

БАКТЕРИОФАГ КАК ПОВРЕЖДАЮЩИЙ ФАКТОР

Пульчеровская Л.П., кандидат биологических наук, доцент,

тел. 8(8422) 55-95-47, pulcherovskaya.lidia@yandex.ru

Ляшенко Е.А. кандидат биологических наук, доцент,

тел. 8(8422) 55-95-47, elena-118@mail.ru

Дежаткин И.Е., студент

тел. 8(8422) 55-95-47, pineapple01092000@gmail.com

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: антибиотики, энтеробактерии, *Serratia marcescens*, бактериофаги, диско-диффузионный метод, повреждающий фактор, питательные среды

В статье представлены результаты изучения влияния специфического бактериофага на биологические свойства бактерии-хозяина и возможного его применения в новом качестве при проведении лечебных мероприятий.

Введение. Значительную роль в возникновении и распространении болезней животных и человека, а также внутрибольничных инфекций играют условно-патогенные микроорганизмы и в частности энтеробактерии [1]. Этими свойствами они обладают благодаря их значительной устойчивости к антибактериальным препаратам и другим активным механизмам, позволяющим выживать в сложнейших условиях окружающей среды. Микроорганизмом, входящим в эту группу, является *Serratia marcescens*.

Бактериофаги с лечебной целью используют с давних времен и связаны с именем Феликса д Эрелля. В настоящее время все больше ученые отводят роль фагам бактерий ключевую роль в контроле над ростом бактериальных популяций где-либо в окружающей среде и в поддержании генетического разнообразия бактериальных штаммов [2,8].

Целью нашей работы стало изучение влияния специфического бактериофага на биологические свойства бактерии-хозяина фага. Нами были выбраны бактерии вида *Serratia marcescens* и их специфический бактериофаг.

Исследования проводили в специализированном бактериологическом боксе в течение трех месяцев.

Материалы и методы исследований. Оборудованный, микроскоп, культура бактерий *Serratia marcescens*, бактериофаг SM-21 бактерий рода *Serratia*. Питательные среды (Мясопептонный бульон, мясопептонный агар, среда Эндо, среды Гисса), набор для окраски по методу Грама, стандарт мутности НИИ Тарасевича, лабораторная посуда, термостат на $37^{\circ}\text{C} \pm 0,1$.

Результаты исследований и их обсуждение. Для постановки опыта использовали две колбы со стерильной водопроводной водой по 100 мл и вносили в них по 10 мл суточной бульонной культуры серратий штамма ATCC 13800, полученную из музея кафедры. Затем в первую колбу (опытная колба) внесли дополнительно фаг SM-21 бактерий рода *Serratia* (Рис. 1) в объеме 2 мл. Во вторую колбу вносили только индикаторную культуру (контроль).

После совместного культивирования бактерий и специфического бактериофага в течении восьми недель из опытной и контрольной колб были выделены бактерии рода *Serratia* и были изучены их основные биологические свойства, такие как: морфология, культуральные свойства, биохимические свойства, чувствительность к антибактериальным препаратам.

Морфологию индикаторных бактерий рода *Serratia* (контроль и опыт) изучали при окраске мазков по методу Грама.

Морфология микробных клеток серратий из контрольной колбы соответствовала классическим свойствам бактерий названного рода. В мазках из контроля клетки располагались беспорядочно и по одной.

Морфология *Serratia marcescens*, выделенных из опытной колбы поменялась. Клетки бактерий укрупнились, как при образовании биопленки. Окрашивались более интенсивно. У микроорганизмов, выделенных из опыта наблюдали расположение клеток одиночно, попарно и выстраивание в цепочку, образуя при этом стрептобактерии. (Рис.1).

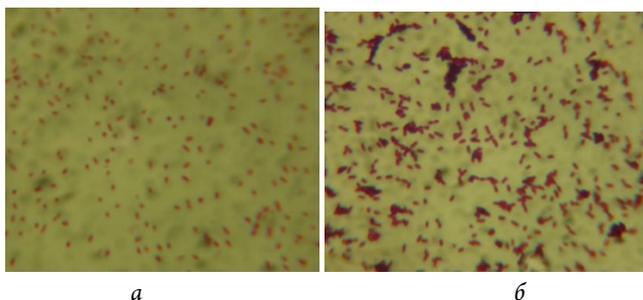


Рис.1 - Морфология бактерий рода *Serratia*: а- контроль; б-из опыта

Культуральные свойства опытных микроорганизмов изучали при росте их на селективных и общеупотребительских средах: Эндо, МПА и МПБ. Рост бактерий на МПБ не имел отличий в опыте и контроле. Культуральные свойства серратий выделенных из опыта на плотных средах Эндо и МПА менялись и имели отличительные признаки (Рис.2): некоторые колонии приобрели звездчатую форму и появился феномен роения, пигментообразование наблюдается только на центральной части колонии и она напоминала цветок (в контроле колонии округлые, с ровными краями, гладкие, блестящие и равномерно окрашенные в ярко красный цвет). Можно сделать вывод, что микроорганизм диссоциировал и изменял свои культуральные свойства.



