

БАКТЕРИОФАГИ

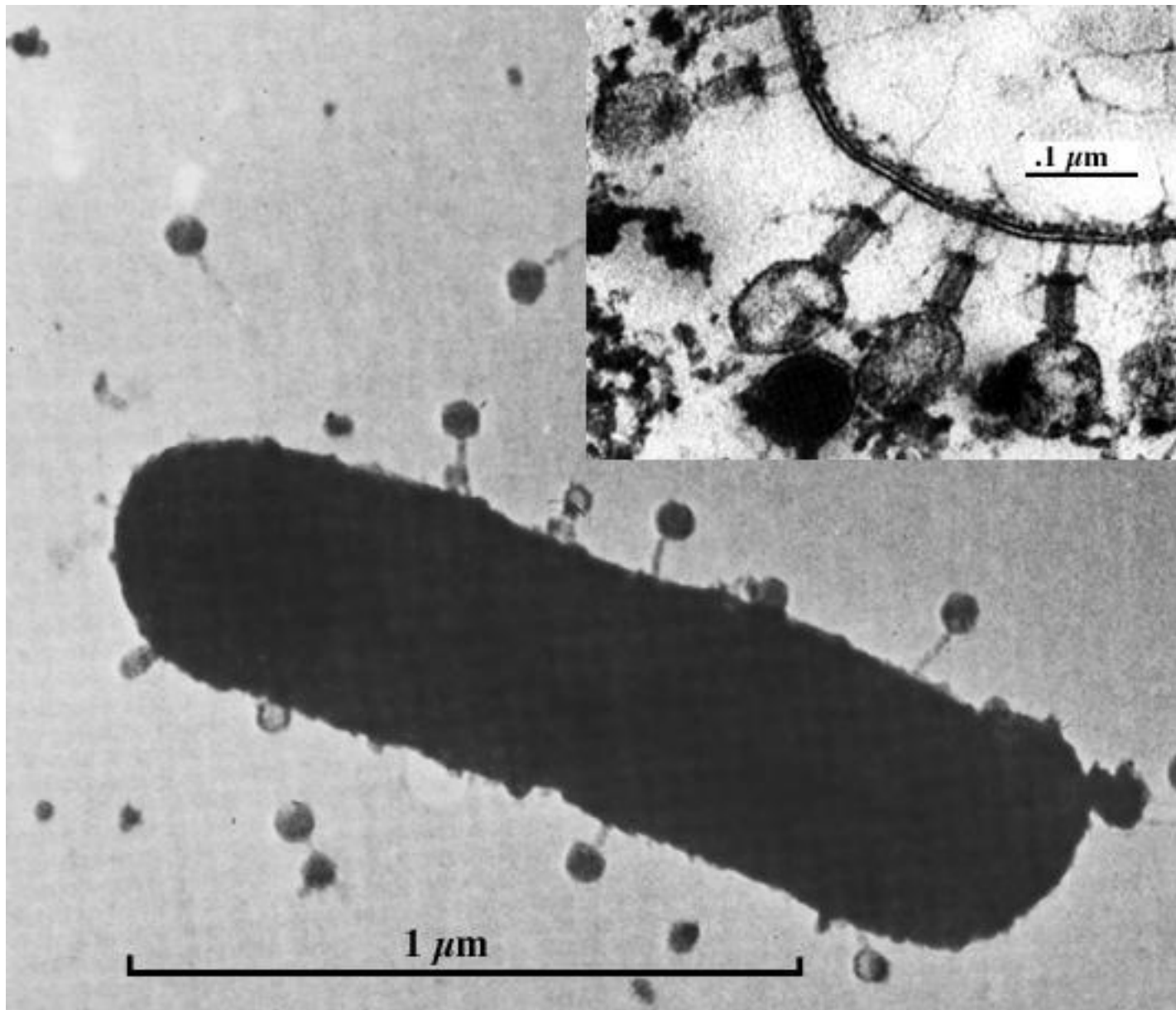
вирусы бактерий

БАКТЕРИОФАГИ

- «пожирающий бактерии» (от бактерия + греч. phagos – пожирающий)
- вирусы бактерий, специфически проникающие в бактериальные клетки и поражающие их.
- **Для обозначения** используют:
 - название м/о, из которых они выделены: колифаги, стафилофаги,
 - буквы латинского алфавита

