

of the environment. The prophages weren't highlighted by the method of induction. 16 phages were allocated from environmental objects.

УДК 619:576

## ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ РОДА *PROVIDENCIA*

*Барт Н. Г.*, ассистент, тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: [bart\\_1967@mail.ru](mailto:bart_1967@mail.ru)

*Золотухин С. Н.*, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: [fym.zol@yandex.ru](mailto:fym.zol@yandex.ru)

*Васильев Д. А.*, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: [dav\\_ul@mail.ru](mailto:dav_ul@mail.ru)

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

**Ключевые слова:** Бактериофаги, *Providencia*, литическая активность, терморезистентность, специфичность.

В данной статье представлены результаты работы по выделению и изучению некоторых биологических свойств бактериофагов *Providencia*. В результате исследований были изучены: литическая активность, терморезистентность и специфичность.

Бактерии рода *Providencia* широко распространены в природе, их выделяют из воды, почвы, фекалий и мочи животных и человека [4].

Некоторые штаммы, вероятно, входят в состав нормальной микрофлоры кишечника, однако среди них встречаются и патогенные варианты, способные вызывать вспышки гастроэнтеритов, токсикоинфекций мочевых инфекций у детей и взрослых людей, раневые послеоперационных инфекций, желудочно-кишечных заболеваний у молодняка животных [5].

Эффективность лечебных мероприятий во многом зависит от своевременности диагностики болезни, поэтому совершенствованию методов лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых указанными микроорганизмами, является актуальной проблемой.

При постановке диагноза бактериологическим методом на заболевания, причиной которых являются представители рода *Providencia*, существует ряд трудностей. Одна из них состоит в том, что основой идентификации этих бактерий являются их биохимические свойства. Трудоемкость и длительность изучения ферментативных свойств не позволяют быстро и точно идентифицировать названные микроорганизмы.

В связи с этим возникла необходимость в поиске альтернативных методов лабораторной диагностики, которые были бы менее трудоемкими, более быстрыми и доступными для лабораторий любого уровня. Одним из таких методов является фагодиагностика [1- 3, 5-8].

Поэтому целью наших исследований явилось изыскание активных бактериофагов, лизирующих патогенные штаммы бактерий рода *Providencia*.

### **Материал и методы исследования.**

Источником для выделения бактериофагов служили сточные воды взятые из животноводческих помещений разных хозяйств Ульяновской и Самарской областей и больниц города Ульяновска.

В качестве индикаторных культур были использованы 26 патогенных штаммов рода *Providencia*, полученные из музея кафедры и выделенные нами из патологического материала и объектов внешней среды.

В основу метода для поиска фагов положена схема, предложенная Грация [1-3]. Ис-

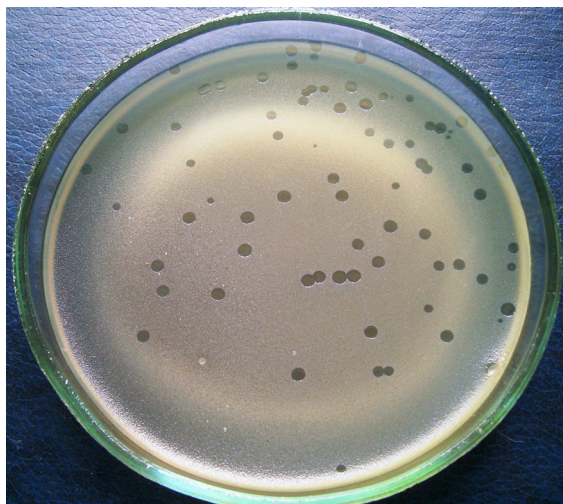
следуемый материал (сточные воды) засеивали с бактериями *Providencia* на МПБ. Бульон инкубировали при 37°C в течение 14-18 часов, затем фильтровали через бумажные фильтры. Полученный фильтрат подогревали при 60°C в течение 30 минут для инактивации сопутствующей микрофлоры. Наличие фага в фильтрате выявляли при его посеве на плотные питательные среды (1,5% мясопептонный агар) методом агаровых слоев.

