

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИОФАГА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АМЕРИКАНСКОГО ГНИЛЬЦА

Кафедра микробиологии

Зав. кафедрой проф., доктор вет. наук В. И. ПОЛТЕВ

В медицинской и ветеринарной практике применяют бактериофаги для терапии и профилактики ряда инфекционных болезней (А. А. Бессонова, 1938; В. М. Туманский, 1938; А. П. Ящук, 1938; Т. И. Медведева, 1948 и др. авторы). О возможности применения бактериофага для терапии европейского гнильца сообщает В. И. Красикова (1949).

Учитывая сложность бактериологической диагностики американского гнильца, мы решили получить бактериофаг и использовать его для ускорения и упрощения диагностики этой болезни.

Для получения чистой культуры *Vac. larvae* мы использовали многочисленные образцы сотов, присылаемые на кафедру микробиологии для диагностических целей.

Чистую культуру *Vac. larvae* мы получили на мясо-пептонном бульоне и агаре с рН 7,2 и добавлением 10% стерильно полученной сыворотки лошади. Как известно, через 24 часа *Vac. larvae* образует на агаре отдельные серо-белые, прозрачные колонии (рис. 1). В бульоне через 24 часа образуется легкое помутнение и хлопьевидный осадок. Спорообразование начинается обычно на 5—7-е сутки. Такое позднее спорообразование позволило нам работать над получением бактериофага и изучением его свойств.

Для выделения бактериофага мы засеивали в колбу с 50 мл сывороточного мясо-пептонного бульона материал из разложившихся и высохших личинок, погибших от американского гнильца. Колбу ставили в термостат при температуре 37° на трое суток. Далее содержимое колбы фильтровали сначала через фильтровальную бумагу, а затем через асбестовый фильтр. Фильтр испытывали на присутствие фага с чистой культурой *Vac. larvae* (штамм 2, 3, 4, 10) на плотных и жидких питательных средах.

На плотных средах на поверхность чашки с сывороточным агаром, засеянную 24-часовой культурой *Vac. larvae*, мы нано-

сили 2—3 капли фильтрата, которым при наклоне чашки давали стечь по радиусу. Через 24 часа на месте нанесения фильтрата было стерильное пятно, хотя и не совсем свободное от роста (рис. 2).

На жидких средах фильтрат испытывали в пробирках

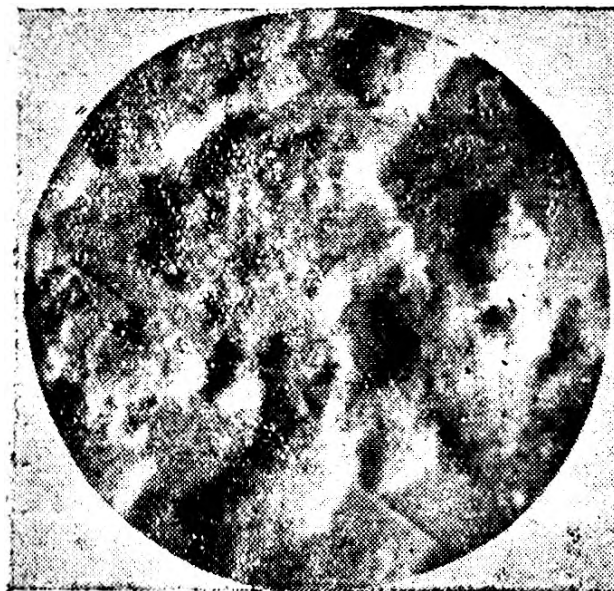


Рис. 1.

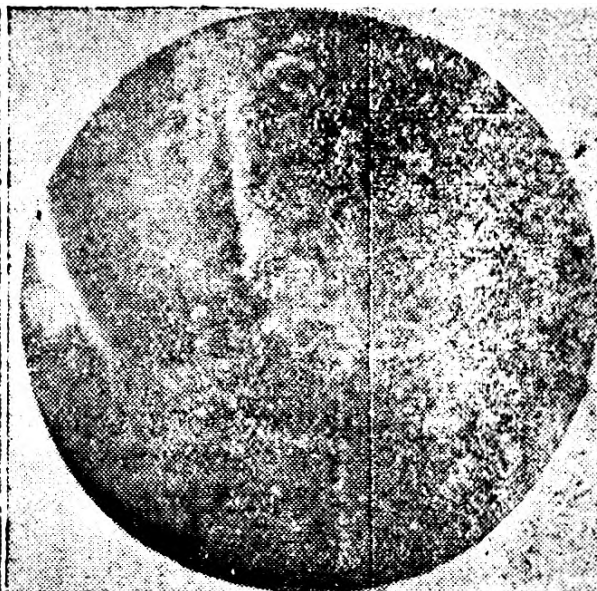


Рис. 2

с сывороточным бульоном, куда вносили одновременно 24-часовую культуру *Bac. larvae*.

Усиление бактериофага мы производили путем пассирования его с суточной культурой *Bac. larvae* (штамм 10 и 4) на мясо-пептонном бульоне и агаре с последующей фильтрацией через асбестовый фильтр.

