

23. Васильев Д.А. Разработка методов фагоидентификации и фагодетекции бактерий *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Т.А. Гринева, Е.А. Ляшенко / Фундаментальные исследования. 2014. № 5-1. С. 55-58.
24. Шестаков А.Г. Соотношение бактериофагов в биопрепарате полифага / А.Г. Шестаков, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин / Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2013. - С. 205-210.

STUDYING OF MORPHOLOGY OF NEGATIVE COLONIES OF THE ALLOCATED BACTERIOPHAGES OF *PROTEUS VULGARIS* AND *PROTEUS MIRABILIS*

Shkalikova M. V., Feoktistova N. A.

Keywords: morphology, bacteriophages, negative colonies, strains of phages, sort Proteus bacteria.

Search of new environmentally friendly preparations - alternatives to antibiotics is a serious problem for modern medicine. Use of the bacteriophages possessing liziruyushchy action on the concrete causative agent of a disease is a medical panacea in therapy. Bacteriophages are ecologically pure, simple in application and have no, unlike antibiotics, side effects.

УДК 619:616.98

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ПРОТЕЙНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ

Шкаликова М.В., 4 курс, факультет ветеринарной медицины
Научный руководитель: к.б.н., доцент Феокистова Н.А.
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: бактериофаги, протейный фаговый биопрепарат, спектр литической активности, бульонная культура.

Создаваемый нами протейный фаговый биопрепарат будет лизировать только бактерии своего рода и будет абсолютно безопасен для других видов микроорганизмов, в отличие от традиционной формы лечения протейной инфекции при помощи антибиотиков.

Целью наших исследований является изучение спектра литической активности выделенных бактериофагов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*.

Материалы и методы. В работе были использованы как гомологичные, так и гетерологичные штаммы бактерий. В качестве гомологичных бактерий использовали 40 штаммов бактерии рода *Proteus*. 14 музейных штаммов из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА: *P. mirabilis* Тр.1 Культ., *P.*

mirabilis 95/98, *P. mirabilis* 31/82, *P. mirabilis* №14 3”П”, *P. mirabilis* 4/2 3“П”, *P. mirabilis* 31/32, *P. mirabilis* 523, *P. mirabilis* 491, *P. vulgaris* Куз.с/х Тр.1 сел, *P. vulgaris* Куз. с/х фекал., *P. vulgaris* 82/98, *P. vulgaris* 3”П” №3, *P.vulgaris* 85/98, *P. vulgaris* 55 А. 14 музейных штаммов из лаборатории санитарной микробиологии ВНИИВСГиЭ: 4 *P. mirabilis* 4, *P. mirabilis* Тр. 13, *P. mirabilis* “3П”, *P. mirabilis* 9, *P. vulgaris* Тр. 12, *P. vulgaris* Куз. Тр. 5, *P. vulgaris* 71, *P. vulgaris* 8, *P. vulgaris* 25, *P. vulgaris* 61, *P. vulgaris* 18, *P. vulgaris* 16, *P. vulgaris* 13, *P. vulgaris* 34. 12 штаммов выделены из объектов ветеринарного надзора и патологического материала: *P. vulgaris* 261, *P. vulgaris* 1, *P. vulgaris* 2, *P. vulgaris* 3, *P. vulgaris* 4, *P. vulgaris* 5, *P. vulgaris* 6, *P. vulgaris* 7, *P. vulgaris* 8, *P. vulgaris* 9, *P. vulgaris* 10, *P. mirabilis* 1.

Изучение биологических свойств выделенных фагов бактерий рода *Proteus*.

Спектр литической активности является одной из основных характеристик диагностического препарата фага. Определение спектра литической активности проводили методом нанесения фага на газон бактериальной культуры (Адамс, 1961; Ганюшкин, 1988).

Для изучения спектра литической активности селекционированных нами 22 изолятов фагов было использовано 12 полевых и 14 штаммов бактерий рода *Proteus* из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской ГСХА бактерий рода *Proteus*.

