

ПРОТЕЙНЫЕ БАКТЕРИОФАГИ: ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Золотухин Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; 8(8422)55-95-47;

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: *Proteus*, бактериофаги, биологические свойства, урожайность, бактерии

В статье описаны результаты исследований по изучению некоторых биологических свойств протейных бактериофагов FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА. Установлено, что титр литической активности находится в диапазоне от 10^6 до 10^8 по Аппельману и от $2,4 \pm 0,1 \times 10^7$ до $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл по А. Gratia. Максимально высокие титры у фагов FPr-11 УГСХА ($3,1 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^8) и FPr-13 УГСХА ($5,7 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^8). Морфология негативных колоний изучаемых фагов - бляшкообразующие единицы с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от $0,5 \pm 0,1$ до $0,9 \pm 0,1$ мм. Изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса шести бактериофагов на 58 штаммах составил 100 %. Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры гетерологичных родов и семейств. В течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов оставались без изменений, через 6 месяцев снизились на 1 порядок, но были восстановлены 5-6 кратным пассированием на индикаторных культурах. Определена средняя урожайность бактериофагов: у фага FPr-13 УГСХА она равна $1986:14=141,9$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53, у фага FPr-11 УГСХА - $6445:133=49,66$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42.

Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2017 году.

Введение

Бактерии рода *Proteus* - это кишечные грамотрицательные палочки, которые часто показывают плеоморфизм, отсюда и соответствующее название рода [1]. Все – подвижные, на влажной агаровой среде в большинстве случаев наблюдается роящийся рост. Могут выделяться из разных мясных и овощных продуктов, особенно тех, которые подвергаются порче при температуре диапазона мезофилов [1-3]. Бактерии рода *Proteus* регистрируются в шести экологических источниках происхождения организмов, обнаруживаемых в пищевых продуктах – почве и воде, растительных продуктах, пищевом инвентаре, желудочно-кишечном тракте, при транспортировке/хранении продуктов, шкурах животных. Вышеназванные бактерии относятся к наиболее часто выделяемым из мяса и птицы. В процессе порчи креветок и моллюсков при температуре $16,7$ °C и $22,2$ °C доминировали бактерии рода *Proteus* [1, 4-8].

В настоящее время выделение и идентификация бактерий рода *Proteus* регламентируется межгосударственными стандартами. Методы выявления основаны на посеве исходного разведения анализируемой пробы продукта или

другого эквивалентного разведения в питательные среды, культивировании посевов при 37 ± 1 °C в течение 24-48 ч, выделении типичных и (или) предполагаемых колоний, подтверждении их принадлежности по культуральным, морфологическим признакам и биохимическим свойствам к бактериям рода *Proteus* [9-10].

По литературным данным в настоящее время повышается значимость бактериофагов как высоко специфического метода индикации и идентификации [11]. Поэтому исследовательская работа в области поиска эффективных методов выделения и идентификации бактериальных агентов, контаминирующих пищевые продукты и вызывающих тем самым их порчу, направлена на конструирование специфических фаговых биопрепаратов [12].

Применение бактериофагов как универсального механизма, способного элиминировать (разрушать) специфичные бактерии, позволяет использовать этот биологический феномен в качестве безопасного средства деконтаминации пищевого сырья. Конструирование биопрепаратов на основе бактериофагов требует изучения их основных биологических свойств с целью получения высокоэффективного средства

с широким спектром действия.

Цель работы – изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* для конструирования фагового биопрепарата для обработки бактериофагами пищевого сырья и готовой продукции, способствующей увеличению сроков хранения, позволяющей элиминировать вышеназванные микроорганизмы с поверхности рыбной и мясной продукции.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить литическую активность бактериофагов *Proteus* (методами Аппельмана и Грациа);
- изучить морфологию негативных колоний бактериофагов *Proteus*;
- определить специфичность действия бактериофагов *Proteus*;
- изучить спектр литического действия выделенных и селекционированных бактериофагов *Proteus*;
- зафиксировать изменения литической активности протейных бактериофагов при хранении;
- изучить урожайность протейных бактериофагов.

