

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФГБОУ ВО «ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИМПЕРАТОРА ПЕТРА
I»**

**ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И
ТЕХНОЛОГИИ ЖИВОТНОВОДСТВА**

Кафедра паразитологии и эпизоотологии

Технология культивирования бактериофагов

**Методические указания для самостоятельной работы по дисциплине
«Микробиотехнология» для обучающихся по специальности
36.05.01 «Ветеринария» очной и заочной форм обучения (специализа-
ции: эпизоотология, ветеринарная хирургия, ветеринарное акушер-
ство и гинекология, ветеринарная фармация)**

Воронеж 2016

Авторы: доценты Скогорева А. М., Манжурина О. А., старший преподаватель Попова О.В.

Рецензент: доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы Мармурова О.М.

Одобрено и рекомендовано к изданию кафедрой паразитологии и эпизоотологии (протокол № 12 от 06.05.2016 г.), методической комиссией факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства (протокол № 9 от 16.05.2016 г.).

Содержание

№ п/п	Наименование раздела	Страница
1	Введение	4
2	Виды бактериофагов	6
3	Строение и размножение различных видов бактериофагов и их свойства	10
4	Применение бактериофагов для диагностики бактериальных инфекций	23
5	Технология производства бактериофагов	24
6	Причины загрязнения микробных производств и проблема фагии в различных производствах	32
7	Контрольные вопросы	44
8	Список использованной литературы	46

1. Введение.

До настоящего времени все еще существуют диаметрально противоположные точки зрения на природу вирусов, в том числе и фагов. По мнению одних ученых, фаги относятся к живым организмам; другие рассматривают их как особые вещества типа ферментов.

По мнению ученых, рассматривающих фаг как фермент эндогенного происхождения, фаговая частица является продуктом жизнедеятельности микробной клетки. При попадании в клетку фаги вызывают каталитически протекающие процессы образования активного фага, способного разрушать микробную клетку. А размножение фага в клетке происходит приблизительно так же, как образование активного фермента из его неактивного предшественника — профермента.

Несмотря на то, что явление бактериофагии интенсивно изучается более пятидесяти лет, на природу фагов нет единой точки зрения, и этот вопрос до сих пор остается спорным. Вопрос о происхождении фагов, как и других вирусов, имеет большое значение, так как с ним тесно связано решение многих актуальнейших задач современной биологии: происхождение жизни, возможные формы существования живого; существование живых существ, не имеющих клеточной структуры; происхождение клеточных форм жизни; развитие, изменчивость и видообразование у микроорганизмов и др.

В настоящее время найдены, фаги, лизирующие клетки микроорганизмов, принадлежащих ко всем систематическим группам, как патогенных для человека, животных и растений, так и сапрофитных (непатогенных).

В природных условиях фаги встречаются в тех местах, где есть чувствительные к ним бактерии. Чем богаче тот или иной субстрат (почва, вода, выделения человека и животных и т. д.) микроорганизмами, тем в большем количестве в нем встречаются соответствующие фаги. Так, фаги, лизирующие клетки всех видов почвенных микроорганизмов, находятся в почвах. Особенно богаты фагами черноземы и почвы, в которые вносились органические удобрения. Фаги, активные против разных видов кишечной, дизентерийной, тифозной и паратифозной палочек, часто встречаются в содержимом кишечника человека и животных, сточных водах и загрязненных водоемах. Фаги фитопатогенных микроорганизмов успешнее всего выделяются из остатков растений, пораженных этими микробами. Итак, те субстраты, на которых развиваются определенные формы микроорганизмов, также благоприятны для существования соответствующих фагов. Большую роль в распространении и сохранении бактериофагов в природе играют так называемые лизогенные бактерии и актиномицеты, постоянно выделяющие бактериофаги во внешнюю среду.

2. Виды бактериофагов

Бактериофаги (или фаги) – разнообразно устроенные вирусы – внутриклеточные паразиты бактериальных клеток.

Структура частиц-вирионов разных бактериофагов различна. В отличие от вирусов бактериофаги часто обладают специализированным органом прикрепления к поверхности бактериальной клетки, или хвостовым отростком, устроенным с разной степенью сложности, но некоторые фаги не имеют хвостового отростка. Капсид содержит генетический материал фага, его геном. Генетический материал разных фагов может быть представлен разными нуклеиновыми кислотами (ДНК или РНК).

Фаги принято относить к трем типам. Тип определяется характером влияния продуктивной инфекции фага на судьбу инфицированной клетки.

Первый тип – истинно вирулентные фаги. Инфекция клетки вирулентным фагом неизбежно ведет к гибели инфицированной клетки, ее разрушению и освобождению фага-потомства (исключая случаи abortивной инфекции). Такие фаги называют истинно вирулентными, для отличия их от вирулентных мутантов умеренных фагов.

Второй тип – умеренные фаги. В ходе продуктивной инфекции клетки умеренным фагом возможны два принципиально разных пути его развития: **литический**, (подобный литическому циклу вирулентных фагов), и **лизогенный**, когда геном умеренного фага переходит в особое состояние – профаг. Клетка, несущая

щая профаг, называется лизогенной (поскольку в определенных условиях она может претерпеть литическое развитие фага). У умеренных фагов могут возникать вирулентные мутанты.

Третий тип фагов – это фаги, продуктивная инфекция которыми не ведет к гибели бактерий. Эти фаги способны покидать инфицированную бактерию, не вызывая ее физического разрушения. Клетка, инфицированная таким фагом, находится в состоянии постоянной (перманентной) продуктивной инфекции. Развитие фага сказывается в некотором замедлении скорости делений бактерий.

В медицине и ветеринарии используют способность бактериофагов разрушать клетки болезнетворных микроорганизмов. Литическое действие бактериофагов строго специфично. В производстве фаговых препаратов учитывают специфичность бактериофагов и готовят поливалентные фаговые препараты - смеси бактериофагов, активных в отношении различных типов возбудителей. При применении бактериофаги не нарушают нормального биоценоза животных и человека, могут применяться в комплексной терапии с другими лекарственными средствами.

Фаги не чувствительны к антибиотикам, высокой температуре, ферментам, дезинфицирующим средствам, но очень чувствительны к кислотам, УФО, ионизирующему излучению. Выпускаются в жидком виде, в виде таблеток, покрытых кислотоустойчивой оболочкой. Применение фагов с терапевтической целью называется **фаготерапия** (стафилококковый, стрептококко-

вый, колифаг – применяются при гнойных процессах путем орошения инфицированной раны или обкалывания очага воспаления). Применение фагов для профилактики инфекционных заболеваний называют **фагопрофилактикой** (осуществляется чаще всего в эпидочагах брюшного тифа и дизентерии путем приема препарата за 1,5-2 часа до еды). Применение фагов с диагностической целью – **фагодиагностика** – широко используется для идентификации и видовой дифференциации бактерий (сибирская язва), выявления источников и путей передачи инфекции.

Виды бактериофагов, используемые в ветеринарии и медицине:

1. Бактериофаг брюшнотифозный (сальмонеллезный).
2. Бактериофаг дизентерийный поливалентный. Бактериофаг дизентерийный поливалентный (Дизфаг) вызывает специфический лизис шигелл Флекснера и Зонне - возбудителей бактериальной дизентерии.
3. Бактериофаг клебсиеллы пневмонии. Бактериофаг клебсиеллы пневмонии (Клебсифаг) обладает способностью специфически лизировать бактерии клебсиеллы пневмонии.
4. Бактериофаг клебсиелловый поливалентный. Бактериофаг клебсиелловый (клебсиеллезный) поливалентный обладает способностью специфически лизировать бактерии клебсиеллы озены, риносклеромы и пневмонии.

5.Бактериофаг коли. Бактериофаг коли (Колифаг) обладает способностью специфически лизировать энтеропатогенные кишечные палочки (*E.coli*).