БАКТЕРИОФАГ

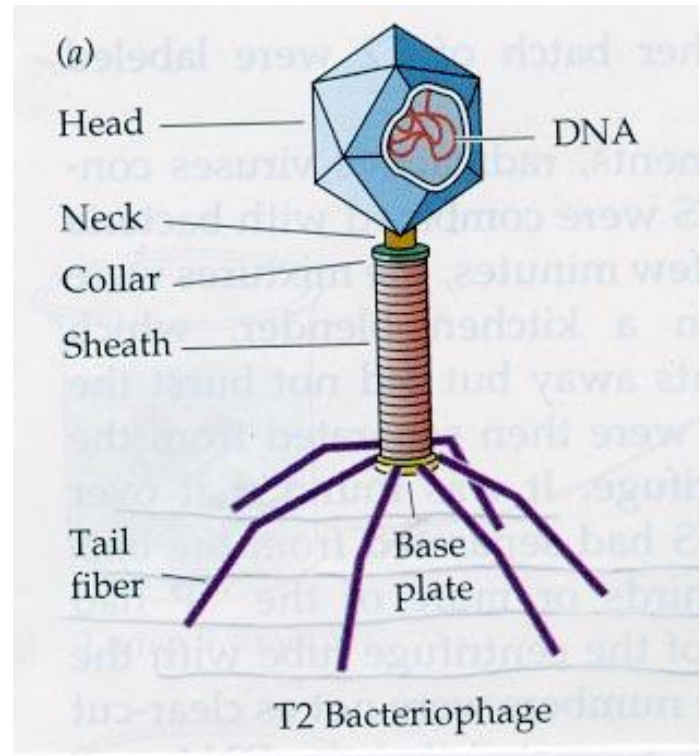
- Определение: - вирус, поражающий прокариотическую клетку,
- Структура: НК (ДНК или РНК)+ белок