Селекцию штаммов фагов производили методом пассирования штаммов на индикаторных культурах с последующим клонированием однородных негативных колоний, типичной для каждого изолята.

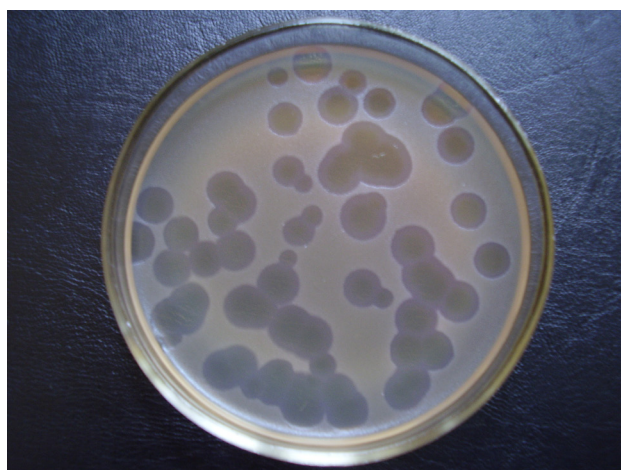
Активность выделенных фагов определяли по методам Грациа и Аппельмана [1- 3].

#### **Результаты и выводы исследования**

В результате проведенных исследований нами было выделено 16 термостабильных изолята бактериофагов, образующих прозрачные колонии различного диаметра от 1,0 до 5,0 мм (рис.1) или стерильные пятна в виде зон лизиса, диаметром от 5,0 до 9,0 мм (рис.2). Литическая активность выделенных фагов по методу Аппельмана составляет от  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$ , по методу Грациа – от  $2,1 \times 10^8$  до  $1,2 \times 10^{11}$  фаговых корпускул в 1 мл среды.



**Рис.1-** Негативные колонии бактериофагов рода *Providencia* (штамм фага F-67 УГСХА)



**Рис.2 -** Негативные колонии бактериофагов рода *Providencia* (штамм фага F-87 УГСХА)

Изучение специфичности двух бактериофагов (F-67 УГСХА, F-87 УГСХА), имеющих высокую активность и широкий диапазон литического действия проводили по отношению к

представителям других родов семейства Enterobacteriaceae: *Escherichia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Enterobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, а также родов других семейств: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. на плотном питательном агаре методом нанесения капель фагов на газон исследуемой культуры [1- 3].

Для этого на поверхность МПА в чашках Петри пипеткой наносили 3 – 4 капли 18 часовой бульонной культуры исследуемых микроорганизмов. Затем равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания на 15 – 20 минут. После чего, дно чашки маркером разделили на два сектора: на первый сектор засеянного агара, пипеткой легким прикосновением капли, наносили исследуемый фаг; на второй - по центру в качестве контроля наносили стерильный МПБ. Чашку наклоняли, чтобы капли стекли, а затем инкубировали при температуре 37°C, оценку результатов проводили через 24 часа.

В результате проведенных исследований было установлено, что селекционированные фаги неактивны по отношению к представителям бактерий других родов и семейств, то есть явились специфичными для бактерий гомологичного рода.

Таким образом, нами было выделено и селекционировано 16 термостабильных изолятов фагов, активных в отношении бактерий вида *Providencia rettgeri* (табл.1).