Объекты и методы исследований

Бактериофаги, специфичные к культурам рода *Proteus*, 6 изолятов: FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА, выделенные и селекционированные авторами самостоятельно в 2015-2016 гг. В работе было использовано 58 штаммов бактерий рода *Proteus* (*Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*); 69 штаммов бактерий: *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Providencia spp.*, полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ и выделенных авторами самостоятельно из проб мясного и рыбного сырья и готовых продуктов. Все культуры обладали типовыми свойствами и хранились при температуре 2-4 °С в столбике 0,7 % мясопептонного агара. В исследованиях использовали 20±2 часовые культуры микроорганизмов (температура культивирования 36±1°С).

В исследованиях применяли питательный бульон ТУ 10-02-02-789-176-94 (ООО «БиоКомпас-С», РФ), питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ТУ 9398-020-78095326-2006 (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), генцианвиолет 548-62-9 (ЗАО «Вектон», РФ).

Изучение биологических свойств бактериофагов проводили при температуре культи-

вирования 36±1°С, время термостатирования посевов 18±2 часа по отработанным ранее методикам [3, 13]. Литическую активность фагов (концентрацию фаговых частиц) определяли методом агаровых слоев по А. Грациа в двухслойном мясопептонном агаре и методом разведений (титрования) по Аппельману. Посев последовательных разведений фагового препарата с целью повышения точности эксперимента проводили трижды. Морфология негативных колоний (бляшкообразующих единиц) протейных фагов изучалась при визуальном осмотре результатов посева чашечным методом по методике А. Грациа [14].

Адсорбцию протейных бактериофагов изучали при взаимодействии их с индикаторными культурами по М. Адамсу (1961) в модификации Золотухина С. Н. (2007), который основан на исследовании количества корпускул неадсорбированного фага в смеси бактерия-фаг [12]. Адсорбцию фага FPr-11 УГСХА изучали на клетках *Proteus vulgaris* 42; FPr-13 УГСХА - *Proteus vulgaris* 53. Время адсорбции для фагов устанавливали индивидуально в зависимости от процента максимальной адсорбции для конкретной смеси (фаг + клетка хозяина).

Для определения длительности латентного периода и урожайности фага использовали способ изучения одиночного цикла размножения фага без применения антифаговой сыворотки. В основу метода определения длительности латентного периода и урожайности фага положено свойство эмбихина избирательно инактивировать различные фаги без повреждения бактерий [15].

Результаты исследований

Исследования по определению литической активности - титра бактериофагов рода *Proteus* позволяют нам утверждать, что они имеют различный титр в диапазоне от 10⁶ до 10⁸ по Аппельману и от 2,4±0,1х10⁷ до 5,7±0,1х10⁹ БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл по Грациа.

Морфология негативных колоний – это основной биологический признак клонов бактериофагов, позволяющий проводить скрининговые дифференциальные тесты бактериальных патогенов на газоне индикаторной культуры. Определено, что при высеве на МПА образуются бляшкообразующие единицы с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от 0,5±0,1 до 0,9±0,1 мм (таблица 1).

Для определения специфичности изучаемых протейных бактериофагов были проведены эксперименты на культурах *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* Эксперимен-

