

Сырым Н.С.*¹, Нусупова С.Т.¹, Сиябеков С.Т.¹, Бердикулов М.А.², Майхин К.Т.²

¹Казахский национальный аграрный исследовательский университет,
г. Алматы, Казахстан, *nazym-syrym@mail.ru

²РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии, Казахстан

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА

Аннотация

Изучение биологических свойств бактериофагов - это важный этап при создании биопрепаратов, фагоиндикации и фаго-идентификации бактерий. Главным признаком воздействия фага на чувствительной бактерии является их лизис, сопровождающийся выходом в среду новых вирионов фага.

Проведены исследования по изучению основных биологических свойств бактериофагов в отношении микобактерий, выделенных из объектов внешней среды и биологического материала.

Все изучаемые фаги имели титр 10^7 - 10^9 по Аппельману и 10^9 - 10^{10} по Грациа, обладали выраженной специфичностью в отношении к микобактериям: *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. terrae*, *M. intracellulare*, *M. smegmatis* и не проявляли активности в отношении других видов микобактерий.

Все указанные фаги сохраняли литическую активность в течение 2 месяцев, были устойчивы к нагреванию в пределах 50°C - 70°C в течение 30 мин. Фаги были устойчивы к действию 10% раствора хлороформа в течение 45 мин.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, в том, что исследуемые фаги разных видов микобактерий являются специфичными по отношению к микобактериям туберкулеза и не активны к другим видам микобактерий.

Ключевые слова: микобактерии, туберкулез, бактериофаг, биологический материал, штаммы, объекты внешней среды, антибактериальный эффект, культура.

Введение

В последние десятилетия диагностика туберкулеза во многом затрудняется проявлением неспецифических реакций у крупного рогатого скота, вследствие сенсibilизации их организма главным образом атипичными микобактериями. Отсутствие совершенных и эффективных методов дифференциации туберкулиновых реакций является причиной выбраковки среди скомпрометированного поголовья значительного количества животных, у которых на секции свойственных для туберкулеза изменений не обнаруживают и лабораторными методами диагноз не подтверждается [1, 2, 3, 4].

В связи с этим изыскать альтернативные методы борьбы с данной проблемой, такие как применение бактериофагов, являются актуальными [5, 6, 7, 8].

Опираясь на вышеизложенные факты нами из условно-благополучных по туберкулезу хозяйствующих субъектах республики выделены бактериофаги из объектов внешней среды и биологического материала с целью последующим изучением биологических свойств [8, 9, 10].

Бактериофаги представляют собой вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. История изучения бактериофагов включает почти полувековой опыт всесторонних исследований, выполненных в разных странах мира, что позволяет широко использовать их для решения многих задач в микробиологии, вирусологии, генетике, биохимии, иммунологии, радиобиологии и биотехнологии. Антибактериальный эффект бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением

и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления. С медицинской точки зрения препараты бактериофагов обладают такими несомненными и неоспоримыми преимуществами, как высокая специфичность их действия в отношении штаммов-хозяев, отсутствие токсичности, не способность вызывать дисбактериозы и аллергические реакции. Бактериофаги могут применяться как самостоятельное лекарственное средство, так и вместе с антибиотиками и иммунопрепаратами. Поэтому учение о вирусах бактерий, развивающееся вначале как узкая область медицинской и ветеринарной микробиологии, в настоящее время приобретает большое значение [11,12].

В настоящее время возросло число исследований бактериофагов и их практического использования. Изучение биологических свойств бактериофагов - это важный этап при создании биопрепаратов, фагоиндикации и фаго-идентификации бактерий. Главным признаком воздействия фага на чувствительной бактерии является их лизис, сопровождающийся выходом в среду новых вирионов фага. Нанесение небольшого количества фага на поверхность сплошного слоя бактериального газона на поверхности агара ведет к образованию локальных участков лизиса клеток негативных колоний или «бляшек», каждая из которых может содержать 10^7 - 10^9 вирионов - потомков одной фаговой частицы. Литическая активность бактериофага оценивается по его способности вызывать лизис бактериальной культуры в жидких или плотных питательных средах и выражает это тем максимальным разведением, в котором испытуемый бактериофаг проявил свое литическое действие. Более точным методом оценки литической активности бактериофага является определение количества активных корпускул фага в единице объема. Однако этот показатель относительный, так как активность фага зависит от различных условий, основными из которых являются биологические особенности бактериальной клетки, которые в свою очередь зависят от физических свойств среды, ее химического состава, окружающей температуры и так далее. Поэтому активность фага всегда определяется в конкретных, стандартных условиях. Видовая специфичность фагов используется в практике для дифференциации бактерий. Эта способность фагов определяется, прежде всего, родством их к рецепторам лизируемых бактерий. Степень устойчивости бактериофагов и клеточных хозяев к воздействию высокой температуры имеет практическое значение, поэтому при изучении биологических свойств фагов определение их чувствительности к такому фактору является обязательным. Бактериофаги обычно устойчивее к хлороформу, чем клетки микроорганизмов, поэтому данный химический агент является хорошим средством для освобождения фаголизата от жизнеспособных бактерий [11, 12].

