

УДК 579.6:579.22:579.63

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Монархович М.А. *, Галабурда О.А., Арашкова А.А., Сверчкова Н.В., Коломиец Э.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси,

ул. Купревича, 2, г. Минск, 220141, Республика Беларусь

*monarchovich_maria28@mail.ru

АБСТРАКТ

Получены фаги, активные в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий родов *Escherichia* (КЗР1, КЗР2, БИМ BV-44 Д) и *Pseudomonas* (PsP1), формирующих зоны лизиса в виде однородных негативных колоний с четким ровным краем (КЗР1, PsP1, БИМ BV-44 Д), а также негативные колонии с зоной неполного лизиса по периферии (КЗР2). Диаметр фаговых бляшек составляет 0,5–1,5 мм. Изучен спектр литической активности выделенных фагов. Установлено, что исследованные бактериофаги являются видоспецифичными. Наибольшим диапазоном лизиса изучаемых бактериальных культур обладают бактериофаги КЗР1, КЗР2. Выявлены различия выделенных бактериофагов по рестрикционным профилям. Изучено взаимодействие бактериофагов с клетками бактерий *E. coli* и *Ps. aeruginosa*. Полученные штаммы бактериофагов с высокой литической активностью к санитарно-показательным бактериям могут быть использованы в составе моющих средств в качестве дезинфектантов.

Ключевые слова: бактериофаги, морфологические признаки, спектр литической активности, видоспецифичность, молекулярно-генетический анализ, адсорбция

ВВЕДЕНИЕ

Широкое использование химических моющих и дезинфицирующих средств представляет опасность для окружающей среды и безопасности человека и животных. Вследствие развития резистентности патогенных бактерий многие синтетические средства утрачивают свою эффективность, что требует увеличения объема их применения. Существенным недостатком химических средств является также неспособность предотвратить повторное заражение патогенами [1, 2]. Такие средства оказывают иммунодепрессивное действие, аккумулируются в организме, трансформируются во внешней среде до канцерогенов и экотоксинов (диоксины, тригалометаны) [3, 4].

В связи с этим возникает необходимость организации и проведения четкой системы дезинфицирующих мероприятий, направленной на поддержание санитарного благополучия объектов с использованием пробиотических бактерий с широким спектром антимикробной активности или бактериофагов, способных лизировать конкретные вредоносные виды возбудителей болезней. Преимущество такого вида биологической дезинфекции состоит в том, что ее можно проводить в присутствии людей и животных, она не оказывает негативного воздействия на окружающую среду, как в случае с антибиотиками и химическими дезинфицирующими средствами [4].

В настоящее время бактерии рода *Bacillus*, обладающие высокой антагонистической активностью в отношении условно-патогенных микроорганизмов, хорошо зарекомендовали себя в качестве пробиотического компонента экологически безопасных моющих средств. Согласно исследованиям, использование таких препаратов уменьшает присутствие санитарно-показательной микрофлоры на 80–90 % по сравнению с применением обычных моющих и дезинфицирующих средств [5].

Включение бактериофагов в состав моющих средств имеет ряд преимуществ: бактериофаги, как правило, не вызывают резистентности возбудителей, отличаются ви-

доспецифичностью, безопасностью для нормальной микрофлоры животных и человека, способны лизировать антибиотикорезистентные формы бактерий [6–8]. Вирулентные бактериофаги размножаются внутри бактериальных клеток с последующим лизисом бактерий и высвобождением новых фаговых частиц. Бактериофаги активны как в отношении свободноживущих форм бактерий, так и в отношении бактерий, образующих биопленки. Это позволяет создать на их основе дезинфицирующие средства направленного действия [9].

Так, известен российский препарат «Бактериофаг» (производитель компания «ГеоСинтез») на основе фага Pas-MUP-1 бактерий *Pasteurella multocida*, вызывающих атрофический ринит у свиней [10]. По данным [11] дезинфицирующее средство на основе бактериофага Esc-COP-4 проявляет высокую эффективность в отношении *Escherichia coli*, что позволяет использовать его при лечении колибактериозов.

С использованием бактериофагов, высокоспецифичных к бактериям видов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, разработано и запатентовано дезодорирующее средство в виде спрея для рук Veira-Souz (ООО «Вейра», Россия), обладающее жаживляющим и антибактериальным действием. При аэрозольном применении препарата происходит тесный контакт бактериофагов и чувствительных бактерий с последующим их лизисом, что обеспечивает эффективную профилактику распространения инфекций [12, 13].

Показана перспективность совместного использования фагов с бактериями-антагонистами в качестве основы моющих пробиотиков. Механизм действия комплексного препарата заключается в уничтожении фагом патогенных бактерий с последующим заселением освободившейся экологической ниши полезными микроор-

ганизмами, что обеспечивает формирование стабильного микробоценоза с высокими защитными свойствами [6]. Корейскими учеными на основе микробного комплекса, включающего бактериофаги и спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, создано эффективное средство, снижающее уровень контаминации патогенными бактериями и дрожжевыми грибами на 90 % [14].

