

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ *PROVIDENCIA RUSTIGIANII*

Барт Н.Г., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-47, bart1967@mail.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: микроорганизмы, патогенность, провиденсии, идентификация, вирулентность, бактериология, индикация.

*Работа посвящена изучению биологических свойств бактериофагов вида *Providencia rustigianii*, полученных из различных источников медицинских учреждений. Проведению идентификации бактерий при помощи бактериофагов.*

Введение. Из-за их разнообразной среды обитания представители рода *Providencia* и родственных родов имеют множество возможных путей заражения человека. Способы передачи могут включать внутрибольничные источники, такие как больничная пища и оборудование, внутривенные растворы и контакт с людьми через загрязненные поверхности кожи. Долговременные постоянные катетеры являются основным местом колонизации и инфицирования *Providencia rustigianii* [1].

Бактериофаги (фаги) стали альтернативным методом лечения бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Фаги – самые распространённые биологические объекты на планете. По оценкам, их численность примерно в 10 раз превышает численность бактерий, а размер популяции оценивается в $4,8 \times 10^{31}$ фаговых частиц. За последние десятилетия было выделено и секвенировано более 3100 фагов, инфицирующих различные типы бактерий-хозяев, что способствовало лучшему пониманию их экологии, генетического разнообразия и эволюционных связей.

Бактериофаги являются естественными антибактериальными средствами, способными регулировать популяцию бактерий путем индукции бактериального лизиса. Они активны в отношении грамположительных, а также грамотрицательных бактерий [2].

Материалы и методы исследований. В этом исследовании использовались бактериальные штаммы *Providencia rustigianii*. А также образцы медицинского материала и сточные воды медицинских учреждений (28 проб) для выделения бактериофагов *Providencia rustigianii*.

При проведении исследований были использованы штаммы бактерий, полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ, а также выделенные из объектов медицинских учреждений.

Открытие сто лет назад бактериофагов, вирусов, поражающих бактерии, побудило ученых предложить использовать фаги для лечения заболеваний, вызванных бактериальными патогенами. Фаговая терапия, отброшенная с открытием антибиотиков, вновь стала применяться в качестве стратегии лечения устойчивых к антибиотикам бактерий. Мы предлагаем выделить фаг, способный инфицировать бактерии *Providencia rustigianii* [3].

Образцы сточных вод и смывы с медицинских объектов были собраны из медицинских учреждений с использованием стерильных бутылок с крышками объемом 1000 мл в асептических условиях. Клинический материал из послеоперационных ран, мочи. Образцы были переданы на кафедру микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ при температуре 4°C.

Применялись различные питательные среды, реактивы и оборудование.

Результаты исследований и их обсуждение. Выделение и демонстрация фагов в образце сточных вод проводились в соответствии с методами, описанными Спенсером и Армоном. Готовили пять миллилитров бульона Мюллера-Хинтона, автоклавировали и инокулировали соответствующим микроорганизмом. Пробирки инкубировали при 37°C в течение ночи. Пять миллилитров ночной культуры добавляли к 150 мл бульона Мюллера-Хинтона в стерильной встряхиваемой колбе вместе с каждым из различных бактериальных штаммов в очищенных изолятах и встряхивали в течение 2-3 часов. Двести миллилитров неочищенных сточных вод фильтровали через обычный бумажный фильтр для удаления мусора и добавляли к содержимому колбы (150 + 5 мл). Эту смесь инкубировали при 25°C в

инкубаторе-шейкере (Orbitek) в течение 2-3 ч при 140 об/мин, а затем инкубировали в течение ночи без встряхивания. Эту смесь центрифугировали (Hettich U32R) при 5000 об/мин в течение 30 мин и фильтровали через мембранный фильтр Millipore (0,22 мкм). Фильтрат собирали в стерильные темные склянки. Планшеты инкубировали при 25°C в течение ночи и исследовали на появление четких зон лизиса (бляшек).