**Таблица 2 - Литическая активность бактериофагов рода *Providencia***

№ пп	Название фага	Индикаторная культура	Активность фагов	
			по Аппельману	по Грациа
1	F-67 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-9</sup>	1 x 10 <sup>11</sup>
2	F-87 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10 <sup>-8</sup>	1,5 x 10 <sup>10</sup>
3	F-3 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-8</sup>	7 x 10 <sup>9</sup>
4	F-4 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10 <sup>-7</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>
5	F-5 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10 <sup>-8</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>
6	F-6 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-8</sup>	1,1 x 10 <sup>9</sup>
7	F-7 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10 <sup>-8</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>
8	F-8 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10 <sup>-8</sup>	7 x 10 <sup>9</sup>
9	F-9 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10 <sup>-8</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>
10	F-10 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-6</sup>	4 x 10 <sup>7</sup>
11	F-11 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-8</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>
12	F-12 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> Д1	10 <sup>-8</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>
13	F-13 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> K1	10 <sup>-8</sup>	2,5 x 10 <sup>9</sup>
14	F-14 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> K1	10 <sup>-8</sup>	2,5 x 10 <sup>9</sup>
15	F-15 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10 <sup>-8</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>
16	F-16 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10 <sup>-8</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>

Были отобраны два специфичных штамма фагов с наиболее выраженными биологическими свойствами, которые позволяют использовать их для изготовления диагностических биопрепаратов.

**Библиографический список**

1. Адамс М. Бактериофаги (перевод с английского) // - М., - 1961. -521С.
2. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии // Учебное пособие – Ульяновск. – 1988. – С.45.
3. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия.// -М.: Медгиз. -1961. – С.297.
4. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных. - 125 с., Ульяновск., -2004.
5. Золотухин С.Н., Каврук Л.С., Васильев Д.А. Смешанная кишечная инфекция телят

и поросят, вызываемая патогенными энтеробактериями. – Ульяновск. – 2005. – С.48-51.

6. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: «Урожай», 1978. –С.20-21.

## CHARACTERISTICS OF BACTERIOPHAGES OF GENUS PROVIDENCIA

*Bart N.G., Zolotukhin S.N., Vasilev D.A.*

**Key words:** *bacteriophages, Providencia, lytic activity, thermoresistance, specificity.*

*This article presents the results of the work on the allocation and study of some biological properties of bacteriophages Providencia. As a result of research were studied: lytic activity, thermoresistance and specificity.*

УДК 578.81:579.67

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ И СЕЛЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

*Васильева Ю.Б. , кандидат ветеринарных наук, доцент  
8(8422) 55-95-47, vet\_yulua@mail.ru*

*Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор  
8(8422) 55-95-47, dav\_ul@mail.ru*

*Семанина Е.Н. , научный сотрудник НИИЦМиБ ФГБОУ ВПО  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»*

**Ключевые слова:** *Bordetella bronchiseptica, выделение фагов, свойства бактериофагов*

*В статье освещён вопрос по разработке методов выделения бактериофагов, активных в отношении *Bordetella bronchiseptica*. Приведены результаты собственных научных исследований биологических свойств выделенных бактериофагов: морфология негативных колоний, литическая активность, спектр литического действия, специфичность действия, температурная устойчивость, устойчивость к действию хлороформа и изменение литической активности при хранении.*

**Введение.** В настоящее время отечественные и зарубежные исследователи особое внимание уделяют диагностике малоизученных инфекционных заболеваний животных и людей, характеризующихся затяжным течением, а нередко и летальным исходом. К таким инфекциям относится бордетеллёз - коклюшеподобное заболевание собак, кошек и других домашних и сельскохозяйственных животных, возбудитель которого, *Bordetella bronchiseptica*, может вызывать и у людей респираторные заболевания по типу ОРВИ [2,8,10].

Учёными НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи охарактеризованы бактериофаги микроорганизмов рода *Bordetella*, выделенные из бактерий коллекции ВОЗ и клинических штаммов, бактериофаги ВРР-1, ВМР-1 и ВІР-1 *B.bronchiseptica*. Эти данные использованы для разработки тест-систем для идентификации ДНК возбудителя коклюша и его фазовых вариантов с помощью полимеразной цепной реакции. Метод рекомендуется для диагностики коклюша у детей с симптомами затяжного кашля, а также выявления атипичных, бессимптомных форм заболе-