6.Бактериофаг колипротейный. Бактериофаг колипротейный (Колипротеофаг) обладает способностью специфически лизировать распространенных энтеропатогенных эшерихий и протей (*Pr.mirabilis* и *Pr.vulgaris*).

7.Бактериофаг протейный. Бактериофаг протейный (Протеофаг) обладает способностью специфически лизировать бактерии протей (*Pr. mirabilis* и *Pr. vulgaris*).

8.Бактериофаг сальмонеллезный. Бактериофаг сальмонеллезный групп ABCDE способен вызывать лизис сальмонелл и близких к ним по антигенной структуре бактерий.

9.Бактериофаг синегнойный. Бактериофаг синегнойный (псевдомонас аэругиноза) обладает способностью специфически лизировать бактерии псевдомонас аэругиноза.

10.Бактериофаг стафилококковый. Бактериофаг стафилококковый (Стафилофаг) обладает способностью лизировать стафилококковые бактерии, выделенные при гнойных инфекциях.

11.Бактериофаг стрептококковый. Бактериофаг стрептококковый (Стрептофаг) обладает способностью лизировать стрептококковые бактерии, выделенные при гнойных инфекциях.

12.Интести-бактериофаг. Интести-бактериофаг обладает способностью специфически лизировать шигеллезные, сальмонеллезные, стафилококковые и энтерококковые бактерии, энте-

ропатогенную кишечную палочку, протей, псевдомонас аэругиноза.

13.Пиобактериофаг комбинированный. Пиобактериофаг комбинированный (Пиополифаг) способен лизировать стафилококки, стрептококки (в т.ч. энтерококки), протей (мирабилис и вульгарис), синегнойную (псевдомонас аэругиноза) и кишечную палочки.

14.Пиобактериофаг поливалентный. Пиобактериофаг поливалентный (Секстафаг) обладает способностью специфически лизировать стафилококки, стрептококки (в т.ч. энтерококки), эшерихию коли, протей (мирабилис и вульгарис), псевдомонас аэругиноза и клебсиеллу пневмония.

15.Пиобактериофаг комплексный. Пиобактериофаг комплексный жидкий представляет собой смесь фаголизатов стафилококков, стрептококков, энтерококков, эшерихий коли, протей (мирабилис и вульгарис), псевдомонас аэругиноза и клебсиелл (пневмония и окситока).

3.Строение и размножение различных видов бактериофагов и их свойства

Бактериофаг обладает всеми основными свойствами, присущими вирусам, а именно: имеет элементарные частицы величиною в пределах от 20 до 200 нм; содержит в своем составе нуклеиновую кислоту и белок; не растет на искусственных питательных средах, размножаясь только внутри клеток микробов; обла-

дает высокой специфичностью в отношении поражаемой клетки; имеет антигенную обособленность от клетки хозяина.

Структура частиц – вирионов – разных бактериофагов различна. В отличие от вирусов эукариотов бактериофаги часто обладают специализированным органом прикрепления к поверхности бактериальной клетки, или хвостовым отростком, устроенным с разной степенью сложности, но некоторые фаги не имеют хвостового отростка. Капсид содержит генетический материал фага, его геном. Генетический материал разных фагов может быть представлен разными нуклеиновыми кислотами. Некоторые фаги содержат ДНК в качестве генетического материала, другие – РНК. Геном у большинства фагов – двунитевые ДНК, а геном некоторых относительно редких фагов – однонитевые ДНК. На концах молекул ДНК некоторых фагов присутствуют «липкие участки» (однонитевые комплементарные последовательности нуклеотидов), у других фагов липкие участки отсутствуют. У некоторых фагов последовательности генов в молекулах ДНК уникальны, тогда как у других фагов выявлены пермутации генов. У одних фагов ДНК линейная, у других – замкнутая в кольцо. У некоторых фагов на концах молекулы ДНК имеются концевые повторы нескольких генов, у других фагов такая концевая избыточность обеспечивается присутствием относительно коротких повторов. Наконец, у некоторых фагов геном представлен набором из нескольких фрагментов нуклеиновой кислоты.

Бактериофаги, способные вызвать продуктивную инфекцию клеток, т.е. инфекцию, завершающуюся образованием жизнеспособного потомства, определяют как недефектные. Для всех недефектных фагов свойственно два состояния: состояние внеклеточного, или свободного, фага (иногда его называют также зрелым фагом) и состояние вегетативного фага. Для некоторых так называемых умеренных фагов возможно еще и состояние профага.

Внеклеточный фаг – это частицы, обладающие структурой, свойственной фагу данного типа, обеспечивающей сохранение генома фага в период между инфекциями и введение его в очередную чувствительную клетку. Внеклеточный фаг биохимически инертен, а вегетативный фаг – активное («живое») состояние фага, возникает после инфекции чувствительных бактерий или после индукции профага.

Иногда инфекция чувствительных клеток недефектным фагом не завершается образованием жизнеспособного потомства. Это может быть в двух случаях: при abortивной инфекции или вследствие лизогенного состояния клетки при инфекции умеренным фагом.

Причиной abortивного характера инфекции может быть активное вмешательство тех или иных систем клетки в ход инфекции, например разрушение введенного в бактерию генома фага, или отсутствие в клетке какого-то продукта, необходимого для развития фага, и т.д.

Общий признак всех бактериофагов – внутриклеточный паразитизм – определяется зависимостью фагов от аппаратов транскрипции и трансляции генетического материала, от систем репликации бактерии, от наличия особых бактериальных структур, необходимых для сборки зрелых частиц фага. В то же время следует отметить, что уровень такой зависимости для разных бактериофагов разный. Некоторые из них (например, T-четные фаги *Escherichia coli*) несут в своем геноме многие гены, функционально сходные с определенными бактериальными генами; такие фаги более автономны, поскольку способны развиваться в клетках бактерий, не обладающих функциями соответствующих генов.

Применение современных электронных микроскопов, а также усовершенствование методов приготовления препаратов для электронной микроскопии позволили более детально изучить тонкую структуру фагов. Оказалось, что она весьма разнообразна и у многих фагов более сложна, чем структура вирусов растений и ряда вирусов человека и животных (рис. 1.).

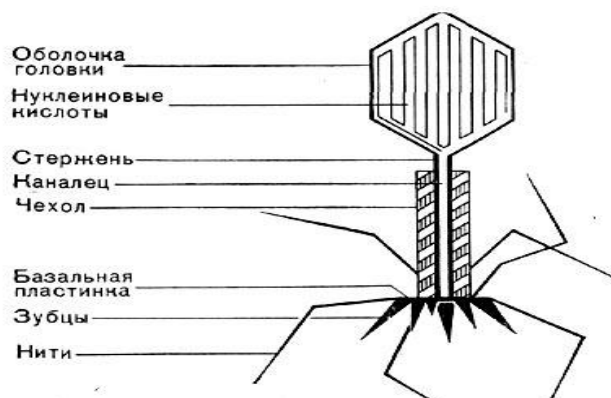


Рис. 1. Схема строения фаговой частицы.

Разные фаги отличаются друг от друга не только по форме, величине и сложности своей организации (рис. 2), но и по химическому составу. В то же время фаги, активные против одной и той же культуры, могут резко различаться по своей структуре. Так, например, среди фагов, способных лизировать разные штаммы кишечной палочки, выявлены все известные морфологические типы фагов.

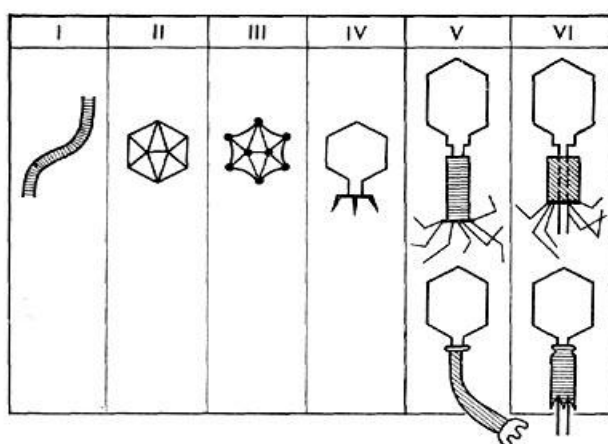


Рис. 2. Морфологические типы фагов.