Целью настоящей работы является изучение биологических свойств бактериофагов специфических к микобактериям.

Объекты и методы исследований

Для выполнения исследований были использованы: пробы, взятые из объектов внешней среды и биологический материал из различных областей Республики Казахстан. Для культивирования микобактерий и их фагов были использованы питательные среды *Dubos Broth Base* и *Dubos Oleic Agar Base*. Для изучения биологических свойств в качестве индикаторных тест-культур были использованы культуры микобактерий: *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. terrae*, *M. intracellulare*, *M. smegmatis*.

Результаты исследований и их обсуждения

Экспериментальные исследования, по выделению бактериофагов, активных в отношении микобактерий было проведено из собранных образцов объектов внешней среды и биологического материала, различных условно-благополучных регионов республики. В результате исследования были выделены бактериофаги специфические к микобактериям. У выделенных фагов были изучены основные биологические свойства.

Для определения *морфологии негативных колоний* высевали фаг в разведении 10^{-8} и 10^{-9} на чашки Петри методом агаровых слоев. Это было необходимо, чтобы в используемом разведении содержание фаговых частиц (корпускул) в 1 см^3 не превышало 10-15. Для формирования роста газона культуры на поверхности агара использовали индикаторные тест-культуры микобактерий.

Результаты изучения морфологии негативных колоний микобактериофагов после определенных дней культивирования показывали, что образовавшиеся колонии прозрачные, округлые, с четко выраженными краями, диаметром 2-3 мм.

Литическую активность выделенных фагов определяли методами Аппельмана и Грация путем титрования на жидкой питательной среде. Результаты литической активности фага отражены в **таблице 1**.

Таблица 1 - Литическая активность микобактериофагов

Микобактериофаги	Тест-культуры микобактерий	Активность микобактериофагов	
		По методу Аппельмана	По методу Грация
МБфаг - bovis	M.bovis	10^9	1×10^9
МБфаг - tuberculosis	M.tuberculosis	10^{10}	3×10^{10}
МБфаг - avium	M.avium	10^8	1×10^{10}
МБфаг - kansasii	M.kansasii	10^8	3×10^9
МБфаг - scrofulaceum	M.scrofulaceum	10^9	$1,1 \times 10^{10}$
МБфаг - phlei	M. phlei	10^7	2×10^9
МБфаг - terrae	M. terrae	10^8	4×10^{10}
МБфаг - intracellulare	M.intracellulare	10^{10}	$1,2 \times 10^7$

Как видно из **таблицы**, что все выделенные бактериофаги вызывали лизис с тест-культурами микобактерий.

Так же установлено, что селекционированные микобактериофаги вызывали лизис с изучаемыми культурами микобактерий. Литическая активность фагов микобактерий составила по Апельману 10^8 , по Грация $1,2-2,5 \times 10^{10}$ телец в 1 см^3 .

Определение спектра литической активности изучаемых фагов. К основным биологическим свойствам бактериофага, относится диапазон литической активности - это спектр лизиса гомологичных фагу бактерий который проводят методом нанесения капель бактериофага на газон изучаемой культуры (**таблица 2**).

Таблица 2 - Спектр литической активности противотуберкулезных фагов

Микобактериофаги	Количество испытанных тест - культур	Количество тест-культур, чувствительных к микобактериофагу	% лизируемых культур микобактерий
МБфаг - bovis	9	M.bovis-8	60
МБфаг - tuberculosis	9	M.tuberculosis H ₃₇ Rv	70
МБфаг - avium	9	M.avium	50
МБфаг - kansasii	9	M.kansasii	10
МБфаг - scrofulaceum	9	M.scrofulaceum	30
МБфаг - phlei	9	M. phlei	20
МБфаг - terrae	9	M. terrae	50
МБфаг - intracellulare	9	M.intracellulare	50

Исследования показали, что изучаемые фаги характеризуются различным спектром литической активности. Противотуберкулезные фаги являются моновалентными, диапазон лизиса изучаемых культур составляет в пределах от 10 - 70%.

