДК 619:617

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИОФАГА БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI* O157

Кузьмина Н.С., магистрант 3 курса обучения факультета ветеринарной медицины и биотехнологии
Научные руководители: Молофеева Н.И., кандидат биологических наук, доцент,
Мерчина С.В., кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: бактериофаги, Escherichia coli, энтерогеморрагическая, селекционированные.

Работа посвящена изучению биологических свойств фага бактерии Escherichia coli O157 и возможности их использования для идентификации искомой бактерии.

Введение. *Escherichia coli* O157 стал глобальной проблемой общественного здравоохранения и безопасностью пищевых продуктов. Несмотря на реализацию стратегий контроля, которые гарантируют безопасность различных продуктов, вспышки сохраняются, и необходимы новые альтернативы для уменьшения этого патогена вдоль пищевой цепи. Однако применение бактериофагов и их универсальность определяются их чувствительностью к физическим факторам из-за их ограниченной способности выживать в условиях различных неблагоприятных факторов окружающей среды. Для этого кандидаты бактериофага, предназначенные для использования в пищевой цепи, должны оцениваться по нескольким параметрам для оценки возможности их применения.

Бактериофаги могут предоставить альтернативные меры для борьбы с *E. coli* O157, который в настоящее время является новым пищевым патогеном, вызывающим серьезную обеспокоенность у населения.

Пищевые патогены, в том числе энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЕНЕС) O157, могут проникать из фермерской среды и продуктов питания через несколько различных переносчиков и влиять на здоровье человека.

Цель исследования: изучение некоторых биологических свойств бактериофагов вирулентных штаммов *Escherichia coli* и их использование для идентификации искомой бактерии в пищевых продуктах.

Материалы и методы исследований. В работе использован фаг из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ульяновского ГАУ, референс-штамм бактерии *Esherichia coli* O157, *E.coli* 3 штамма, *Proteus* 2 штамма, *Citrobacter* 1 штамм, *Morganella* 2 штамма, *Staphylococcus* 3 штамма.

Исследования проводились по методикам, апробированным сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновского ГАУ.

Результаты исследований и их обсуждение. Исследовались следующие свойства фагов *E.coli* O157 – морфология негативных колоний; литическая активность; специфичность действия и использование фага для индикации искомой культуры в объектах ветеринарного надзора. Морфология негативных колоний фагов изучалась при посевах фагов методом агаровых слоев. Фаг образуют негативные колонии округлые с ровными краями от 1,5 до 2,5 мм в диаметре (рис.1).



Рисунок 1 – Морфология колоний фага

Литическая активность бактериофага оценивается по его способности вызывать лизис бактериальной культуры в жидких или плотных средах и выражают это тем максимальным разведением, в котором испытуемый бактериофаг проявил своё литическое действие. Культуры бактерий *E.coli* O157:H7 для определения литической активности бактериофагов выращивали на стандартном мясо-пептонном бульоне в течение 18-20 часов.

Литическую активность бактериофага определяли по методу Аппельмана и Грация (Гольдфарб, 1961).

Литическая активность фага по Аппельману составила 10^5 , титр фага по Грация составила $2,1 \times 10^9$.

Определение видовой специфичности изучаемого бактериофага *E.coli* O157:H7 проводили на агаровых средах методом стекающая капля (метод Отто). На поверхность засеянной среды пастеровской пипеткой легким прикосновением капли наносили фаг и наклоняли, чтобы капли стекли, а затем инкубировали при температуре 37°C, оценку результатов проводили через 18-20 часов (рис.2).

