

УДК 578.81

СПЕКТР ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ БАКТЕРИОФАГОВ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

*А.М. Артамонов, соискатель кафедры микробиологии, вирусологии,
эпизоотологии и ВСЭ*

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

Д.А. Викторов, к.б.н., старший научный сотрудник,

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

т. 8-908-477-55-73, e-mail: viktorov_da@mail.ru

Д.А. Васильев, д.б.н., профессор,

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

Тел. 8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru

Ключевые слова: *Pseudomonas fluorescens*, бактериофаги, спектр литической активности, специфичность, фагодиагностика.

Авторами проведено исследование специфичности и спектра литической активности выделенных ранее бактериофагов *Pseudomonas fluorescens* для их дальнейшей селекции по названным критериям в целях разработки диагностического биопрепарата и оптимизации метода реакции нарастания титра фага.

Актуальность.

Необходимость разработки новых методов индикации бактерий *Pseudomonas fluorescens* вытекает главным образом из патогенных свойств данного микроорганизма, в частности, по отношению к прудовой рыбе и рыбе открытых водоёмов, вызывая заболевание псевдомоноз, распространенное в хозяйствах, применяющих индустриальные методы рыбоводства [1, 3]. Кроме того, *Pseudomonas fluorescens* является фитопатогенным микроорганизмом [7].

Цель: Исследование спектра литической активности и специфичности выделенных ранее бактериофагов *Pseudomonas fluorescens*.

Материалы и методы исследования.

Спектр литической активности и специфичность изучались у выделенных ранее изолятов бактериофагов *P. fluorescens*: Pf01F1-УГСХА, Pf01F2-УГСХА, Pf01F3-УГСХА, Pf01F4-УГСХА.

В качестве индикаторной культуры при культивировании и пассажах названных фагов использовали штамм *P. fluorescens* ATCC 13525 IV-96. Посевы инкубировали при температуре 28 °С в течение 24 часов.

Для определения спектра литической активности использовали референс-штаммы: *P. fluorescens* ATCC 13525 IV-96, В-896, В-970, В-1470, и выделенные нами ранее 28 полевых штаммов *P. fluorescens*.

Для определения специфичности использовали 5 референс-штаммов *P. putida*: №901 IV-89; ATCC 12633 IV-87, В-899, В-550, В-1292, 33 «полевых» штамма *P. putida*, 3 референс-штамма бактерии *P. aeruginosa*: №128, №381, №1677, 2 референс-штамма бактерии *P. chlororaphis*: В-1246, В-1249, а также 14 штаммов бактерий других родов: *Aeromonas hydrophila*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Все названные штаммы были получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ при ФГБОУ ВПО Ульяновской ГСХА им. П.А. Столыпина и обладали типичными биологическими свойствами.

Определение спектра литической активности и специфичности бактериофагов проводили с помощью спот-теста на газоне индикаторных и гетерогенных бактериальных культур. Посевы инкубировали при оптимальной для изучаемых бактериальных штаммов температуре, оценку результатов проводили через 18-24 ч (рис. 1).

Результаты исследований.

Результаты определения спектра литической активности представлены в таблице 1.

Таблица 1. Спектр литической активности фагов по отношению к штаммам *P. fluorescens*.

№ п/п	Штамм фага	Количество испытанных штаммов <i>P.</i> <i>fluorescens</i>	Количество лизирруемых штаммов <i>P.</i> <i>fluorescens</i>	Процент лизирруемых штаммов <i>P.</i> <i>fluorescens</i> , %
1	Pf01F1-УГСХА	32	28	87,5
2	Pf01F2-УГСХА	32	23	71,9
3	Pf01F3-УГСХА	32	20	62,5
4	Pf01F4-УГСХА	32	26	81,3

Наиболее широким спектром литической активности по отношению к изучаемым культурам обладает штамм фага Pf01F1-УГСХА, который лизировал 28 из имеющихся у нас 32 штаммов *P. fluorescens* (87,5 %). Спектр литической активности остальных исследованных фагов *P. fluorescens* составил от 62,5 до 81,3 %.

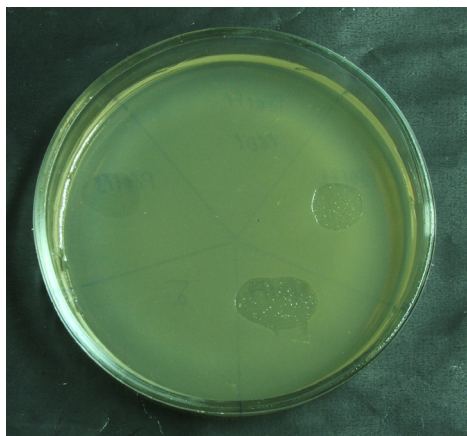


Рис. 1. Зоны лизиса в месте нанесения бактериофагов Pf01F1-УГСХА, Pf01F2-УГСХА, Pf01F3-УГСХА, Pf01F4-УГСХА

Установлено, что все четыре исследуемых бактериофага строго специфичны по отношению к *P. fluorescens* и не лизируют бактерии других видов и родов (табл. 2).

Таблица 2. Специфичность выделенных бактериофагов

№ п/п	Вид бактерий	Pf01F1-УГСХА	Pf01F2-УГСХА	Pf01F3-УГСХА	Pf01F4-УГСХА
1.	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
2.	<i>P. putida</i>	-	-	-	-
3.	<i>P. chlororaphis</i>	-	-	-	-
4.	<i>A. hydrophila</i>	-	-	-	-
5.	<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-
6.	<i>M. morganii</i>	-	-	-	-
7.	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-
8.	<i>Salmonella</i>	-	-	-	-
9.	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
10.	<i>Streptococcus</i>	-	-	-	-
11.	<i>B. cereus</i>	-	-	-	-
12.	<i>E.coli</i>	-	-	-	-
13.	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-
14.	<i>C. freundii</i>	-	-	-	-
15.	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	-	-	-
16.	<i>Y. enterocolitica</i>	-	-	-	-
17.	<i>S. maltophilia</i>	-	-	-	-

Примечание: «-» - отсутствие лизиса.

Вывод: По результатам определения спектра литической активности и специфичности выделенных бактериофагов пришли к выводу, что для дальнейшего конструирования диагностического биопрепарата целесообразно использовать бактериофаг Pf01F1-УГСХА, строго специфичный по отношению к *P. fluorescens* (как и остальные изученные нами бактериофаги) и лизирующий 87,5 % имеющихся в нашем распоряжении штаммов *P. fluorescens*.

Библиографический список:

1. Викторов Д.А. Усовершенствование методов диагностики псевдомонозов рыб / Д.А. Викторов, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев, А.М. Артамонов, С.Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013. – Т. 1. – Ульяновск, 2013. – С. 162-164.
2. Вялова Г.П. Методы борьбы и профилактики псевдомоноза молоди горбуши / Г.П. Вялова, А.В. Полтева, З.К. Шкурина // Информ. листок СахЦНТИ. – 1995. – № 38-95. – С. 4.
3. Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации псевдомоноза рыб, Минсельхозпрод России, Департамент ветеринарии, 1998.
4. Каттер Э. Бактериофаги : биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; пер. с англ.: коллектив пер.; науч. ред. рус. изд. А.В. Летаров. – Москва: Научный мир, 2012. – 636 с.
5. Методические указания по лабораторной диагностике псевдомонозов рыб, Минсельхозпрод России, Департамент ветеринарии, 1998.
6. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. К., «Урожай», 1978.
7. Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев. Наукова думка, 1990, с. 176-187.