Определение специфичности на плотной питательной среде определяли методом Отто заключающийся в следующем: на определенные сегменты агаровых пластинок в чашках Петри, хорошо подсушенных в термостате и предварительно засеянных сплошным газоном соответствующей культуры микобактерий, наносили по одной капле исследуемого

бактериофага определенного разведения, соответствующего разведению в апельсмановском ряду. Капли подсушивали, и чашки Петри инкубировали на определенное время. Результаты исследований приведены в **таблице 3**.

Таблица 3 - Специфичность микобактериофагов

Виды микобактерий	Микобактериофаги								Контроль
	bovis	tuberculosis	avium	kansasii	scrofulaceum	phlei	terrae	Intracellulare	
M.bovis	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M. tuberculosis	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.avium	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.kansasii	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.scrofulaceum	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.phlei	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.terrae	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.intracellulare	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Результаты учитывали по степени лизиса и обозначали 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.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что исследуемые фаги разных видов являются специфичными по отношению к микобактериям туберкулеза, и не активны к другим видам микобактерий.

В качестве физического фактора мы изучали действие высокой температуры на бактериофаги, а в качестве химического - действие хлороформ.

Определение температурной устойчивости фагов. Проводили по следующей методике: 11 пробирок с фагом в разведении 1:10 в *Dubos Broth Base* прогревали на водяной бане в течение 30 мин при температуре от 60 до 95 С с шаговым интервалом 5 С. Контрольные пробирки не прогревали.

После прогревания активность микобактериофагов определяли по методу Грация на тест-культурах. Контролем служили непрогретые микобактериофаги (**таблице 4**).

Таблица 4 - Температурная устойчивость противотуберкулезных фагов

Температурный режим, °С	Активность микобактериофагов, подвергнутых температурной обработке, количество активных корпускул в 1 см ³							
	МБфаг-bovis	МБфаг-tuberculosis	МБфаг-avium	МБфаг-kansasii	МБфаг-scrofulaceum	МБфаг-phlei	МБфаг-terrae	МБфаг-intracellulare
60 – 63	8x10 ⁹	3x10 ¹⁰	1x10 ¹⁰	6 x 10 ⁹	1,1x10 ¹⁰	8 x 10 ⁹	4x10 ¹⁰	1,2x10 ⁷
64 – 67	3x10 ⁷	6x10 ⁸	8x10 ⁸	1,2x10 ⁸	6 x 10 ⁸	1 x 10 ⁸	3x10 ⁸	1,1x10 ⁷
68 – 70	1,6x10 ⁶	2x10 ⁵	2x10 ⁵	6x10 ⁶	2 x 10 ⁵	1,6x10 ⁶	2x10 ⁵	1,3x10 ⁶
71 – 73	1,1x10 ⁴	7x10 ⁵	7 x 10 ⁵	1,2x10 ⁴	6 x 10 ⁵	1,7x10 ⁴	7x10 ⁵	1,7x10 ⁴
74 – 76	1,5x10 ⁸	2x10 ⁸	1 x 10 ⁸	1,1x10 ⁷	1,1x10 ⁵	1,5x10 ⁸	1,1x10 ⁵	1,5x10 ³
77 – 79	3 x 10 ⁷	1x10 ⁴	1 x 10 ⁴	3 x 10 ²	1,2x10 ⁴	3x10 ⁷	1 x 10 ⁷	1,3x10 ⁷
80 – 82	5 x 10 ⁷	3x10 ³	2,9x10 ³	1,1x10 ¹	1,9x10 ³	1x10 ⁶	2,3x10 ⁸	6 x 10 ¹
83 – 85	8x10 ⁹	1,2x10 ³	2,5x10 ³	8x10 ⁹	1,5x10 ⁸	8x10 ⁹	2,3x10 ⁸	1,1x10 ⁹
86 – 88	3x10 ⁷	3 x 10 ²	2x10 ²	3x10 ⁷	2x10 ²	3x10 ⁷	2x10 ⁶	3x10 ⁷
89 – 91	1,2x10 ⁶	1 x 10 ¹⁰	1x10 ¹⁰	1,2x10 ⁶	1x10 ¹⁰	1,6x10 ⁶	1,2x10 ¹⁰	1,2x10 ⁶
92 – 94	-	-	-	-	-	-	-	-
Контроль активности фагов	1x10 ⁹	1,6x10 ⁸	1,1x10 ⁸	1,4x10 ⁹	1,3x10 ⁷	5,0x10 ⁷	1,6x10 ¹⁰	1,1x10 ⁹

В результате исследований температурной устойчивости нами было установлено, что прогревание фагов в течение 30 мин при 60°C не оказывает влияния на их активность. Дальнейшее повышение температуры до 65-75°C приводит к потере активности фагов, температура в пределах 92-95°C вызывает полную инактивацию фагов.

