

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕЙНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ

Феоктистова Н.А.<sup>1</sup>, Васильев Д.А.<sup>1</sup>, Золотухин С.Н.<sup>1</sup>, Сульдина Е.В.<sup>1</sup>, Мاستиленко А.В.<sup>1</sup>, Майоров П.С.<sup>1</sup>, Мартынова К.В.<sup>1</sup>, Молофеева Н.И.<sup>1</sup>, Обухов И.Л.<sup>2</sup>, Шморгуи Б.И.<sup>3</sup>, Швиденко И.Г.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Ульяновский ГАУ», Ульяновск, e-mail: feokna@yandex.ru;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», Москва, e-mail: oil15@mail.ru;

<sup>3</sup>ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), Москва, e-mail: shm.boris@mail.ru;

<sup>4</sup>ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, e-mail: dav\_ul@mail.ru

В статье описаны результаты изучения некоторых биологических свойств протейных бактериофагов FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА. Установлено, что титр литической активности протейных фагов находится в диапазоне от  $10^{-6}$  до  $10^{-8}$  по Аппельману и от  $2,4 \pm 0,1 \times 10^7$  до  $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл по А. Gratia. Наиболее высокие титры имели фаги FPr - 11 УГСХА ( $3,1 \pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ/мл;  $10^{-8}$ ) и FPr - 13 УГСХА ( $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ/мл;  $10^{-8}$ ). Морфология негативных колоний изучаемых протейных фагов представлена бляшкообразующими единицами с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от  $0,5 \pm 0,1$  до  $0,9 \pm 0,1$  мм. Изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса шести бактериофагов на 58 штаммах составил 100%. Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры: *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* В течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов оставались без изменений; через 6 месяцев наблюдений они снизились на 1 порядок, но был восстановлен 5-6-кратным пассированием на индикаторных культурах. Определена средняя урожайность бактериофагов: у фага FPr - 13 УГСХА она равна  $1986:14=141,9$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53, у фага FPr - 11 УГСХА -  $6445:133=49,66$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42.

Ключевые слова: бактерии, *Proteus*, бактериофаги, биологические свойства, урожайность, литическая активность, специфичность, морфология негативных колоний.

## BIOLOGICAL FEATURES OF *PROTEUS* BACTERIOPHAGES

Feoktistova N.A.<sup>1</sup>, Vasilyev D.A.<sup>2</sup>, Zolotukhin S.N.<sup>1</sup>, Suldina E.V.<sup>1</sup>, Mastilenko A.V.<sup>2</sup>, Mayorov P.S.<sup>1</sup>, Martynova K.V.<sup>1</sup>, Molofeeva N.I.<sup>1</sup>, Obukhov I.L.<sup>2</sup>, Shmorgun B.I.<sup>3</sup>, Shvidenko I.G.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>FGBOOU WAUGH Ulyanovsk GAU, Ulyanovsk, e-mail: feokna@yandex.ru;

<sup>2</sup>FGBNU All-Russian Research Institute of a veterinary sanitation, hygiene and bionomics, Moscow, e-mail: oil15@mail.ru;

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Institution Vserossiysky the state Center of quality and standardization of medicines for animals and forages (Federal State Budgetary Institution VGNI), Moscow, e-mail: shm.boris@mail.ru;

<sup>4</sup>SEI VPO Saratovskiy GMU of V.I. Razumovskiy of the Russian Ministry of Health, Saratov, e-mail: dav\_ul@mail.ru

In article results of studying of some biological properties the proteynykh of bacteriophages of FPr-10 UGSHA, FPr-11 UGSHA, FPr-12 UGSHA, FPr-13 UGSHA, FPr-14 UGSHA, FPr-15 UGSHA are described. It is established that a caption of lytic activity the proteynykh of phages is in range from  $10^{-6}$  to  $10^{-8}$  across Appelman and from  $2,4 \pm 0,1 \times 10^7$  to  $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$  BOE (the blyashkoobrazuyushchikh of units) / ml on A. Gratia. The highest credits had FPr phage - 11 UGSHA ( $3,1 \pm 0,1 \times 10^9$  BOE/ml;  $10^{-8}$ ) and FPr - 13 UGSHA ( $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$  BOE/ml;  $10^{-8}$ ). The morphology of negative colonies of the phages studied the proteynykh is presented by blyashkoobrazuyushchy units with accurate edge and the transparent center of various diameter in the range from  $0,5 \pm 0,1$  to  $0,9 \pm 0,1$  mm. The studied bacteriophages of *Proteus* are specific within a sort, possess cross lysis within types of *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis*. The cumulative percent of lysis of six bacteriophages on 58 strains has made 100%. Proteynye a phage are strictly specific within a sort and don't lizirut culture: *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* Within 1-3 months indicators of lytic activity of the studied bacteriophages I was left without changes; in 6 months of observations

