

из различных источников внешней среды /П.Г. Васильев [и др.]. // Матер. юбил. научн. конф., посвящ. 50-ти-летию Центра ВТП биологической защиты НИИ микробиологии МО РФ. – Екатеринбург, 1999.- С. 32-33.

3. Диагностическое значение субъединичного сибирязвенного антигена /А.К. Галиуллин [и др.]. // Ветеринария. - 1996. - №1. - С. 17-19.

4. Лопаткин О.Н., Фунтикова Т.Н., Кронгауз И.В., Матюшенко В.С. Изучение уровня антигенного родства возбудителей сибирской язвы и различных штаммов *B. cereus*. // Тез докл. краевой науч. конф., посвящ. образованию СССР. – Ставрополь. – 1982. с. 175 – 178.

5. Laemmli V.K. Cleavage of structural protection during the assemble of the bacteriophage T4. // Nature (London). – 1970. – V.27. – P. 680 – 685.

6. Tombin P.K., Staehelin T., Gordon J. Electroforetic transfer of proteins from polyacrilamide gel to nitrocellulose sheets. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1979. – Vol. 76. №9. – P. 4350 – 4354.

ИЗУЧЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В ПОЛИВАЛЕНТНОМ ПРЕПАРАТЕ STUDY OF THE LYTIC ACTIVITY OF THE PHAGES OF ENTEROBACTERIACEA IN THE POLYVALENT PREPARATION

Мелехин А.С., Золотухин С.Н., Васильев Д.А.
Melekhin A.S., Zolotukhin S.N., Vasiliev D.A.
Ульяновская ГСХА

In the article there is given information about the interference of 13 strains of the Enterobacteriaceae phages used to construct the polyvalent preparation. The antagonistic effect is absent.

Желудочно-кишечные заболевания поросят-сосунов распространены повсеместно и наносят огромный экономический ущерб свиноводческим хозяйствам, особенно специализированным промышленным комплексам.

К настоящему времени накоплен огромный фактический материал, свидетельствующий о том, что в преобладающем большинстве случаев желудочно-кишечные заболевания новорожденных животных имеют инфекционную природу и обусловлены разнообразными агентами. Особое место в этиологии заболеваний новорожденных животных занимает так называемая «стойловая» условно-патогенная микрофлора, которая в отличие от возбудителей «классических инфекций» ежедневно поступает с экскрементами клинически здорового маточного поголовья (животных-бактерионосителей), а при возникновении первых случаев болезни - с фекалиями больного молодняка в репродукторные помещения, где рождаются животные и проводится их выращивание в первые недели жизни.

К такой микрофлоре, наряду с некоторыми другими микроорганизмами,

относятся бактерии семейства Enterobacteriaceae, знания о которых, как возбудителях заболеваний животных и человека, в последние десятилетия расширились благодаря работам многих исследователей (Л.С. Каврук, Золотухин С.Н. и др., 1998; Бритова, С.В., Л.С. Каврук, 1988; Е.С. Воронин и др., 1989; Е.Т. Парайко, 1990, 1992; Л.Я. Ставцева и др., 1992; Е.М. Куликовский, 1998; С.Н. Золотухин и др., 1992-2007; В.А. Мищенко и др., 1999; Л.Ф. Зыкин и др., 2002).

До начала 90-х годов прошедшего столетия ветеринарные лаборатории нашей страны при исследовании патологического материала от больного и павшего молодняка животных сводили к выявлению в нем только патогенных эшерихий и сальмонелл, не принимая во внимание наличия представителей других родов семейства Enterobacteriaceae ввиду отсутствия нормативных документов по диагностике болезней, вызываемых этими микроорганизмами. Последние были впервые разработаны и утверждены в конце 1991 года (Методические указания по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями) и затем переработаны в 1999 году, согласно которым бактерии родов *Proteus*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* и др. получили официальное признание возбудителей болезни.

Патогенные штаммы определенного вида и рода энтеробактерий могут вызывать желудочно-кишечные и септические заболевания у животных самостоятельно (моно- или простая инфекция), однако чаще всего болезнь протекает в форме смешанной инфекции, обусловленной ассоциацией нескольких перечисленных агентов, в которой постоянными являются бактерии рода *Escherichia* и наиболее частыми, по сравнению с другими, бактерии рода *Proteus* (С.Н. Золотухин, Л.С. Каврук, Д.А. Васильев, 2007).

Болезнь возникает в первые дни и недели жизни животных и проявляется чаще всего в виде энзоотической вспышки, развитию которой способствуют предрасполагающие факторы, связанные с несоблюдением технологических и ветеринарно-санитарных требований воспроизводства стада, а также нарушением режимов кормления и содержания молодняка.

К сожалению, средства специфической профилактики, выпускаемые биологической промышленностью страны для ветеринарии, направлены против ограниченного количества возбудителей (патогенных эшерихий, сальмонелл, клостридиум перфрингенс) и в арсенале практических ветеринарных работников отсутствуют препараты активные в отношении морганелл, клебсиелл, цитробактера, энтеробактеров, протей, иерсиний и других возбудителей, что в определенной степени снижает эффективность мероприятий по борьбе с кишечными инфекциями молодняка. Применение антибиотиков и нитрофурановых препаратов для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных животных, в ряде случаев оказывается не достаточно эффективным, что связано с приобретенным устойчивости условно-патогенных микроорганизмов к антибиотикам и разной чувствительностью к ним возбудителей болезни.