Для определения *устойчивости фагов к воздействию хлороформа* фаголизат обрабатывали хлороформом в соотношении 1:10 при постоянном встряхивании в течение 40 мин, активность фагов проверяли методом агаровых слоев через каждые 10 мин (**таблица 5**).

Таблица 5 - Устойчивость микобактериофагов микобактерий туберкулеза к воздействию хлороформа

Микобактериофаги	Активность МБфагов после обработки хлороформом, количество активных корпускул в 1 см ³				Контроль активности
	10 мин	20 мин	30 мин	40 мин	
МБфаг - bovis	+	+	+	+	6
МБфаг - tuberc	+	+	+	+	3
МБфаг - avium	+	+	+	+	2
МБфаг - kansasii	+	+	+	+	8
МБфаг - scrofulaceum	+	+	+	+	6
МБфаг - phlei	+	+	+	+	7
МБфаг - terrae	+	+	+	+	5
МБфаг - intracellulare	+	+	+	+	8

Как видно из **таблицы 5**, бактериофаги проявили выраженную устойчивость к воздействию хлороформа в течение периода времени от 10 до 40 мин. Данные параметры в дальнейшем использовали для освобождения фаголизата от жизнеспособных бактерий.

Взаимодействие между фагами и микобактериями. К клеточной стенке бактерий фаги прикрепляются концевыми нитями отростков. Затем оболочка бактерии растворяется с помощью фермента лизоцима, белковый чехол хвостового отростка сокращается и через канал хвостового отростка нуклеиновая кислота вводится (впрыскивается) в цитоплазму клетки. После проникновения нуклеиновой кислоты внутрь клетки бактерии следует Си-фаза, или фаза смены информации. В этот период фаговые частицы не обнаруживаются, однако в клетке развиваются процессы, обусловленные фаговым геномом. Начинается синтез и РНК и ранних белков, необходимых для синтеза ДНК фага и других структурных компонентов зрелого фага. Синтез ДНК фага осуществляется с помощью клеточной ДНК-поли-меразы и сопровождается полным распадом ДНК бактерии и ее утилизацией. Если ДНК бактерии не хватает, фаговая ДНК синтезируется из компонентов среды. ДНК фага можно обнаружить в клетке через 8-9 мин после заражения. С 9-й минуты начинают синтезироваться специфичные фаговые белки. На последнем этапе взаимодействия фага с бактерией происходит самосборка фаговых частиц, которая состоит в необратимом объединении фаговой ДНК и сформировавшейся белковой оболочки. После этого происходит лизис бактерии и зрелые фаги выходят в окружающую среду. Полный цикл развития фага составляет 30 - 90 мин. За этот период образуется 200 и более фаговых частиц, которые способны заражать новые клетки.

Систему фаг-клетка (соотношение 1:100) культивировали в жидкой среде 5 мин при температуре 37-38°C. в соответствии с традиционным методом. После центрифугирования определяли титрованием долю не адсорбированных частиц бак. клетки. Расчеты показали, что константа скорости адсорбции фага (к).

Суспензию микобактерий и фагов в жидкой питательной среде Dubos Broth Base и Growth on a medium Kirschner Medium инкубировали от 5 мин до 24 ч при температуре 37°C.

Затем суспензию фиксировали 1%-ным раствором глutarовым альдегидом и анализировали образцы под электронным микроскопом (таблица 6).

Таблица 6 - Экспозиция взаимодействие между МБфагами и микобактериальной клеткой

п/п	Mycobacterium phages	Экспозиция взаимодействия фагов с микобактерий									
1	MBphage - bovis	5 мин Н	15 мин Н	30 мин Н	1 час Н	3 час К	6 час К	9 час Н	12 час Ф+К	18 час Ф+К	24 час Ф+К
2	MBphage-tuberculosis	5 мин Н	15 мин Н	30 мин Н	1 час Н	3 час Ф+К	6 час Ф+К	9 час Ф+К	12 час Ф+К	18 час Ф+К	24 час Ф+К
3	MBphage-tuberculosis	5 мин Н	15 мин Н	30 мин Н	1 час К+Ф	3 час Ф+К	6 час Ф+К	9 час Ф+К	12 час Ф+К	18 час К	24 час К
4	MBphage - tuberculosis	5 мин Н	15 мин Н	30 мин Н	1 час К+Ф	3 час Ф+К	6 час Ф+К	9 час Ф+К	12 час Н	18 час Н	24 час Н
Примечание: Н- не выявлено; Ф-бактериофаги; К - бактериальные клетки											