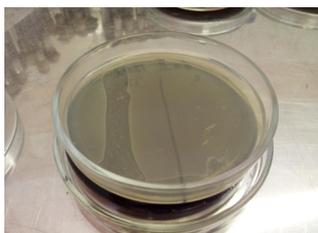


Рисунок 2 – Стекающая капля

В результате изучения специфичности бактериофагов *E.coli* O157:H7 по отношению к представителям полевых штаммов *E.coli* 3 штамма, *Proteus* 2 штамма, *Citrobacter* 1 штамм, *Morganella* 2 штамма, *Staphylococcus* 3 штамма. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Специфичность, выделенных бактериофагов

№	Штаммы	Количество штаммов	Фаг
1	<i>E.coli</i> O157	1	+
2	<i>E.coli</i>	3	-
3	<i>Proteus</i>	2	-
4	<i>Citrobacter</i>	1	-
5	<i>Staphylococcus</i>	3	-

+ - лизис культуры; - - отсутствие лизиса.

Установлено, что ни одна из испытываемых культур других видов бактерий данными фагами не лизировалась. На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что селекционированные

фаги являются специфичными по отношению к *E.coli* O157 и не активны к представителям других видов бактерий.

Заключение. Фаг образуют негативные колонии округлые с ровными краями от 1,5 до 2,5 мм в диаметре. Фаг имели титр 10^5 по Аппельману и $2,1 \times 10^9$ по Грациа, обладал выраженной специфичностью (не лизировал *E.coli* гетерологичных серогрупп, представителей родов *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Staphylococcus*) и может быть предложен для идентификации гомологичной культуры, выделенной из пищевых продуктов.

Библиографический список:

1. Молофеева Н.И. Проблема диагностики *Escherichia coli* 57:H7 /Н.И.Молофеева // 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.
2. Куклина Н.Г. Разработка метода индикации и идентификации *Aeromonas hydrophila* методом реакции нарастания титра фага / Куклина Н.Г., Молофеева Н.И. и др.// Сб.: Достижения молодых ученых в ветеринарную практику. Материалы IV Международной научной конференции, посвященной 55-летию аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ». - 2016.- С. 117-124.
3. Мерчина С.В. Качественные показатели речной рыбы при поражении описторхозом/ С.В. Мерчина, Л.П. Пульчеровская, В.В.Ахметова, А.И. Лаишевцев//Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. - 2018. - Т. 80. - № 3 (77). - С. 298-306.
4. Васильев Д.А. Разработка бактериологического метода идентификации микроорганизмов *A. hydrophila*/ Д.А. Васильев, С.В. Мерчина и др.// Сб.: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы VII Международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 196-203.
5. Элли Е.А. Ветеринарно – санитарная экспертиза молока/ Е.А.Элли, Е.А.Кудряшов, Н.И.Молофеева, С.В.Мерчина //Сб.: Студенческий научный форум - 2017 IX Международная студенческая электронная научная конференция. 2017.
6. Молофеева Н.И. Ветеринарно-санитарный контроль продуктов питания на наличие энтеропатогенных бактерий *Escherichia coli* серотипа O157/ Н.И.Молофеева, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев //Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. - 2012. - 13Т. 1. - С. 299-303

7. Феоктистова Н.А. Биологические особенности протейных бактериофагов /Н.А.Феоктистова , Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин, Сульдина Е.В., Мاستиленко А.В., Майоров П.С., Мартынова К.В., //Современные проблемы науки и образования. - 2017. - № 6. - С. 257.
8. Феоктистова Н.А. Биотехнологические параметры конструирования биопрепарата на основе фагов для индикации и идентификации *Bacillus pumilus* в пищевом сырье и продуктах питания /Н.А.Феоктистова, М.А.Лыдина и др. и др. //Современные проблемы науки и образования. – 2016. - №6. – С.518.
9. Васильев Д.А.Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Aeromonas hydrophila*/ Д.А. Васильев, А.В.Алёшкин и др.//.Естественные и технические науки.- 2017. - № 12 (114).- С. 48-53.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE BACTERIOPHAGE OF THE BACTERIA *ESCHERICHIA COLI* O157

Kuzmina N.S.

Key words: *bacteriophages, Escherichia coli, enterohemorrhagic, selected.*

The work is devoted to the study of the biological properties of the phage of the bacterium Escherichia coli O157 and the possibility of their use to identify the desired bacterium.