

MICROBIOLOGICAL SUBSTANTIATION OF BACTERIOPHAGE'S TO TREATMENT OF PATIENTS WITH INFECTIOUS COMPLICATIONS IN TRAUMATOLOGY AND ORTHOPAEDICS

Midlenko V.I., Zolotukhin S.N., Shevalaev G.A., Efremov I.M., Pichugin U.V.

Key words: *bacteriophages, chronic osteomyelitis, infection of the surgical intervention*

Analysis of the microbial landscape showed that staphylococcus occupied a leading role in the development of infection of the surgical intervention in traumatological patients. Staphylococcus was obtained in 83% of t of region of s surgical intervention and in 70%of chronic osteomyelitis.

Polyvalent piobakteriofag lysed 78% of gram-positive bacteria, including multidrug-resistant strains of St. aureus.

УДК 619:578

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ *AEROMONAS HYDROPHILA*

Насибуллин И.Р., соискатель, nir72@mail.ru

Куклина Н.Г., научный сотрудник, ul_nk@mail.ru

Горшков И.Г., научный сотрудник, i.o.gun@mail.ru

*Викторов Д.А., кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник, тел. 9084775573, viktorov_da@mail.ru*

Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор, dav_ul@mail.ru

Нафеев А.А., доктор медицинских наук, nafeev@mail.ru

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Ключевые слова: *Aeromonas hydrophila, бактериофаги, диагностика, изолят фагов, литическая активность.*

*Статья посвящена методам изучения литической активности бактериофагов бактерий *Aeromonas hydrophila*, выделенных из окружающей среды в Ульяновской области. Выделенные бактериофаги проявили различную литическую активность, варьирующуюся в широких пределах.*

Введение. Литическая активность является одним из биологических свойств бактериофагов, оцениваемых при их селекции для создания диагностических биопрепаратов [1, 4, 5]. 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 свое литическое действие. Более точным методом оценки активности бактериофага является определение количества активных корпускул фага в единице объема. Активность бактериофага определяется в конкретных, стандартных условиях. Бактериофаг по отношению к одной и той же культуре, но в разных средах, так же как и при испытании его в одной среде на разных штаммах одного и того же вида бактерий, может проявлять разную литическую активность и формировать неодинаковое число

колоний на плотной среде [2, 3]. Важными условиями при изучении литического действия бактериофагов является: состав питательной среды, особенно наличие в ней ионов кальция и магния, органических кофакторов лизиса типа триптофана, концентрация агара и толщина его слоев, возраст и количество добавляемой тест-культуры, температура инкубации посевов, ее продолжительность [5].

Материалы и методы исследований. В работе были использованы: 1 референс-штамм, полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УГСХА, 14 «полевых» штаммов, выделенных нами из объектов окружающей среды, 5 штаммов бактериофагов, выделенных нами из озер и рек Ульяновской области. Культуры бактерий *Aeromonas hydrophila* для определения литической активности бактериофагов выращивали на стандартном мясо-пептоном бульоне в течение 18-24 часов. Литическую активность селекционированных бактериофагов определяли по методу Аппельмана и Грациа [1, 2, 3, 4, 5].

Метод Аппельмана.

В ряд пробирок из нейтрального стекла одинакового диаметра наливали по 4,5 мл бульона. В первую пробирку вносили 0,5 мл исследуемого бактериофага. Затем делали последовательные разведения, перенося отдельными стерильными пипетками из пробирки в пробирку по 0,5 мл бактериофага. Использовали 10 пробирок. Из последней пробирки 0,5 мл выливали в дезраствор, затем во все пробирки вносили по 0,2 мл 18-часовой бульонной индикаторной культуры. 11-я и 12-я пробирки являются контрольными, в первой из них находится бульон и культура (без фага), во второй - бульон с бактериофагом (контроль на стерильность). Все 12 пробирок помещали в термостат при 30 °С на 18 часов. Титр фага устанавливали по последней прозрачной пробирке ряда и выражали разведением фага [2, 4]. Результаты исследований представлены в таблице № 1.