Так в результате у 1-ой пробы взаимодействие проявлялось через 12 час, у 2 пробы через 3 часа, у 3-ей и 4 -ей пробах через час, соответственно. Также нами было обнаружено, что на большинство клеток (ориентировочно – 80-85%) составляющие микобактерии эффективно адсорбировались фаги и после 60 – минутной экспозиции системы фаг-клетка с момента внесения фага в образцах можно увидеть разрушенные клеточной структуры M.bovis и M.tuberculosis (рисунок 1).

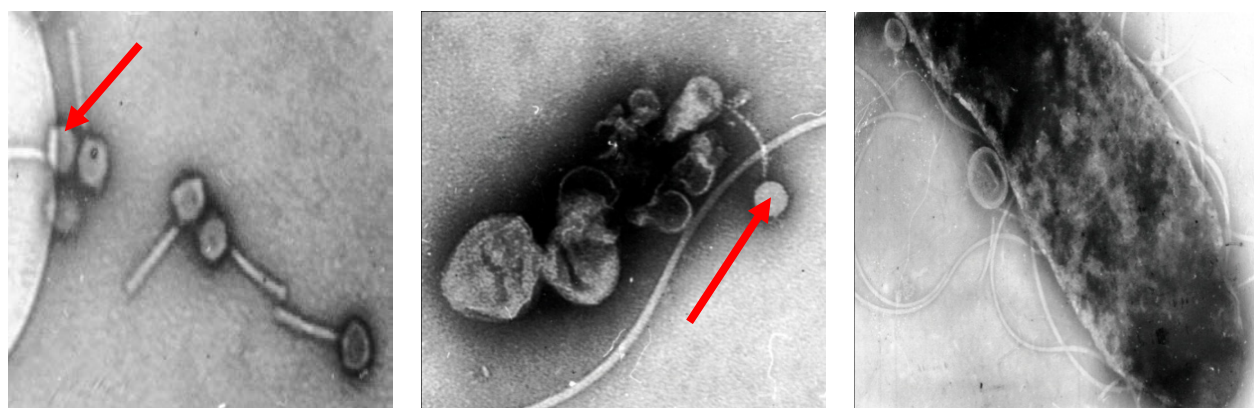


Рисунок 1 – Электронная микроскопия бактериофагов в образцах MBphage-tuberculosis. Негативное контрастирование 3% раствором ФВК. X 1000007.

Как видно из **рисунка 1** к клеточной стенке бактерий фаги прикрепляются концевыми нитями отростков. Затем оболочка бактерии растворяется с помощью фермента лизоцима, белковый чехол хвостового отростка сокращается и через канал хвостового отростка нуклеиновая кислота вводится (впрыскивается) в цитоплазму клетки. Проникновение нуклеиновой кислоты фага в клетку путем впрыскивания, при этом оболочка фага остается на поверхности бактериальной клетки.

В результате все указанные фаги сохраняли литическую активность в течение 2 месяцев, были устойчивы к нагреванию в пределах 50°C - 70°C в течение 30 минут. Микобактериофаги были устойчивы к действию 10% раствора хлороформа в течение 45 минут.

На **рисунке 2** визуально видно, что разработанная нами вторая усовершенствованная методика по выделению и титрованию микобактериофагов оказалась успешной и показала положительные результаты по получению микобактериофагов.