they have decreased on 1 order, but has been restored by 5-6 multiple browning on indicator cultures. The average yield of bacteriophages is defined: at FPr phage - 13 UGSHA it is equal  $1986:14=141,9$  virus particles on one microbic cage of *Proteus vulgaris* 53, at FPr phage - 11 UGSHA -  $6445:133=49,66$  virus particles on one microbic cage of *Proteus vulgaris* 42.

Keywords: bacteria, *Proteus*, bacteriophages, biological properties, productivity, lytic activity, specificity, morphology of negative colonies.

По литературным данным, бактерии рода *Proteus* - это кишечные грамотрицательные подвижные палочки, которые часто показывают плеоморфизм на плотной питательной среде, отсюда и соответствующее название рода [1; 2]. Часто выделяются из мясных, рыбных и овощных продуктов, особенно тех, которые подвергаются порче при температуре диапазона мезофилов. Бактерии рода *Proteus* регистрируются в шести экологических источниках происхождения организмов, обнаруживаемых в пищевых продуктах: почве и воде, растительных продуктах, пищевом инвентаре, желудочно-кишечном тракте, при транспортировке/хранении продуктов, шкурах животных [1; 3-8].

В настоящее время выделение и идентификация бактерий рода *Proteus* регламентируется межгосударственными стандартами. Методы выявления основаны на посеве исходного разведения анализируемой пробы продукта или другого эквивалентного разведения в питательные среды, культивировании посевов при  $(37 \pm 1)$  °C в течение 24-48 ч, выделении типичных и (или) предполагаемых колоний, подтверждении их принадлежности по культуральным, морфологическим признакам и биохимическим свойствам к бактериям рода *Proteus* [9; 10].

По литературным данным, в настоящее время повышается значимость бактериофагов как высокоспецифического метода индикации и идентификации [11]. Поэтому исследовательская работа в области поиска эффективных методов выделения и идентификации бактериальных агентов, контаминирующих пищевые продукты и вызывающих тем самым их порчу, направлена на конструирование специфических фаговых биопрепаратов [12].

Применение бактериофагов как универсального механизма, способного элиминировать (разрушать) специфичные бактерии, позволяет использовать этот биологический феномен в качестве безопасного средства деконтаминации пищевого сырья. Конструирование биопрепаратов на основе бактериофагов требует изучения их основных биологических свойств с целью получения высокоэффективного средства с широким спектром действия.

### **Цель и задачи исследований**

Цель работы – изучение некоторых биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* с целью конструирования фагового биопрепарата для обработки пищевого сырья и готовой продукции, способствующего увеличению сроков хранения, позволяющего

элиминировать вышеназванные микроорганизмы с поверхности рыбной и мясной продукции.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить литическую активность бактериофагов *Proteus* (методами Аппельмана и Грациа);
- изучить морфологию негативных колоний бактериофагов *Proteus*,
- определить специфичность действия бактериофагов *Proteus*;
- изучить спектр литического действия выделенных и селекционированных бактериофагов *Proteus*;
- зафиксировать изменения литической активности протейных бактериофагов при хранении;
- изучить урожайность протейных бактериофагов.

#### **Объекты и методы исследований**

Бактериофаги, специфичные к культурам рода *Proteus*, 6 изолятов: FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА, выделенные и селекционированные авторами самостоятельно в 2015-2016 гг. В работе было использовано 58 штаммов бактерий рода *Proteus* (*Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*); 69 штаммов бактерий: *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Providencia spp.*, полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО «Ульяновский ГАУ» и выделенных авторами самостоятельно из проб мясного и рыбного сырья и готовых продуктов. Все культуры обладали типовыми свойствами и хранились при температуре 2-4 °С в столбике 0,7% мясо-пептонного агара. В исследованиях использовали 20±2 часовые культуры микроорганизмов (температура культивирования 36±1 °С).