В связи с вышеуказанным, большое значение имеет проблема изыскания новых лечебно-профилактических средств против желудочно-кишечных заболеваний поросят-сосунов. Одним из таких препаратов являются бактериофаги. Преимуществом бактериофагов является их безвредность даже в больших дозах, отсутствие побочных действий на организм животных

(дисбактериоза, аллергических реакций, угнетения естественной резистентности организма).

Целью нашей работы явилось изучение совместимости штаммов фагов разных родов энтеробактерий при конструировании поливалентного биопрепарата.

Для этого нами была изучено изменение литической активности протейных, клебсиеллезных, энтеробактерных, цитробактерных, морганеллезных и эшерихиозных штаммов бактериофагов после их смешивания в равных объемах.

Материалы и методы

В работе изучали штаммы фагов серии УГСХА: Phagum *Morganella morganii* M17 и M-20; Phagum *Escherichia coli* O157 E-61 и E-67; Phagum *Citrobacter* C-61, C-66 и C-52; Phagum *Proteus* П-16 и П-261; Phagum *Enterobacter* En-2 и En-13; Phagum *Klebsiella* K-10 и K-81.

Штаммы были выделены нами из объектов внешней среды, депонированы в коллекции микроорганизмов Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, признаны перспективными и рекомендованы для изготовления диагностических и лечебно-профилактических препаратов.

Штаммы фагов в виде лизатов бульонных культур в титре $2-8 \times 10^9$ корпускул в 1,0 мл помещали в стерильную колбу в объеме 5 мл каждого фага.

Выдерживали в термостате при 37°C в течение 24 часов, затем изучали литическую активность каждого штамма фагов по методу Грация на индикаторной культуре гомологичного фагам энтеробактерий.

В качестве контроля использовали смесь 1 мл каждого фага с 12 мл МПБ.

Результаты исследований отражены в таблице 1.

Таблица 1. Литическая активность бактериофагов энтеробактерий в монокультуре и в смеси

Фаг	Индикаторная культура	Литическая активность фагов в смеси	Контроль (фаг+МПБ)
К - 10	<i>K. pneumoniae</i> № 1017	$2,3 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
К - 81	<i>K. pneumoniae</i> № 8172	$4,1 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$
M17	<i>M. morganii</i> №36/82	$3,5 \times 10^8$	$7,1 \times 10^8$
M-20	<i>M. morganii</i> O16	$4,8 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$
E-61	<i>E. coli</i> O157 №904	$5,0 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$
и E-67	<i>E. coli</i> O157 П1	$6,7 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$
C-52	<i>Citr. freundii</i> №9	$9,1 \times 10^8$	$7,2 \times 10^8$
C-61	<i>Citr. freundii</i> №16	$2,1 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$
C-66	<i>Citr. i amalonaticus</i> №11	$8,2 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$
П-16	<i>P. vulgaris</i> №261	$4,3 \times 10^8$	$6,7 \times 10^8$
П-261	<i>P. vulgaris</i> №3	$3,6 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$
En-2	<i>En. cloaceae</i> №10005	$4,9 \times 10^8$	$7,3 \times 10^8$
En-13	<i>En. cloaceae</i> №2601.	$7,8 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$

Как видно из показателей таблицы 1, снижения литической активности

фагов в смеси в сравнении с контролем не произошло.

Таким образом, антагонистического влияния между штаммами фагов энтеробактерий, используемых нами для конструирования поливалентного биопрепарата, не выявлено.

Литература:

1. Бритова С.В., Каврук Л.С.//Эпизоотология, эпидемиология, средства диагностики, терапии и специфической профилактики инфекционных болезней, общих для человека и животных. Матер. Всесоюзн. конф., Львов, 1988, с.343-344.
2. Воронин Е.С., Девришов Д.А., Ставцева Л.Я.//Лечение и профилактика диарей телят у новорожденных телят с использованием неспецифических препаратов и бактериофагов. Вестник с.-х. науки. – 1989. – № 9. – С. 105 – 110.
3. Золотухин С.Н., Васильев Д.А., Каврук Л.С. Смешанная кишечная инфекция телят и поросят, вызываемая патогенными энтеробактериями. Допущено министерством сельского хозяйства РФ в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений по специальности 310800 - Ветеринария. Ульяновск, 2005.
4. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их значение в патологии животных. Монография. Ульяновск, 2004, 152 с.
5. Куликовский А.В., Павлова И.Б., Джентемирова К.М., Дроздова Т.Д. Экология бактерий в популяции. // Вестник сельскохозяйственной науки. 1990. №2 с. 75-78.
6. Мищенко В.А. и др. Некоторые аспекты патогенеза диарей новорожденных телят. Ветеринария, 1999, №9, стр. 20-23.
7. Парайко Е.Т., Парайко И.Н. Серологические варианты и группы протей у поросят при желудочно-кишечных болезнях // Биопрепараты, методы их стандартиз. и контроля: Всерос. гос. науч.- контр. ин-т вет. препаратов. – М., 1990. – С.157-160.
8. Ставцева Л.Я., Федорова М.К., Павлова Г.В. //Вестн. с-х науки, 1992, №5-6, с. 149-152.