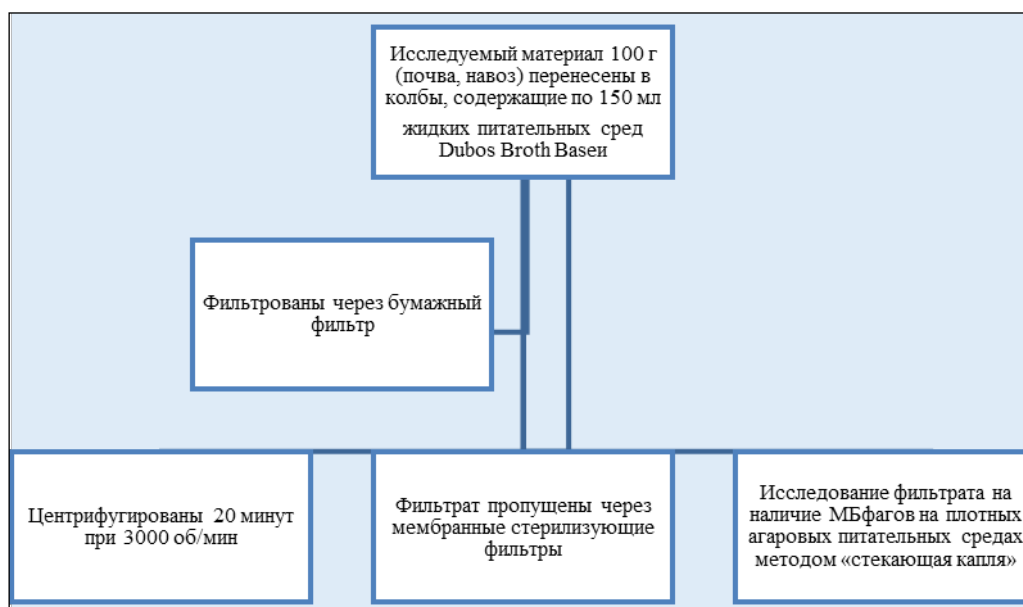


Рисунок 2 - Схема получения бактериофагов тестовых образцов.

Таким образом, разработанный нами метод позволил впервые выделить микобактериофага лизирующих микобактерии из объектов внешней среды доставленных из различных областей РК.

Таким образом, нами установлено, что селекционированные микобактериофаги вызывали лизис с изучаемыми культурами микобактерий. Литическая активность фагов микобактерий составила по Апелъману 10^8 , по Грациа $1,2-2,5 \times 10^{10}$ телец в 1 см^3 .

Исследования показали, что изучаемые фаги характеризуются различным спектром литической активности. Противотуберкулезные фаги являются моновалентными, диапазон лизиса изучаемых культур составляет в пределах от 10 - 60%.

В результате исследований температурной устойчивости нами было установлено, что прогревание фагов в течение 30 мин при 60 С не оказывает влияния на их активность. Дальнейшее повышение температуры до 65-75 С приводит к потере активности фагов, температура в пределах 92-95⁰С вызывает полную инактивацию фагов.

Выводы

Проведены исследования по изучению основных биологических свойств бактериофагов в отношении микобактерий, выделенных из объектов внешней среды и биологического материала.

Все изучаемые фаги имели титр 10^7-10^9 по Апелъману и $10^9 - 10^{10}$ по Грациа, обладали выраженной специфичностью в отношении к микобактериям: *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. terrae*, *M. intracellulare*, *M. smegmatis* и не проявляли активности в отношении других видов микобактерий.

Все указанные фаги сохраняли литическую активность в течение 2 месяцев, были устойчивы к нагреванию в пределах 50⁰С - 70⁰С в течение 30 мин. Фаги были устойчивы к действию 10% раствора хлороформа в течение 45 мин.

Список литературы

1. Тургенбаев К.А., Сырым Н.С., Тамгабаева С., Жанузаков А.Н. Разработка и применение новых методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. «Исследования, результаты». Спец. выпуск Алматы, КазНАУ. 2005. – С. 471-474.
2. Канатбаев С.Г., Базарбаев М., Сырым Н.С. Эффективность различных схем диагностических тестов при дифференциации неспецифических реакции у КРС к туберкулину для млекопитающих. // Наука и образование. Научно-практический журнал

Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана. - №3(56). - 2019. - С. 272-277.

3. Басыбеков С.Ж., Елекеев Т.А., Еспембетов Б.А., Базарбаев М., Сансызбай А.Р., Сырым Н.С. Ускоренный способ постановки диагноза «Туберкулез» и дифференциация неспецифических реакций у животных. // Вестник Алтайского гос. аграрного университета РИНЦ. - №6(140). - 2016. -С.126-132.

4. Basybekov S.Z., Bazarbaev M., Syrym N.S. et.al. Diagnostics of tuberculosis and differentiation of nonspecific tuberculin reactions in animals. / Brazzillan journal of microbiology. - 7. - 2017. - 7 s. The IF (Impact factor) by Thomson Reuters: 1.091. Indexing in WoS and ScopusQ3. DOI: 10.1016/J.BJM.2017.07.004.