Таблица 1

Показатели некоторых биологических свойств изучаемых протейных бактериофагов

№	Название протейного бактериофага и индикаторной культуры, на которой он селекционируется	Результат изучения характерных биологических свойств бактериофагов рода <i>Proteus</i> на индикаторной бактериальной культуре			
		Литическая активность, БОЕ /мл (по методу агаровых слоев по Грациа)	Литическая активность (по методу Аппельмана)	Спектр литического действия на культуре (по Отто)	Диаметр негативных колоний, мм
1	FPr - 10 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 41	2,4±0,1x10 ⁸	10 ⁻⁷	++	0,5±0,1
2	FPr - 11 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 42	3,1±0,1x10 ⁹	10 ⁻⁸	+++	0,6±0,1
3	FPr - 12 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 43	1,4±0,3x10 ⁸	10 ⁻⁷	+	0,9±0,1
4	FPr - 13 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 53	5,7±0,1x10 ⁹	10 ⁻⁸	+++	0,5±0,1
5	FPr - 14 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 54	2,4±0,1x10 ⁷	10 ⁻⁶	+	0,7±0,1
6	FPr - 15 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 56	2,6±0,1x10 ⁸	10 ⁻⁷	++	0,8±0,1

Примечание: «+» - наличие зоны лизиса по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*;

«+++» - наличие зоны лизиса и отдельных стерильных пятен по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*;

«++++» - наличие стерильного пятна и зон лизиса по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*.

Таблица 2

Изменение литической активности протейных бактериофагов при хранении

	Название протейного бактериофага и индикаторной культуры, на которой он селекционируется	Литическая активность, БОЕ /мл (по методу агаровых слоев по Грациа)			
		перед закупориванием	через 1 месяц	через 3 месяца	через 6 месяцев
1	FPr - 10 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 41	2,4±0,1x10 ⁸	2,3±0,1x10 ⁸	2,1±0,1x10 ⁸	1,6±0,1x10 ⁷
2	FPr - 11 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 42	3,1±0,1x10 ⁹	3,0±0,1x10 ⁹	2,9±0,1x10 ⁹	2,0±0,1x10 ⁸
3	FPr - 12 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 43	1,4±0,3x10 ⁸	1,3±0,1x10 ⁸	1,2±0,3x10 ⁸	0,9±0,1x10 ⁷
4	FPr - 13 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 53	5,7±0,1x10 ⁹	5,6±0,1x10 ⁹	5,3±0,1x10 ⁹	4,9±0,1x10 ⁸
5	FPr - 14 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 54	2,4±0,1x10 ⁷	2,3±0,1x10 ⁷	2,1±0,1x10 ⁷	1,8±0,1x10 ⁶
6	FPr - 15 УГСХА / <i>Proteus vulgaris</i> 56	2,6±0,1x10 ⁸	2,4±0,1x10 ⁸	2,2±0,1x10 ⁸	1,9±0,1x10 ⁷

тально было установлено отсутствие зон лизиса на газоне вышеназванных культур, что свидетельствует о строгой специфичности изучаемых протейных фагов.

Полученные данные по изучению спектра литического действия свидетельствуют о том, что изучаемые бактериофаги рода *Proteus* активно работают в широком диапазоне изучаемых культур. Совокупный процент лизиса 58 протейных штаммов у 6 бактериофагов составляет 100 %. Выявлены два бактериофага FPr-11 УГСХА и FPr-13 УГСХА, совокупный лизис которых также составляет 100 %.

Исследования протейных бактериофагов, закрытых в стерильные флаконы без добавления консерванта, которые хранились в условиях бытового холодильника (2-4 °С), проводили методом диффузии в «мягкий» методом агаровых слоев по А. Грациа. Результаты исследований представлены в таблице 2. Установлено, что в течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов остались без изменений.

Последующие исследования свидетельствуют об относительно невысокой скорости снижения показателя литической активности в пределах 6 месяцев, когда велся мониторинг данного показателя. Последующее 5-6-кратное пассирование бактериофагов на индикаторных культурах позволило восстановить исходный титр фага, который был установлен при закупоривании в стерильные флаконы.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что два протейных бактериофага FPr-11 УГСХА и FPr-13 УГСХА характеризуются максимально высокими титрами и незначительно снижают их в течение 6 месяцев. Вышеназванные бактериофаги будут в перспективе использованы для конструирования экспериментального биопрепарата. Изучение показателей урожайности протейных бактериофагов определялось у фагов FPr-11 УГСХА и FPr-13 УГСХА.