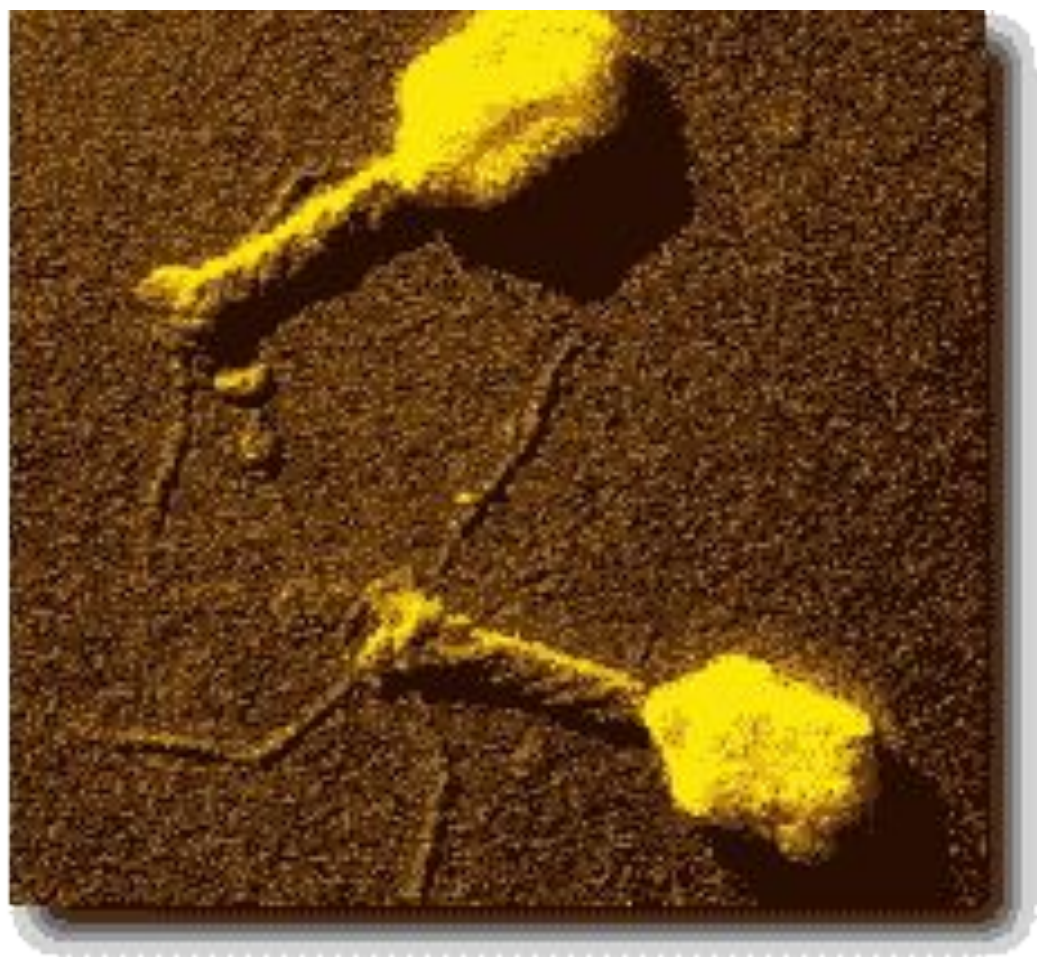


Строение бактериофагов

- икосаэдрическая головка,
- хвостовой отросток: внутри – полый цилиндрический стержень, сообщающийся с головкой, а снаружи - чехол отростка, заканчивающийся шестиугольной базальной пластинкой с шипами, от которых отходят фибриллы (нити),
- капсид головки и чехол хвостового отростка бактериофага состоят из полипептидных субъединиц, уложенных по **икосаэдрическому (головка)** или *спиральному (отросток)* типу симметрии.

Строение классического бактериофага





Нуклеиновая кислота фага

- Бактериофаги (фаги) содержат ДНК или РНК:
 - двунитевые
 - однонитевые
 - линейные,
 - -кольцевые.
- Большинство – **двунитевую ДНК, замкнутую в кольцо**

В состав головки входит:

- **полипептид**, состоящий из аспарагиновой, глутаминовой кислот и лизина,
- - у некоторых – **гистоноподобный** белок → суперспирализация ДНК.

В состав сокращающегося чехла ВХОДИТ:

- у некоторых фагов входит АТФ и ионы кальция.
- В дистальной части отростка – лизоцим.

Морфологические типы бактериофагов

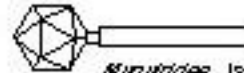
- I тип (нитчатые)
 - без головки (только отросток)
- II тип
 - без отростка (только головка)
- III тип
 - головка и отросток, короткий без чехла
- IV тип
 - головка и отросток, длинный с чехлом, не сокращающийся
- V тип
 - головка и отросток, длинный с чехлом, сокращающийся