Метод агаровых слоев по Грациа. Мясо-пептонный агар 1,5 % концентрации с генцианвиолетом накануне опыта разливают по чашкам Петри в количестве 25-30 мл. Чашки, прикрытые стерильной бумагой, подсушивают в термостате или под бактерицидной лампой в течении нескольких часов. Это необходимо для абсолютной сухости чашек, так малейшее их увлажнение может исказить результаты количественного изучения фага. Затем 0,7 % агар в количестве 2,5 мл, предварительно разлитый в стерильные пробирки, расплавляют и остужают до 46-47 °С. Исследуемый фаг в количестве 1,0 мл помещают в 2,5 мл 0,7 % агара, туда же помещают 0,2 мл суточной индикаторной культуры, все быстро и тщательно перемешивают вращением пробирки в ладонях и выливают на поверхность 1,5 % агара. Смесь осторожными движениями распределяют по поверхности агара, чашки для затвердения оставляют на горизонтальной поверхности на 30-40 минут, затем инкубируют в термостате в перевернутом виде в течение 18-20 часов при 30 °С. После инкубации в термостате подсчитывают количество негативных колоний и умножают полученное число на степень разведения [2, 3, 4, 5]. Результаты исследований в таблице 1.

Таблица 1 - Литической активности бактериофагов *Aeromonas hydrophila*

№	Название фага	Титр по Аппельману	Титр по Грациа
1	Фаг 43-УГСХА	10 ⁻⁸	2 x 10 ⁸
2	Фаг 1п-УГСХА	10 ⁻⁵	4 x 10 ⁶
3	Фаг 43г-УГСХА	10 ⁻⁷	3 x 10 ⁷
4	Фаг 13а-УГСХА	10 ⁻⁵	5 x 10 ⁵
5	Фаг Ahd-УГСХА	10 ⁻⁷	1 x 10 ⁸

Заключение. Из данных таблицы следует, что литическая активность бактериофагов бактерий вида *Aeromonas hydrophila* по Аппельману находится в пределах от 10^{-5} до 10^{-8} , а по Грациа от 5×10^5 до 2×10^8 фаговых корпускул в 1 мл. Максимальный титр у бактериофага 43-УГСХА: по Аппельману 10^{-8} , по Грациа 2×10^8 . Необходимо дальнейшее изучение этого бактериофага для создания биопрепарата на его основе.

Библиографический список

1. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – 2011. – 22 с.
2. Ганюшкин В. Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. Учебное пособие. – Ульяновск. 1988. – С. 12-16.
3. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – С. 14-17.
4. Золотухин С. Н. Бактериофаги *M. morganii* и их применение при желудочно-кишечных заболеваниях поросят // Автореферат дис. канд. вет. наук.- Ульяновск, 1994.
5. Ревенко И. П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: Урожай, 1978. – С. 18-21.

RESEARCH OF LYTIC ACTIVITY OF BACTERIOPHAGES AEROMONAS HYDROPHILA

*Nasibullin I.R., Kuklina N.G., Gorshkov I.G.,
Viktorov D.A., Vasilev D.A., Nafeev A.N.*

Key words: *bacteria Aeromonas hydrophila, bacteriophages, diagnosis, isolate phage lytic activity.*

The article is devoted to the methods of the study of lytic activity of bacteriophages of bacteria Aeromonas hydrophila, allocated from the environment in Ulyanovsk region. Selected bacteriophages have shown varying lytic activity that ranges widely.

УДК 619:579

О ПЕРСПЕКТИВАХ ФАГОДИАГНОСТИКИ ФЛАВОБАКТЕРИОЗОВ РЫБ

*Парамонова Н.А., аспирант, paramonnat@rambler.ru
Викторов Д.А., кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник, тел. 9084775573, viktorov_da@mail.ru
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор, dav_ul@mail.ru
Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор
тел. 9272703480, fvt.zol@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»*

Ключевые слова: *Flavobacterium psychrophilum, бактериальная холодноводная болезнь рыб, диагностика, лечение, профилактика, бактериофаги.*

В работе приведён обзор литературных данных отечественных и зарубежных авто-