В результате проведенных исследований по определению адсорбционных способностей протейных бактериофагов было установлено,

что изучаемые фаги имели разные показатели скорости адсорбции: фаг FPr-11 УГСХА за 6 минут адсорбировался на клетках *Proteus vulgaris* 42 в количестве 68,8 %, константа скорости адсорбции $K = 3,8 \text{ см}^3/\text{мин}^{-1}$; фаг FPr-13 УГСХА при контакте с клетками *Proteus vulgaris* 53 в течение 7 минут адсорбировался на них 87,2 %, константа скорости адсорбции составила $K = 5,8 \text{ см}^3/\text{мин}^{-1}$. Установлено, что наиболее выраженные показатели скорости адсорбции на клетках хозяев были у бактериофага FPr-11 УГСХА.

Результаты определения длительности латентного периода и урожайности фага. В предварительном опыте параллельного титрования эмбихина на исследуемых фагах FPr-11 УГСХА и FPr-13 УГСХА и штаммах *Proteus vulgaris* 53 и *Proteus vulgaris* 42 устанавливали рабочую дозу препарата, т. е. то его количество, которое в 0,9 мл физиологического раствора способно было за 5 минут при $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ инактивировать 90-95 % фага при исходной его концентрации $3-5 \times 10^7$ БОЕ/мл. Опытным путем установлено, что препарат в рабочей дозе в аналогичных условиях не должен оказывать антибактериального действия при контакте с $4,4 \times 10^8$ м.к./мл. В экспериментах определено, что рабочая доза эмбихина была равна 7 μ , т. е. среднему из двух последних эффективных доз. После определения рабочей дозы проводили основной опыт. Бактериальные культуры, выращенные в мясопептонном бульоне и находящиеся в логарифмической фазе роста, разводили мясопептонным бульоном до концентрации бактерий $4,4 \times 10^8$ м.к./мл. К 0,9 мл такой культуры, предварительно адаптированной к $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, добавляли соответствующего бактериофага 0,1 мл, содержащего $4,4 \times 10^8$ БОЕ/мл, смесь инкубировали в термостате в течение 5 минут, а затем 0,1 мл переносили в 0,9 мл физиологического раствора с рабочей дозой эмбихина, предварительно прогретого в водяной бане при $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. После 5-минутной инкубации смеси при $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ опыт продолжали по методу Эллиса и Дельбрюка. Затем из этой пробирки брали 0,1 см^3 жидкости, которую вносили к 9,9 см^3 бульона. Из четвертой пробирки брали 0,1 см^3 жидкости и вносили в 9,9 см^3 бульона (пятая пробирка). Получая указанные разведения, мы стремились создать постоянную и наименьшую концентрацию частиц фага в четвертой пробирке и максимально уменьшить ее в пятой с целью возможности подсчета колоний фага по окончании латентного периода. Из 4-й и 5-й пробирок приготовленными разведениями через каждые 1-2 минуты брали по 0,1 см^3 жидкости и засеивали в две бактериологические чашки по методу агаровых слоев. Подсчет негативных колоний проводили после 16-18- часового инкубирования чашки при $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Установлено, что латентный период внутриклеточного развития фага FPr-11 УГСХА на клетках *Proteus vulgaris* 42 равен 25-26 минутам. Среднее количество бляшкообразующих единиц на чашках при высеве из 4-й пробирки с 15 по 20-ю минуту опыта равно 131,1, а при высеве с 40-й по 60-ю минуту из пятой пробирки – 64,45. Средняя урожайность бактериофага FPr-11 УГСХА равна $6445:133 = 49,66$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42. Латентный период внутриклеточного развития фага FPr-13 УГСХА на клетках *Proteus vulgaris* 53 равен 21-22 минутам. Среднее количество бляшкообразующих единиц на чашках при высеве из 4-й пробирки с 15-й по 20-ю минуту опыта равно 14, а при высеве с 23-й по 60-ю минуту из пятой пробирки – 19,86. Средняя урожайность бактериофага FPr-13 УГСХА равна $1986:14 = 141,9$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53.

