

6. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – 299 с.
7. Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий. – М.: Наука, 1968 – 170 с.
8. Ackermann H.-W., DuBow M.S., Gershman M. Taxonomic changes in tailed of enterobacteria // Archives of virology. – 1997. – № 142. – P. 1381 – 1390.

BASIC BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE ISOLATED BACTERIA BACTERIOPHAGES KIND KLEBSIELLA

Liashenko E.A., Vasilyev D.A., Zolotukhin S.N.

Keywords: *biological properties, bacteriophages, bacteria of the genus Klebsiella*

Learn the basic biological properties of bacteriophages, bacteria of the genus Klebsiella.

The results of the study were selected from two high bacteriophage lytic activity and a wide range of lytic activity, strictly specific bacteriophages K-10 and K-81 for practical use.

УДК 579.842.23:578.1:616-092:57:612.015.2

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФАГОВ ПАТОГЕННЫХ ИЕРСИНИЙ: YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS И YERSINIA ENTEROCOLITICA

*Македонова Л.Д., кандидат медицинских наук, тел. 8(863)240-27-03,
e-mail: plague@aaanet.ru*

*Кудрякова Т.А., доктор медицинских наук, Тел. 8 (863)240-27-03,
e-mail: plague@aaanet.ru*

Качкина Г.В., Тел. 8(863)240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

Гаевская Н.Е., Тел. 8(863)240-27-03, e-mail: gaevskaya.nata@mail.ru

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Ключевые слова: *бактериофаги Y.pseudotuberculosis, Y.enterocolitica, обнаружение, свойства*

Подобраны 4 индикаторных псевдотуберкулезных и 5 кишечной иерсиниозных штаммов, при применении которых выделены 12 псевдотуберкулезных и 9 кишечной иерсиниозных фагов. При идентификации бактериофагов установлена специфичность антигенного строения, различия в морфологии негативных колоний и фаговых частиц, по диапазону литической активности. Чувствительность к фагам может быть использована в лабораторной диагностике штаммов Y.pseudotuberculosis и Y.enterocolitica.

Введение. Заболевания, вызываемые патогенными иерсиниями, в последние годы занимают важное место среди других острых кишечных инфекций. Ежегодно в России регистрируются в основном в организованных детских коллективах вспышки псевдотуберкулеза. Существенно возросло значение *Y.enterocolitica* в возникновении гастроинтестинальной инфекции [1, 2]. Сложность идентификации и дифференциации инфекций, вызванных этими микроорганизмами, связана с фенотипической и генотипической близостью возбудителей. По-

этому лабораторная диагностика иерсиниозов с использованием специфических бактериофагов в последние годы привлекает все большее внимание микробиологов [3, 4]. Накопление данных о новых псевдотуберкулезных и кишечной иерсиниозных фагах, изучение их биологических свойств не теряет своей актуальности.

Целью настоящей работы явилось выделение и идентификация новых псевдотуберкулезных и кишечной иерсиниозных бактериофагов из штаммов различных О-сероваров.

Материалы и методы исследований. В экспериментах использовали 161 штамм псевдотуберкулезного микроба О1-О5 сероваров и 227 штаммов *Y. enterocolitica* сероваров 1-38, выделенных в различные годы и полученных из музея института. Специфичность свежевыделенных фагов оценивали на 44 штаммах различных представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Исследовали также пробы сточных вод г. Ростова – на – Дону на наличие кишечной иерсиниозных бактериофагов, которые выявляли в надосадочных жидкостях суточных бульонных культур *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* и пробах сточных вод, инактивированных хлороформом, двухслойным методом по Грациа. В качестве индикаторов испытывали каждый из исследуемых штаммов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Биологические свойства изучали по общепринятым методам [5]. Литическую активность исследовали постановкой прямой пробы с фагами [5]. Специфические антифаговые сыворотки получали путем внутривенной иммунизации кроликов препаратами свежесделанных фагов с различной морфологией корпускул в возрастающих дозах. В качестве питательных сред использовали 0,7% и 1,5% агар, бульон Хоттингера и 1,5% эритрит агар (для обнаружения псевдотуберкулезных фагов), рН всех сред 7,2.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проделанной работы установлено, что эффективными индикаторными свойствами для выделения 12-ти псевдотуберкулезных фагов из гомологичных культур О1, О3, О4, О5 сероваров обладали следующие штаммы: 1362 (О1 серовара), 310, 5344 (О3 серовара), 10368 (О4 серовара, культура депонирована в Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» под № КМ 207). Из штаммов *Y. enterocolitica* в качестве индикаторных отобраны следующие: *Y. enterocolitica* 2012 (депонирован в Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» под № КМ 206) и 5507 (О3 серовара), 10152 (О5 серовара), 5517 (О10 серовара) и 5528 (О18 серовара), использование которых позволило изолировать 7 фагов из штаммов наиболее часто встречающихся О-сероваров *Y. enterocolitica* (О1, О3, О5, О12). Из проб сточных вод выделено 2 фага.