Частицы (или вирионы) большинства известных фагов имеют форму сперматозоида. Они состоят из головки (или капсида) и отростка. Наряду с этим есть фаги, которые состоят из одной головки, без отростка, и фаги, имеющие форму палочки (палочковидные или нитевидные фаги).

По форме частиц фаги делятся на шесть основных морфологических типов (групп): **палочковидные** или **нитевидные** фаги; фаги, **состоящие из одной головки**, без отростка; **фаги**, состоящие из головки, на которой имеется несколько небольших выступов; **фаги**, состоящие из головки и весьма короткого отростка; **фаги**, имеющие головку и длинный отросток, чехол которого не

может сокращаться; **фаги**, имеющие головку и длинный отросток, чехол которого может сокращаться.

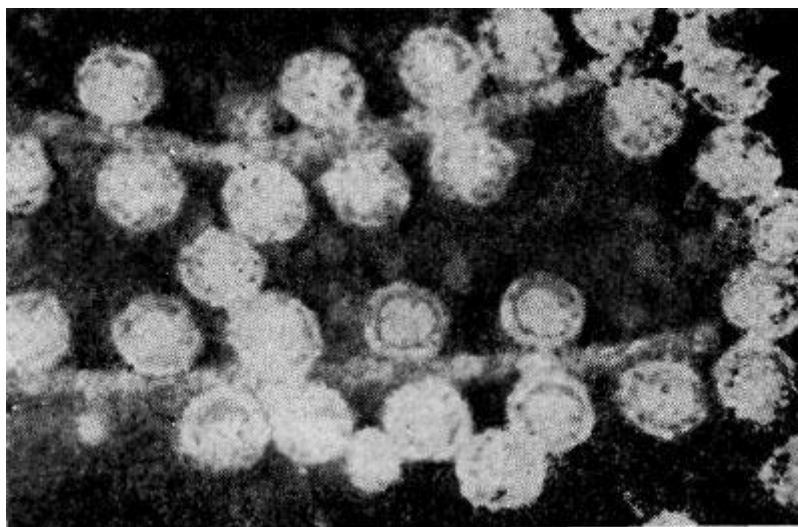


Рис. 3. Фаги второго морфологического типа, частица состоит из одной головки. Увел. X 600 000.

Фаги первого морфологического типа - палочковидные или нитевидные - выявлены у кишечной, синегнойной, чудесной палочек и других бактерий. Средние размеры их: длина: от 7000 до 8500 А, ширина: от 50 до 80 А (рис. 2).

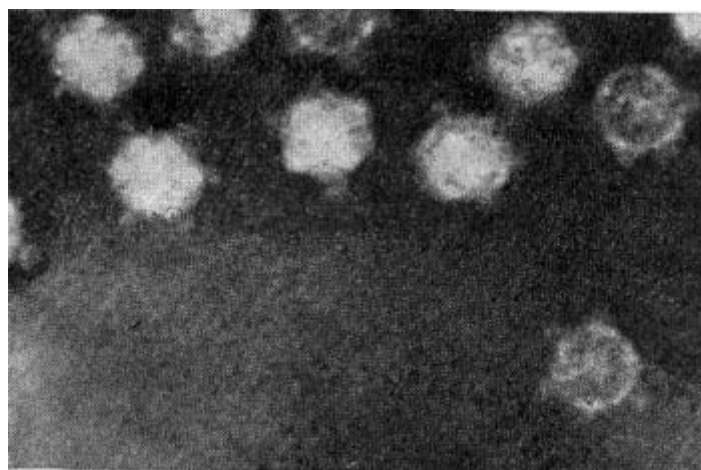


Рис. 4. Фаги третьего морфологического типа от головки отходят небольшие выступы. Увел. x 400 000.

Фаги второго морфологического типа. Частица их состоит из одной головки гексагональной (шестигранной) формы на плоскости. Частицы очень мелкие, средний размер их 230-300 А в диаметре (рис. 3).

У фагов **третьего морфологического типа** форма и размеры головки такие же, как у фагов второго типа, но у их головок имеются обычно несколько очень коротких выступов (рис. 4). Возможно, эти выступы являются аналогами отростков.

Фаги второго и третьего морфологических типов отличаются постоянством формы и размеров, независимо от того, против каких микроорганизмов они активны. Эти фаги относятся к мелким формам.

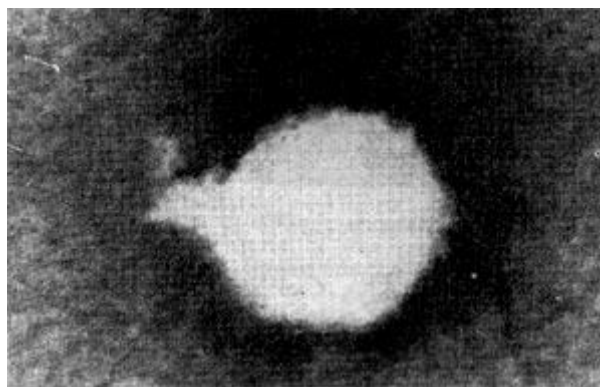


Рис. 5. Фаг четвертого морфологического типа. Частица состоит из головки и короткого отростка Увел. $\times 500\ 000$.

Фаги четвертого морфологического типа. Частица состоит из головки, размеры которой варьируют от 400 до 640 А в диаметре, и очень короткого отростка (рис. 5). Длина и ширина отростка от 70 до 200 А.

Фаги пятого морфологического типа наиболее широко распространены. Головка у частиц гексагональной, формы различных размеров - от 500 до 4250 А в диаметре. Размеры отростка: длина: от 1700 до 5000 А, ширина: от 70 до 120 А (рис. 6). Чехол отростка не способен сокращаться.

Фаги шестого морфологического типа также широко распространены. Головка частицы различной формы и размеров - от 600 до 1500 А в диаметре. Размеры отростка: длина: от 800 до 2890 А, ширина: от 140 до 370 А. Важной особенностью фагов этой группы является то, что чехол, окружающий отросток, способен сокращаться, в результате чего становится видимым внутренний стержень отростка (рис. 7).

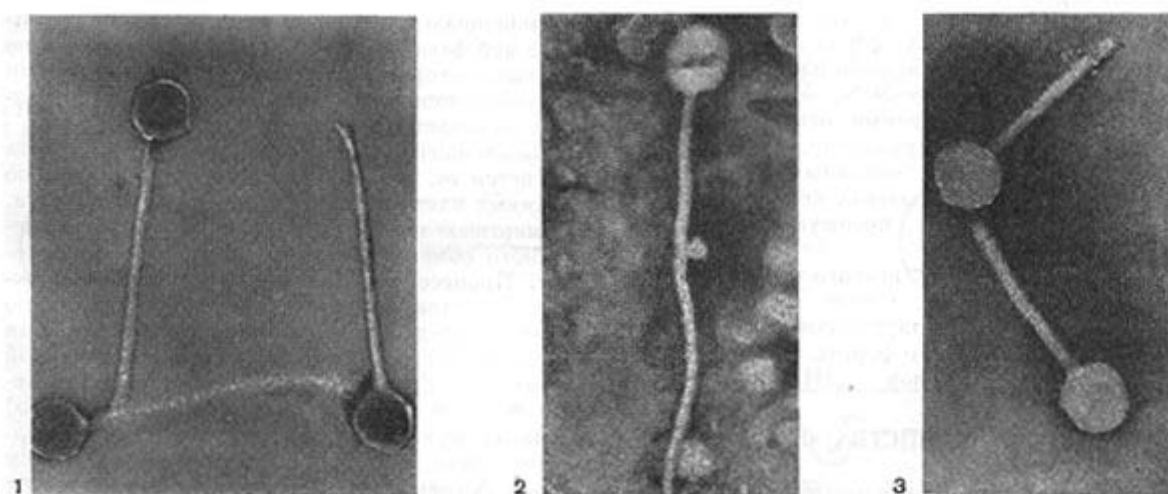


Рис. 6. Разные фаги пятого морфологического типа, частица состоит из головки и длинного отростка чехол которого не способен сокращаться. 1,2- увел. X 225 000, 3 - увел. X250 000