Выводы

При проведении исследований нами были изучены некоторые биологические свойства протейных бактериофагов FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА, выделенных и селекционированных авторами самостоятельно в 2015-2016 гг.

Исследования по определению литической активности бактериофагов рода *Proteus* выявили следующее: титр литической активности колеблется в диапазоне от 10^6 до 10^8 по Аппельману и от $2,4 \pm 0,1 \times 10^7$ до $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл по Грациа. Наиболее высокие титры имели фаги FPr-11 УГСХА ($3,1 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^8) и FPr-13 УГСХА ($5,7 \pm 0,1 \times 10^9$ БОЕ/мл; 10^8).

Морфология негативных колоний изучаемых фагов представлена бляшкообразующими единицами с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от $0,5 \pm 0,1$ до $0,9 \pm 0,1$ мм.

Определено, что изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса шести бактериофагов на 58 культурах составил 100 %.

Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры: *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*

Установлено, что в течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов оставались без изменений. Через 6 месяцев наблюдений данный показатель снизил-

ся на 1 порядок, но был восстановлен 5-6-кратным пассированием на индикаторных культурах.

Установлено, что средняя урожайность бактериофага FPr-13 УГСХА равна $1986:14=141,9$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53 и средняя урожайность бактериофага FPr-11 УГСХА равна $6445:133=49,66$ вирусных частиц на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42.

Изученные свойства протейных фагов позволяют систематизировать биологические особенности каждого из выделенных клонов вирулентных бактериофагов и произвести отбор двух фагов - FPr-11 УГСХА и FPr-13 УГСХА для конструирования в перспективе биопрепарата для обработки бактериофагами пищевого сырья и готовой продукции. Результаты экспериментов доказывают, что применение бактериофагов способствует увеличению сроков хранения пищевого сырья и продовольственных товаров, так как эффективно элиминируют микроорганизмы с поверхности продукции [16].

Библиографический список

1. Джей, Дж.М. Современная пищевая микробиология / Дж.М. Джей, М.Дж. Лесснер, Д.А. Гольден. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 886 с.
2. Феоктистова, Наталья Александровна. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения: дис. ...канд. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23 / Н.А. Феоктистова. – Саратов, 2006. –166с.
3. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. – С. 171-185.
4. Мауль, О.Г. Проблема выделения сальмонелл из продуктов, обсемененных бактериями рода *Proteus* / О.Г. Мауль, О.Е. Чугунова, Н.А. Татарникова // Пермский аграрный вестник. - 2016. - № 1(13). - С. 60-63.
5. Bradeeba, K. Antibiotic susceptibility of selected pathogenic bacteria isolated from raw meat sample obtained from Chidambaram, Tamil Nadu / K. Bradeeba, P. K. Sivakumaar // J. Chem. Pharm. Res. – 2013. - № 5(1). – P. 64-6
6. Buller, N.B. Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals A Practical Identification Manual / N.B. Buller. - CABI Publishing, 2004. – P.29 (390 p).
7. Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials / M.J. Rodrigues, P. Ho, M.E. Lopez-Caballero, P. Vaz-Pirez, M.L. Nunes // Food Microbiology. – 2003. - № 20. – P. 471-481.
8. Bacteria pathogens in fresh, smoked, and salted Iranian fish / A.A. Basti, A. Misaghi, T.Z. Salehi, A. Kamkar // Food Control. – 2006. - №17. – P. 183-188.
9. ГОСТ 7702.2.7 - 2013. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления бактерий рода *Proteus*. Poultry meat, edible offal and poultry meat ready-to-cook. Methods for detection of *Proteus* bacteria. - М.: ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 2014. –8 с.
10. ГОСТ 28560-90 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Food products. Method for detection of bacteria of *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* genera. - М.: Стандартинформ, 2010. –11 с.
11. Критерии отбора бактериальных штаммов и бактериофагов для формирования производственной коллекции, специфически лизирующих бактерии родов: *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* / Е.Н. Сятчихина, П.А. Набатников, С.А. Коровкин, А.В. Катлинский, Г.М. Игнатъев // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. – 2016. – Том 16, № 2 (58). – С.90-95.
12. Золотухин, Сергей Николаевич. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: дис. ...докт. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23 / С.Н.Золотухин.– Ульяновск, 2007. –341с.
13. Киселева, Ирина Анатольевна. Специализированный продукт диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов: конструирование, технология производства, оценка безопасности и эффективности применения: дис. ...канд.биол.наук: 03.01.06, 03.02.03 / И.А. Киселева. – Москва, 2015. –202 с.
14. Бактериофаги: биология и практическое применение / под общ. ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А.В. Летаров. – М., Научный мир, 2012. –640 с.
15. Алешкин, А.В. Возможности применения бактериофагов в качестве пробиотических средств деконтаминации в области питания/ А.В. Алешкин, М.В. Зейгарник // Вопросы диетологии. – 2012. – Том 2, №4. – С.24 – 34