Из 28 проб объектов медицинских учреждений было выделено и селекционировано 6 бактериофагов, активных в отношении бактерий рода *Providencia rustigianii*.

Выделенные фаги имеют литическую активность от 10^{-5} до 10^{-10} по Аппельману и от $4,2 \times 10^7 \pm 0,1 \times 10^7$ до $8,3 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$ фаговых корпускул в 1 мл по Грациа. Бактериофаг *Providencia rustigianii* был способен полностью лизировать бактерию-хозяина. Это указывало на широкий диапазон специфичности бактериофага *Providencia rustigianii* к хозяину. Ясно, что некоторые бактериофаги продуктивно инфицируют ряд видов бактерий. Они обладали строгой специфичностью: не лизировали бактерии других родов и семейств.

Специфичность дает понять присутствует или отсутствует литическая активность бактериофагов в отношении гетерологичных бактерий [4].

Разработанные биотехнологические параметры изготовления и контроля бактериофагов *Providencia rustigianii* позволяют получить специфический диагностический препарат штаммов А-1 УлГАУ и В-1 УлГАУ с высокой литической активностью. Разработанная схема с применением фагов А-1 УлГАУ и В-1 УлГАУ, позволяет выделить и идентифицировать бактерии рода *Providencia rustigianii* за 48 часов.

Заключение. Для изготовления диагностического фагового биопрепарата-диагностикума предлагаются в качестве производственных штаммы фагов А-1 УлГАУ, В-1 УлГАУ. Индикацию и идентификацию бактерий рода *Providencia* следует проводить с помощью набора диагностических фагов согласно «Методическим рекомендациям по ускоренной индикации и идентификации энтеробактерий рода *Providencia* в патологическом материале, кормах, пищевом сырье и объектах внешней среды с применением специфических бактериофагов А-1 УлГАУ, В-1 УлГАУ (разработанных

на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветсанэкспертизы).

Материалы научных исследований по выделению и изучению биологических свойств бактериофагов рода *Providencia* рекомендованы для медицинских учреждений.

Библиографический список:

1. Меньшакова, А. В. Технологические параметры изготовления и контроля индикаторных фагов *Providencia* / А. В. Меньшакова, Н. Г. Барт // Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие : сборник тезисов IV Пущинской Школы-конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, (в рамках X Всероссийской Пущинской конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов»), Москва, 03–05 декабря 2024 года. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Издательство ГЕОС", 2024. – С. 46-47. – DOI 10.34756/GEOS.2023.17.39021. – EDN BABTON.
2. Барт, Н. Г. Выделение и изучение биологических свойств бактерий вида *Providencia rustigianii* / Н. Г. Барт // Фундаментальные аспекты и практические вопросы современной микробиологии и биотехнологии : Материалы Национальной научно-практической конференции с международным участием посвященной памяти профессора Д.А. Васильева, Ульяновск, 18 декабря 2024 года. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2024. – С. 70-75. – EDN OZSXLK.
3. Барт, Н.Г. Разработка методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний с использованием биопрепарата на основе бактериофагов *Providencia* / Н.Г. Барт, А.С. Мелехин // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения. Международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменовании 250-летия профессии ветеринарного врача. – 2011. – С.46-48.
4. Барт, Н.Г. Характеристика бактериофагов рода *Providencia*/ Н.Г., Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев// Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине,

ветеринарии и пищевой промышленности. Материалы Международной научно-практической конференции. – 2013. – С.25-28.

ISOLATION OF PROVIDENCIA RUSTIGIANII BACTERIOPHAGES

Bart N.G.

FSBEI HE Ulyanovsk SAU

Keywords: *microorganisms, pathogenicity, providences, identification, virulence, bacteriology, indication.*

The work is devoted to the study of the biological properties of bacteriophages of the species Providencia rustigianii, obtained from various sources of medical institutions. Identification of bacteria using bacteriophages.