При исследовании под малым увеличением микроскопа колоний *Bac. larvae*, находящихся на месте воздействия бактериофага, были обнаружены колонии с изъеденными краями и центром или совсем распадающиеся (рис. 3 и 4). На семнадцатом пассаже нами получен бактериофат, обладающий активностью (при титрации по методу Аппельмана) в разведении 10^{-8} . Полученный бактериофаг лизировал ряд штаммов и в особенности штамм 4. Путем пассажей с другими штаммами нами получен поливалентный бактериофаг, обладающий способностью лизировать штаммы *Bac. larvae*, полученные из различных районов СССР.

Бактериофаг был испытан с микроорганизмами других видов: *Bact. pluton*, *Bac. alvei*, *Bac. subtilis*, *Staph. aureus*. Установлено, что полученный бактериофаг не лизирует эти виды микроорганизмов и является специфичным по отношению к *Bac. larvae*.

После получения высокоактивного и поливалентного бактериофага мы перешли к использованию его для диагностических целей.

Материал из мертвых личинок мы засекали в пробирки с сывороточным бульоном и ставили в термостат при температуре 37° на 18—20 часов, до получения заметного роста. Через 18—20 часов засекали каплю испытуемой бульонной культуры

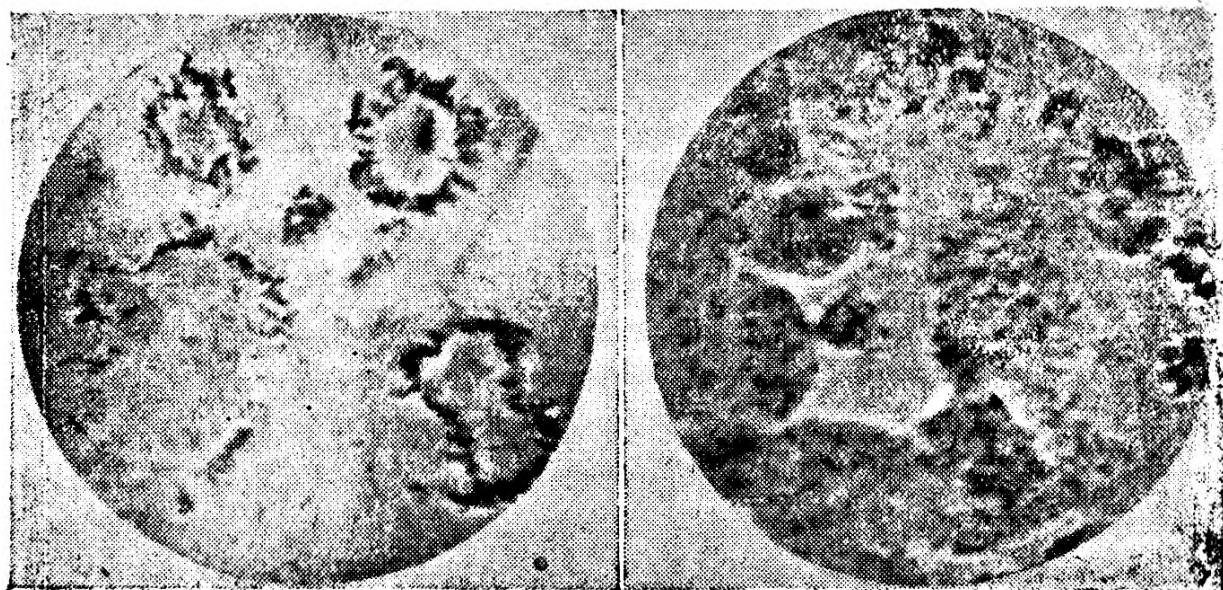


Рис. 3.

Рис. 4.

на чашки с сывороточным агаром и на засеянную поверхность наносили каплю бактериофага.

Чашки ставили в термостат при температуре 37° на 18—20 часов.

Образование стерильного пятна на месте нанесения капли бактериофага было несомненным показателем того, что в испытуемой нами культуре находится возбудитель американского гнильца.

ВЫВОДЫ

1. Получен поливалентный специфический и высокоактивный бактериофаг, лизирующий *Bac. larvae* — возбудителя американского гнильца пчел.

2. Бактериофаг может быть успешно использован для уточнения и ускорения бактериологической диагностики на американский гнилец.

3. Для диагностики американского гнильца свежесыведенная из мертвых личинок бульонная культура засекается на чашки с сывороточным агаром и на засеянную поверхность наносится капля бактериофага.

Образование стерильного пятна служит показателем присутствия в испытуемой культуре *Bac. larvae* — возбудителя американского гнильца.

ЛИТЕРАТУРА

Бессонова В. А. и др. О дифференциации *B. pestis* и *B. pseudotuberculosis rodentium* Pfeiffer'a при помощи чумного бактериофага. Вестник микроб., эпидемиол. и паразитол., т. ХУП, вып. 3—4, 1938.

Красикова В. И. Бактериофаг в борьбе с европейским гнильцом. «Пчеловодство», 4, 1949.

Кривиский А. С. Биологическая природа бактериофага. «Природа», 10, 1952.

Майский И. Н. О неклеточных формах жизни у микробов. Ж. микробиол., эпидем. и иммунобиологии, 8, 1952.

Медведева Т. И. Бактериофаг анаэробных стрептококков и его применение для диагностических целей. Ж. микробиол. эпидем. и иммунобиологии, 9, 1948.

Туманский В. М. и Ящук А. П. К вопросу применения чумного бактериофага для диагностики чумной палочки. Вестн. микробиол. эпидемиол. и паразитол., т. XVII, вып. 3—4, 1938.