Таким образом, использование бактериофагов совместно с пробиотическими бактериями в качестве агентов биологического контроля условно-патогенных и патогенных микроорганизмов открывает перспективы создания моющих средств с дезинфицирующим эффектом.

Цель исследования – выделение, изучение биологических свойств и отбор штаммов бактериофагов санитарно-показательных микроорганизмов, перспективных для использования в составе моющих средств с дезинфицирующим эффектом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выделения бактериофагов в качестве индикаторных культур использовали штаммы условно-патогенных бактерий видов *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella dublin*, предоставленные РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслеского». Культивирование бактерий осуществляли на плотных питательных средах: *E. coli* – на мясо-пептонном агаре (МПА) (НПУП «Диалек», Беларусь), *Ps. aeruginosa* – на псевдоманадном агаре («Graso Biotech», Польша), *S. dublin* – на среде Columbia («Pronodisa Condo», Испания), *St. aureus* – на стафилококковом агаре (ФБУН «ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия).

Для выделения бактериофагов использовали 13 образцов (подстилка с фекалиями домашних животных, сточные воды Туровского молочного комбината, ОАО «Милкавита», г. Гродно), которые предварительно гомогенизировали в 100 мл мясо-пептонного бульона (МПБ) и инкубировали на качалке при 180 об/мин и температуре 37 °С в течение 2–3 ч. Полученную суспензию центрифугировали в течение 30 мин при 5000 об/мин для очистки бактериофагов от сопутствующих бактерий. Отобранный супернатант инкубировали в присутствии индикаторной культуры до увеличения концентрации фаговых частиц в образце (метод обогащения). Для этого в 10 мл МПБ вносили 200 мкл бактериальной культуры в экспоненциальной фазе роста и 10 мл супернатанта. Смесь инкубировали при 180 об/мин и температуре 37 °С в течение 20–24 ч. Далее суспензию обрабатывали хлороформом (1:10) в течение 2–3 часов, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 30 мин. Титр бактериофагов определяли методом агаровых слоев Грациа по количеству негативных колоний. Проявление литической активности выявляли методом Отто по наличию зоны лизиса в месте нанесения капли фаголизата на газоне бактериальной культуры [9].

Чистые линии бактериофагов получали путем 5-ти последовательных пассажей из морфологически однородных негативных колоний, образовавшихся на газоне индикаторных культур. Полученные бактериофаги хранили в виде их суспензии в МПБ при +4 °С.

В жидкой питательной среде фаголизаты получали следующим образом: в свежую среду (МПБ) вносили жидкую индикаторную культуру в количестве 10 % об. и инкубировали на качалке при 28 °С и 37 °С в течение 2–3 часов до появления хорошо заметного помутнения ($D_{590} = 0,6-1,0$). Концентрация бактерий к этому времени достигала 10^8 клеток в 1 мл. Затем в культуру вносили суспензию фага с множественностью заражения 0,1. Через 2–3 часа наступал лизис бактерий. Лизат обрабатывали хлороформом и центрифугировали 15 мин при 5000 об/мин.

Молекулярно-генетическую характеристику фагов проводили путем спектрофотометрического, рестрикционного и электрофоретического анализа ДНК.

Концентрацию ДНК определяли с использованием спектрофотометра Implen NanoPhotometer P300. Для рестрикционного анализа использовали эндонуклеазы EcoRI, HindIII, BamHI (Fermentas). Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК проводили согласно руководству Маниатис в горизонтальном 1 % агарозном геле (BioRad) в TAE-буфере (Fermentas) с добавлением бромистого этидия (10 мг/мл) [15]. В качестве маркера использовали 2 мкл GeneRuler DNA LadderMix (Fermentas). В качестве красителя для загрузки ДНК использовали 1 мкл DNA Loading Dye & SDS Solution (6x) (Fermentas).

Скорость адсорбции бактериофага на бактериальной клетке определяли по количеству неадсорбированного фага и характеризовали константой скорости адсорбции ($K_{адс.}$, мл/мин), рассчитываемой по формуле:

$$K_{адс.} = \frac{2,3 \times \log P_0/P_t}{B \times t} \quad (1)$$

где В – количество жизнеспособных бактерий (титр индикаторной культуры), КОЕ/мл;

P_0 – исходный титр фага, БОЕ/мл;

P_t – титр фага через время t (количество неадсорбированного бактериофага), БОЕ/мл [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований выделено 18 изолятов фагов, из которых путем последовательных пассажей получены чистые линии двух наиболее стабильных бактериофагов *E. coli* – КЗР1, КЗР2 и одного бактериофага *Ps. aeruginosa* – PsP1. Результаты изучения морфологии негативных колоний отобранных фагов и ранее выделенного бактериофага *Escherichia phage* БИМ В-494 (БИМ ВV-44 Д) представлены в таблице 1.