Families of Viruses Infecting Bacteria

dsDNA



Lipothetraxviridae



Mycoviridae, Isometric head



Mycoviridae, elongated head



Siphoviridae



Podoviridae



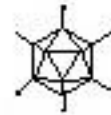
Pleomorphicviridae



Carboxymyoviridae



Piscoviridae



Tetrahymenaviridae

100 nm

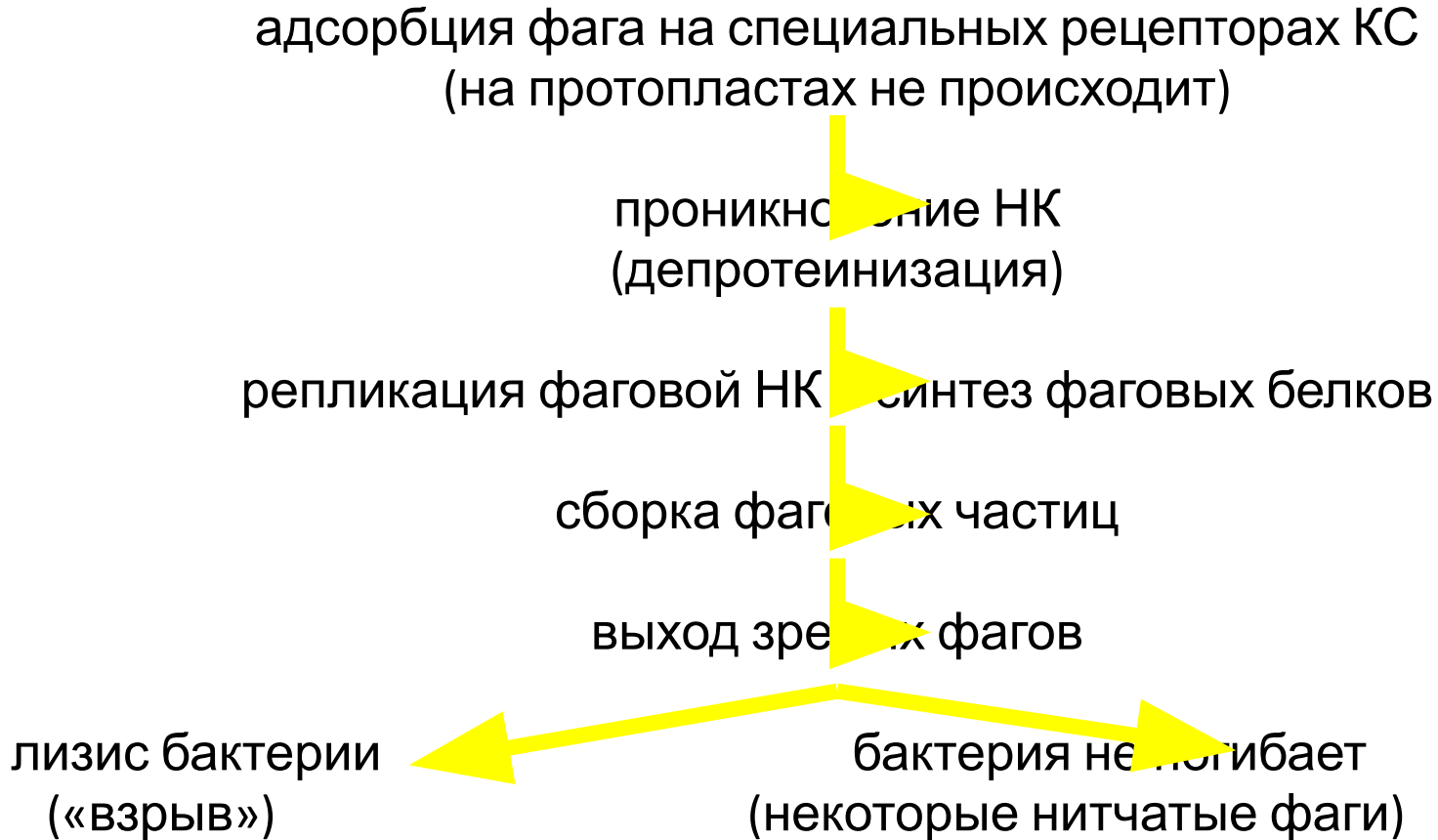
Классификация бактериофагов по спектру действия

- полифаги
 - поражают несколько видов
- монофаги (видовые)
 - поражают один вид
- типовые фаги
 - поражают часть вида (фаговар)

