

ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ РОДА PROVIDENCIA

Н.Г.Барт, кандидат биологических наук, старший преподаватель
Тел. 8(8422) 55-95-47, bart1967@mail.ru

С.Н.Золотухин, доктор биологических наук, профессор
Тел. 8(8422) 55-95-47, fvm.zol@yandex.ru

Д.А.Васильев, доктор биологических наук, профессор
Тел. 8(8422) 55-95-47, 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.

Введение. 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].

Материалы и методы исследований.

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]. Исследуемый 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 Грация и Аппельмана [1-3].

Результаты исследований и их обсуждение.

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 Грация – от $2,1 \times 10^8$ до $1,2 \times 10^{11}$ фаговых корпускул в 1 мл среды.

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*

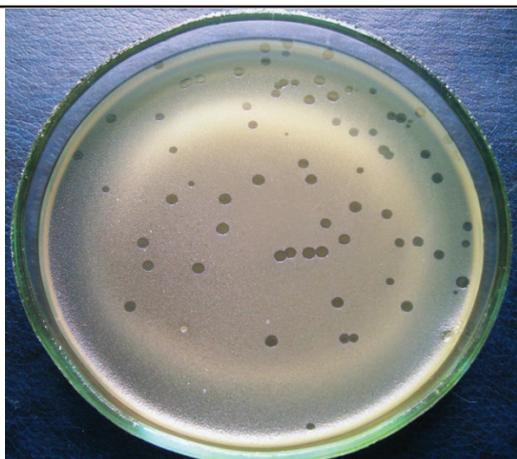


Рисунок 1 - Негативные колонии бактериофагов рода *Providencia* (штамм фага F-67 УГСХА)

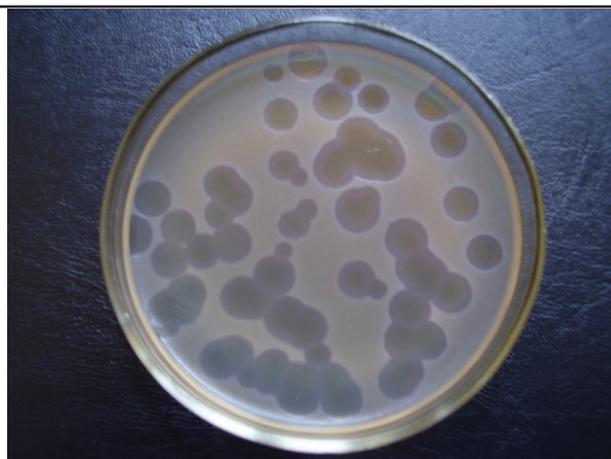


Рисунок 2 - Негативные колонии бактериофагов рода *Providencia* (штамм фага F-87 УГСХА)

Таблица 1 - 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^{-9}	1×10^{11}
2	F-87 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10^{-8}	$1,5 \times 10^{10}$
3	F-3 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10^{-8}	7×10^9
4	F-4 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10^{-7}	5×10^8
5	F-5 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10^{-8}	1×10^9
6	F-6 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10^{-8}	$1,1 \times 10^9$
7	F-7 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10^{-8}	1×10^9
8	F-8 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> C87	10^{-8}	7×10^9
9	F-9 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10^{-8}	2×10^9
10	F-10 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10^{-6}	4×10^7
11	F-11 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10^{-8}	1×10^9
12	F-12 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> Д1	10^{-8}	2×10^9
13	F-13 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> K1	10^{-8}	$2,5 \times 10^9$
14	F-14 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> K1	10^{-8}	$2,5 \times 10^9$
15	F-15 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> H67	10^{-8}	8×10^9
16	F-16 УГСХА	<i>P.rettgeri</i> M45	10^{-8}	5×10^9

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.

Заключение. 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). 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.

DESCRIPTION OF BACTERIOPHAGES PROVIDENCIA

Bart N.G., Zolotukhin S.N., Vasilyev D.A.

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

The summary: In given article results of work on allocation and studying of some biological properties of bacteriophages Providencia are presented. As a result of researches have been studied: lytic an active-nost, thermoresistance and specificity.

УДК 619:579.62

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ БОРДЕТЕЛЛЕЗА

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

А.В. Мастиленко, кандидат биологических наук, старший преподаватель
8(8422) 55-95-47, mav0608@mail.ru

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

С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор
тел. 8(8422) 55-95-47, fvm.zol@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Ключевые слова: *инфекции животных, бордетеллэз, Bordetella bronchiseptica, методы детекции, лабораторная диагностика, идентификация*

В статье представлены результаты разработки тест-системы индикации и идентификации бактерий вида B.bronchiseptica. Тест-система включает наборы для бактериологических, иммунологических, молекулярно-генетических и фагоидентификационных исследований. Использование тест-системы позволяет значительно сократить время исследования по сравнению с традиционными методами.

Введение. Бактерии вида *Bordetella bronchiseptica* являются этиологическим агентом респираторных заболеваний у многих видов животных и людей. Длительное время дискуссионными были вопросы, связанные с патогенностью возбудителя и

его способностью самостоятельно вызывать инфекционный процесс. В настоящее время бордетеллэз признан нозологической единицей, как высококонтагиозное инфекционное заболевание животных, характеризующееся сухим, болезненным кашлем,