5. Bazarbaev M., Syrym N.S., Basybekov S.Z. et.al. Sensitins for differentiating nonspecific reactions to PPD tuberculin mammalian in cattle. / The Journal of Animal and Plant Sciences., 27(5): 2017, Page:1534-1542, ISSN: 1018-7081. The IF (Impact factor) by Thomson Reuters: 0.381. Indexing in WoS and Scopus Q3.

6. Васильев Д.А., Золотухин С.М. Бактериофаги микроорганизмов, важных для растений, животных и человека. / Монография с редактированием Васильевой, Золотухина С.М. - Ульяновск, 2013. - 311 с.

7. Кюттер, Э. Фаговая терапия: бактериофаги как антибиотики. / Э. Кюттер. - Спб.: НИИ детских инфекций. - М., 2001. - 41 с.

8. Wittebole X., De Roock S., Opal S.M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. / Virulence, 2014. №5:1. - p. 209 - 218.

9. Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Конбаева Г.М. Изучение биологических свойств бактериофагов активных в отношении атипичных микобактерий. / Национальная научно-практическая конференция «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения» Ульяновский гос. аграрный университет им. П.А. Столыпина. - Ульяновск, 2019. - С.92-97.

10. Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Шестаков А.Г., Васильев Д.А. Монография: «Практическое применение бактериофагов на территории РК». -Ульяновск, 2019. - 624 с.

11. Сырым Н.С., Еспембетов Б.А., Тургенбаев К.А., Сансызбай А.Р. Подбор питательных сред для выделения микобактериофагов. «Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты». №1(77) 2018. ISSN 2304-334-02. С.483-488.

12. Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Зайцев В.Л., Султанкулова К.Т., Сансызбай А.Р. Электронная микроскопия микобактериофагов. «Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты». №1(77) 2018. ISSN 2304-334-02. С. 380-387.

References

1. Turgenbaev K.A., Syrym N.S., Tamgabaeva S., Zhanuzakov A.N. Razrabotka i primeneniye novykh metodov diagnostiki tuberkuleza krupnogo rogatogo skota. «Issledovaniia, rezultaty». Spets. vypusk Almaty, KazNAU. 2005. – S. 471-474.

2. Kanatbaev S.G., Bazarbaev M., Syrym N.S. Effektivnost razlichnykh skhem diagnosticheskikh testov pri differentsiatsii nespetsificheskikh reaktsii u KRS k tuberkulinu dlia mlekoopitaiushchikh. // Nauka i obrazovanie. Nauchno-prakticheskii zhurnal Zapadno-Kazakhstanskogo agrarno-tekhnicheskogo universiteta imeni Zhangir khana. - №3(56). - 2019. - S. 272-277.

3. Basybekov S.Zh., Elekeev T.A., Espembetov B.A., Bazarbaev M., Sansyzbai A.R., Syrym N.S. Uskorennyi sposob postanovki diagnoza «Tuberkulez» i differentsiatsiia nespetsificheskikh reaktsii u zhivotnykh. // Vestnik Altaiskogo gos. agrarnogo universiteta RINTs. - №6(140). - 2016. -S.126-132.

4. Basybekov S.Z., Bazarbaev M., Syrym N.S. et.al. Diagnostics of tuberculosis and differentiation of nonspecific tuberculin reactions in animals. / Brazzillan journal of microbiology. - 7. - 2017. - 7 s. The IF (Impact factor) by Thomson Reuters: 1.091. Indexing in WoS and ScopusQ3. DOI: [10.1016/J.BJM.2017.07.004](https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.07.004).
5. Bazarbaev M., Syrym N.S., Basybekov S.Z. et.al. Sensitins for differentiating nonspecific reactions to PPD tuberculin mammalian in cattle. / The Journal of Animal and Plant Sciences., 27(5): 2017, Page:1534-1542, ISSN: 1018-7081. The IF (Impact factor) by Thomson Reuters: 0.381. Indexing in WoS and Scopus Q3.
6. Vasilev D.A., Zolotukhin S.M. Bakteriofagi mikroorganizmov, vazhnykh dlia rastenii, zhivotnykh i cheloveka. / Monografiia s redaktirovaniem Vasilevoi, Zolotukhina S.M. - Ulianovsk, 2013. - 311 s.
7. Kiutter, E. Fagovaia terapiia: bakteriofagi kak antibiotiki. / E. Kiutter. - Spb.: NII detskikh infektsii. - M., 2001. - 41 s.
8. Wittebole X., De Roock S., Opal S.M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. / Virulence, 2014. №5:1. - r. 209 - 218.
9. Espembetov B.A., Syrym N.S., Konbaeva G.M. Izuchenie biologicheskikh svoistv bakteriofagov aktivnykh v otnoshenii atipichnykh mikobakterii. / Natsionalnaia nauchno-prakticheskaiia konferentsiia «Agrarnaia nauka i obrazovanie na sovremennom etape razvitiia: opyt, problemy i puti ikh resheniia» Ulianovskii gos. agrarnyi universitet im. P.A. Stolypina. - Ulianovsk, 2019. - S. 92-97.
10. Espembetov B.A., Syrym N.S., Shestakov A.G., Vasilev D.A. Monografiia: «Prakticheskoe primeneniie bakteriofagov na territorii RK». -Ulianovsk, 2019. - 624 s.
11. Syrym N.S., Espembetov B.A., Turgenbaev K.A., Sansyzbai A.R. Podbor pitatelnykh sred dlia vydeleniia mikobakteriofagov. «Izdenister, nätizheler – Issledovaniia, rezultaty». №1(77) 2018. ISSN 2304-334-02. S.483-488.
12. Espembetov B.A., Syrym N.S., Zaitsev V.L., Sultankulova K.T., Sansyzbai A.R. Elektronnaia mikroskopiia mikobakteriofagov. «Izdenister, nätizheler – Issledovaniia, rezultaty». №1(77) 2018. ISSN 2304-334-02. S. 380-387.