Классификация фагов в зависимости от эффекта действия на бактериальную клетку

- Вирулентные
- умеренные

Взаимодействие вирулентного фага с бактериальной клеткой



ПРОДУКТИВНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

адсорбция фага на специальных рецепторах КС
(на протопластах не происходит)

проникновение НК
(депротеинизация)

интеграция фаговой ДНК в геном бактерии

профаг
(фаговый репрессор блокирует транскрипцию)

лизогенная культура
ЛИЗОГЕНИЗАЦИЯ

в дальнейшем – может индукция профага

продуктивная инфекция

Практическое применение бактериофагов

Фагодиагностика

1. Выявление определённого вида бактерий в патологическом материале
 - реакция нарастания титра фага
2. Идентификация чистой культуры
 - определение вида
 - фагоиндикация
 - определение фаговара
 - фаготипирование

Практическое применение бактериофагов

- **Фаготерапия**

Фаг применяется местно

- **Фагопрофилактика**

брюшной тиф

дизентерия

Выделение бактериофага

Материал:

- объект внешней среды
- бактериальная культура



бактериальный фильтр



фильтрат



МПБ + чувствительная бактерия



инкубация



роста нет – фаг присутствует (очищают фильтрованием)
рост есть – фаг отсутствует

Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

–Качественный метод:

метод «стерильной дорожки»

–Количественные методы:

- А) Метод Грациа
- Б) Метод Аппельмана

Метод фагоиндикации «стекающая капля» = «стерильная дощечка»

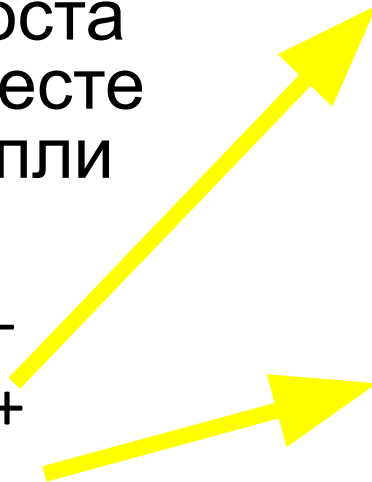
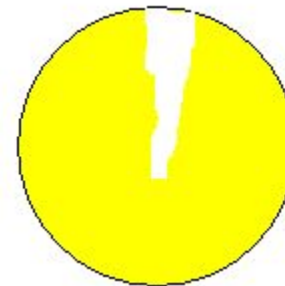
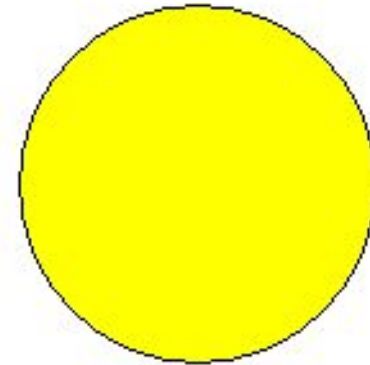
стекающая капля по
газону засеянной
культуры



регистрация роста
бактерий в месте
стекания капли



рост есть – -
роста нет – +



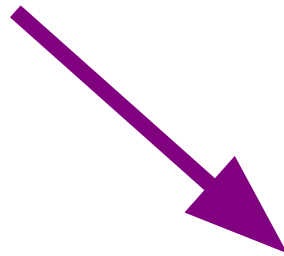
Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

–Количественные методы:

- А) *Метод Грациа*: готовят десятикратные разведения фага в хлориде натрия от 10^{-2} до 10^{-7}
- Затем по 0,5 мл из каждого разведения смешивают с таким же объемом бульонной культуры и 4 мл расплавленного и остуженного до 45 град. агара и выливают на чашки Петри.
- Когда агар застынет чашки помещают в термостат при 37 градусах на 24 часа и затем учитывают результаты:
 - одна фаговая частица образует одно «стерильное пятно»
 - Величина, показывающая концентрацию фага называется *титром*.