Свежесделанные псевдотуберкулезные фаги имели сходное строение фаговых корпускул и относились к III морфологической группе по классификации А.С.Тихоненко [6]. Диаметр негативных колоний составлял 4-6 мм. Фаги полностью нейтрализовались антифаговой сывороткой к псевдотуберкулезным фагам I серотипа и не давали перекрестных реакций с антифаговыми сыворотками к псевдотуберкулезным фагам II-III серотипов и чумным фагам I-IV серотипов. Псевдотуберкулезные бактериофаги обладали широким спектром литической активности, лизируя 50-100% штаммов *Y. pseudotuberculosis*, а также взятые в опыт штаммы *E. coli*, *Sh. dysenteriae*, *S. paratyphi* и 2,6-20,5% штаммов *Y. enterocolitica*. Изучение диапазона действия выделенных псевдотуберкулезных фагов на штаммах *Y. pseudotuberculosis* разных О-сероваров показало, что они отличаются друг от друга (табл.1). Однако избирательной активности фагов в отношении псевдотуберкулезных штаммов определенных О - серогрупп не отмечено.

Изученные фаги *Y. enterocolitica* характеризовались разнообразием биологических свойств по строению вирионов, антигенной структуре, спектру литической активности. Морфологическая структура исследованных фагов *Y. enterocolitica* была представлена III, IV, V группами по классификации А.С.Тихоненко. Кишечной иерсиниозные фаги имели 3 типа не-

гативных колоний: 1) точечные, мутные и полупрозрачные; 2) мутные, диаметром около 1мм; 3) крупные мутные с ореолом, диаметром 3-4мм. Выявлено 3 серологических типа фагов *Y.enterocolitica*, не дающие перекрестных реакций. Не отмечено антигенного родства между псевдотуберкулезными и кишечной иерсиниозными бактериофагами.

Результаты, полученные при изучении спектра литической активности 9-ти фагов *Y.enterocolitica*, выявили специфичность 7 из них. Они не лизировали представителей других видов семейства *Enterobacteriaceae*. Два фага проявляли активность в отношении некоторых штаммов *Shigella*, *Salmonella* и *E.coli*. Диапазон литической активности кишечной иерсиниозных фагов в отношении гомологичных штаммов колебался от 3,08 до 31,7%. Исключение составляли фаг 19 (из сточных вод), который лизировал 66,07% гомологичных штаммов и фаг 5423, активный в отношении 0,88% исследованных штаммов *Y.enterocolitica*.

Таблица 1 - Лизабельность штаммов *Y.pseudotuberculosis* разных сероваров псевдотуберкулезными фагами

С/ры изучен. штаммов <i>Y.pseudotuberculosis</i>	Кол-во изуч. штам-мов	Лизировано бактериофагами																	
		Из шт. I с/вара				Из шт. III с/вара		Из штаммов IV серовара										Из шт. V серовара	
		2344		2391		12310		1996		274		10364		10369		10358		1984	
		Л	%	Л	%	Л	%	Л	%	Л	%	Л	%	Л	%	Л	%	Л	%
I с/в	33	33	100	33	100	21	63,6	32	96,9	32	96,9	33	100	32	96,9	32	96,9	19	57,5
II с/в	8	8	100	8	100	8	100	7	87,5	8	100	7	87,5	7	87,5	7	87,5	6	75,0
III с/в	13	13	100	13	100	13	100	13	100	13	100	13	100	13	100	13	100	13	100
IV с/в	20	20	100	20	100	19	95	19	95	19	95	19	95	19	95	19	95	19	95
V с/в	2	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100