Установлено, что исследуемые бактериофаги однородны по морфологическим признакам: образуют прозрачные, округлые негативные колонии с ровным четким краем, за исключением КЗР2, формирующего стерильные пятна с неполной зоной лизиса по периферии. Диаметр негативных колоний выделенных бактериофагов варьирует от 0,5 до 1,5 мм. Исследуемые бактериофаги характеризовались высоким содержанием фаговых частиц в фаголизатах (10^9-10^{11} БОЕ/мл), при этом наибольший титр был отмечен у бактериофагов КЗР1 ($2,1 \times 10^{11}$ БОЕ/мл) и БИМ ВV-44 Д ($1,7 \times 10^{11}$ БОЕ/мл).

Изучение специфичности действия бактериофа-

гов проводилось на штаммах условно-патогенных бактерий родов *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pseudomonas* (таблица 2).

Таблица 1. Морфология негативных колоний исследуемых бактериофагов

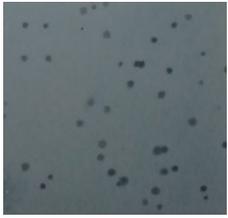
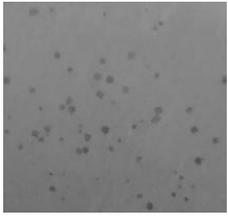
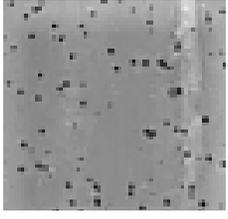
Источник выделения	Индикаторная культура	Название фага	Морфология негативных колоний		
			Диаметр, мм	Описание	Вид
Фекалии птицы (Брестская обл.)	<i>E. coli</i> КЗ	КЗР1	0,5 – 1,0	Прозрачные, округлые, с ровным краем	
Фекалии свиньи (Брестская обл.)	<i>E. coli</i> КЗ	КЗР2	0,5 – 1,0	Прозрачные, округлые, с зоной неполного лизиса по периферии	
Фекалии коровы (Брестская обл.)	<i>Ps. aeruginosa</i> Ps1	PsP1	0,5 – 1,0	Прозрачные, округлые, с ровным краем	
Почва животноводческого комплекса (Минская обл.)	<i>E. coli</i> БИМ В-496 Д	БИМ ВV-44 Д	1,0 – 1,5	Прозрачные, округлые, с ровным краем	

Таблица 2. Спектр литической активности бактериофагов

Индикаторная культура	Бактериофаги			
	КЗР1	КЗР2	БИМ ВV-44 Д	PsP1
<i>E. coli</i> КЗ	+	+	+	-
<i>E. coli</i> БИМ В-496 Д	+	+	+	-
<i>E. coli</i> БИМ В-984 Г	+	+	-	-
<i>E. coli</i> А20	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 39А	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 1570	-	-	-	-
<i>St. aureus</i> (vet.)	-	-	-	-
<i>St. aureus</i> БИМ В-1528 Г	-	-	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i> Ps1	-	-	-	+
<i>Ps. fluorescens</i> Ps2	-	-	-	-
<i>Ps. aurantiaca</i> БИМ В-446 Д	-	-	-	-
<i>S. dublin</i> Sd1	-	-	-	-

Примечание. «+» – наличие зон лизиса бактерий, «-» – отсутствие зон лизиса бактерий.

Установлено, что бактериофаги КЗР1, КЗР2 и БИМ ВV-44 Д способны лизировать несколько культур бактерий в пределах одного вида. Так, фаги КЗР1, КЗР2 про-

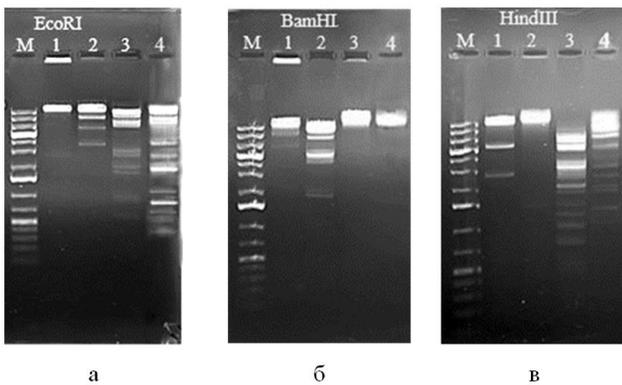
являют литическую активность в отношении *E. coli* КЗ, *E. coli* БИМ В-496 Д и *E. coli* БИМ В-984 Г. К фагу БИМ ВV-44 Д чувствительны 2 индикаторные культуры –

E. coli КЗ и *E. coli* БИМ В-496 Д. Бактериофаг PsP1 активен только в отношении бактерии-хозяина *Ps. aeruginosa*. Содержание фаговых частиц в фаголизатах при культивировании бактериофагов КЗР1, КЗР2, БИМ BV-44 Д, PsP1 на фаговосприимчивых клетках бактерий варьировало от 10^9 до 10^{11} БОЕ/мл.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что исследованные бактериофаги являются видоспецифичными. Наибольшим диапазоном лизиса изучаемых бактериальных культур обладали бактериофаги КЗР1 и КЗР2.