В исследованиях применяли питательный бульон ТУ 10-02-02-789-176-94 (ООО «БиоКомпас-С», РФ), питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ТУ 9398-020-78095326-2006 (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), генцианвиолет 548-62-9 (ЗАО «Вектон», РФ).

Изучение биологических свойств бактериофагов проводили при температуре культивирования 36±1 °С, время термостатирования посевов 18±2 часа по отработанным ранее методикам [3]. Литическую активность фагов (концентрацию фаговых частиц) определяли методом агаровых слоев по А. Грациа в двухслойном мясо-пептонном агаре и методом разведений (титрования) по Аппельману. Посев последовательных разведений фагового препарата с целью повышения точности эксперимента проводили трижды.

Морфология негативных колоний (бляшкообразующих единиц) протейных фагов изучалась при визуальном осмотре результатов посева чашечным методом по методике А. Gratia [13].

Адсорбцию протейных бактериофагов изучали при взаимодействии их с индикаторными культурами по М. Адамсу (1961) в модификации Золотухина С.Н. (2007), которая основана на исследовании количества корпускул неадсорбированного фага в смеси бактерия-фаг [12]. Адсорбцию фага FPr - 11 УГСХА изучали на клетках *Proteus vulgaris* 42; FPr - 13 УГСХА - *Proteus vulgaris* 53. Время адсорбции для фагов устанавливали индивидуально в зависимости от процента максимальной адсорбции для конкретной смеси (фаг+клетка хозяина).

Для определения длительности латентного периода и урожайности фага использовали способ изучения одиночного цикла размножения фага без применения антифаговой сыворотки. В основу метода определения длительности латентного периода и урожайности фага положено свойство эмбихина избирательно инактивировать различные фаги без повреждения бактерий [14].

### Результаты исследований

Исследования по определению литической активности - титра бактериофагов рода *Proteus* позволяют нам утверждать, что они имеют различный титр в диапазоне от  $10^{-6}$  до  $10^{-8}$  по Аппельману и от  $2,4 \pm 0,1 \times 10^7$  до  $5,7 \pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл по Грациа.

Морфология негативных колоний – это основной биологический признак клонов бактериофагов, позволяющий проводить скрининговые дифференциальные тесты бактериальных патогенов на газоне индикаторной культуры. Определено, что при высеве на МПА образуются бляшкообразующие единицы с четким краем и прозрачным центром различного диаметра в диапазоне от  $0,5 \pm 0,1$  до  $0,9 \pm 0,1$  мм (табл. 1).

Для определения специфичности изучаемых протейных бактериофагов были проведены эксперименты на культурах *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* Экспериментально было установлено отсутствие зон лизиса на газоне вышеназванных культур, что свидетельствует о строгой специфичности изучаемых протейных фагов.

Таблица 1

Показатели некоторых биологических свойств изучаемых протейных бактериофагов

№	Название протейного бактериофага и индикаторной культуры, на которой он	Результат изучения характерных биологических свойств бактериофагов рода <i>Proteus</i> на индикаторной бактериальной культуре			
		Литическая активность, БОЕ /мл (по методу	Литическая активность (по методу	Спектр литического действия на	Диаметр негативных колоний, мм

	селекционируется	агаровых слоев по Грациа)	Аппельмана)	культуре (по Отто)	
1	FPr - 10 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 41</i>	2,4±0,1x10 <sup>8</sup>	10 <sup>-7</sup>	++	0,5±0,1
2	FPr - 11 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 42</i>	3,1±0,1x10 <sup>9</sup>	10 <sup>-8</sup>	+++	0,6±0,1
3	FPr - 12 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 43</i>	1,4±0,3x10 <sup>8</sup>	10 <sup>-7</sup>	+	0,9±0,1
4	FPr - 13 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 53</i>	5,7±0,1x10 <sup>9</sup>	10 <sup>-8</sup>	+++	0,5±0,1
5	FPr - 14 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 54</i>	2,4±0,1x10 <sup>7</sup>	10 <sup>-6</sup>	+	0,7±0,1
6	FPr - 15 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 56</i>	2,6±0,1x10 <sup>8</sup>	10 <sup>-7</sup>	++	0,8±0,1

Примечание: «+» - наличие зоны лизиса по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*;

«++» - наличие зоны лизиса и отдельных стерильных пятен по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*;

«+++» - наличие стерильного пятна и зон лизиса по ходу стекания капли бактериофага на газоне культуры, принадлежащей к роду *Proteus*.