На поверхность МПА в чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 3-4 капли 18-ти часовой бульонной культуры исследуемых микроорганизмов. Затем равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания на 15-20 минут. Чашку делили бактериологическим карандашом на два сектора. На поверхность засеянной среды в первом секторе пастеровской пипеткой легким прикосновением капли наносили исследуемый фаг и наклоняли, чтобы капля стекла, на второй сектор аналогичным образом наносили МПБ (для контроля), затем инкубировали при температуре 37 °С, оценку результатов проводили через 16 часов.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Заключение: в результате исследований изучено чрезвычайно важное биологическое свойство выделенных протейных фагов – спектр литической активности.

Полученные результаты показали, что бактериофагов, лизирующих только один штамм, нами обнаружено не было, а максимальное количество штаммов (по 17) лизировали 2 протейных фага П-16 УГСХА и П-261 УГСХА. Процент лизиса фагов составил 86,5 %. Все выделенные фаги обладали перекрестным лизисом, в ходе исследований нам не удалось выделить протейные бактериофаги, обладающие видовой принадлежностью. Учитывая вышеизложенные результаты, фаги П-16 УГСХА и П-261 УГСХА могут быть выбраны для конструирования диагностического препарата.

Таблица 1 – Спектр литической активности выделенных фагов бактерий рода *Proteus*

№ п/п	Фаги	Кол-во испытанных штаммов	Из них чувствительны к фагу	Процент лизируемых штаммов
1	П-1 УГСХА	26	13	50
2	П-2 УГСХА	26	5	19
3	П-3 УГСХА	26	5	19
4	П-4 УГСХА	26	8	31
5	П-5 УГСХА	26	13	50
6	П-6 УГСХА	26	12	45
7	П-7 УГСХА	26	7	30
8	П-8 УГСХА	26	10	38
9	П-9 УГСХА	26	8	31
10	П-10 УГСХА	26	9	35
11	П-11 УГСХА	26	11	42
12	П-12 УГСХА	26	12	46
13	П-261 УГСХА	26	17	65
14	П-14 УГСХА	26	8	31
15	П-15 УГСХА	26	10	38
16	П-16 УГСХА	26	17	65
17	П-17 УГСХА	26	6	23
18	П-18 УГСХА	26	9	35
19	П-19 УГСХА	26	3	12
20	П-20 УГСХА	26	7	30
21	П-21 УГСХА	26	8	31
22	П-22 УГСХА	26	10	38
	Процент лизиса			86,5

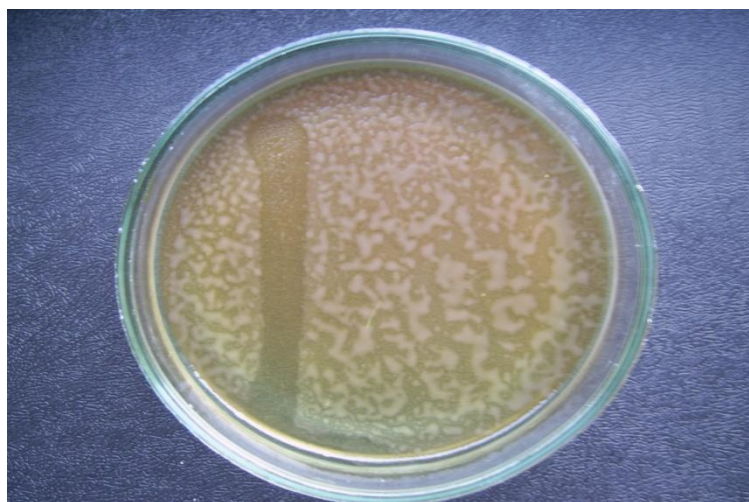


Рис. 1. Зона лизиса на газоне культуры *P. vulgaris* 261 при нанесении фага П-261 УГСХА

Библиографический список

1. Барт, Н.Г. Бактериофаги Providencia / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения», Ульяновск, 2009. – с.140-146.

