

УДК 578

## МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ФАГОВ

*Родионова А.В., магистрант 1 года обучения факультета ветеринарной медицины и биотехнологии  
Научный руководитель – Сульдина Е.В., ассистент  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

**Ключевые слова:** бактериофаги, выделение фагов, фильтрация, обогащение.

*В работе описаны различные методы используемые учеными в разные годы для выделения бактериофагов.*

**Исследования проводятся при поддержке  
Фонда содействия инновациям в соответствии  
с договором №13730ГУ/2018 от 01.04.2019.**

Birk T. C. изучал методы выделения бактериофагов из лизогенных культур. Считается, что основной метод выделения фагов остался неизменным много лет, так как был разработан еще Феликсом Д<sub>э</sub>Эрель. Обычно это называют процедурой обогащения [1,2]. Образец бактерий смешивают с образцом окружающей среды и смесь инкубируют в течение времени, обычно в течение ночи. Остальные бактерии затем удаляют из культуры центрифугированием или фильтрацией и анализируют фильтрат на наличие фагов. Любые идентифицированные фаги затем характеризуются, чтобы определить, обладают ли они желаемыми свойствами для фаговой терапии (как описано в Lobocka et al. [2] и Abedon et al. [3]). Их полезность может зависеть от вирулентности фага, спектра действия, обязательно литического или другого жизненного цикла. Как правило, многие из этих свойств трудно отследить во время выделения, поэтому они проверяются потом, хотя есть исключения. Например, нитчатые фаги имеют тенденцию хронически заражать хозяев, но от них можно избавиться, включив в обработку хлороформом. Такие химические вещества как трихлорметан имеют тенденцию инактивировать как нитевидные, так и липидсодержащие бактериофаги [4].

Некоторые исследователи могут выделять фаги, не занимаясь обогащением культур путем посева пробы окружающей среды непосредственно с бактерией - хозяином [5,6]. Это требует относительно более высокой концентрации фагов в образце, чем при обогащении,

поскольку только ограниченный объем образца окружающей среды может быть использован на пластине (десятики микролитров для выборочного тестирования - несколько миллилитров для нанесения). Тем не менее, прямое выделение использовалось для выделения нового фага против *Escherichia coli* из образцов кала [7] и сточных вод [8], фаги из слюны, которые заражают одну из нескольких видов бактерий полости рта [9] и фагов из зубных камней (т.е. биопленки), которые также заражают бактерии полости рта [10]

Преимущество прямого выделения заключается в том, что любые отклонения, возникающие при обработке образцов, можно избежать. Можно также варьировать условия посева, чтобы выделить бактериофаги, которые плохо растут при стандартных условиях. Например, Serwer и коллеги [11] использовали агарозные среды низкой плотности для выделения бактериофага, который плохо образует бляшки из-за их большого размера или формирования агрегатов, оба этих фактора, по-видимому, ограничивают диффузию в стандартных средах. Наличие агара в среде также может способствовать росту некоторых фагов, которые не лизируют клетки в бульонной культуре [11,12]. Эта техника очень полезна при поиске фагов в экологических исследованиях, где большое разнообразие изолированных фагов лучше отражает вирусное сообщество [12], но не широко используется для выделения фагов для терапии. Поскольку многие образцы не имеют высоких концентраций фагов для желаемых видов хозяев необходимых для прямого выделения, большинство фагов выделяют с использованием протокола обогащения.

*Библиографический список:*

1. Бакулов И.А. Листерии сельскохозяйственных животных.-Москва.-1967 г.
2. Выделение листериозных бактериофагов и изучение их основных биологических свойств / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Б.И. Шморгун // Аграрный научный журнал. 2015. № 3. С. 37-41.
3. Обухов И. Л. Применение ПЦР в ветеринарии // Аграрная Россия, №2. М.: 2002. С. 62-64.
4. Вопросы биоконтроля пищевого листериоза/ Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, И.Г. Швиденко, Б.И. Шморгун // Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием . 2015. С. 157.
5. Выделение и селекция бактериофагов *Bacillus coagulans*/ Н.А. Феоктисова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, К.В. Белова, К.В. Шокина, М.А. Лыдина, К.В. Маслюкова, А.В. Алешкин, Б.И. Шморгун // Бактериофаги: теоретические

- и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 87.
6. Апробация схемы выделения возбудителя американского гнильца пчел/ М.А. Лыдина, Е.И. Климушкин, Ю.А. Райчинец, К.В. Кудряшова, Б.И. Шморгу́н // *Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции*. 2015. С. 102-106.
  7. Биоиндикация *Bacillus anthracis* в пробах почвы методом постановки реакции нарастания титра фага/ С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.И. Климушкин, К.В. Белова, Б.И. Шморгу́н, И.Г. Швиденко // *Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2016. № 4 (20). С. 55-64.
  8. Molecular-genetic characteristics of bacteriophage *Bacillus cereus* FBC - 28 ugsha/ N.A. Feoktistova, D.A. Vasilev, A.V. Mastilenko, E.V. Sulдина, S.N. Zolotukhin, A.L. Toigildin, I.A. Toigildina, A.V. Dozorov, V.A. Isaichev, I.L. Obukhov, B.I. Shmorgun // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2018. Т. 9. № 4. С. 345-354.
  9. Схема идентификации *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, В.А. Макеев, А.И. Калдыркаев, К.В. Маслюкова, А.В. Алешкин, Б.И. Шморгу́н // *Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием*. 2016. С. 88.

## METHODS OF PHAGICAL ISOLATION

***Rodionova A.V.***

**Key words:** *bacteriophages, phage isolation, filtration, enrichment.*

*The work describes the various methods used by scientists in different years to isolate bacteriophages.*