

ЦИТРОБАКТЕРНЫЕ БАКТЕРИОФАГИ

Капитонов Д.Н. - студент 2 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологий, dmitriykapitonov469@gmail.com

Научный руководитель - Пульчеровская Л.П., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

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

В статье представлены материалы по выделению бактериофагов *Citrobacter* из сточной воды отстойника поселка Чердаклы Ульяновской области.

Под общим названием "Бактерии группы кишечных палочек" объединяют бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, которое в соответствии с Определителем бактерий Берджи (1997) входит в группу пять "Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки" и одним из родов определяемом в объектах является *Citrobacter*.

Бактерии названного рода – 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. 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 серьезные заболевания у людей и животных. Штаммы бактерий рода *Citrobacter* проявляют высокую антибиотикоустойчивость, что сильно затрудняет лечение таких болезней [1-10].

Нами были проведены исследования по индикации и идентификации бактериофагов *Citrobacter* в сточных водах

отстойника рабочего поселка Чердаклы Ульяновской области. Выделение бактериофагов проводили по общепринятым методикам. Всего было обследовано 2 пробы сточных вод и выделено 3 штамма фагов *Citrobacter*. У выделенных фагов были изучены основные биологические свойства: морфология негативных колоний, литическая активность, диапазон литической активности, специфичность [2,5].

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

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 1×10^6 до $3,7 \times 10^9$.

Для изучения спектра литической активности, выделенных бактериофагов использовали 5 штаммов бактерий рода *Citrobacter* имеющихся в фонде кафедры. Исследования проводили методом «Стекающая капля». Опыты показали, что изученные фаги характеризуются различным спектром литической активности. [4-6] Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 -Спектр литической активности выделенных штаммов фагов

Фаги	Количество испытанных штаммов	Из них чувствительных к фагу	№ лизируемых штаммов	% лизируемых штаммов
CF-1	5	4	1,2,3,5	80
CF-2	5	4	1,3,4,5	80
CF-3	5	5	1,2,3,4,5	100

Видовая специфичность, бактериофагов широко используется в практике для идентификации бактерий. Эта их способность

определяется, прежде всего, сродством фагов к рецепторам лизируемых бактерий. Определение проводили методом «Стекающая капля» на бактериях гетерогенных родов: *Proteus* 4 штамма, *Klebsiella* 3 штамма, *Salmonella* 4 штамма, *Pseudomonas* 16 штаммов, *Morganella* 3 штамма, *Bacillus cereus* 4 штамма, *E.coli* 5 штаммов, *Enterobacter* 3 штамма, *Y.enterocolitica* 4 штамма. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Специфичность, выделенных бактериофагов

№	Вид бактерий	Количество штаммов	Штаммы исследуемых фагов		
			1	2	3
1.	<i>E.coli</i>	5	-	-	-
2.	<i>Proteus</i>	4	-	-	-
3.	<i>Y.enterocolitica</i>	4	-	-	-
4.	<i>Morganella</i>	3	-	-	-
5.	<i>Salmonella</i>	4	-	-	-
6.	<i>Klebsiella</i>	3	-	-	-
7.	<i>Pseudomonas</i>	16	-	-	-
8.	<i>Bacillus</i>	4	-	-	-
9.	<i>Enterobacter</i>	3	-	-	-

Примечания: “+” - лизис культуры; “-” - отсутствие лизиса.

Из таблицы и проведенных исследований видно, что тестируемые фаги не лизировали ни одну из испытуемых культур гетерогенных родов бактерий. На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что выделенные и селекционированные фаги являются специфичными по отношению к бактериям рода *Citrobacter* и не активны к представителям других родов 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 [7-9].

Библиографический список:

1. Пульчеровская Л.П. Методы индикации и идентификации бактерий рода *Citrobacter* в воде открытых водоемов// Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции.-Ульяновск.- 2009.- С. 87-90.

2. 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.

3. 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

4. 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

5. Бактериофаги рода *Citrobacter* /Васильев Д.А., Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. № 3 (39). С. 40.

6. 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

7. 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

8. 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.

9. 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.

10. 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.2016.T.58.№10.C.165-170.

CITROBACTER BACTERIAPHAGES

Kapitonov D.N

Keywords: *Citrobacter*, bacteria of the genus *Citrobacter*, phages, environmental objects, morphology of negative colonies, specificity, spectrum of lytic activity.

The article presents materials on the isolation of Citrobacter bacteriophages from the sewage of the settling tank of the village of Cherdakly, Ulyanovsk region.