В результате молекулярно-генетических исследований показано [16], что отобранные фаги принадлежат к ДНК-содержащим вирусам. Проанализированы рестрикционные профили бактериофагов при обработке ДНК-эндонуклеазами EcoRI, BamHI, HindIII (рисунок 1).

При обработке ДНК бактериофагов КЗР1, КЗР2, БИМ BV-44 Д и PsP1 эндонуклеазой EcoRI получено 2, 3, 8 и 10 фрагментов ДНК, соответственно, при этом рестрикционные фрагменты различных бактериофагов отличались по размеру.

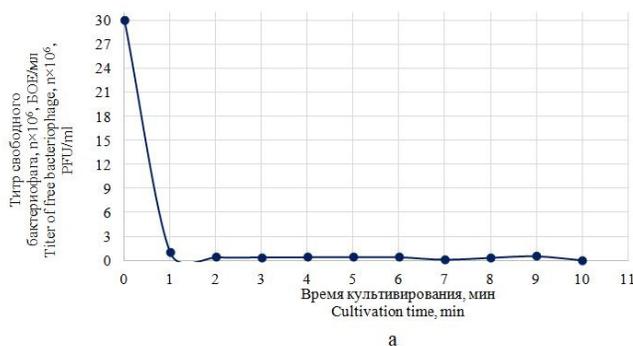


М – маркер GeneRuler DNA Ladder Mix, ready-to-use (#SM0334), 1 – *E. coli* КЗ phage КЗР1, 2 – *E. coli* КЗ phage КЗР2, 3 – *E. coli* phage БИМ В-494, 4 – *Ps. phage* PsP1

Рисунок 1. Электрофореграммы продуктов рестрикции фаговых ДНК эндонуклеазой EcoRI (а), BamHI (б), HindIII (в)

У бактериофагов БИМ BV-44 Д и PsP1 сайты рестрикции ДНК ферментом BamHI отсутствуют, однако для бактериофагов КЗР1 и КЗР2 рестрикционные профили с использованием данной эндонуклеазы были получены (2 и 6 фрагментов соответственно).

При использовании фермента HindIII были получены следующие рестрикционные профили: 2 фрагмента ДНК



бактериофага КЗР1, 1 фрагмент ДНК бактериофага КЗР2, 14 фрагментов ДНК бактериофага БИМ BV-44 Д и 9 фрагментов ДНК бактериофага PsP1.

Таким образом, рестрикционный анализ показал, что исследуемые бактериофаги имеют различные генетические профили.

При изучении взаимодействия отобранных бактериофагов с клетками фаговосприимчивых бактерий установлено, что бактериофаг БИМ BV-44 Д характеризуется наиболее высокой скоростью адсорбции – за первые 2 мин взаимодействия с клетками индикаторных культур *E. coli* КЗ и *E. coli* БИМ В-496 Д адсорбируется 98,6 % фаговых частиц, что соответствует константе скорости адсорбции $4,8 \times 10^{-10}$ мл/мин (рисунок 2).

Константа скорости адсорбции бактериофага КЗР1 на клетках индикаторной культуры *E. coli* КЗ ниже и составляет $2,0 \times 10^{-8}$ мл/мин - за первые 4 мин адсорбируется 86,7 % фаговых частиц. В отношении бактерий *E. coli* БИМ В-496 Д этот показатель составляет 94,0 % за первые 4 мин ($K_{адс} = 3,6 \times 10^{-8}$ мл/мин) (рисунок 3).

Скорость адсорбции бактериофага КЗР2 на клетках *E. coli* КЗ составляет 69,7 % фаговых частиц за первые 4 мин и 95,9 % за первые 2 мин взаимодействия бактериофага с клетками *E. coli* БИМ В-496 Д (рисунок 4). Константы скорости адсорбции при этом достигают значения $1,4 \times 10^{-8}$ мл/мин и $2,0 \times 10^{-8}$ мл/мин, соответственно.

Бактериофаг PsP1 характеризуется высоким показателем скорости адсорбции на клетках бактерии-хозяина *Ps. aeruginosa* - за первые 3 минуты взаимодействия на клетках бактерий адсорбируется 90,7 % фаговых частиц (рисунок 5). Константа скорости адсорбции при этом составляет $1,2 \times 10^{-6}$ мл/мин.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований получены штаммы бактериофагов, проявляющих высокую литическую активность в отношении условно-патогенных бактерий родов *Escherichia* и *Pseudomonas*. Выделенные фаги образуют прозрачные, круглые, с ровными четкими краями негативные колонии размером от 0,5 до 1,5 мм. Бактериофаги отличаются по спектру литического действия. Установлено, что бактериофаги КЗР1 и КЗР2 активны в отношении бактерий *E. coli* КЗ, *E. coli* БИМ В-496 Д и *E. coli* БИМ В-984, а бактериофаг БИМ BV-44 Д - в отношении *E. coli* КЗ и *E. coli* БИМ В-496 Д. Бактериофаг PsP1 наиболее высокую специфичность действия и активен только в отношении клеток бактерий *Ps. aeruginosa* Ps1.

