

УДК 619:576

РАЗРАБОТАННЫЕ ФАГИ *PROVIDENCIA* ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Н.Г. Барт, кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: bart 1967@mail.ru
С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: fvm.zol@yandex.ru
Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422) 55-95-47, E-mail: dav_ul@mail.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: Бактериофаги, бактерии, микроорганизмы, штаммы, специфичность.

В данной статье представлены результаты работы по разработке бактериофагов *Providencia* для лечения и профилактики заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. В результате исследований были выделены и изучены изоляты бактериофагов.

Введение. Бактерии вида *Providencia* широко распространены в природе и их можно выделить из различных источников (воды, почвы, фекалий, мочи животных и человека, а также пищевых продуктов).

Многие штаммы, скорее всего, входят в состав нормальной микрофлоры желудка и кишечника, но возможно среди них встречаются и патогенные виды, которые способны вызывать гастроэнтериты, токсикоинфекции, инфицирование мочевых путей у детей и взрослых людей, при раневых послеоперационных инфекций, различных желудочных и кишечных заболеваниях у молодняка сельскохозяйственных животных [1].

Эффект от лечебных мероприятий всегда зависит от своевременной диагностики заболевания, поэтому изучению и совершенствованию методик и методов различных способов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний, которые вызваны и микроорганизмами рода *Providencia*, является важной и актуальной проблемой [2].

Постановка диагноза бактериологическим или микробиологическим методом на инфекционные заболевания, причиной которых являются бактерии рода *Providencia*, имеет много затруднений. Одна из них состоит в том, что фундаментом выделения данных микроорганизмов являются их биохимические свойства. Затруднения вызывает

время проведения и длительность изучения всех свойств и это не позволяет быстро и качественно отличить данные бактерии от других микроорганизмов.

Поэтому возникает необходимость поиска методов, который могут являться альтернативой диагностики в лабораторных условиях, они должны быть не трудоемкими, по времени быстрыми и доступны для лабораторной диагностики всех уровней. Один из лабораторных методов является фаговая диагностика[3].

Целью проведенных исследований было найти и выделить активные бактериофаги, которые лизируют патогенные штаммы бактерий вида *Providencia*.

Методика исследований. Источниками при выделении бактериофагов являлись сточные воды, которые были взяты из помещений системы животноводства различных хозяйств Ульяновской и Самарской областей, а также некоторых больниц.

В роли культур для идентификации нами были использованы 25 штаммов патогенного характера рода *Providencia*, они были получены из музея кафедры и выделены нами из различного исследуемого материала и разных объектов внешней среды [4].

В основе данного метода при поиске бактериофагов имеется схема, которую предложил Грация. Материал для исследования мы засеивали с микроорганизмами *Providencia* на мясо-пептонный бульон. Посевы выдерживали при 37°C в течение 14-16 часов, потом проводили фильтрацию через различные, в том числе и бумажные фильтры. Фильтрат, который мы получили грели при 60°C в течение 25-30 минут для убивки посторонней микрофлоры. Присутствие бактериофага в полученном фильтрате находили при высеве на плотные питательные среды (1,5% МПА) по предложенным методикам - методом агаровых слоев.

Наработку штаммов бактериофагов проводили методом пассажа штаммов на эталонных культурах с клонированием в последствии одинаковых негативных колоний, характерной для каждой выделенной колонии [5].

Активность найденных бактериофагов мы определяли по методам Грация и Аппельмана.

Результаты исследований. При проведении исследований результатом было выделение 15 термостабильных бактериофагов, которые образовывали полупрозрачные колонии разного диаметра от 1,0 до 5,0 мм или пятна стерильного характера в виде зоны лизисов, диа-

метром от 5,0 до 9,0 мм. Литическая активность выявленных бактериофагов по методу Аппельмана составило от 10^{-5} до 10^{-8} , по методу Грация – от $2,2 \times 10^8$ до $1,3 \times 10^{10}$ корпускул фаговых едениц в 1 мл предложенной среды [6].

