

УДК 619:578

**ЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОФАГОВ *BACILLUS CEREUS*
LYTIC ACTIVITY BACTERIOPHAGE *BACILLUS CEREUS***

**Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин
N.A. Feoktistova, A.I. Kaldirkaev, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin**

**Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и
биотехнологии Ульяновской ГСХА**

**The research innovation centre of microbiology and biotechnology
Ulyanovsk state academy of Agriculture**

*In article results of researches on studying lytic activity bacteriophage *Bacillus cereus* are reflected.*

Литическая активность бактериофага оценивается по его способности вызывать лизис бактериальной культуры в жидких или плотных питательных средах и выражает это тем максимальным разведением, в котором испытуемый бактериофаг проявил свое литическое действие. Более точным методом оценки литической активности бактериофага является определение количества активных корпускул фага в единице объема. Однако этот показатель относительный, так как активность фага зависит от различных условий, основными из которых являются биологические особенности бактериальной клетки, которые в свою очередь зависят от физических свойств среды, ее химического состава, окружающей температуры и так далее. Поэтому активность фага всегда определяется в конкретных, стандартных условиях.

Культуры бактерий *Bacillus cereus* для определения литической активности бактериофагов выращивали на стандартном мясопептонном бульоне в течение 18 часов.

Литическую активность селекционированных бактериофагов определяли по методу Аппельмана и Грация [1].

Определение литической активности фага по методу Аппельмана [2]: в ряд пробирок из нейтрального стекла одинакового диаметра наливали по 4,5 мл бульона. В первую пробирку вносили 0,5 мл исследуемого протейного фага. Затем делали последовательные разведения, перенося отдельными пипетками из пробирки в пробирку по 0,5 мл бактериофага. Использовали 10 пробирок. Из последней пробирки 0,5 мл выливали в дезинфицирующий раствор, затем во все пробирки вносили по 0,2 мл 18-часовой индикаторной культуры. 11 и 12 пробирки являются контрольными, в первой из них находится МПБ и культура (без фага), во второй - один МПБ (контроль на стерильность). Все 12 пробирок помещали в термостат при 33 °С на 18 часов. Титр фага устанавливали по последней прозрачной пробирке ряда и выражали разведением фага.

Также литическую активность определяли методом агаровых слоев по Грация [3]. Накануне опыта по чашкам разливали 1,5 % мясопептонный агар. Перед использованием чашки подсушивали в термостате 15-20 минут. Индикаторные выращивались в условиях термостата в течение 18-20 часов при 33 °С на мясопептонном бульоне. Стерильно подготовленный 0,7 % мясопептонный агар, разлитый в пробирки по 2,5 мл, расплавляли и остужали до 46-48 °С. Исследуемый на наличие бактериофага субстрат в количестве 1,0 мл помещали в 2,5 мл 0,7 % мясопептонного агара, туда же вносили 0,2 мл индикаторной культуры. Все быстро и тщательно перемешивали вращением пробирки в ладонях и выливали на поверхность 1,5 % МПА. Смесь осторожными движениями распределяли по поверхности мясопептонного агара, затем чашки оставляли на горизонтальной

поверхности с приоткрытыми крышками на 30 минут до полного застывания агар, затем инкубировали в термостате при 33 °С в течение 18-20 часов.

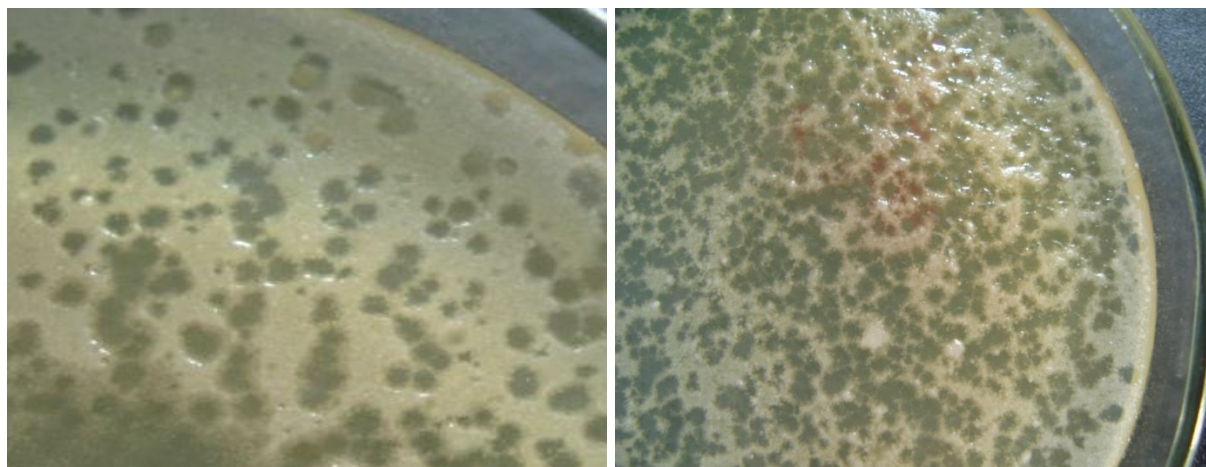


Рис. Рост бактериофагов на мясо-пептонном агаре (метод Грациа)

Результаты исследований представлены в таблице и на рисунке.

Литическая активность протейных бактериофагов по Аппельману и Грациа

№/ №	Название бактериофага	Титр по Аппельману	Титр по Грациа
1	Ф-1 УГСХА	10^{-6}	$5,0 \times 10^7$
2	Ф-2 УГСХА	10^{-7}	$4,0 \times 10^8$
3	Ф-3 УГСХА	10^{-6}	$8,6 \times 10^7$
4	Ф-4 УГСХА	10^{-8}	$1,2 \times 10^9$
5	Ф-5 УГСХА	10^{-6}	$2,8 \times 10^7$
6	Ф-6 УГСХА	10^{-8}	$2,0 \times 10^9$
7	Ф-7 УГСХА	10^{-6}	$6,4 \times 10^7$

Из данных таблицы, видно, что выделенные цереусные бактериофаги обладали разной литической активностью в диапазоне от 10^{-6} до 10^{-8} , оценивая ее по Аппельману. Максимальный титр - 10^{-8} - отмечен у бактериофагов Ф-4 УГСХА и Ф-6 УГСХА. Изученные фаги характеризовались также различными показателями литической активности, оценивая ее по методу агаровых слоев. Диапазон показателей составил от $2,8 \times 10^7$ до $2,0 \times 10^9$. Максимальный титр был зафиксирован у бактериофагов Ф-4 УГСХА и Ф-6 УГСХА и составил $1,2 \times 10^9$ и $2,0 \times 10^9$ соответственно. Фаги с высокими показателями литической активности необходимо в дальнейшем подвергнуть более глубокому изучению, так как этот показатель чрезвычайно важен при создании экспериментального биопрепарата на основе бактериофагов *Vacillus cereus*.

Литература

1. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. – Ульяновск. – 1988. – С.45.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – С. 6-184.
3. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: Урожай, 1978. – С. 41-88.

УДК 619:578