Головки всех фагов состоят из внутреннего содержимого нуклеиновой кислоты и окружены белковой оболочкой. Отросток фагов весьма сложен. Он обычно состоит из следующих струк-

тур: наружного чехла (или оболочки), внутреннего стержня с каналцем, базальной пластинки, оканчивающейся выступами (типа шипов) и нитевидными структурами. Чехол отростка состоит из субъединиц белковой природы, собранных в спираль. В результате этого он приобретает вид гофрированной трубки. В верхней части отростка многих фагов имеется образование, которое называется воротничком. На рисунке 7 схематически изображена тонкая структура фаговой частицы.

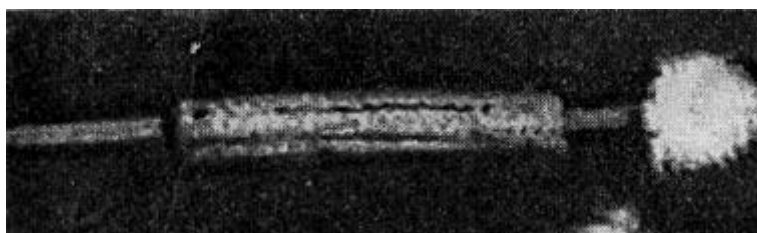


Рис.7. Фаг шестого морфологического типа, частица состоит из головки и длинного отростка, чехол которого способен к сокращению. Увел. около 400 000.

Все фаги обладают антигенными свойствами. При введении фага в организм животного в сыворотке крови образуются специфические антитела, способные действовать только против данного фага. Такие сыворотки называются **антифаговыми**. Когда фаг смешивается со специфической антифаговой сывороткой, происходит инактивация фага — фаг теряет способность вызывать лизис чувствительных к нему микробов.

Так как каждая антифаговая сыворотка специфична, ее можно успешно применять для идентификации и классификации фагов и очистки микробной культуры от фага. При помощи сы-

воротки удалось доказать, что белок оболочки фага отличается от белка оболочки отростка и от белка базальной пластинки и ее нитевидных образований, что говорит о сложности структуры фаговой частицы. По антигенным свойствам фаг резко отличается от чувствительных к нему микробов.

Взаимоотношения между фагом и чувствительной к нему клеткой очень сложны и не всегда завершаются лизисом клетки и размножением в ней фага. Инфекция клетки, которая заканчивается гибелью клетки и размножением в ней фага называется **продуктивной**.

Важнейшей особенностью размножения фага является то, что оно может происходить только в живых клетках, находящихся в стадии роста.

В мертвых клетках, а также продуктах клеточного обмена размножение фага не происходит. Процесс размножения фага весьма сложный и состоит из следующих последовательно протекающих этапов (рис. 8): адсорбция фаговой частицы на поверхности микробной клетки; проникновение содержимого головки фаговой частицы (нуклеиновой кислоты) в микробную клетку; внутриклеточное развитие фага, заканчивающееся образованием новых фаговых частиц; лизис клетки и выход из нее новых фагов.

Время с момента инфицирования клетки фагом до лизиса клетки называется **латентным** или скрытым периодом (от 15 минут до 5 и более часов).

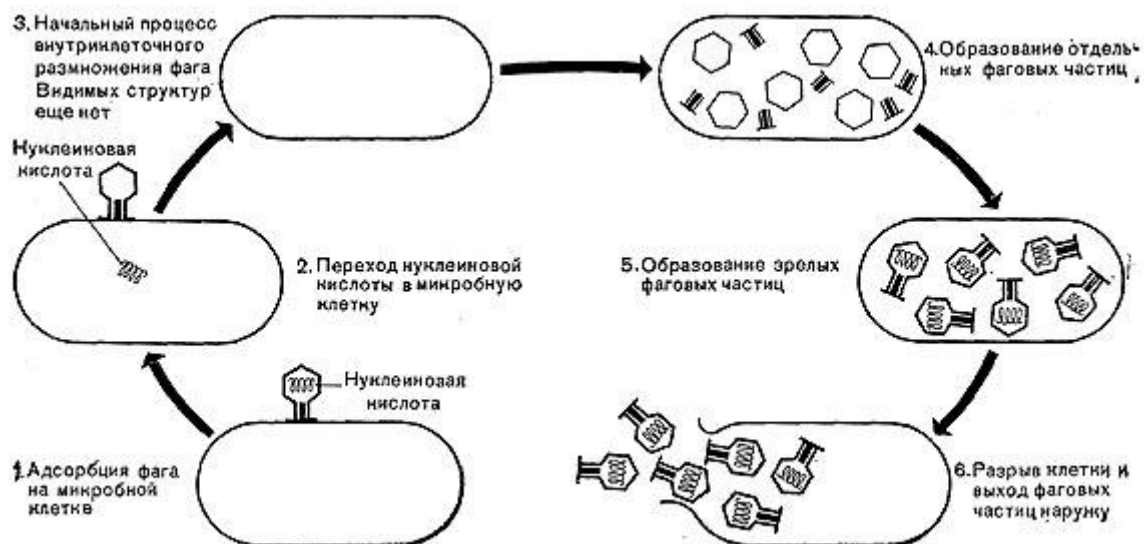


Рис. 8. Схема размножения фага.

Адсорбция фага на клетке - реакция весьма специфичная. В клеточной стенке бактерий имеются особые структуры (рецепторы), к которым могут прикрепиться фаги. Адсорбируются на рецепторах только те фаги, к которым чувствительна клетка.

Фаги, имеющие отростки, прикрепляются к микробной стенке свободным концом отростка. Нитевидные фаги, а также фаги, не имеющие отростков, адсорбируются не на микробной стенке, а на нитевидных структурах, окружающих стенку - фимбриях. Описаны фаги, которые прикрепляются отростком к бактериальным жгутикам.

На конце фагового отростка имеется особый **фермент** типа лизоцима. После адсорбции фага под влиянием этого фермента происходит растворение стенки микробной клетки и содержимое головки фага - нуклеиновая кислота - перекачивается в микробную клетку. Этим завершается второй этап процесса размножения фага.

Остальные структуры фаговой частицы - оболочка головки, отросток и его субструктуры - внутрь инфицированной фагом клетки не попадают.

У нитевидных фагов, в отличие от других видов фагов, внутрь клетки проникает весь белок или его часть.

После проникновения нуклеиновой кислоты фага в клетку начинается сложный процесс внутриклеточного размножения фага. Под влиянием нуклеиновой кислоты фага резко изменяется весь обмен микробной клетки. Основные процессы, протекающие в инфицированной клетке, направлены на образование новых фаговых частиц. Инъецированная ДНК подавляет синтезирующие механизмы клетки, заставляя ее синтезировать ДНК и белки бактериофага.

Из образовавшихся в разных частях клетки в разное время фаговой нуклеиновой кислоты и белка формируются новые фаговые частицы (сборка Б.). Вначале формируются отдельно головки и отростки, которые затем объединяются в зрелые фаговые частицы.

К этому времени внутри клетки образуется особый литический фермент, который вызывает лизис клетки изнутри. Клетка распадается, и новые зрелые частицы фага выходят наружу.

