

УДК 602.3:579.8

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОЛИЗА И КАПСУЛООБРАЗОВАНИЯ У БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

*З.С. Калдыркаева, магистрант,
тел. 8(8422)55-95-47, zgolyakevich@mail.ru*
*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru*
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Bacillus*, *Bacillus cereus*, капсула, гемолиз, капсула.

Работа посвящена выявлению гемолиза и капсулы *in vitro* у референс и полевых штаммов *Bacillus cereus*, а также бактерий видов *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*.

Введение. В настоящее время методы дифференциации бактерий рода *Bacillus* основаны на ряде признаков, и одним из критериев отличия считают процесс образования капсулы. Долгое время считали, что бактерии *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis* не продуцируют капсулу, в отличие от бактерий *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, имеющих капсулу, содержащую поли- γ -D-глутаминовую кислоту, и *Bacillus mycoides*, *Bacillus circula*, *Bacillus pumilus*, продуцирующих полисахаридную капсулу [1, 2, 3]. A.R. Hoffmaster, J.J. Ravel J, et al. (2004) исследовал 45 штаммов *Bacillus cereus* выделенных в США в период с 1954 по 2000 г., от людей с различным заболеваниями (гнойно-воспалительные и респираторные инфекции, пищевых токсикоинфекции). Было установлено, что бактерии *Bacillus cereus* содержат сходные кольцевые плазмиды - pBCXO1, отвечающие за токсинообразование на 99,6% сходные с плазмидой *Bacillus anthracis* - pXO1, отвечающей за кодирование токсина. Гомологов плазмиды *Bacillus anthracis* - pXO2, отвечающей за капсулообразование не найдено. Но была выявлена ранее неизвестная плаزمида pBC218, отвечающая, по мнению исследователей, за образование полисахаридной капсулы *Bacillus cereus*. Кроме того, 1 из 4 штаммов *Bacillus cereus*, образующих капсулу был возбудителем пневмонии с летальным исходом [2, 4].

Различные виды спорообразующих бактерий рода *Bacillus* широко распространены в окружающей среде и нередко рассматривались

как возбудители разнообразных видов порчи пищевых продуктов [5, 6, 7, 8, 9].

Цель и задачи исследований. В связи с этим нами была поставлена цель, провести эксперимент по выявлению капсулы *in vitro* у референс и плевых штаммов *Bacillus cereus*, а также бактерий видов *Bacillus mycooides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

Результаты исследований и их обсуждение. Материалы для исследования. Референс-штаммы *Bacillus cereus* №96, №8035, №2527, 42 полевых штамма *Bacillus cereus*, выделенных из проб почвы и пищевых продуктов, *Bacillus mycooides* №537, *Bacillus subtilis* №6633, *Bacillus megaterium* №182, *Bacillus mesentericus* №66, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, полученные из музея кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Для получения капсул использовали питательный агар с добавлением 1% бикарбоната натрия и 12% крови барана обработанной антикоагулянтом - гепарином. Культивирование проводили при 36 °С в эксикаторе с содержанием CO₂ 15-20 %. Просматривали посевы через 18-24 ч. При учете результатов все культуры имели нестандартную переходную S-R форму (рис.1), слизистых колоний не наблюдалось. Мазки окрашивали по Бурри-Гинсу (рис.2). Микроскопическая картина: фон черный, клетки бактерий красные, капсулы неокрашенные (красители не воспринимают).

Заключение. В результате проведенных исследований было установлено, что бактерии *Bacillus cereus* №96, №8035, №2527 и 42 полевых штамма *Bacillus cereus*, выделенных из проб почвы и пищевых про-



