

УДК: 619:616-07

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОЛЕВЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* УЛГАУ М.Н.-13

В.С. Маланина, аспирант, 8(8422) 55-95-47, vlada240535@mail.ru;

В.С. Васянин, магистр, 8(8422) 55-95-47, vas26026@gmail.ru;

А.Н. Панин, магистр, 8(8422) 55-95-47, anpanin86@yandex.ru;

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,

8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: бактерии, пастереллез, микроорганизмы.

*Работа посвящена изучению биологических свойств распространенных среди животных бактерий *Mannheimia haemolytica*. Данные микроорганизмы получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ.*

Введение. Бактерии *M. haemolytica* встречаются как естественная флора на слизистых оболочках верхних дыхательных путей жвачных животных. Большинство его известных видов были выделены от крупного рогатого скота, овец и коз. Факторы вирулентности *M. haemolytica* включают адгезины, капсулы, липополисахариды, белки наружной мембраны, регулируемые железом белки и лейкотоксин. Основным возбудителем бычьего легочного пастереллеза (судорожной лихорадки) является *M. haemolytica*, которая может быть возбудителем пастереллеза у овец и коз. Кроме того, это вызывает два синдрома пневмонии и сепсиса у овец и коз и приводят к гангренозному маститу у овец.

Материалы и методы. Тинкториальные свойства - окраска мазков по Граму (Микро-ГРАМ-НИЦФ набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама ТУ 9398-002-39484474-2002 (ЗАО НИЦФ, РФ) и микроскопия;

- морфология бактерий - культивирование на средах мясо-пептонный бульон; мясо-пептонный агар;

- бульон на основе мясного перевара по Хоттингеру (с содержанием 250-300 мг % аминного азота);

- мясо-пептонный полужидкий агар (МППА), с содержанием 0,15-0,3% бактоагара фирмы «Difco», США;

- кровяной МПА, с содержанием 5% дефибринированной крови барана;

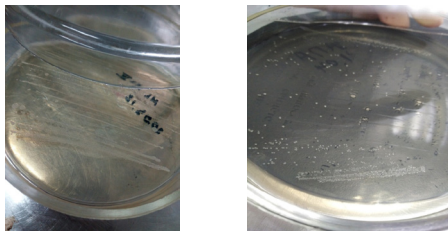


Рисунок 1 – Рост штамма *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 на МПА 24 ч культивирования в условиях термостата при $+37\pm1^{\circ}\text{C}$

- триптозный агар;
- идентификация по биохимическим свойствам выделенных микроорганизмов проводилась с применением следующих питательных сред и реактивов;
- среды Гисса.

Результаты и их обсуждение. Первый этап нашей работы был посвящен изучению культуральных свойств полевых штаммов *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13, которые были получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. Исследования проводились в НИИЦМБ в период с апреля 2018 года по март 2019 года.

Бактерии *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 при 24 ч культивировании в условиях термостата при $+37\pm1^{\circ}\text{C}$ на МПА образовывали небольшие (0,3-1мм) прозрачные, выпуклые, круглой формы колонии, легко снимающихся бактериальной петлей или пастеровской пипеткой. (Рисунок 1).

При посеве бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 на кровяной агар образовывали гладкие, полупрозрачные, блестящие колонии в диаметре 1-2 мм с проявлением зоны β -гемолиза в размере 1-1,5 мм вокруг колонии (Рисунок 2). При росте в бульоне и инкубировании в термостате 24 часа при температуре 37°C давали равномерное помутнение (Рисунок 3). На 2-3 сутки культивирования образуется обильный осадок, иногда очень обильный, слизистого характера, иногда имеет мелкохлопчатую структуру или включает небольшое количество среднехлопчатого осадка. Особенно это заметно при посеве не свежих культур, т.е. длительно культивируемых на питательных средах. При встряхивании осадок поднимается в виде муаровой ленты, обильный слизистый осадок поднимается в виде ленты или тяжа, осадок с хлопьями разбивается (Рисунок 4).

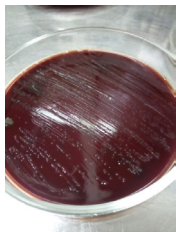


Рисунок 2 - Рост *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 кровяном агаре 24 ч культивирования в условиях термостата при $+37\pm1^\circ\text{C}$

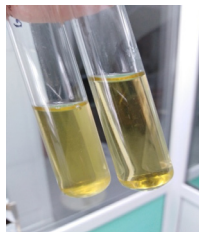


Рисунок 3 – Пробирка слева рост *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 на МПБ 24 ч культивирования в условиях термостата при $+37\pm1^\circ\text{C}$. Пробирка справа с чистым МПБ.

Рост культуры на полужидком агаре и инкубировании в термостате 24 часа при температуре 37°C происходил по уколу в виде беловатого стержня, окружающая среда при этом оставалась прозрачной. (Рисунок 5). При посеве на питательный агар, изготовленный на основе мясного перевара по Хоттингеру и инкубировании в термостате 24 часов при температуре 37°C обнаруживали рост достаточно крупных колоний, прозрачных, выпуклых, округлой формы (Рисунок 4). Рост на агаре Мак-Конки проявлялся в виде мелких полупрозрачных колоний (Рисунок 5).