Количество новых фаговых частиц, образуемых одной клеткой при фаговой инфекции, называют **выходом фага или его урожайностью**. Выход фага зависит от свойств данного фага и не зависит от клетки-хозяина и ее размеров. Одни фаги отлича-

ются очень низким выходом (5—50 частиц на клетку), у других выход значительно выше (от 1000 до 2500).

Особенно высоким выходом отличаются мелкие РНК-овые фаги (свыше 20 000 частиц на клетку). Если большое количество бактериальных клеток смешать с небольшим количеством фаговых частиц, то процесс размножения фагов проходит несколько циклов. Вначале инфицируется часть клеток. Первое потомство фага инфицирует оставшиеся клетки - происходит второй цикл, за ним может следовать третий и т.д., пока не будут лизированы все чувствительные к данному фагу клетки. Среди фагов встречаются такие, размножение которых возможно лишь при наличии в среде определенных кофакторов. Одни из этих веществ, как уже указывалось, необходимы для адсорбции фага; другие - для внутриклеточного размножения фага.

Если произвести рассев по поверхности агаризованной питательной среды в чашках Петри смеси фага и чувствительных к нему микробов и чашки выдержать в термостате, то происходит лизис клеток в результате размножения фага. Если взять большое количество частиц фага, то лизируется большая часть или весь выросший газон культуры. Если количество фаговых частиц таково, что они распределяются только на отдельных участках газона, лизируя в этих местах культуру, то возникает **колония** фага. Эти колонии фага получили название **бляшек, стерильных пятен**. Каждая негативная колония состоит из десятков и сотен миллионов фаговых частиц. Размер негативных колоний и их

форма зависят в первую очередь от свойств фага, а также от состава среды и культуры микробов. У одних фагов негативные колонии очень мелкие и еле видимы невооруженным глазом, другие достигают 10 мм в диаметре и более. Морфология негативных колоний служит одним из признаков, которым пользуются при дифференциации фагов.

4. Применение бактериофагов для диагностики бактериальных инфекций

Одним из методов внутривидовой идентификации бактерий, имеющих значение для выявления цепочки заболевания, является **фаготипирование**. На чашку с питательной средой, засеянную чистой культурой возбудителя, наносят по капле различные диагностические бактериофаги. Если бактерии чувствительны к данному бактериофагу, наблюдается образование бляшек. Возбудитель может быть чувствительным к одному или нескольким фагам, в последнем случае определяют его фагограмму. Спектр чувствительности возбудителя к фагам называют фаготипом, или фаговаром. Определяют фаготип выделенной из исследуемого материала культуры возбудителя при сибирской язве, сальмонеллезе, стафилококковой инфекции с помощью специальных диагностических наборов. При помощи специфических фагов можно установить наличие определенных патогенных и непатогенных форм микробов в воде и в выделениях кишечника, а также наличие фитопатогенных бактерий внутри семян растений.

Из лизогенных культур актиномицетов выделен ряд актинофагов, которые можно использовать при классификации актиномицетов. По чувствительности культуры актиномицета к определенному фагу можно было судить, какой она продуцирует антибиотик.

В последние годы было установлено, что способностью индуцировать лизогенные культуры обладают многие вещества с противоопухолевым действием. Поэтому лизогенные культуры стали успешно применяться в поисках антираковых веществ.

5.Технология производства бактериофагов

В природных условиях фаги встречаются в тех местах, где есть чувствительные к ним бактерии. Так, фаги, лизирующие клетки всех видов почвенных микроорганизмов, находятся в почвах. Особенно богаты фагами черноземы и почвы, в которые внесены органические удобрения. Фаги, активные против разных видов кишечной, дизентерийной, тифозной и паратифозной палочек, часто встречаются в содержимом кишечника человека и животных, сточных водах и загрязненных водоемах. Фаги молочнокислых стрептококков в большом количестве встречаются в молочных продуктах.

Получают фаги путем фильтрации лизированных ими бульонных культур через мелкопористые бактериальные фильтры.

Для выделения бактериофага исследуемый материал (воду, испражнения, гноя, почву и др.) засевают в жидкую питательную

среду, наиболее благоприятную для развития тех микроорганизмов, против которых ищут бактериофаг. Среду оставляют в термостате на 18-20 часов. Иногда производят предварительное обогащение среды чистой культурой соответствующего микроба, заведомо нелизогенного, т.е. не выделяющего бактериофаг. Помутневшую питательную среду пропускают через бумажный, а затем через бактериальный фильтр, асбестовые пластины, керамические свечи. Полученный фильтрат испытывают на присутствие бактериофага путем засева совместно с соответствующей микробной культурой на плотные (методом стекающей капли - проба Отто) или жидкие питательные среды. При наличии бактериофага после 18-часовой инкубации на поверхности агара, обнаруживается сплошной налет культуры, а на месте растекающейся, капли, в зависимости от содержания частиц бактериофага в фильтрате, бактериальный рост полностью отсутствует или наблюдаются округлые «стерильные пятна» - колонии бактериофага. На жидкой питательной среде присутствие бактериофага обуславливает просветление культуры.

Для выделения чистой культуры бактериофага материал из развившегося отдельного стерильного пятна переносят бактериологической иглой в суспензию молодой микробной культуры.

Для гарантии чистоты бактериофага операцию выделения из изолированного стерильного пятна последовательно повторяют 5-10 раз. Материал из последнего стерильного пятна снова засе-

вают вместе с фагочувствительными микробами на жидкую питательную среду. После 6-18-часовой инкубации культуру фильтруют, проделывают несколько пассажей для увеличения количества бактериофаговых корпускул и получают чистую культуру бактериофага.

Выделенный из внешней среды, бактериофаг, культивируемый в лабораторных условиях на соответствующей культуре бактерий, называется **маточным** штаммом соответствующего бактериофага.

В производственных условиях для изготовления препарата бактериофага применяются только апробированные штаммы бактериофагов и культуры соответствующих микробов, обладающих типичными морфологическими, биохимическими и серологическими свойствами. Штаммы бактериофагов должны быть музейными и рабочими. На производстве они часто называются маточными бактериофагами.

Музейные производственные штаммы бактериофагов ежегодно обновляются путем выделения новых или пассажами имеющихся штаммов бактериофага через организм больного, а также адаптацией к свежевыделенным, резистентным к данному бактериофагу культурам. Маточный бактериофаг должен размножаться и пассироваться только на соответствующей культуре в жидкой питательной среде, например, брюшнотифозный бактериофаг пассируется на культуре брюшнотифозной палочки в бульоне Мартена.

Рабочий маточный бактериофаг готовится из очередной серии музейного штамма бактериофага, отдельно на каждом из производственных штаммов микробов.

Препарат бактериофага представляет собой фильтрат бульонной культуры соответствующих микробов, лизированных фагом. Он содержит большое количество размножившихся фагов, обладающих специфическими лизирующими свойствами.

Промышленное получение бактериофага в настоящее время осуществляется в специальных аппаратах - реакторах, емкостью от 250 до 1000 л, с применением аэрации как фактора, стимулирующего развитие микроорганизмов. Для производства бактериофага берется его рабочая маточная раса и соответствующие культуры микробов. В реактор наливается жидкая питательная среда, например, бульон Мартена или Хоттингера для изготовления брюшнотифозного и дизентерийного бактериофагов с рН 7,4-7,6 и стерилизуется при температуре 110°C в течение 40 минут. После стерилизации среда охлаждается до 39°C и засеивается соответствующей микробной культурой и маточным бактериофагом одновременно. Для засева употребляются 18-часовые агаровые культуры, которые прибавляются из расчета 50 млн. микробных тел на 1 мл среды.

Бактериофаг добавляется в количестве не более 0,3 % по отношению к объему питательной среды. Среду с засеянными в ней культурой и бактериофагом оставляют при температуре 37°C на 6-18 часов. Бактериофаги активно размножаются внутри бактери-

альных клеток, увеличиваясь в количестве и вызывая их лизис, что внешне проявляется полным просветлением среды. К полученному лизату добавляется в качестве консерванта хинозол (0,01 %) или фенол (0,25 %) и не позже чем через 2 часа после этого содержимое реактора фильтруется и фильтруется через бактериальные фильтры (асбестовые пластины, свечи Шамберлена или свечи ГНКИ соответствующей пористости) для удаления оставшихся микробных клеток.