Рисунок 1 - Культуры рода *Bacillus* на 1% бикарбонатном кровяном агаре

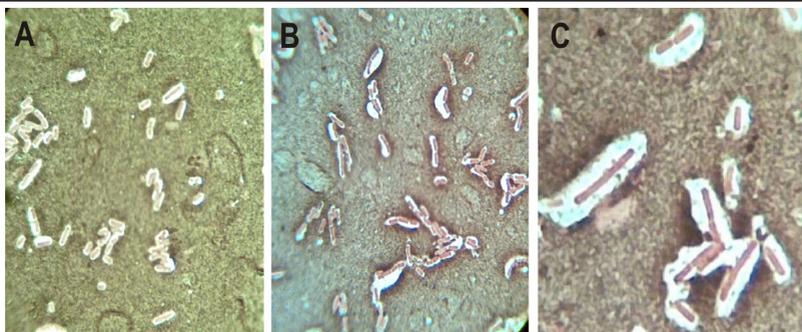


Рисунок 2 - Окраска капсулы по Бурри-Гинсу: *Bacillus cereus* № 8035 (А), *Bacillus cereus* № 96 (В) и *Bacillus cereus* № 7 (С)

дуктов имеют явно выраженную капсулу. Описание инкапсулирующих свойств штаммов *Bacillus cereus* показывает, что классическая система типирования *Bacillus cereus*, не всегда может быть достоверной. Следует обратить внимание на опасность диагностики исключительно по одному или нескольким фенотипическим признакам. Бактерии *Bacillus subtilis* №6633, *Bacillus mesentericus* №66, *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki, полученные из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВО «Ульяновский ГАУ» также имели капсулу, четко окрашиваемую по методике Бурри-Гинсу. Однако, у штаммов бактерий *Bacillus mycoides* №537, *Bacillus megaterium* №182 не было выявлено капсул. Принимая во внимание вышесказанное, при идентификации штаммов рода *Bacillus*, необходимо давать характеристику каждому выделенному изоляту с использованием максимального числа дифференциальных тестов.

Библиографический список

1. Comparative analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA / C. Ash, J. A. Farrow, M. Dorsch [et al.] // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1991. V. 41. P. 343-346.
2. Capsule Production in *Bacillus cereus* Strains Associated with Severe Pneumonia / D. Sue, Al. Hoffmaster, T. Popovic, P. Wilkins // *J. Clin. Microbiol.* 2006. V. 44(9). P. 3426-3428.
3. Homoduplex and heteroduplex polymorphisms of the amplified ribosomal 16S-23S internal transcribed spacers describe genetic relationships in the «*Bacillus cereus* group» / D. Daffonchio, A. Cherif, S. Borin // *Environ. Microbiol.* 2000. V.4. P. 23.

4. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax / A. R. Hoffmaster, J. Ravel, D. A. Rasko [et. al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. №1. P. 8449-8454.
5. Калдыркаев, А.И. Изучение литической активности фагов *Bacillus cereus* при хранении / А.И.Калдыркаев, З.С.Голякевич, А.С. Гранкина, Д.А.Васильев // В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения материалы VIII международной научно-практической конференции. 2017. С. 208-211.
6. Васильев, Д.А. Характеристика биологических свойств бактериофагов вида *Bacillus subtilis* / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, И.Н. Хайруллин, Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 1. – С. 79-83.
7. Васильев, Д.А. Биоиндикация бактерий *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, А.И. Калдыркаев, В.А. Макеев, И.Г. Швиденко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 3 (23). – С. 52-56.
8. Феоктистова, Н.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 1 (25). – С. 68-76.
9. Голякевич, З.С. Разработка защитной среды (стабилизатора) для лиофилизации бактерий / З.С. Голякевич / В сборнике: Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии материалы X-й Международной студенческой научной конференции. 2017. С. 18-21.

STUDY OF HAEMOLYSIS AND CAPSULE FORMATION IN BACILLUS BACTERIA

Kaldirkaeva Z.S., Vasiliev D.A.

Key words: *Bacillus, Bacillus cereus, capsule, hemolysis, capsule.*

The work is devoted to the identification of hemolysis and a capsule in vitro in the reference and field strains of Bacillus cereus, as well as bacteria of the species Bacillus mycoides, Bacillus subtilis, Bacillus megaterium, Bacillus mesentericus, Bacillus thuringiensis var. kurstaki.