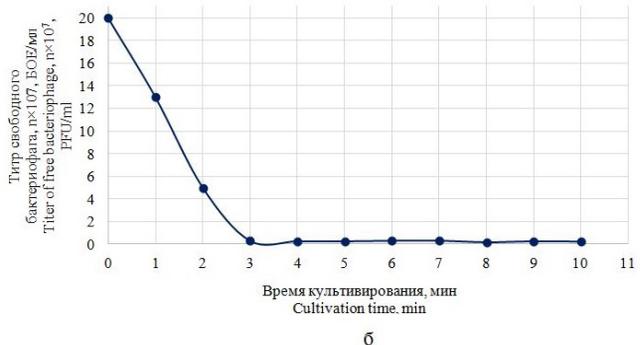


Рисунок 2. Адсорбция бактериофага БИМ BV-44 Д на клетках *E. coli* КЗ (а) и *E. coli* БИМ В-496 Д (б)

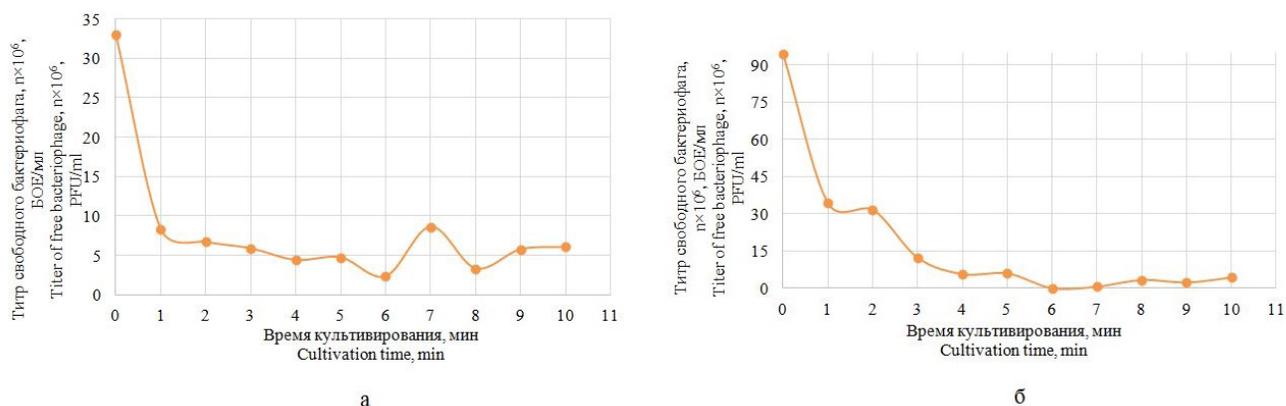


Рисунок 3. Адсорбция бактериофага КЗР1 на клетках *E. coli* КЗ (а) и *E. coli* БИМ В-496 Д (б)

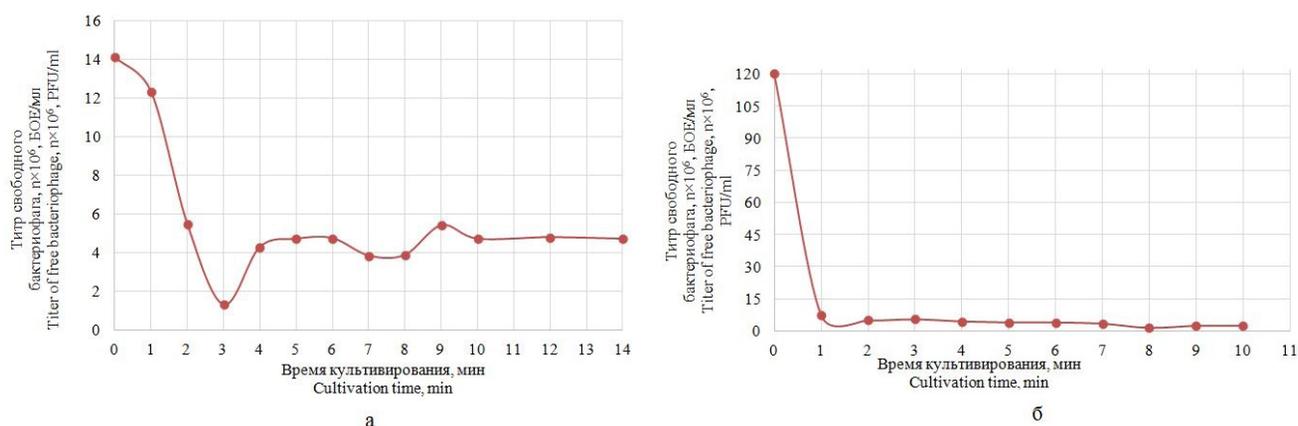


Рисунок 4. Адсорбция бактериофага КЗР2 на клетках *E. coli* КЗ (а) и *E. coli* БИМ В-496 Д (б)