Примечание: Л – лизабельность штаммов, с/в - серовар

Заключение. Таким образом, с помощью специально подобранных четырех индикаторных штаммов *Y. pseudotuberculosis* и пяти *Y.enterocolitica* удалось обнаружить 12 новых псевдотуберкулезных и 9 кишечной иерсиниозных бактериофагов. Коллекция бактериофагов и тест-штаммов патогенных для человека иерсиний представлена в базе данных (свидетельство о государственной регистрации № 2012620588 от 19 июня 2012 года). Выделенные псевдотуберкулезные фаги не отличались друг от друга по морфологии негативных колоний на газонах соответствующих индикаторных культур и имели одинаковое строение корпускул. Фаги относились к 1 серологической группе псевдотуберкулезных фагов. Отмечена способность фагов *Y. pseudotuberculosis* одновременно лизировать чумные и псевдотуберкулезные культуры, а также отдельных представителей семейства *Enterobacteriaceae*.

Фаги *Y.enterocolitica* формировали на газонах чувствительных культур 3 типа негативных колоний, отличающихся степенью прозрачности и диаметром. По структуре вирионов они относились к трем морфогруппам и по антигенным свойствам составили 3 серогруппы. Отмечены индивидуальные особенности псевдотуберкулезных и кишечной иерсиниозных фагов в диапазоне литической активности, которые могут быть использованы в лабораторной диагностике.

Библиографический список

1. Ющук Н.Д. Иерсиниозы /Н.Д.Ющук, Г.Я.Ценева, К.Н.Кареткина и др. –М., 2003, 206с.
2. Профилактика инфекционных болезней. Кишечные инфекции. Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза /Ю.В.Демина, Г.Я.Ценева, Е.А.Воскресенская и др. //Методические указания. – М., 2009, 66с.
3. Проценко С.Л. Биологические свойства возбудителя кишечного иерсиниоза из очагов чумы Кавказа и Закавказья //Автореф. дисс...канд. мед. наук. – Саратов, 1990.
4. Дарсавелидзе М.А., Капанадзе Ж.С., Чанишвили Т.Г. Биологические свойства бактериофагов, активных в отношении *Yersinia enterocolitica*//Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 2004, №6, с.10-13.
5. Адамс М. Бактериофаги: Пер. с англ. – М., 1961, 527с.
6. Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий. – М., 1968, 89с.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF PHAGES PATHOGENIC *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* AND *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Makedonskaya L.D, Kudryakova T.A., Kachkina G.V., Gaevskaya N.E.

Key words: *bacteriophages *Y.pseudotuberculosis*, *Y.enterocolitica*, detection, properties*
*4 indicator pseudo-tubercular and 5 kischechnoiyersiniozny strains are selected at application of which 12 pseudo-tubercular and 9 kischechnoiyersiniozny phages are allocated. At identification of bacteriophages specificity of an anti-gene structure, distinction in morphology of negative colonies and fagovy particles, on the range of lytic activity is established. Sensitivity to phages can be used in laboratory diagnostics of strains *Y.pseudotuberculosis* u *Y.enterocolitica*.*

УДК 619:579

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОВ *ESCHERICHIA COLI* O157 ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Молофеева Н.И., кандидат биологических наук, доцент
8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор
8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru
Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор
тел. 8(8422) 55-95-47, fym.zol@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Ключевые слова: *Бактерии, бактериофаги, энтеробактерии, литическая активность, специфичность.*

*Работа посвящена выделению и изучению основных биологических свойств бактериофагов бактерий *Escherichia coli* O157. При проведении исследований авторами выделено 3 штамма фага и изучены их биологические свойства.*