Полученные данные по изучению спектра литического действия свидетельствуют о том, что изучаемые бактериофаги рода *Proteus* активно работают в широком диапазоне изучаемых культур. Совокупный процент лизиса 58 протейных штаммов у 6 бактериофагов составляет 100%. Выявлены два бактериофага FPr - 11 УГСХА и FPr - 13 УГСХА, совокупный лизис которых также составляет 100%.

Исследования протейных бактериофагов, закрытых в стерильные флаконы без добавления консерванта, которые хранились в условиях бытового холодильника (2-4 °С), проводили методом диффузии в «мягкий» методом агаровых слоев по А. Грациа. Результаты исследований представлены в таблице 2. Установлено, что в течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов остались без изменений. Последующие исследования свидетельствуют об относительно невысокой скорости снижения показателя литической активности в пределах 6 месяцев, когда велся мониторинг данного показателя. Последующее 5-6-кратное пассирование бактериофагов на индикаторных культурах позволило восстановить исходный титр фага, который был установлен при закупоривании в стерильные флаконы.

Таблица 2

Изменение литической активности протейных бактериофагов при хранении

Название протейного бактериофага и индикаторной культуры, на которой он	Литическая активность, БОЕ /мл (по методу агаровых слоев по Грациа)			
	перед закупориванием	через 1 месяц	через 3 месяца	через 6 месяцев

	селекционируется				
1	FPr - 10 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 41</i>	2,4±0,1x10 <sup>8</sup>	2,3±0,1x10 <sup>8</sup>	2,1±0,1x10 <sup>8</sup>	1,6±0,1x10 <sup>7</sup>
2	FPr - 11 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 42</i>	3,1±0,1x10 <sup>9</sup>	3,0±0,1x10 <sup>9</sup>	2,9±0,1x10 <sup>9</sup>	2,0±0,1x10 <sup>8</sup>
3	FPr - 12 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 43</i>	1,4±0,3x10 <sup>8</sup>	1,3±0,1x10 <sup>8</sup>	1,2±0,3x10 <sup>8</sup>	0,9±0,1x10 <sup>7</sup>
4	FPr - 13 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 53</i>	5,7±0,1x10 <sup>9</sup>	5,6±0,1x10 <sup>9</sup>	5,3±0,1x10 <sup>9</sup>	4,9±0,1x10 <sup>8</sup>
5	FPr - 14 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 54</i>	2,4±0,1x10 <sup>7</sup>	2,3±0,1x10 <sup>7</sup>	2,1±0,1x10 <sup>7</sup>	1,8±0,1x10 <sup>6</sup>
6	FPr - 15 УГСХА / <i>Proteus vulgaris 56</i>	2,6±0,1x10 <sup>8</sup>	2,4±0,1x10 <sup>8</sup>	2,2±0,1x10 <sup>8</sup>	1,9±0,1x10 <sup>7</sup>

В результате проведенных экспериментов было установлено, что два протейных бактериофага FPr - 11 УГСХА и FPr - 13 УГСХА характеризуются максимально высокими титрами и незначительно снижают их в течение 6 месяцев. Вышеназванные бактериофаги будут в перспективе использованы для конструирования экспериментального биопрепарата. Изучение показателей урожайности протейных бактериофагов определялось у фагов FPr - 11 УГСХА и FPr - 13 УГСХА.

При определении адсорбционных способностей протейных бактериофагов было установлено, что изучаемые фаги имели разные показатели скорости адсорбции: фаг FPr - 11 УГСХА за 6 минут адсорбировался на клетках *Proteus vulgaris 42* в количестве 68,8%, константа скорости адсорбции  $K = 3,8 \text{ см}^3/\text{мин}^{-1}$ ; фаг FPr - 13 УГСХА при контакте с клетками *Proteus vulgaris 53* в течение 7 минут адсорбировался на них 87,2%, константа скорости адсорбции составила  $K = 5,8 \text{ см}^3/\text{мин}^{-1}$ . Установлено, что наиболее выраженные показатели скорости адсорбции на клетках-хозяев были у бактериофага FPr - 11 УГСХА.