Полученный препарат-бактериофаг должен иметь вид, совершенно прозрачной жидкости желтого цвета большей или меньшей интенсивности. Он проходит контроль на стерильность, безвредность и литическую активность, т.е. вирулентность.

Стерильность бактериофага проверяют обычным способом.

Безвредность препарата проверяют путем введения животным, например, брюшнотифозный и дизентерийный бактериофаги вводят подкожно трем мышам по 1 мл, либо внутривенно одному кролику 5 мл. Наблюдение за животными ведется в течение 3-4 суток; если препарат безвреден, они должны оставаться бодрыми и здоровыми.

Литическая активность бактериофага, его **вирулентность** определяются методом титрования на жидкой и плотной питательной среде.

Определение вирулентности методом Аппельмана проводится по следующей схеме: набирается ряд пробирок, содержа-

щих по 4,5 мл мясо-пептонного бульона; в первую из них добавляется бактериофаг в количестве 0,5 мл, тщательно перемешивается другой пипеткой и в количестве 0,5 мл переносится в следующую пробирку, из второй - 0,5 мл в третью и т.д. В серии пробирок бактериофаг разводится 1:10; 1:100; 1:1000 и т.д. Во все пробирки, включая и контрольную, содержащую только 4,5 мл бульона, вносят по 250 млн микробных тел суточной культуры соответствующих бактерий, затем ставят их на 18-20 часов в термостат, после чего учитывают результат. Степень лизиса отмечается плюсами следующим образом: четыре плюса (++++) - абсолютная прозрачность среды, равная стерильному бульону; три плюса (+++) - почти полная прозрачность, лишь незначительно отличающаяся от стерильного бульона; два плюса (++) - муть, значительная по сравнению со стерильным бульоном, но незначительная по сравнению с контрольной пробиркой; один плюс (+) - явная муть, но все же более слабая, чем в контрольной пробирке, минус (-) - муть, как в контрольной пробирке.

Определение вирулентности на плотной питательной среде методом Отто заключается в следующем: на определенные сегменты агаровых пластинок в бактериологических чашках, хорошо подсушенных в термостате и предварительно засеянных сплошным газоном соответствующей культуры, наносится по одной капле исследуемого бактериофага определенного разведения, соответствующего разведению в аппельмановском ряду. Капли

подсушиваются и чашки помещаются в термостат на 18-20 часов. Результат учитывается по степени лизиса и обозначается плюсами: четыре плюса (++++) - полный лизис; на месте закапывания бактериофага культура не растет; три плюса (+++) - лизис с наличием единичных колоний культуры; два плюса (++) - лизис в виде сливных участков с островками роста культуры; один плюс (+) - лизис в виде отдельных стерильных пятен на сплошном газоне культуры; минус (-) - сплошной рост культуры, не обнаруживается ни одного стерильного пятна.

За титр бактериофага при определении методом Аппельмана принимают то наибольшее разведение его, которое вызывает полное растворение соответствующих микробов. Бактериофаги выпускают, с определенными титрами, не ниже установленных по инструкции. Так, титр брюшнотифозного бактериофага со всеми штаммами, входящими в титрование, должен быть не ниже 10^{-7} для штаммов, находящихся в Vi-форме, и не ниже 10^{-6} для штаммов, находящихся в 0-форме.

После проведения контролей бактериофаг разливается во флаконы нейтрального стекла (по 25, 50 и 100 мл), которые должны быть закупорены резиновой пробкой соответствующего размера и залиты смолкой.

Срок годности брюшнотифозного, стафилококкового и стрептококкового бактериофагов - один год, некоторых - два года.

Помимо жидких препаратов бактериофага могут изготавливаться также сухие. Для получения их, действующее начало жидкого фаголизата осаждается серноокислым аммонием.

Выпавший осадок отделяется от жидкой части, к сырой массе добавляется в качестве стабилизатора глюконат кальция (9 %), смесь тщательно растирается, замораживается при -30°C и высушивается под вакуумом.

Выпускается сухой фаг в виде таблеток, которые содержат стабилизированную субстанцию фаголизата, обычно применяемую таблеточную смесь (глюкозу, глюконат кальция, тальк, стеарин) и покрыты защитной кислотоустойчивой оболочкой из ацетилцеллюлозы. Одна таблетка сухого бактериофага соответствует 20-25 мл жидкого.

В отношении стерильности и безвредности к сухим бактериофагам предъявляются те же требования, что и к жидким. Титр сухих бактериофагов устанавливается в соответствии с их лизирующей активностью, по отношению к разным видам и типам микробов.

Применяются они в тех же случаях, что и жидкие бактериофаги. Срок годности сухих фагов – 1 год.

6. Причины загрязнения микробных производств и проблема фагии в различных производствах

Несмотря на чрезвычайное разнообразие бактериофагов, процедуры их исследования, за редким исключением, применимы к большинству фагов. В заводской лаборатории можно провести предварительное изучение фага с применением относительно простых методов, а затем в хорошо оснащенной специализированной лаборатории подобрать оптимальные условия для размножения фага и подвергнуть фаг подробному изучению (электронная микроскопия, анализы нуклеиновой кислоты, белков капсида и др.). Так осуществляется классификация фага и делается окончательный вывод о пути его попадания на производство. Следует предостеречь от проведения длительных работ по исследованию бактериофагов в заводских лабораториях, территориально связанных с производством. Требующиеся обычно для проведения исследований препараты фагов в высоких титрах могут стать источником новых загрязнений производства, в том числе и мутантами с расширенными спектрами литической активности.

Все основные группы микроорганизмов могут быть загрязнителями биопроизводств - бактерии, грибы, фаги. Оптимальная температура для их развития находится в пределах 24-30°, т.е. это мезофильные организмы. Споры бактерий и конидий грибов могут выносить температуру 100° С, мицелиальные грибы оказы-

ваются доминирующими среди микроорганизмов при повышенной влажности.

В производстве антибиотиков, некоторых плазмозаменителей крови (декстран), отдельных витаминов существенна роль споровых бактерий типа *Bac. brevis*, *Bac. subtilis*, попадающих в ферментеры с загрязненным воздухом. Как правило, в этих случаях имеет место негерметичность аппаратуры или попадание в ферментеры нестерильного наружного воздуха из-за его плохой очистки. С неочищенным воздухом в ферментеры могут попасть и фаги, приводящие к лизису чувствительные культуры. При этом не исключаются случаи активации профагов в лизогенных культурах с последующей гибелью продуцента от вегетирующего фага. Применительно к процессам ферментации вероятность проскока таких микроорганизмов в ферментеры находится в пределах 1:1000–1:100 000.

Грамотрицательные бактерии из группы *Escherichia coli* и *Pseudomonas* sp. могут попасть в ферментеры с нестерильной водой. В этой связи необходимо следить за тем, чтобы сварные швы в трубопроводах и аппаратах не давали течи; чтобы гладкие поверхности фланцевых соединений оставались неповрежденными и имели резиновые прокладки. Ферментационные аппараты должны всегда иметь избыточное давление в процессе эксплуатации. В противном случае возможны подсосы нестерильного воздуха через сальники вентиля и валов мешалок. Необходимо тщательно следить за выхлопными линиями ферментеров, через

которые может проникать в них грамотрицательная подвижная флора.

Дрожжевые организмы могут быть в культуральной жидкости вследствие недостаточной стерилизации питательной среды, содержащей, например, кукурузный экстракт, весьма благоприятный для развития названных организмов.