Титрование фага по Грациа

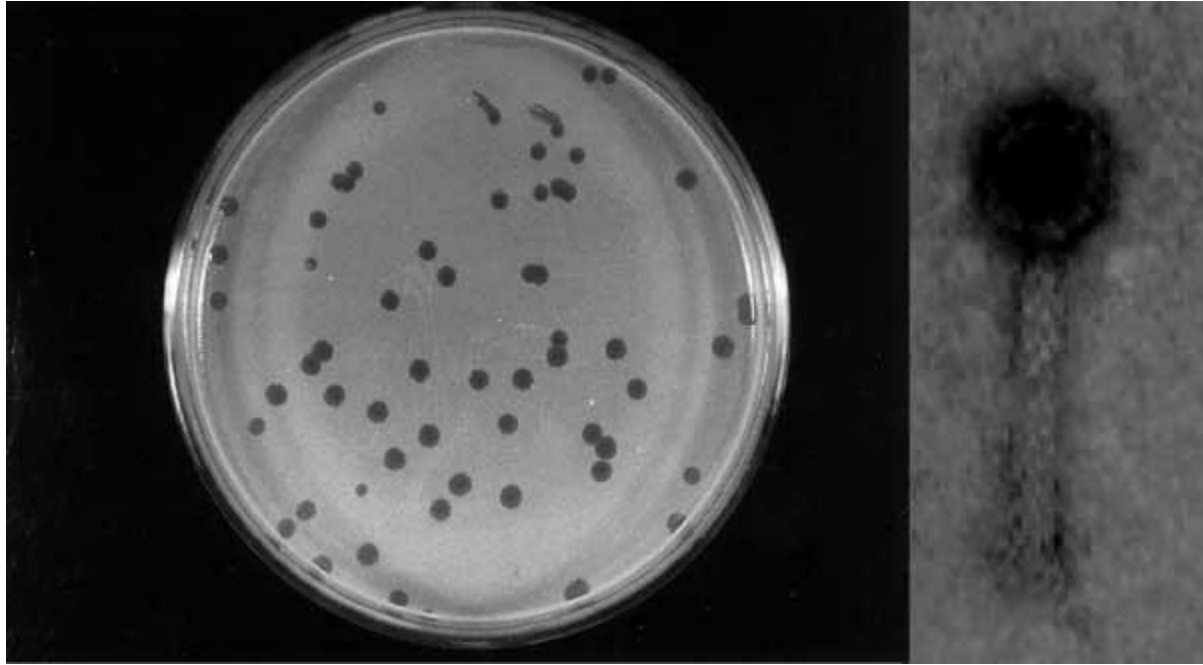
- МПА + разведение фагосодержащего материала + чувствительная культура



- МПА (подложка)



чашка Петри со средой
(в разрезе)



Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

–Количественные методы:

Б) *Метод Аппельмана*: готовят десятикратные разведения фага в питательном бульоне от 10^{-2} до 10^{-8} .