PROTEUS BACTERIOPHAGES: STUDY OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES

Feoktistova N.A., Vasiliev D.A., Zolotukhin S.N.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU
432017, Ulyanovsk, Noviy Venets bld, 1,
8 (8422) 55-95-47; e-mail: feokna@yandex.ru

Key words: *Proteus*, bacteriophages, biological properties, productivity, bacteria

The article describes the results of studies on the study of some biological properties of *Proteus* bacteriophages FPr-10 UGSKhA, FPr-11 UGSKhA, FPr-12 UGSKhA, FPr-13 UGSKhA, FPr-14 UGSKhA, FPr-15 UGSKhA. It was found that the titre of lytic activity is in the range from 10^6 to 10^8 according to Appelman and from $2.4 \pm 0.1 \times 10^7$ to $5.7 \pm 0.1 \times 10^8$ pfu / ml according to A. Gratia. The phages FPr-11 UGSKhA ($3.1 \pm 0.1 \times 10^8$ pfu / ml, 10^8) and FPr-13 UGSKhA ($5.7 \pm 0.1 \times 10^8$ pfu / ml, 10^8) have the highest titres. The morphology of the negative colonies of the studied phages is plaque-forming units with a clear edge and a transparent center of various diameters ranging from 0.5 ± 0.1 to 0.9 ± 0.1 mm. The *Proteus* bacteriophages studied are specific within the genus, have cross-lysis within the species *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis*. The cumulative percentage of lysis of six bacteriophages in 58 strains was 100%. *Proteus* phages are strictly specific within the genus and do not lyse cultures of heterologous genera and families. Within 1-3 months the parameters of lytic activity of the bacteriophages studied remained unchanged, after 6 months they decreased by 1 order, but were restored by 5-6 fold passaging on indicator cultures. The average yield of bacteriophages is determined: in the phage FPr-13 UGSKhA it is equal to 1986: 14 = 141.9 virus particles per microbial cell *Proteus vulgaris* 53, in the phage FPr-11 UGSKhA -6445: 133 = 49.66 virus particles per microbial cell *Proteus vulgaris* 42.