Железобактерии *Gallionella ferruginea* оказываются причиной коррозии, например, канализационных систем. Коррозия сооружений из железистых металлов, меди, свинца, цинка происходит более интенсивно в плохо аэрируемых почвах с большим содержанием растворимых солей и выраженной кислотностью. Анаэробные почвы оказываются подходящими для роста сульфатредуцирующих бактерий, и они, как правило, имеют низкий окислительно-восстановительный потенциал.

В любых видах микробиологической порчи материалов или объектов важнейшим фактором является влажность, вне которой не происходит развития микробов. Поддержание относительной влажности на уровне 50–70% предотвращает развитие микрофлоры на различных материалах и объектах.

Следует помнить, что микробной порче могут подвергаться самые различные объекты, ферментационные среды, готовые продукты медицинского, пищевого и другого назначения, деревянные и металлические сооружения и изделия, пластические массы, резина, лакокрасочные материалы, оптические приборы и т.д. Следовательно, во всех отраслях народного хозяйства прямо

или косвенно мы имеем дело с микробами-вредителями. В основе их вредной деятельности лежит большая или меньшая метаболическая активность, когда продукты обмена веществ проявляют ту или иную агрессивность в отношении соответствующего субстрата. В биопроизводствах часто имеют дело с биомассой таких микробов, выступающих загрязнителями сред или готовых продуктов. Нередко продукты их жизнедеятельности могут явиться причиной пирогенности препаратов.

К числу пирогенно действующих веществ относятся комплексно связанные белки, жиры и углеводы (полноценные антигены), тейхоевые кислоты, фосфорилированные липополисахариды. Пирогены проходят через бактериальные фильтры, устойчивы к нагреванию и многим другим факторам внешней среды. Пути действия пирогенов (в том числе бактериальных) в макроорганизме на теплорегулирующие центры многоканальны:

Все сапрофитные формы микробов-вредителей попадают в сферу технологического процесса из природных субстратов (почва, вода, воздух). Если же речь идет о каких-либо патогенных микробах, то в этом случае источником их выступают больные люди или бактерионосители, которые незамедлительно должны быть отстранены от работы. В других случаях существенно важной является оценка пылевого источника загрязнения. Для этого необходимо учитывать возможности запыленности воздуха рабочих помещений, коридоров, транспортных средств (например, лифтов), а также запыленность стен, выступов, трубопроводов,

вентиляционных труб, вспомогательных и упаковочных материалов и т.д.

Спорообразующие бактерии в загрязненном воздухе чаще относятся к группам *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megaterium*. Многие из них образуют активную пенициллиназу и прочие гидролитические ферменты. Грамотрицательные бактерии родов *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus* и другие (преимущественно водные обитатели) также обладают активными гидролазами, катализирующими реакции гидролиза, например, отдельных антибиотиков. Дрожжевые организмы рода *Candida* растут и развиваются в присутствии высоких концентраций противобактериальных антибиотиков. Из числа последних пенициллин может стимулировать их рост.

Бактериальная, дрожжевая (*Bacterium*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Pseudobacterium*, *Lactobacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Mycobacterium*, *Torulopsis*, *Pichia* и др.) и плесневая микрофлора более или менее постоянно сопутствуют кормовым дрожжам при их выращивании в производственных условиях. При этом снижение выхода целевого продукта может достигать 70–80%. Организмы родов *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Bacillus* полностью ингибируют продукцию токсинов анаэробными клостридиями.

Выброс во внешнюю среду воздуха и других составных частей материальных потоков, загрязненных грибами и бактериями – продуцентами антибиотиков, витаминов, белка, аминокислот

или других биологически активных веществ, может привести к поражению культурных растений, пушных зверей и птицы, грибковым заболеваниям среди людей, а также болезням рыб, пчел и других насекомых. Нитчатые грибы и дрожжи как продуценты определенных веществ могут выступать причиной развития аллергии.

Для борьбы с микробами-вредителями биопроизводств используют различные мероприятия: контроль за герметичностью технологического оборудования и систем, связанных, например, с подачей стерильного воздуха, пеногасителей и т.д.; личная гигиена людей, занятых в производстве; соблюдение правил санитарии и гигиены на всех участках технологического процесса; квалифицированное обслуживание работающих приборов и аппаратов в целях соблюдения регламентированных процессов; контроль за качеством используемой воды; систематический медицинский осмотр людей, занятых в производстве; санитарно-бактериологический контроль воздуха рабочих вспомогательных и других помещений, а также контроль влажности и температуры воздуха; физические и химические методы борьбы с микробами-вредителями биопроизводств.

Гигиенический и санитарно-бактериологический контроль за воздухом ведут по методам, изложенным в практических курсах гигиены. Применительно к микробному обсеменению воздуха учитывают качество и количество микробов, а затем делают

вывод о чистоте или загрязненности воздуха и степени его опасности для технологического процесса, а также и для работающих.

Среди физических и химических методов борьбы с микробами-вредителями биопроизводств известны многочисленные приемы и вещества, обеспечивающие определенную надежность уничтожения нежелательной микрофлоры.

Из физических методов укажем на фильтрацию (воздуха, питательных сред, культуральных жидкостей), тепловую стерилизацию (питательных сред, некоторых готовых средств), создание избыточного давления стерильного воздуха в соответствующих помещениях (например, в фасовочных отделениях медицинских препаратов для инъекций); использование стерильных халатов и масок людьми, занятыми в производстве; лиофилизация готового продукта перед хранением; использование ультрафиолетового и гамма-облучения для стерилизации соответственно помещений и флаконов.

Применительно к антимикробным агентам и их использованию существуют следующие определения:

1) **статическое** действие вещества, т.е. когда агент задерживает размножение клеток. Удаление его из среды сопровождается возобновлением размножения тест-объекта. В зависимости от тест-организмов говорят о бактериостатическом и фунгистатическом действиях антимикробных веществ;

2) **цидное** действие вещества, т.е. когда агент убивает чувствительный организм, который не оживает после удаления из

среды этого вещества. Эффект последнего может проявиться в растворении (лизисе) клеток или, напротив, клетки остаются неповрежденными и даже продолжают оставаться «метаболически» относительно активными; цидное действие может быть как бактерицидное, так и фунгицидное.

3. Стерильность – освобождение от любых живых клеток. Стерилизация может быть достигнута химическими веществами (а также фильтрацией и облучением). Стерильный материал может содержать интактные «метаболизирующие» клетки.

4. Дезинфектант – вещество, убивающее патогенные микроорганизмы.

5. Асептичность, характеризующаяся отсутствием микробов.

Микробиологическое производство, использующее бактерии-продуценты, может в определенных условиях оказаться зависимым от бактериофагов. Лизис бактерий в промышленных аппаратах – ферментерах, вызванный бактериофагами («фаголизис»), уменьшает выход конечного продукта или ухудшает его качество и тем самым приносит экономический ущерб.

Фаголизис может стать и причиной особого, генетического, загрязнения внешней среды. В производстве обычно используются бактериальные культуры ограниченного числа видов. В случае их массового лизиса и попадания определенных фагов во внешнюю среду может наблюдаться не только качественное изменение состава микроорганизмов, но и взаимодействие «производ-

ственных» и «природных» фагов. Это может привести к появлению в природных условиях генетически новых вариантов фагов, еще более активно лизирующих данный продуцент или способных визировать близкородственные виды бактерий. Следовательно, нарушаются сложившиеся биоценотические отношения.

Бактериофаг, заражая культуры микробов, является опасным вредителем отдельных производственных штаммов микроорганизмов (вакцинных, возбудителей молочнокислого, ацетонобутилового и некоторых других брожений, продуцентов антибиотиков), вызывая серьезные нарушения технологического процесса.

Вследствие концентрации на производствах больших масс микроорганизмов, находящихся в стадии интенсивного роста, создаются благоприятные условия для размножения соответствующих фагов, часто вызывающих лизис производственных культур.

Микробиологические производства, которые сталкиваются с проблемой фагии, можно разбить на две группы.