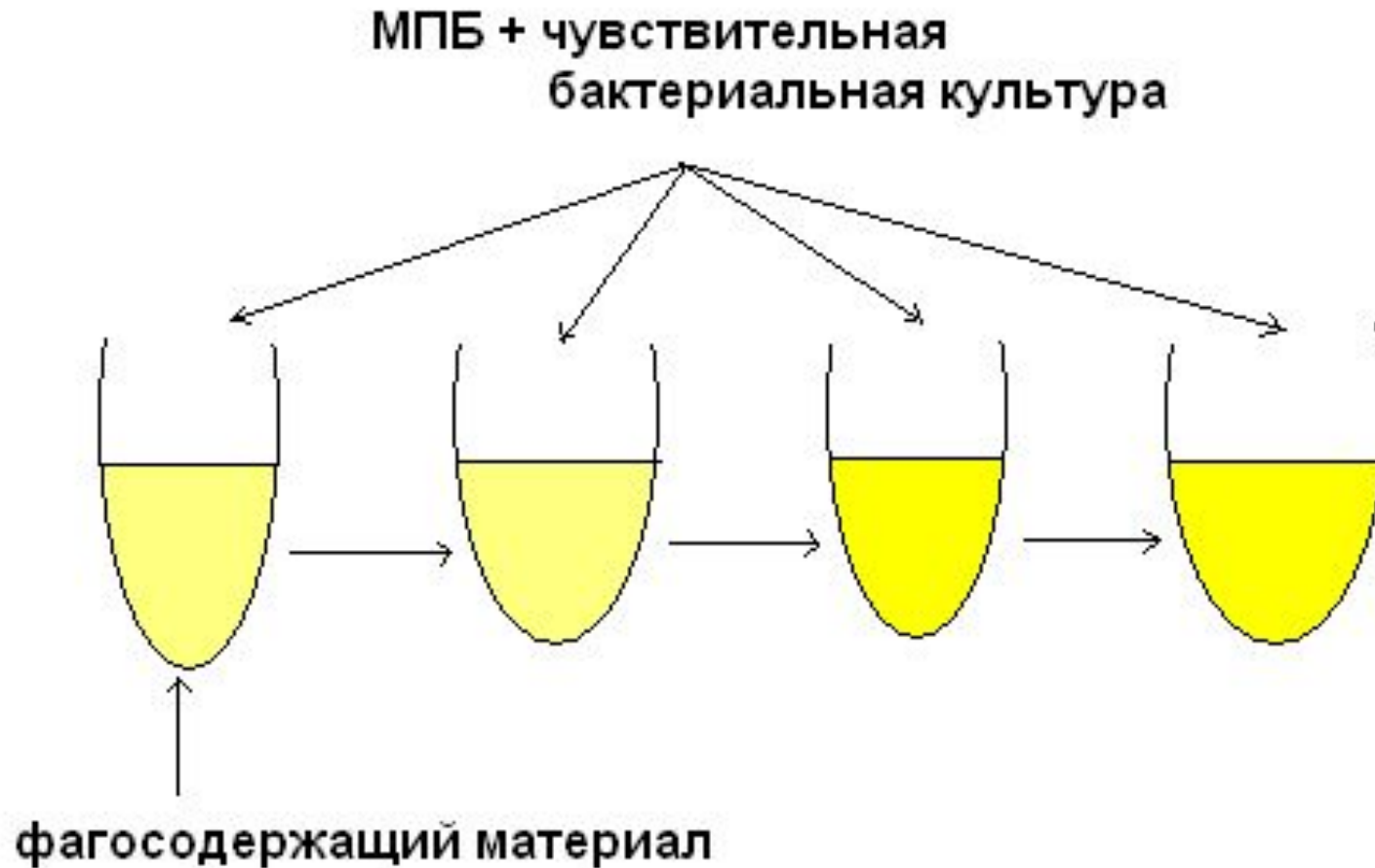
- Затем в каждую пробирку добавляют по 0,2мл бульонной культуры и ряды ставят в термостат.
- После инкубации в термостате учитывают результаты:

=в положительном случае наблюдается просветление среды.

Разведение в последней пробирке, где

происходит тотный титр культуры

Титрование фага по Аппельману



Фаготипирование бактерий

1. засев газоном на пластинчатый агар изучаемого штамма
2. нанесение капель типовых фагов
3. инкубация
4. регистрация «стерильных пятен» («бляшек»)
5. фаготип (фаговар) = перечень типовых фагов, лизирующих данный вариант

Определение спектра литического действия фага

- Чашку делят на квадратики и на каждый газоном засевают испытуемые штаммы,
- затем на каждый квадратик петлей или пипеткой наносят каплю фага
- после инкубации в термостате в течение 24 час определяют наличие «стерильных пятен».
- *Количество культур, которые лизирует бактериофаг – спектр его действия.*



