

УДК 619:616-07

## ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PROVIDENCIA* НА НАЛИЧИЕ В СОСТАВЕ ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРОФАГА

Н.Г.Барт, кандидат биологических наук, старший преподаватель  
тел. 8(8422) 55-95-47, bart1967@mail.ru  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

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

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

**Ключевые слова:** Бактериофаги, энтеробактерии, негативные колонии, центрифугат, лизогенные свойства.

Работа посвящена исследованию 28 штаммов (2 референс-штаммов и 26 выделенных нами «полевых» штамма) бактерий рода *Providencia* на наличие в составе их генетического аппарата профага.

**Введение.** Интерес, проявляемый в последние годы к малоизученным группам семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе и к бактериям рода *Providencia* вызван тем, что эти бактерии рассматриваются как возможный этиологический фактор в возникновении кишечных заболеваний [5].

В результате раннее проведенных исследований, из объектов ветеринарного надзора и патологического материала, были выделены и идентифицированы 26 штаммов *Providencia rettgeri* [2].

Следующим этапом нашей работы стало исследование 28 штаммов (2 референс-штаммов 104 а и 175, а также 26 выделенных нами «полевых» штаммов) бактерий рода *Providencia rettgeri* на наличие в составе их генетического аппарата профага [1].

**Профаг** (англ. *prophage*) — геном фага, интегрированный в хромосомную ДНК бактериальных клеток. Умеренные фаги интегрируются в геном клетки-хозяина или существуют в виде плазмид. Это латентная форма взаимодействия фага и бактериальной клетки, при которой не

происходит лизис бактерий. При наличии повреждения клетки-хозяина начинается профаговая индукция, что ведет к старту литического цикла.

Материалы и методы исследований. В первой серии опытов выделение бактериофагов из бактерий проводили без воздействия индуцирующего фактора. В колбу с мясопептонным бульоном добавляли по 1,0 мл суточной бульонной культуры всех имеющихся у нас 28 штаммов бактерий рода *Providencia*. Колбу ставили в термостат при 37 °С на 24 часа. После культивирования полученную суспензию центрифугировали при 2000 об/мин в течение 30 минут на центрифуге ОГТ – 8 . Полученный центрифугат прогревали в водяной бане при 58-60 °С 30 минут для инактивации оставшихся бактериальных клеток, не подвергнутых лизису. Надосадочную жидкость исследовали на присутствие фага методом агаровых слоев по Грациа[4]. Для этого накануне опыта по чашкам разливали 1,5 % мясопептонный агар. Для подавления роста воздушной микрофлоры перед разливом добавляли к расплавленному агару 0,04 % спиртовой раствор генцианвиолета (0,1 мл на каждые 100 мл МПА). Чашки подсушивали в термостате при 37 °С в течение 2-3 часов. Исследуемый центрифугат в количестве 1,0 мл помещали в 2,5 мл предварительно расплавленного и остуженного до 46-48 °С 0,7 % агара, туда же вносили 0,2 мл 18-24 часовой бульонной индикаторной культуры штаммов *Providencia rettgeri* Н 67, *Providencia rettgeri* Н 87 [3]. Все тщательно перемешивали вращением пробирки между ладонями и выливали на поверхность 1,5 % МПА. Смесь осторожными движениями распределяли по поверхности агара, чашки оставляли на горизонтальной поверхности на 30 минут до полного застывания агара, затем инкубировали в при 37 °С на 18-24 часа. Положительным считался результат при наличии зоны лизиса или негативных колоний в чашках с агаром на сплошном газоне индикаторной бактериальной культуры, а отрицательным, соответственно, их отсутствие [6].

Во второй серии опытов на исследуемые культуры воздействовали индуцирующим фактором, в качестве которого использовали ультрафиолетовое излучение. Суточную бульонную культуру облучали ультрафиолетовыми лучами в течение 10, 15, 20, 30, 40, 60 минут с помощью прибора «Изольда» с ртутной лампой ДРБ8, 18 %, мощности которой приходится на область 254 нм. Полученный материал исследовали на присутствие фага методом агаровых слоев по Грациа [7]. В качестве индикаторных бактериальных культур при этом использовали штаммы *Providencia rettgeri* Н 67, *Providencia rettgeri* Н 87 Учет результатов проводили спустя 18-24 часа инкубирования в термостате при температу-

ре 37 °С. На чашках с агаром отмечали сплошной газон бактериальной культуры без зон лизиса и без негативных колоний.

Результаты исследований и их обсуждение. В первой серии опытов при выделении бактериофагов из бактерий без воздействия индуцирующего фактора штаммы *Providencia* не проявили лизогенных свойств. Во второй серии опытов на исследуемые культуры воздействовали индуцирующим фактором, в качестве которого использовали ультрафиолетовое излучение и также исследуемые штаммы бактерий рода *Providencia* в результате индукции не проявили лизогенных свойств.

Заключение. В результате проведенных нами исследований можно сделать заключение, что имеющиеся у нас культуры бактерий рода *Providencia* не содержат умеренные фаги (профаг). Под действием физических и химических факторов возможный профаг не лизирует бактерии рода *Providencia rettgeri*.

#### *Библиографический список*

1. Барт Н.Г. Выделение фагов бактерий рода *Providencia* и изучение их биологических свойств / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. 2011. № 4 (59). С.47-48.
2. Барт Н.Г. Выделение бактериофагов рода *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука: и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2012. Т. 1.– С. 236.
3. Васильев Д.А. Выделение, селекция и изучение некоторых биологических свойств бактериофагов *Providencia* / Д.А. Васильев, Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных: Материалы Международной научно-практической конференции посвященной 50-летию ВНИИВВиМ. – Покров, 2008. – С. 91-93.
4. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия.// -М.: Медгиз. -1961. – С.297.
5. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных. - 125 с., Ульяновск. – 2004.
6. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: «Урожай», 1978. – С.20-21.
7. Садртдинова Г.Р. Выделение бактериофага *Klebsiella oxytoca* методом индукции /Д.А.Васильев// Актуальные проблемы биологии, биотехнологии, экологии и биобезопасности: Материалы

Международной научно-практической конференции посвященной 80-летию заслуженного ученого, профессора В.Л. Зайцева. -Kiik-LTD, 2015.-С.258-260

## **RESEARCH OF BACTERIA OF THE SORT PROVIDENCIA ON EXISTENCE IN STRUCTURE OF THEIR GENETIC DEVICE OF A PROFAG**

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

**Keywords:** Bacteriophages, enterobakteriya, negative colonies, центрифугат, lizogenny properties.

Work is devoted to research of 28 strains (2 referens-strains and 26 of a «field» strain allocated with us) sort Providencia bacteria on existence in structure of their genetic device of a profag.