2. Барт, Н.Г. Биологические свойства бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования», Ульяновск, 2009. – С.6-8.
3. Барт, Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / Материалы V Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». – Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. – Т. II. – С.12-16.
4. Викторов, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Д.А. Васильев // Ветеринария и кормление. – Москва: «ВЕТКОРМ», 2012. – №5. – С. 8-9.
5. Викторов, Д.А. Усовершенствование методов диагностики псевдомонозов рыб / Д.А. Викторов, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев, А.М. Артамонов, С.Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013. – Т. 1. – Ульяновск, 2013. – С. 162-164.
6. Викторов, Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов. – 2011. – 22 с.
7. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 233-235.
8. Васильев, Д.А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Bordetella bronchiseptica*, выделенных методом индукции / Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, С.Н. Золотухин, И.Н. Хайруллин, Ю.Б. Васильева, А.Г. Шестаков // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - №1 (13). - С. 59–62.
9. Выделение бактериофагов *Listeria monocytogenes* методом индукции/ Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов, И.Г. Швиденко // Вестник УГСХА. – 2013. - №1(21) – С. 45-49
10. Выделение и характеристика бактериофагов *Listeria monocytogenes* / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов// Материалы международной научно-практической конференции "Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности". - Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013, т.2 - С. 130-133
11. Изучение биологических свойств бактериофагов *Listeria* / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, М.А. Имамов // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве: Материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов, 2013. – С. 125 – 127.
12. Перспективы применения бактериофагов *Listeria monocytogenes* / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов [и др.] // Животноводство России в условиях ВТО: от фундаментальных исследований до высокопродуктивного производства: Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, 9-11 апреля 2013. – Орел: Изд-во Орел ГАУ, 2013. – С. 181 – 184.
13. Фагоиндикация бактерий рода *Listeria* с целью мониторинга почвенных экосистем / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев [и др.] // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: Тезисы докладов Международной конференции, Москва 4-6 февраля 2013 г. - М.: Бинوم, 2013. – С. 97.
14. Васильева, Ю.Б. Конструирование биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетеллезной инфекции // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). – С. 25-29.

15. Васильева, Ю.Б. Разработка методов фагодиагностики бордетеллэза // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №2 (22). - С.51-56.
16. Васильева, Ю.Б. Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики бордетеллэза // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9751>.
17. Васильева, Ю.Б. Особенности биологии бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/110-9927>.
18. Васильева, Ю.Б. Новая тест-система идентификации возбудителя бордетеллэза – *Bordetella bronchiseptica* // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – Ч.1.
19. Васильева, Ю.Б. Разработка методов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 3 (23). - С. 46-51.
20. Васильева, Ю.Б. Фаги бактерий *Bordetella bronchiseptica*: свойства и перспективы применения // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №3 (23).- С. 44-49.
21. Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека / Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Алёшкин А.В., Барт Н.Г., Богданов И.И., Васильева Ю.Б., Викторов Д.А., Золотухин Д.С., Журавская Н.П., Калдыркаев А.И., Карамышева Н.Н., Ковалева Е.Н., Коритняк Б.М., Ляшенко Е.А., Молофеева Н.И., Пожарникова Е.Н., Пульчеровская Л.П., Семанина Е.Н., Феоктистова Н.А., Шестаков А.Г. и др. - Ульяновск, 2013.
22. Васильев Д.А. Бактериофаги рода *Vacillus* / Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Золотухин С.Н., Алешкин А.В. / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия; НИИЦМиБ. Ульяновск, 2013.
23. Васильев Д.А. Разработка методов фагоидентификации и фагодетекции бактерий *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Т.А. Гринева, Е.А. Ляшенко / Фундаментальные исследования. 2014. № 5-1. С. 55-58.
24. Шестаков А.Г. Соотношение бактериофагов в биопреparate полифага / А.Г. Шестаков, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин / Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2013. - С. 205-210.

STUDYING OF THE RANGE OF LYTIC ACTIVITY OF THE ALLOCATED BACTERIOPHAGES OF *PROTEUS VULGARIS* AND *PROTEUS MIRABILIS*

Shkalikova M. V., Feoktistova N. A.

Keywords: bacteriophages, proteyny fagovy biological product, range of lytic activity, bulyonny culture.

The proteyny fagovy biological product created by us will be лизировать only bacteria some kind of and will be absolutely safe for other species of microorganisms, unlike a traditional form of treatment of a proteyny infection by means of antibiotics.