Bibliography

1. Jay, J.M. *Modern food microbiology* / J.M. Jay, M.J. Lessner, D.A. Golden. - Moscow: BINOM. Laboratory of knowledge, 2011. - 886 p.
2. Feoktistova Natalya Aleksandrovna Allocation and study of biological properties of bacteriophages of *Proteus* genus, designing of a biological product on their basis and development of parameters of practical application: dissertation of Candidate of Biology: 03.00.07, 03.00.23 / N.A. Feoktistova. - Saratov, 2006. - 166 p.
3. Feoktistova, N.A. Isolation and study of the basic biological properties of bacteriophages of *Proteus* genus bacteria / N.A. Feoktistova / *Bacteriophages of microorganisms significant for animals, plants and humans*. - Ulyanovsk, 2013. - 315 p.
4. Maul, O.G. The problem of isolating salmonella from products contaminated with bacteria of *Proteus* genus / O.G. Maul, O.E. Chugunova, N.A. Tarnikova // *Perm Agrarian vestnik*. - 2016. - № 1 (13). - P. 60-63.
5. Bradeeba, C. Antibiotic susceptibility of selected pathogenic bacteria isolated from raw meat sample obtained from Chidambaram, Tamil Nadu / K. Bradeeba, P. K. Sivakumar // *J. Chem. Pharm. Res.* - 2013. - No. 5 (1). R. 64-6
6. Buller, N.B. *Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals A Practical Identification Manual* / N.B. Buller. - CABI Publishing, 2004. - 390 rubles.
7. Rodrigues, M.J. Characterization and identification of microflora from soaked cod and salted raw materials / M.J. Rodrigues, R. Ho, M.E. Lopez-Caballero, R. Vaz-Pirez, M.L. Nunes // *Food Microbiology*. - 2003. - No. 20. - P. 471-481.
8. Basti, A.A. Bacteria pathogens in fresh, smoked, and salted Iranian fish. Basti, A. Misaghi, T.Z. Salehi, A. Kamkar // *Food Control*. - 2006. - No. 17. - R. 183-188.
9. National State Standard 7702.2.7 - 2013. Poultry meat, by-products and semifinished products from poultry meat. Methods for detecting bacteria of *Proteus* genus. Poultry meat, edible by-products and poultry meat ready-to-cook. Methods for detection of *Proteus* bacteria. - Moscow: FSUE STANDARTIN-FORM, 2014. - 8 p.
10. National State Standard 28560-90 Food products. The method of detecting the bacteria of the genera *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Food products. Method for detection of bacteria of *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* genera. - Collection of National State Standards. - Moscow: Standartinform, 2010. - 11 p.
11. Criteria for selection of bacterial strains and bacteriophages for formation of a production collection, specifically lysing bacteria of the genera: *Klebsiella*, *Echerichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* / E.N. Syatchikhina, P.A. Nabatnikov, S.A. Korovkin, A.V. Katlinskiy, G.M. Ignatiev // *Biopreparations. Prevention. Diagnostics. Treatment*. - 2016. - V. 16. - № 2 (58). - P.90-95.
12. Zolotukhin Sergey Nikolaevich. Elaboration and development of schemes for usage of diagnostic bio compounds on the basis of isolated and studied bacteriophages of enterobacteria: Dissertation of Doctor of Biology: 03.00.07, 03.00.23 / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk, 2007.-341p.
13. Kiseleva Irina Anatolyevna. Specialized product of dietary preventive nutrition based on the cocktail of bacteriophages: design, production technology, safety and efficacy assessment: dissertation of Candidate of Biology: 03.01.06 - biotechnology (including bionanotechnology) 03.02.03 - microbiology / I.A. Kiseleva. - Moscow, 2015. - 202 p.
14. Cutter, E. *Bacteriophages: biology and practical application* / edited by E. Cutter, A. Sulakvelidze (translated from English, edited by A.V. Letarov). - M., Nauchnyi mir, 2012. -640 p.
15. Aleshkin, A.V. Possibilities of using bacteriophages as probiotic means of decontamination in nutrition / A.V. Aleshkin, M.V. Zeigarnik // *Issues of nutrition science*. - 2012. - V.2. - № 4. - P.24 - 34.