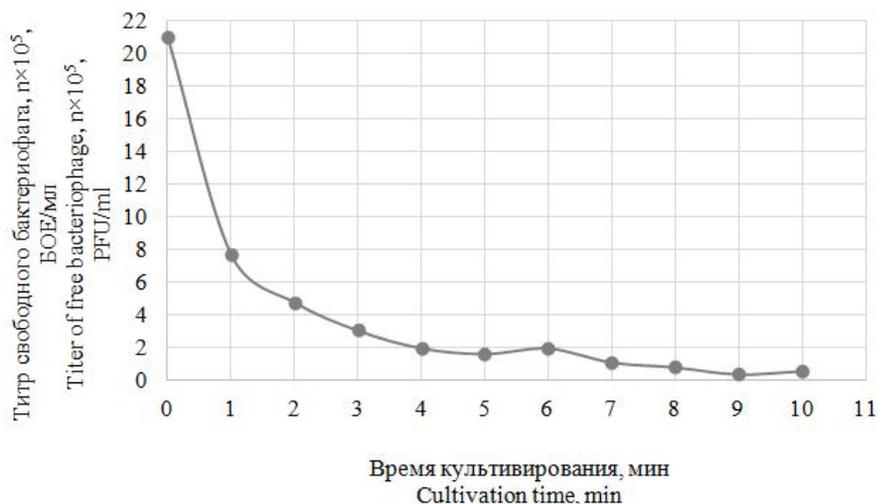


Рисунок 5. Адсорбция бактериофага PsP1 на клетках бактерий *Ps. aeruginosa*

Установлено, что исследуемые бактериофаги относятся к ДНК-содержащим вирусам и при обработке ДНК эндонуклеазами EcoRI, BamHI, HindIII различаются по рестрикционным профилям.

Бактериофаг БИМ BV-44 Д характеризуется наиболее высокой скоростью адсорбции. Так, за первые 2 мин взаимодействия с клетками индикаторных культур *E. coli* КЗ и *E. coli* БИМ В-496 Д адсорбируется 98,6 % фаговых частиц БИМ BV-44 Д. Для других штаммов бактериофагов показатель константы скорости адсорбции составляет от 69,7 до 95,9%.

Таким образом, полученные штаммы бактериофа-

гов характеризуются высокой литической активностью и специфичностью действия к санитарно-показательным бактериям, что обуславливает перспективность их использования в составе моющих средств с дезинфицирующим эффектом.

ЛИТЕРАТУРА

- McDonnell, G. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance / G. McDonnell, A. D. Russell // Clinical microbiology reviews – 1999. – Vol. 12, № 1. – P. 147 – 179.
- Актуальные вопросы устойчивости микроорганиз-

мов к дезинфицирующим и антисептическим средствам на предприятиях пищевой промышленности и организации проведения ее мониторинга / А. А. Красильников [и др.] // Республиканская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-летию медико-профилактического факультета: сб. науч. тр., Минск, 22 апр. 2015 г. / Белорус. гос. мед. ун-т; редкол.: А. В. Сикорский [и др.]. - Минск: БГМУ, 2015. - С. 237 - 241.

3. Беззубов, В. И. Продуктивность и сохранность молодняка свиней при использовании для дезинфекции помещений биопрепаратов микробного происхождения / В. И. Беззубов, А. С. Петрушко, Э. И. Коломиец, Т. В. Романовская, Н. В. Сверчкова, М. А. Ананчиков // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. - 2010. - № 13. - С. 126 - 130.

4. Сверчкова, Н. В. Биологические препараты в системе санитарно-ветеринарных мероприятий / Н. В. Сверчкова // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. трудов / Ин-т микробиологии НАН Беларуси; редкол.: Э. И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. - Минск, 2018. - С. 236 - 249.

5. Caselli, E. Impact of a probiotic-based cleaning intervention on the microbiota ecosystem of the hospital surfaces: focus on the resistome remodulation / E/ Caselli [at all] // PLoS One - 2016. - Vol. 11, №2. - P. 323 - 338.

6. Клиническая иммунология и аллергология / Д. К. Новиков [и др.]: под ред. Д.К.Новикова. - Минск: Вышэйшая школа, 2019. - 495 с.

7. Бактериофаги – вирусы бактерий / Н. В. Иконникова [и др.]: под ред. Н. В. Иконниковой – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. - 41 с.

8. Коломиец, Э. И. Перспективы использования бактериофагов в составе моющих средств с пробиотическим действием / Э. И. Коломиец, Т. В. Романовская, Н. В. Сверчкова // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. трудов / Ин-т микробиологии НАН Беларуси; редкол.: Э. И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. - Минск, 2020. - С. 373 - 384.

9. Бактериофаги: биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе [и др.]: под ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе // Пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А. В. Летаров – М.: Научный мир, 2012. - 640 с.

10. Новый бактериофаг Pas-mup-1 *Pasteurella multocida* и его применение для ингибирования размножения *Pasteurella multocida*: пат. RU 2704864 C1 / Сон Джун Ёон [и др.] – Оpubл. 31.10. 2019.

11. Новый бактериофаг энтероинвазивной *E. coli* esc-сор-4 и его применение для ингибирования пролиферации энтероинвазивной *E. coli*: пат. RU 2662984 C1 / Сон Джун Ёон [и др.] – Оpubл. 31.07.2018.

