

# БАКТЕРИОФАГИ В МЕДИЦИНЕ И ВЕТЕРИНАРИИ



УДК 619:616-07

## ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ *AEROMONAS SALMONICIDA*

*Горшков И.Г., научный сотрудник, i.o.gun@mail.ru*

*Куклина Н.Г., научный сотрудник, ul\_nk@mail.ru*

*Викторов Д.А., кандидат биологических наук,*

*старший научный сотрудник, тел. 9084775573, viktorov\_da@mail.ru*

*Насибуллин И.Р., соискатель, тел. 9053484611, nir72@mail.ru*

*Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор*

*тел. 8(8422) 55-95-47, dav\_ul@mail.ru*

*Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор*

*тел. 9272703480, fyt.zol@yandex.ru*

*ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»*

**Ключевые слова:** *Aeromonas salmonicida*, аэромоназы рыб, бактериофаги, выделение, фаготерапия, фагоиндикация.

В результате проведённых исследований было выделено 4 изолята бактериофагов, активных в отношении *Aeromonas salmonicida*. Полученные бактериофаги перспективно использовать для фаготерапии, а также для постановки реакции нарастания титра фага, что позволит проводить диагностику аэромоназов рыб за сроки до 24 часов.

### **Актуальность исследования.**

Необходимость разработки быстрого и точного метода диагностики аэромоназов рыб, обусловленных *Aeromonas salmonicida*, в последнее время приобретает всё большую актуальность, на что указывают данные многих авторов [1]. В этой связи группой авторов предлагается применение метода реакции нарастания титра фага для индикации патогенных аэромонад в пищевой рыбной продукции, прудовой воде и патологическом материале, полученном от больной рыбы. Метод РНФ имеет ряд существенных преимуществ [2,3,7], однако для его проведения необходимо иметь в распоряжении индикаторные бактериофаги, обладающие определёнными свойствами (строгой специфичностью, широким спектром литической активности, максимальной урожайностью и подходящей морфологией негативных колоний).

**Целью исследований** являлось выделение и отбор наиболее активных культур бактериофагов бактерии *Aeromonas salmonicida* для дальнейшей разработки на их основе диагностического биопрепарата.

### **Ход исследования.**

Для выделения фагов бактерии *Aeromonas salmonicida* исследовано более 20 проб сточной и речной воды.

Исследуемую воду в количестве 50 мл заливали в колбы со 100 мл стерильного концентрированного мясопептонного бульона. Концентрированный мясопептонный бульон готовили

с таким расчётом, чтобы после смешивания с исследуемой водой получить обычную по составу среду [7]. В те же колбы добавляли по 3 мл 24-часовых индикаторных культур различных выделенных нами ранее из патологического материала рыб «полевых» штаммов *Aeromonas salmonicida*. После 48-часового культивирования в термостате при 25 °С полученную взвесь в количестве 5 мл перемещали в стерильные пробирки и центрифугировали 20 минут при 700 g. Наличие бактериофагов в надосадочной жидкости устанавливали с помощью спот-теста. Для этого на чашки Петри с мясопептонным агаром, подсушенным в течение суток, проводили посев 24-часовой индикаторной культуры сплошным газоном. После подсыхания газона на его поверхность наносили каплю исследуемой надосадочной жидкости [7]. Одновременно с этим для проверки на отсутствие жизнеспособных бактериальных клеток в надосадочной жидкости, делали посев фаголизата на мясопептонный агар. Чашки ставили в термостат при 25 °С. Посевы периодически просматривали через 18, 24 и 36 ч. Наличие лизиса бактериального газона в виде полосы чистого агара или отдельных негативных колоний по ходу стекания капли указывает на наличие в исследуемом материале соответствующего бактериофага.

#### **Результаты исследования и выводы.**

Таким образом, нами были получены 4 штамма бактериофагов, вызывающих стойкий лизис индикаторных бактериальных штаммов *Aeromonas salmonicida*. Дальнейшие исследования направлены на изучение биологических свойств и селекцию полученных бактериофагов с целью последующей разработки на их основе диагностических тест-систем для проведения реакции нарастания титра фага.

#### **Библиографический список**

1. Блинов А.И., Глушанова Н.А. // Аэромонады: выделение, идентификация и дифференциация, учебно-методические рекомендации, Новокузнецк, 1997
2. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – 2011. – 22 с.
3. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. М., Государственное издательство медицинской литературы медгиз, 1961
4. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонадозом карповых рыб, 1998 г.
5. Инструкция по борьбе с фурункулезом лососевых рыб, 1997 г.,
6. Методические указания по санитарно - бактериологической оценке рыбохозяйственных водоемов. Указание министерство Здравоохранения РФ. 27 сентября 1999г. № 13-4-2/1742.
7. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. К., «Урожай», 1978.

## **PROSPECTS OF APPLICATION OF BACTERIOPHAGES FOR THE DISPLAY OF THE PATHOGENIC AEROMONADS**

**Gorshkov I.G., Kuklina N.G., Viktorov D.A., Nasibullin I.R., Vasilev D.A., Zolotukhin S.N.**

**Keywords:** *Aeromonas salmonicida*, aeromonosis fish bacteriophage selection phagotherapy, fagoindikatsiya.

*The studies were allocated 4 isolate bacteriophage active against Aeromonas salmonicida. Phages obtained prospectively used for phage therapy, and for the assay of the phage titer rise, which will diagnose aeromonosis fish for up to 24 hours.*