Сырым Н.С.^{*1}, Нусупова С.Т.¹, Сиябеков С.Т.¹, Бердикулов М.А.², Майхин Қ.Т.²

¹Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан
*nazyt-syrym@mail.ru,

²РМК Ветеринария бойынша ұлттық референттік орталық, Қазақстан

ТУБЕРКУЛЕЗДІҢ МИКОБАКТЕРИЯЛАРЫНА ҚАТЫСТЫ БАКТЕРИОФАГТАРДЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ

Аңдатпа

Бактериофагтардың биологиялық қасиеттерін зерттеу биологиялық өнімдерді жасауда, фагтік индикацияны және бактерияларды фагтік - сәйкестендіруде маңызды кезең болып табылады. Фагтың сезімтал бактерияларға әсер етуінің басты белгісі-олардың лизисі, ол фагтың жаңа вириондарының қоректік ортаға шығуымен бірге жүреді.

Сыртқы орта объектілері мен биологиялық материалдан бөлінген микобактерияларға қатысты бактериофагтардың негізгі биологиялық қасиеттерін зерттеу бойынша зерттеулер жүргізілді.

Барлық зерттелген фагтарда Appelman бойынша 10^7 - 10^9 және Грания бойынша 10^9 - 10^{10} титрі болды, микобактерияларға қатысты айқын ерекшелігі болды: *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. terrae*, *M. intracellulare*, *M. smegmatis* және микобактериялардың басқа түрлеріне қатысты белсенділік танытпады.

Барлық көрсетілген фагтар 2 ай бойы литикалық белсенділікті сақтап қалды, 30 минут ішінде 50°C - 70°C шегінде қыздыруға төзімді болды. Фагтар 45 минут бойы 10% хлороформ ерітіндісінің әсеріне төзімді болды.

Кілт сөздер: микобактериялар, туберкулез, бактериофагтар, биологиялық материалдар, штаммдар, сыртқы орта объектілері, бактерияға қарсы әсері, өсім.

Syrym N.S.^{*.1}, Nussupova S.T.¹, Siyabekov S.T.¹, Berdikulov M.A.², Maikhin K.T.²

¹*Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan*

**nazym-syrym@mail.ru,*

²*RSE National reference center for veterinary, Kazakhstan*

BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES IN RELATION TO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Abstract

The study of the biological properties of bacteriophages is an important stage in the creation of biologics, phagoindication and phage identification of bacteria. The main sign of the action of phages on sensitive bacteria is their lysis, accompanied by the release of new phage virions into the environment.

Research has been conducted to study the basic biological properties of bacteriophages in relation to mycobacteria isolated from environmental objects and biological material.

All the phages studied had a titer of 10^7 - 10^9 by Appelman and 10^9 - 10^{10} by Grazia, had a pronounced specificity in relation to mycobacteria: *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. terrae*, *M. intracellulare*, *M. smegmatis*, and did not show activity against other mycobacteria species.

All these phages maintained their lytic activity for 2 months and were resistant to heating in the range of 50°C-70°C for 30 minutes. The phages were resistant to 10% chloroform solution for 45 min.

Key words: Mycobacterium, tuberculosis, bacteriophage, biological material strains, the objects of the external environment, antibacterial effect, culture.