Для определения длительности латентного периода и урожайности фага в предварительном опыте параллельного титрования эмбихина на исследуемых фагах FPr - 11 УГСХА и FPr - 13 УГСХА и штаммах *Proteus vulgaris 53* и *Proteus vulgaris 42* первоначально устанавливали рабочую дозу препарата, т.е. то его количество, которое в 0,9 мл физиологического раствора способно было за 5 минут при  $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  инактивировать 90-95% фага при исходной его концентрации  $3-5 \times 10^7$  БОЕ/мл. Опытным путем определено, что препарат в рабочей дозе в аналогичных условиях не должен оказывать антибактериального действия при контакте с  $4,4 \times 10^8$  м.к./мл. В экспериментах определено, что рабочая доза эмбихина была равна 7  $\gamma$ , т.е. среднему из двух последних эффективных доз. После определения рабочей дозы проводили основной опыт. Бактериальные культуры, выращенные в мясо-пептонном бульоне и находящиеся в логарифмической фазе роста, разводили мясо-пептонным бульоном до концентрации бактерий  $4,4 \times 10^8$  м.к./мл. К 0,9 мл

такой культуры, предварительно адаптированной к  $36\pm 1$  °С, добавляли соответствующего бактериофага 0,1 мл, содержащего  $4,4 \times 10^8$  БОЕ/мл, смесь инкубировали в термостате в течение 5 минут, а затем 0,1 мл переносили в 0,9 мл физиологического раствора с рабочей дозой эмбихина, предварительно прогретого в водяной бане при  $36\pm 1$  °С. После 5-минутной инкубации смеси при  $36\pm 1$  °С опыт продолжали по методу Эллиса и Дельбрюка. Затем из этой пробирки брали 0,1 см<sup>3</sup> жидкости, которую вносили к 9,9 см<sup>3</sup> бульона. Из четвертой пробирки брали 0,1 см<sup>3</sup> жидкости и вносили в 9,9 см<sup>3</sup> бульона (пятая пробирка). Получая указанные разведения, мы стремились создать постоянную и наименьшую концентрацию частиц фага в четвертой пробирке и максимально уменьшить ее в пятой с целью возможности подсчета колоний фага по окончании латентного периода. Из 4 и 5 пробирок приготовленными разведениями через каждые 1-2 минуты брали по 0,1 см<sup>3</sup> жидкости и засеивали в две бактериологические чашки по методу агаровых слоев. Подсчет негативных колоний проводили после 16-18-часового инкубирования чашки при  $36\pm 1$  °С.

Установлено, что латентный период внутриклеточного развития фага FPr - 11 УГСХА на клетках *Proteus vulgaris* 42 равен 25-26 минутам. Среднее количество бляшкообразующих единиц на чашках при высеивании из 4-й пробирки с 15 по 20 минуту опыта равно 131,1, а при высеивании с 40 по 60 минуту из пятой пробирки – 64,45. Средняя урожайность бактериофага FPr - 11 УГСХА равна  $6445:133=49,66$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42. Латентный период внутриклеточного развития фага FPr - 13 УГСХА на клетках *Proteus vulgaris* 53 равен 21-22 минутам. Среднее количество бляшкообразующих единиц на чашках при высеивании из 4-й пробирки с 15 по 20 минуту опыта равно 14, а при высеивании с 23 по 60 минуту из пятой пробирки – 19,86. Средняя урожайность бактериофага FPr - 13 УГСХА равна  $1986:14=141,9$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53.

### **Заключение**

При проведении исследований нами были изучены некоторые биологические свойства протейных бактериофагов FPr-10 УГСХА, FPr-11 УГСХА, FPr-12 УГСХА, FPr-13 УГСХА, FPr-14 УГСХА, FPr-15 УГСХА, выделенных и селекционированных авторами самостоятельно в 2015-2016 гг.

Литическая активность бактериофагов рода *Proteus* составляет  $10^6 - 10^8$  по Аппельману и от  $2,4\pm 0,1 \times 10^7$  до  $5,7\pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл по Грациа. Наиболее высокие титры имели фаги FPr - 11 УГСХА ( $3,1\pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ/мл;  $10^8$ ) и FPr - 13 УГСХА ( $5,7\pm 0,1 \times 10^9$  БОЕ/мл;  $10^8$ ).

Морфология негативных колоний изучаемых фагов представлена бляшкообразующими единицами с четким краем и прозрачным центром различного

диаметра в диапазоне от  $0,5\pm 0,1$  до  $0,9\pm 0,1$  мм.

Определено, что изучаемые бактериофаги *Proteus* специфичны в пределах рода, обладают перекрестным лизисом в пределах видов *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*. Совокупный процент лизиса шести бактериофагов на 58 культурах составил 100%.