12. Способ получения бактериофага: пат. RU 2574023 C1 / И. А. Киселева [и др.] – Оpubл. 10.08.2014

13. Средство для санации воздушной среды закрытых помещений: пат. RU 2670275 C2 / Д. А. Никифоров – Оpubл. 22.10.2018.

14. Product and method for cleaning, sanitation and disinfection: pat. KR 20170140310A / A. Rodolfi, E. Caselli – Publ. date 19.10.2017.

15. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис [и др.]: под ред. Т. Маниатиса. – М.: Мир, 1984. – 480 с.

16. Green M. R., Sambrook J. Molecular cloning // A Laboratory Manual 4th. – 2012. – 2000 с.

REFERENCES

1. McDonnell, G. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance / G. McDonnell, A. D. Russell // Clinical microbiology reviews – 1999. – Vol. 12, № 1. – P. 147 – 179.

2. Aktual'nye voprosy ustojchivosti mikroorganizmov k dezinficirujushhim i antisepticheskim sredstvam na predpriyatijah pishhevoj promyshlennosti i organizacii provedenija ee monitoring [Topical issues of resistance of microorganisms to disinfectants and antiseptics at food industry enterprises and the organization of its monitoring] / A. A. Krasil'nikov [i dr.] // Respublikanskaja nauchno-prakticheskaja konferencija s mezhdunarodnym uchastiem, posvjashhennaja 50-letiju mediko-profilakticheskogo fakul'teta [Republican scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 50th anniversary of the Faculty of Medicine and Prevention]: sb. науч. тр., Минск, 22 апр. 2015 г. / Belorus. gos. med. un-t; редкол.: А. В. Сикорский [и др.]. - Минск: БГМУ, 2015. - С. 237 - 241.

3. Bezzubov, V. I. Produktivnost' i sohrannost' molodnjaka svinej pri ispol'zovanii dlja dezinfekcii pomeshhenij biopreparatov mikrobnogo proishozhdenija [Productivity and safety of young pigs when using biological preparations of microbial origin for disinfection of premises] / V. I. Bezzubov, A. S. Petrushko, Je. I. Kolomic, T. V. Romanovskaja, N. V. Sverchkova, M. A. Ananchikov // Aktual'nye problemy intensivnogo razvitija zhivotnovodstva [Actual problems of intensive development of animal husbandry]. - 2010. - № 13. - S. 126 - 130.

4. Sverchkova, N. V. Biologicheskie preparaty v sisteme sanitarno-veterinarnyh meroprijatij [Biological preparations in the system of sanitary and veterinary measures] / N.V. Sverchkova // Mikrobnye biotehnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty [Microbial Biotechnologies: Fundamental and Applied Aspects]: sb. науч. трудов / In-t mikirobiologii NAN Belarusi; редкол.: Je. I. Kolomic (gl. red.) [i dr.]. - Minsk, 2018. - S. 236 - 249.

5. Caselli, E. Impact of a probiotic-based cleaning intervention on the microbiota ecosystem of the hospital surfaces: focus on the resistome remodulation / E/ Caselli [at all] // PLoS One - 2016. - Vol. 11, №2. - P. 323 - 338.

6. Klinicheskaja imunologija i allergologija [Clinical Immunology and Allergology] / D. K. Novikov [i dr.]: pod red. D.K.Novikova. - Minsk: Vyshejschaja shkola, 2019. - 495 s.

7. Bakteriofagi – virusy bakterij [Bacteriophages - bacteria viruses] / N. V. Ikonnikova [i dr.]: pod red. N. V. Ikonnikovoj – Minsk: IVC Minfina, 2017. - 41 s.

8. Kolomic, Je. I. Perspektivy ispol'zovanija bakteriofagov v sostave mojujshih sredstv s probioticheskim dejstviem [Prospects for the use of bacteriophages in the composition of detergents with probiotic action] / Je. I. Kolomic, T. V. Romanovskaja, N. V. Sverchkova//

Mikrobnye biotehnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty [Microbial Biotechnologies: Fundamental and Applied Aspects]: sb. nauch. trudov / In-t mikrobiologii NAN Belarusi; redkol.: Je. I. Kolomic (gl. red.) [i dr.]. – Minsk, 2020. – S. 373 – 384.

9. Bakteriofagi: biologija i prakticheskoe primenenie [Bacteriophages: biology and practical application] / Je. Katter, A. Sulakvelidze [i dr.]: pod red. Je. Katter, A. Sulakvelidze // Per. s angl. kolektiv perevodchikov; nauch. red. A. V. Letarov – M.: Nauchnyj mir, 2012. – 640 s.

10. Novyj bakteriofag Pas-mup-1 *Pasteurella multocida* i ego primenenie dlja ingibirovanija razmnozhenija *Pasteurella multocida* [New bacteriophage Pas-mup-1 *Pasteurella multocida* and its use for inhibition of reproduction of *Pasteurella multocida*]: pat. RU 2704864 S1 / Son Dzhun Joon [i dr.] – Opubl. 31.10. 2019.