Рис. 2 - Морфология бактерий рода *Serratia*: а- контроль; б-из опыта

Биохимическая активность опытных и контрольных микроорганизмов обусловлена их высокой ферментативной деятельностью. Сахаролитические свойства изучали на средах Гисса: с глюкозой, лактозой, маннозой, маннитом, мальтозой, сорбитом, ксилозой, рамнозой. Биохимическая активность микроорганизмов в опыте и контроле несколько

изменилась. Усилилось пигментообразование на сорбите и проявилась замедленное образование кислых продуктов т.е. результат положительный у культуры после опыта.

В контрольной пробирке (культура до опыта) результат отрицательный. Возможно бактериофаги можно рассматривать как фактор усиления активности ферментов. Тот же результат на средах Гиса с маннитом и маннозой [3,5]. Кроме этого на полужидких средах Гиса хорошо заметно замедление подвижности исследуемого микроорганизма – четкий рост только по уколу.

Изменилась чувствительность исследуемых бактерий к антибиотикам. Исследования проводили диско-диффузионным методом результаты представлены в таблице 1. Из которых видно, что чувствительность к антибактериальным веществам значительно повысилась.

Таблица 1- Результаты определения чувствительности *S.marcescens* в контроле и опыте к антибиотикам

№п/п	Название антибиотика	Размер зоны лизиса в контроле (мм)	Описание зон лизиса	Размер зоны лизиса в опыте (мм)	Описание зон лизиса
1.	Оксацилин	-	-	17	неполный лизис, слабый контур
2.	Цефазолин	-	-	16	неполный лизис, слабый контур
3.	Амоксициллин	6	полный лизис, четкий контур	19	полный лизис, четкий контур
4.	Цефтриаксон	15	полный лизис, четкий контур	28	полный лизис, четкий контур
5.	Канамицин	14	полный лизис, четкий контур	24	полный лизис, четкий контур
6.	Ампициллин	-	-	8	полный лизис, нечеткий контур
7.	Ципрофлоксацин	30	15 мм четкий контур и до 30 мм неполный лизис	37	26 мм полный лизис и до 37мм неполный лизис
8.	Офлаксацин	22	полный лизис, четкий контур	29	полный лизис, четкий контур
9.	Неомицин	17	полный лизис, четкий контур	25	полный лизис, четкий контур
10.	Рифампицин	-	-	7	полный лизис, четкий контур

Из таблицы видно, что чувствительность к антибиотикам повышается у бактерий в присутствии специфического фага от полного отсутствия зон задержки роста бактерий до 7-8 мм к рифампицину и ампициллину и до появления нормальной чувствительности серратий в 16-17 мм к цефазолину и оксациллину. А также повышение нормальной чувствительности опытного микроорганизма до высокой степени чувствительности с 14-17 мм до 24-28 мм к канамицину, цефтриаксону и неомицину, с 30 мм до 37 мм к ципрофлоксацину.

Заключение. Из проведенных исследований можно сделать вывод, о том, что у бактерий в присутствии специфического бактериофага понижаются барьерные функции и бактерия становится более уязвимой и чувствительной к химическим факторам [7] (т.е. бактериофаг выступает в роли повреждающего фактора бактерий и вызывает понижение защитных свойств микроорганизма, т.е. его мутацию) [4,6]. И мы считаем, что это явление можно использовать при проведении лечебных мероприятий в борьбе с инфекционными агентами для усиления лечебного эффекта при использовании антимикробных средств.

Библиографический список:

1. Sadrtidinova G.R. Sanitary assessment of environmental objects by isolation of virulent phages/ G.R.Sadrtidinova, L.P. Pulcherovskaya, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotuhin //Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences.- 2016. -№ 10 (58). С. 165-170.
2. Золотухин С.Н. Неспецифическая профилактика смешанной кишечной инфекции телят и поросят/ С.Н.Золотухин., Л.П.Пульчеровская, А.С.Каврук //Практик. -2006.- № 6.- С. 72.
3. Ефрейторова Е.О.Методы индикации и идентификации бактерий вида *Serratia Marcescens* в песке детских площадок/ Е.О.
4. Ефрейторова, Л.П.Пульчеровская, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева// Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. -Ульяновск.- 2015.- С. 114-117.
5. Булькинова Е.А.Фагоидентификация бактерий рода *Klebsiella*/ Е.А.Булькинова, С.Н.Золотухин, Д.А. Васильев //Роль молодых ученых в

реализации национального проекта "развитие АПК": Материалы международной научно-практической конференции.- 2007. -с. 222-225.

6. Булькинова Е.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Klebsiella*, конструирование на их основе биопрепарата: автореф. дисс. ... канд. биолог. наук.- саратов, 2006. (2 раза процитировать)

7. Садртдинова Г.Р. Оценка качества внешней среды методом выделения из неё фагов/ Г.Р.Садртдинова, Л.П.Пульчеровская, Д.А. Васильев, С.Н.Золотухин //Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем.: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. –Киров.- 2016-. С. 221-225.

BACTERIOPHAGE AS A DAMAGING FACTOR

Pulcherovskaya L.P., Lyashenko E.A., Dezhatkin I.E.

Keywords: *antibiotics, enterobacteria, Serratia marcescens, bacteriophages, disco-diffusion method, damaging factor, nutrient media*

The article presents the results of studying the effect of a specific bacteriophage on the biological properties of the host bacterium and its possible use in a new capacity during therapeutic measures.