Было взято два бактериофага (F-67 УГСХА, F-87 УГСХА) и была изучена специфичность, которые имели наиболее высокую активность и самый широкий диапазон литической активности по отношению к микроорганизмам других родов семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia spp.*, *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*, а также видов и родов других семейств: *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.*, **на** плотных питательных средах (агаре методом внесения капелек бактериофагов на газоны исследуемых нами культур [7].

При этом в чашках Петри на мясо-пептонный агар при помощи пипетки нанесли 3 капли 16 часовой культуры выросшей на мясо-пептонном бульоне микроорганизмов, которые подвергались исследованию [8]. Потом ровно распределили на поверхность среды стерильным инструментом. Засеянные чашки поставили в термостат для стерильности на 25 минут. После этого, на дне чашки Петри при помощи маркера делили на две части: на первой части при помощи пипетки осторожно наносили каплю, нанесли бактериофаг [9]; на второй части – в центре для контроля нанесли простерилизованный мясо-пептонный бульон. Чашку Петри ставили под уклон, для стекания капли, потом выдерживали при температуре 37°C , результат учитывали после инкубирования в течение 24 часов [10].

При проведении исследований было видно, что выделенные бактериофаги являются неактивными в отношении к микроорганизмам других родов, видов и семейств, то есть они были специфичны для микроорганизмов гомологичного рода.

В результате исследований, мы выделили и селекционировали 15 термостабильных бактериофагов, которые были активны в отношении бактерий рода *Providencia rettgeri* [11].

Выводы. Нами были селекционированы и отобраны два штамма, которые являлись специфичными бактериофагами F-67 УГСХА и F-87 УГСХА с биологическими свойствами, которые позволили их идентифицировать. Данные бактериофаги могут позволить их использовать при изготовлении диагностических и лечебных препаратов в ветеринарной практике.

Библиографический список

1. Сульдина, Е.В. Характеристика бактериофагов бактерий *Enterobacter spp.* для оценки возможностей их использования в составе терапевтического биопрепарата / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Мاستиленко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1 (41). - С. 109-116.
2. Барт Н.Г. Исследование бактерий рода *Providencia* на наличие в составе их генетического аппарата профага / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. – 2016. – С.170-173.
3. Васильев, Д.А. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов протейных бактериофагов // Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина, А.В. Мастиленко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1 (41). - С. 124-130.
4. Барт Н.Г. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий рода *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Актуальные вопросы аграрной науки и образования: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. – Ульяновск, 2008. – С. 22-24.
5. Феоктистова, Н.А. Выделение бактериофагов рода *Proteus* и подбор параметров культивирования / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. - № 2 (38). – С. 90-106.
6. Феоктистова, Н.А. Изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. - № 3 (39). – С. 99-105.
7. Барт Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia*, используемых для создания биопрепарата по деkontаминации пищевых продуктов. / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Актуальные проблемы биологии, биотехнологии, экологии и биобезопасности. Материалы Международной научно-практической конференции посвященной 80-летию заслуженного ученого, профессора В.А. Зайцева. – 2015. – С.69-73.
8. Сульдина, Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica* / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 3 (39). - С. 50-55.
9. Садрtdинова Г.Р. Биохимические тесты для ускоренной внутриродовой детекции бактерий *Klebsiella*/ Г.Р. Садрtdинова, Д.А. Васильев//Sci-article. 2015.№17.c.11-15.

10. 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 VII Международной научно-практической конференции. – 2012. Т.1.– С.236-239.
11. Барт Н.Г. Определение устойчивости бактериофагов бактерий рода *Providencia* к воздействию хлороформа / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Молодежь и наука XXI века: Материалы II Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. –2007. – С. 34-35.

PROVIDENCIA DEVELOPED BY FAGI FOR TREATMENT AND PROPHYLAXES OF INFECTIOUS DISEASES

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

Keywords: *Bacteriophages, bacteria, microorganisms, strains, specificity.*

Results of work on development of bacteriophages of Providencia for treatment and prophylaxis of diseases of young growth of farm animals are presented in this article. As a result of researches isolates of bacteriophages were allocated and studied.