Протейные фаги являются строго специфичными в пределах рода и не лизируют культуры: *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, *Escherichia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*

Установлено, что в течение 1-3 месяцев показатели литической активности исследуемых бактериофагов оставались без изменений. Через 6 месяцев наблюдений они снизились на 1 порядок, но были восстановлены 5-6-кратным пассированием на индикаторных культурах.

Определено, что средняя урожайность бактериофага FPr - 13 УГСХА равна  $1986:14=141,9$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 53 и средняя урожайность бактериофага FPr - 11 УГСХА равна  $6445:133=49,66$  вирусной частицы на одну микробную клетку *Proteus vulgaris* 42.

Изученные свойства протейных фагов позволяют систематизировать биологические особенности каждого из выделенных клонов вирулентных бактериофагов и произвести отбор двух фагов - FPr - 11 УГСХА и FPr - 13 УГСХА для конструирования в перспективе биопрепарата для обработки бактериофагами пищевого сырья и готовой продукции. Результаты экспериментов А.В. Алешкина с соавт. доказывают, что применение бактериофагов способствует увеличению сроков хранения пищевого сырья и продовольственных товаров, так как эффективно элиминируют микроорганизмы с поверхности продукции [15].

*Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2017 году.*

### Список литературы

1. Джей Дж.М. Современная пищевая микробиология / Дж.М. Джей, М.Дж. Лесснер, Д.А. Гольден. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – С. 36, 41, 85.
2. Феоктистова Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23. – Саратов, 2006. – С. 7.
3. Феоктистова Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Proteus* // Бактериофаги микроорганизмов, значимых для

животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. – С. 171-185.

4. Мауль О.Г. Проблема выделения сальмонелл из продуктов, обсемененных бактериями рода *Proteus* / О.Г. Мауль, О.Е. Чугунова, Н.А. Татарникова // Пермский аграрный вестник. - 2016. - № 1 (13). - С. 60-63.
5. Bradeeba K. Antibiotic susceptibility of selected pathogenic bacteria isolated from raw meat sample obtained from Chidambaram, Tamil Nadu / K. Bradeeba, P.K. Sivakumaar // J. Chem. Pharm. Res. – 2013. - № 5 (1). – P. 64-6.
6. Buller N.B. Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals A Practical Identification Manual. - CABI Publishing, 2004. – P. 29.
7. Rodrigues M.J. Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials / M.J. Rodrigues, P. Ho, M.E. Lopez-Caballero et al. // Food Microbiology. – 2003. - № 20. – P. 471-481.
8. Basti A.A. Bacteria pathogens in fresh, smoked, and salted Iranian fish / A.A. Basti, A. Misaghi, T.Z. Salehi, A. Kamkar // Food Control. – 2006. - № 17. – P. 183-188.
9. ГОСТ 7702.2.7 - 2013. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления бактерий рода *Proteus*. Poultry meat, edible offal and poultry meat ready-to-cook. Methods for detection of *Proteus* bacteria. - М.: ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 2014. – С. 4.
10. ГОСТ 28560-90 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Food products. Method for detection of bacteria of *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* genera. - сб. ГОСТов. - М.: Стандартинформ, 2010. – С. 2.
11. Сятчихина Е.Н. Критерии отбора бактериальных штаммов и бактериофагов для формирования производственной коллекции, специфически лизирующих бактерии родов: *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* / Е.Н. Сятчихина, П.А. Набатников, С.А. Коровкин и др. // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. – 2016. – Т. 16. - № 2 (58). – С. 90-95.
12. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23. – Ульяновск, 2007. – С. 8-9, 98-99.
13. Киселева И.А. Специализированный продукт диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов: конструирование, технология производства, оценка безопасности и эффективности применения: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) 03.02.03 – микробиология. – М., 2015. – С. 22-23.
14. Каттер Э. Бактериофаги: биология и практическое применение / под общ. ред. Э.

Каттер, А. Сулаквелидзе (пер. с англ.: коллектив переводчиков; науч. ред. А.В. Летаров). – М.: Научный мир, 2012. – С. 614-620.

15. Алешкин А.В. Возможности применения бактериофагов в качестве пробиотических средств деконтаминации в области питания / А.В. Алешкин, М.В. Зейгарник // Вопросы диетологии. – 2012. – Т. 2, № 4. – С. 24–34.