

УДК 619:579

РОЛЬ БАКТЕРИОФАГОВ *PROVIDENCIA* ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

*Евина Д.А., студентка 3 курса ФВМиБ, Darya199720@mail.ru,
Лапшенкова А.А., студентка 2 курса ФВМиБ
Научный руководитель – Барт Н.Г., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: бактерии, штаммы, бактериофаги, активность.

*Работа посвящена бактериям рода *Providencia* широко распространенным в природе, их выделяют из воды, почвы, фекалий и мочи животных и человека.*

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 .

Эффективность лечебных мероприятий во многом зависит от своевременности диагностики болезни, поэтому совершенствованию методов лабораторной диагностики заболеваний [1], 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 [2].

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.

Поэтому целью наших исследований явилось изыскание активных бактериофагов, лизирующих патогенные штаммы бактерий рода *Providencia* [3].

Методика 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 [4].

В основу метода для поиска фагов положена схема, предложенная Грациа. Исследуемый материал (сточные воды) засевали 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 [5].

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 Грациа и Аппельмана.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований нами было выделено 16 термостабильных изолята бактериофагов, образующих прозрачные колонии различного диаметра от 1,0 до 5,0 мм или стерильные пятна в виде зон лизиса, диаметром от 5,0 до 9,0 мм. Литическая активность выделенных фагов по методу Аппельмана составляет от 10^{-6} до 10^{-9} , по методу Грациа – от $2,1 \times 10^8$ до $1,2 \times 10^{11}$ фаговых корпускул в 1 мл среды [6].

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 spp.*, *Pseudomonas spp.* на плотном питательном агаре методом нанесения капель фагов на газон исследуемой культуры [7].

Для этого на поверхность МПА в чашках Петри пипеткой нанесли 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.

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 [8].

Таким образом, нами было выделено и селекционировано 16 термостабильных изолятов фагов, активных в отношении бактерий вида *Providencia rettgeri* [9].

Выводы. Были отобраны два специфичных штамма фагов F-67 УГСХА и F-87 УГСХА с наиболее выраженными биологическими свойствами (литическая активность, спектр литической активности, специфичность, устойчивость), которые позволяют использовать их для изготовления диагностических и лечебных биопрепаратов [10].

Библиографический список

1. Ситнов, Д.В. Определение доброкачественности мяса / Д.В.Ситнов, Д.Р.Балиева, Н.Г.Барт // Студенческий научный форум – 2017: IX Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. – 2017.
2. Ситнов, Д.В. Ветеринарно-санитарная экспертиза говядины в условиях лаборатории рынка / Д.В.Ситнов, Д.Р.Балиева, Н.Г.Барт // Студенческий научный форум – 2017: IX Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. – 2017.
3. Золотухин, С.Н. Выделение и селекция клонов бактериофагов патогенных энтеробактерий / С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев, Н.Г.Барт [и др.] // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2006. - С. 227-230.
4. Барт, Н.Г. Ветеринарно-санитарная экспертиза при эхинококкозе / Н.Г.Барт, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев // Актуальные вопросы ветеринарной науки: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2015. - С. 183-186.
5. Барт, Н.Г. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Providencia* / Н.Г.Барт, Д.А.Васильев, С.Н.Золотухин //

- Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. – Ульяновск, 2013.
6. 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. - С. 236 -239.
 7. Барт, Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia*, используемых для создания биопрепарата по деконтаминации 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.Л. Зайцева. – 2015. – С.69-73.
 8. 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. – Ульяновск, 2016. - С. 170-173.
 9. Барт, Н.Г. Биотехнологические аспекты разработки фагового препарата для индикации и идентификации бактерий рода *Providencia* / Н.Г.Барт // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Ульяновск, 2013.
 10. Барт, Н.Г. Определение устойчивости бактериофагов и бактерий рода *Providencia* к воздействию хлороформа / Н.Г.Барт, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев // Молодежь и наука XI века: Материалы II Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. – Ульяновск, 2007. – С.36-38.

ROLE OF BACTERIOPHAGES OF PROVIDENCIA FOR PROPHYLAXIS OF DISEASES OF FARM ANIMALS

Evina D.A., Lapshenkova A.A., Bart N.G.

Keywords: *bacteria, strains, bacteriophages, activity.*

Work is devoted to sort Providencia bacteria widely widespread in the nature, they are allocated from water, by soils, excrements and urine of animals and the person.