К **первой** группе относятся те производства, в которых основное применяемое сырье может содержать (и большей частью фактически содержит) фаги. Это предприятия молочной промышленности. Одно из древнейших производств - молочное (сыроделие, получение молочнокислых продуктов и др.) - основано на применении молочнокислых стрептококков и бактерий.

Ко **второй** группе производств относятся те, в которых выращивание микроорганизмов производится на питательных сре-

дах, не содержащих фагов. Это фактически все остальные микробиологические производства.

Из производств первой группы рассмотрим сыроделие как наиболее типичное и в то же время лучше изученное с точки зрения фагии.

Молочнокислые микробы очень широко распространены в природе: в почве, в навозе, на корнях, листьях и семенах растений, в кишечнике животных. Широкому распространению фагов молочнокислых бактерий способствует то, что они являются лизогенными, т. е. содержат внутри клеток фаги. В результате этого в молоке сразу же после доения уже есть фаги. Молоко, поступающее на молочные заводы, часто содержит фаги в значительном количестве (1 млн. и более частиц в 1 мл молока). Следует отметить, что все фаги, даже активные против патогенных микробов, совершенно безвредны для людей и животных.

Современное производство сыра основано на применении пастеризованного молока. Однако пастеризация не убивает всех имеющихся в молоке фагов. Охлажденное после пастеризации молоко разливают в специальные ванны, в которые вносится закваска, состоящая из чистых культур молочнокислых стрептококков. Стрептококки вызывают сквашивание молока. Получаемый сгусток молока подвергается дальнейшей переработке.

Работники сыродельных заводов давно обратили внимание на то, что в ряде случаев активность молочнокислых микробов закваски резко снижается, что приводит к плохому сбраживанию

молока. Это явление может быть вызвано разными причинами. Но чаще всего оно вызывается фагами, которые лизируют полностью или частично культуры заквасок. В результате этого процесс молочнокислого брожения полностью останавливается или интенсивность его резко снижается.

На сыродельных заводах, как правило, применяют закваски, состоящие не из одной культуры, а из смеси различных культур молочнокислых стрептококков. Стрептококков очень много в природе, поэтому для производства можно отобрать культуры, отличающиеся по своей чувствительности к фагам. При применении смешанной закваски под влиянием фага лизируется одна или две культуры, другие же продолжают процесс молочнокислого брожения.

Одну и ту же закваску используют только определенное время, после чего ее заменяют другой. Длительно применять одну и ту же закваску нельзя, так как это способствует накоплению на заводе фагов, активных против культур данной закваски.

Правильный выбор культур для заквасок, смена их на основании изучения появившихся на заводе фагов дают значительный эффект. В ряде зарубежных стран на сыродельных заводах применяют закваски, содержащие только одну культуру. В этих случаях одну и ту же закваску используют лишь один раз.

Успешность борьбы с фаголизисом требует проведения и ряда других мероприятий. Особое значение имеет борьба с распространением фагов в заводских помещениях.

Значительные трудности в связи с лизисом под влиянием фагов производственных культур испытывала у нас и за рубежом антибиотическая промышленность.

Большой ущерб наносят фаги заводам ацетонобутиловым, а также изготавливающим бактериальные удобрительные препараты и препараты, применяемые для борьбы с вредными насекомыми.

Возникает вопрос: как фаги попадают на эти заводы?

То, как именно фаг попадает на производство, в существенной степени определяется характером самого производства. Так, например, в отраслях промышленности, где производство ведется в открытых емкостях, фаг может попадать в них из воздуха, с добавками и т.д. В случае таких производств (сыроделие, виноделие) фаголизисы вызываются в основном фагами, попавшими из внешней среды (экзогенные фаги). В этом случае единственной гарантией безлизисного производства может быть использование комплекса специально разработанных мер. Изредка, при использовании лизогенных продуцентов, причиной лизиса может стать возникновение вирулентных мутантов (эндогенные фаги). В случае использования в производстве только одного штамма бактерий аппаратное оформление производства позволяй вести его в микробиологически стерильных условиях, основным источником фаголизиса должны быть фаги, имеющие эндогенное происхождение (вирулентные мутанты профагов лизогенных продуцентов), и лишь при нарушении определенных технологических

условий (некачественная стерилизация среды, воздуха и т.п.) лизис может быть вызван экзогенными фагами. Экзогенные фаги, вообще говоря, могут быть не только вирулентными, но и умеренными, если, например, в ферментеры попадают вместе с нестерильными компонентами лизогенные бактерии вида, родственного продуценту и выделяющие фаг, активный им клетках продуцента.

Таким образом, основной задачей после выявления на производстве случая, подозрительного на фаголизис, является доказательство возможной роли фага как причины неудавшейся операции, в том числе выявление самого фага и его характеристики позволяет установить способ попадания фага на производство (эндо- или экзогенный), а также определить, является ли обнаруженный фаг вариантом (мутантом) какого-либо ранее известного фага или встречается впервые.

В борьбе с фаголизисом, в особенности при производстве антибиотиков, большое значение имело экспериментальное получение активных фагоустойчивых культур. Такие культуры в настоящее время успешно применяются.

7.Контрольные вопросы

- 1.Определение бактериофагов, история их открытия
- 2.Типы фагов
4. Виды бактериофагов, используемые в ветеринарии и медицине

5. Основные морфологические свойства фагов
6. Дефектные и недефектные фаги
7. Строение фаговой частицы
8. Морфологические типы фагов
9. Антигенные свойства фагов
10. Основные этапы размножения фагов
11. Особенности адсорбции фагов
12. Определение урожайности фагов
13. Что такое «стерильные пятна»?
14. Получение маточного штамма бактериофага
15. Основные технологические этапы производства бактериофагов
16. Какие показатели подлежат обязательному контролю при производстве фагов?
17. Методика определения литической активности фагов
18. Формы выпуска фагов, сроки их хранения
19. Причины загрязнения микробных производств: роль бактерий и фагов
20. Мероприятия по борьбе с микробами-вредителями биопроизводств
21. Группы микробиологических производств, которые сталкиваются с проблемой фаги
22. Пути попадания фагов на различные производства

8.Список использованной литературы

- 1.Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам, пер. с англ., М., 1984;
- 2.Ланчини Д. и Паренти Ф. Антибиотики, пер. с англ., с. 89. М., 1985;
- 3.Козлов Ю.А. Питательные среды в медицинской микробиологии, М., 1950, библиогр.;
- 4.Лабораторные методы исследования в клинике, под ред. В.В. Меньшикова, с. 315, 343, М., 1987;
- 5.Мейнелл Дж. и Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология, пер. с англ., с. 46, М.,1967;
- 6.Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях, под ред. Г.Я. Синая и О.Г. Биргера, с. 64, М., 1949;
- 7.Навашин С.М. и Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия, с. 25, М., 1982;
- 8.Руководство по инфекционным болезням, под ред. В.И. Покровского и К.М. Лобана, М., 1986;
- 9.Сепсисология с основами инфекционной патологии, под ред. В.Г. Бочоришвили, Тбилиси, 1988.
- 10.Справочник по применению бактериальных и вирусных препаратов, под ред. С.Г. Дзагурова и Ф.Ф. Резепова, М., 1975.
- 11.Стейниер Р., Эдельберг Э. и Ингрэм Дж. Мир микробов, пер. с англ., т. 2, с. 165, М., 1979;

12.Стент Г. Молекулярная биология вирусов бактерий, пер. с англ., М., 1965;

13.Хейс У. Генетика бактерий и бактериофагов, пер. с англ., М., 1965;

14.Франклин Т. и Сноу Дж. Биохимия антимикробного действия, пер с англ., с. 197, М., 1984.

15.Шлегель Г. Общая микробиология, пер. с нем., с. 142, М., 1987.

16.Энтеробактерии, под ред. В.И. Покровского, с. 258, М., 1985.