Второй этап нашей работы был посвящен изучению тинкториальных свойств бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13. При микроскопическом исследовании мазков бульонной и агаровой культур, окрашенных по Граму, обнаруживали клетки, которые располагались одиночно, иногда попарн, граммотрицательные кокко-овоидной и овоидной формы (рисунок 6). При окрашивании культур манхемий методом Романовского-Гимза обнаруживали клетки тёмно-синего цвета с розовой капсулой.

Подвижность *M. haemolytica* определяли по характеру роста на МППА, производя посев уколом и инкубируя культуры 16-18 ч при 37°C . Рост бактерий по уколу свидетельствовал о неподвижности микроорганизмов (Рисунок 4).

Третий этап работы был направлен на изучение биохимических свойств бактерий *Mannheimia haemolytica*. Результаты показали, что культура *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 оксидаза- и каталаза положительны, в реакции Фогес-Проскауэра имеет отрицательный ре-

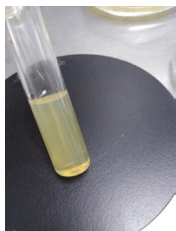


Рисунок 4 –Рост *Mannheimia haemolytica* УлГау М.Н-13.по уколу на МППА 24 ч культивирования в условиях термостата при + 37±1°С.

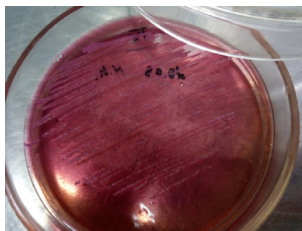


Рисунок 5 –Рост штамма *Mannheimia haemolytica* УлГау М.Н.-13 на агаре Макконки 24 ч культивирования в условиях термостата при + 37±1°С.

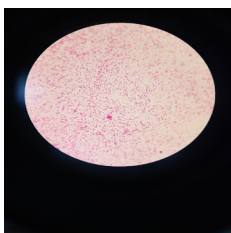


Рисунок 6 –Окрашенные грамтрицательно бактерии *Mannheimia haemolytica* УлГау М.Н-13 МПА 24 ч культивирования в условиях термостата при + 37±1°С.

зультат, не гидролизуют эскулин, не разжижают желатин, не ферментируют адонитол и трегалозу. Тесты на аргининдегидролазу, лизиндекарбоксилазу, орнитиндекарбоксилазу, уреазу, индол – отрицательны. Ферментирует лактозу, ксилозу, арабинозу, сукрозу, мальтозу, фруктозу, маннитол, галактозу и глюкозу.

Выводы Изучены культуральные свойства полевых штаммов бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.Н.-13, которые были получены из кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. Рост культуры наблюдали на полужидком агаре, МПБ, МПБ, МППА, обогащенных средах и инкубировании в термостате 24 часа при температуре 37°С мы отмечали хороший рост розовых, круглых колоний;

Изучены тинкториальные свойства штаммов *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13. Были обнаружены грамотрицательные клетки, кокко-овоидной формы с четко выраженной биполярностью. Изучены биохимические свойства бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13. Из сахаров культура ферментируют с образованием кислоты без выделения газа глюкозу, маннозу, сахарозу, маннит. Культура показала слабые протеолитические свойства. Культура не свертывает молоко, не разжижает желатину, однако постоянно выделяет индол. Из окислительно-восстановительных свойств для данных бактерий характерна редукция нитратов до нитритов, отрицательная уреазная активность, а также отсутствие гемолитической активности.

Закключение. В ходе работы были изучены культуральные свойства полевых штаммов бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13. Рост культуры наблюдали на полужидком агаре, МПБ, МПБ, МППА, обогащенных средах и инкубировании в термостате 24 часа при температуре 37°C мы отмечаем хороший рост росинчатых, круглых колоний. При изучении тинкториальных свойства штаммов *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13. Были обнаружены грамотрицательные клетки, кокко-овоидной формы с четко выраженной биполярностью. При исследовании биохимических свойств бактерий *Mannheimia haemolytica* УлГау М.н.-13 сделали выводы, что из сахаров культура ферментирует с образованием кислоты без выделения газа глюкозу, маннозу, сахарозу, маннит. Культура показала слабые протеолитические свойства. Данные микроорганизмы не свертывают молоко, не разжижают желатину, однако постоянно выделяют индол. Из окислительно-восстановительных свойств для данных бактерий характерна редукция нитратов до нитритов, отрицательная уреазная активность, а также отсутствие гемолитической активности;

Библиографический список:

1. Лаишевцев А. И. особенности биохимической идентификации и дифференциации бактерий вида *Mannheimia haemolytica*.
2. Лаишевцев А. И., Капустин А. В., Пименов Н. В. Обзор современных средств специфической профилактики пастереллёза и манхеймиоза сельскохозяйственных животных //Ветеринария и кормление. – 2017. – №. 3. – С. 64-66.
3. Орешкин А. В., Ханхасыков С. П. Клинико-морфологическая и микробиологическая характеристика пастереллеза у декоративных птиц в г. Улан-удэ // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. – 2015. – С. 68-71.

4. Пастереллез крупного рогатого скота, вызванный *Mannheimia haemolytica* //Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. – Т. 52. – №. 4.

THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF FIELD STRAINS OF BACTERIA MANNHEIMIA HAEMOLYTICA, M. H. ULGAU-13

Malanina V. S., Vasyanin V. S., Panin A. N., Vasilyev D. A.

Key words: *bacteria, pasteurellosis, microorganisms.*

The work is devoted to the study of biological properties of common bacteria among animals Mannheimia haemolytica. These microorganisms are obtained from the Museum of the Department of Microbiology, Virology, epizootology and VSE.