11. Novyj bakteriofag jenteroinvazivnoj *E. coli* esc-cop-4 i ego primenenie dlja ingibirovanija proliferacii jenteroinvazivnoj *E. coli* [New bacteriophage of enteroinvasive *E. coli* esc-cop-4 and its use for inhibition of proliferation of enteroinvasive *E. coli*]: pat. RU 2662984 S1

/ Son Dzhun Joon [i dr.] – Opubl. 31.07.2018.

12. Sposob poluchenija bakteriofaga [Method for obtaining bacteriophage]: pat. RU 2574023 S1 / I. A. Kiseleva [i dr.] – Opubl. 10.08.2014

13. Sredstvo dlja sanacii vozdušnoj sredy zakrytyh pomeshhenij [Means for sanitation of the air environment of enclosed spaces]: pat. RU 2670275 S2 / D. A. Nikiforov – Opubl. 22.10.2018.

14. Product and method for cleaning, sanitation and disinfection: pat. KR 20170140310A / A. Rodolfi, E. Caselli – Publ. date 19.10.2017.

15. Metody geneticheskoy inzhenerii. Molekuljarnoe klonirovanie [Methods of genetic engineering. Molecular cloning] / T. Maniatis [i dr.]: pod red. T. Maniatis. – M.: Mir, 1984. – 480 s.

16. Green M. R., Sambrook J. Molecular cloning //A Laboratory Manual 4th. – 2012. – 2000 c.

ISOLATION AND CHARACTERISTICS OF BACTERIOPHAGES SANITARY-INDICATIVE MICROORGANISMS

Monarchovich M.A.*, Galaburda O.A., Arashkova A.A., Sverchkova N.V., Kolomiets E.I.

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus

Kuprevich str 2, Minsk, 220141, Republic of Belarus

**monarchovich_maria28@mail.ru*

ABSTRACT

Isolated phages showed activity toward opportunistic and pathogenic bacteria of genera *Escherichia* (K3P1, K3P2, BIM BV-44 D) and *Pseudomonas* (PsP1), formed lysis zones shaped as negative homogeneous colonies with a clear-cut even edge (K3P1, PsP1, BIM BV -44 D), or negative colonies with a peripheral zone of partial lysis (K3P2). The diameter of phage plaques varied from 0,5–1,5 mm. Lytic activity spectrum of phage isolates was investigated. It was found that the studied bacteriophages displayed species specificity. Bacteriophages K3P1, K3P2 were distinguished by the highest lytic range. Differences in the isolated bacteriophages according to restriction profiles were revealed. Bacteriophage distinctions in restriction profiles were revealed. Interaction of bacteriophages with cells of bacteria of *E. coli* and *Ps. aeruginosa* was explored. The tested bacteriophage strains demonstrating lytic activity toward sanitary-indicative bacterial species may find use as disinfectants in detergents.

Key words: bacteriophages, morphological features, spectrum of lytic activity, species specificity, molecular genetic analysis, adsorption

САНИТАРЛЫҚ КӨРСЕТКІШТІ МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ БАКТЕРИОФАГТАРЫН ОҚШАУЛАУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ СИПАТТАМАСЫ

Монархович М.А.*, Галабурда О.А., Арашкова А.А., Сверчкова Н.В., Коломиец Э.И.

Беларусь ҰҒА Микробиология институты,

Купревич кө-сі, 2 үй, Минск қ., 220141, Беларусь Республикасы

**monarchovich_maria28@mail.ru*

ТҮЙІН

Шартты патогенді және патогенді бактерияларға қарсы белсенді, біртекті теріс колониялар түріндегі лизис аймақтарын құрайтын (K3P1, PsP1, БИМ BV-44 Д), сонымен қатар, периферия бойында толық емес лизис аймағы бар теріс колониялар (K3P2) құрайтын *Escherichia* (K3P1, K3P2, БИМ BV-44 Д) және *Pseudomonas* (PsP1) фагтары алынды. Фагтық бляшкалардың диаметрі 0,5-1,5 мм құрайды. Оқшауланған фагтардың литикалық белсенділігінің спектрі зерттелді. Зерттелетін бактериофагтар түрге телімді екені анықталды. K3P1, K3P2 бактериофагтары зерттелетін бактерия дақылдарының лизисінің ең үлкен диапазонына ие. Оқшауланған бактериофагтардың шектеу профилі бойынша айырмашылықтары анықталды. Бактериофагтардың *E. coli* және *Ps. aeruginosa* -мен әрекеттесуі зерттелді. Санитарлық-көрсеткішті бактерияларға қарсы жоғары литикалық белсенділігі бар бактериофагтардан алынған штаммдар жуғыш заттардың құрамында дезинфекциялаушы заттар ретінде қолдану мүмкіндігіне ие.

Түйінді сөздер: бактериофагтар, морфологиялық белгілер, литикалық белсенділік спектрі, түрге телімділік, молекулалық-генетикалық сараптама, адсорбция