

УДК: 619:616-07

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОЛЕВЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *PASTEURELLA MULTOCIDA* УЛГАУ Р.М.-66

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 *Pasteurella multocida*. Данные микроорганизмы получены из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ.*

Введение. Пастереллез — одна из важнейших ветеринарных проблем, возбудителем которого является бактерия *Pasteurella multocida*. Заболевание у птиц вызывают различные сероварианты пастерелл серогруппы А по капсульному антигену. Значительный экономический ущерб, наносимый птицеводству этой инфекцией, складывается из высокого отхода поголовья, снижения привесов и затрат на проведение профилактических мероприятий. Пастереллез, вызываемый бактериями вида *P. multocida*, высококонтагиозное заболевание многих видов сельскохозяйственных и диких животных, пушных зверей и птиц с высокой летальностью и тенденцией к стационарности. Пастереллез регистрируется повсеместно.

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;

- 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 посвящен изучению культуральных свойств полевых штаммов *UлГау Р.т.-66* полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. Исследования проводились в НИ-ИЦМБ в период с апреля 2018 года по март 2019 года. Бактерии *Pasteurella multocida* при 24 ч культивировании в условиях термостата при $+ 37 \pm 1^\circ\text{C}$ на МПА образовывали небольшие прозрачные, выпуклые, круглой формы колонии (см. Рисунок 1). На средах с добавлением 5% крови барана и инкубировании в термостате 24 часа при температуре 37°C рост был более обильным, колонии мелкие (1-2мм), округлые, выпуклые. Зона гемолиза вокруг колоний отсутствовала (см. 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 несвежих 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). 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 6)

Второй этап нашей работы был посвящен изучению тинкториальных свойств бактерий *Pasteurella multocida*. При микроскопическом исследовании мазков бульонной и агаровой культур, окрашенных по Граму, обнаруживали клетки, грамотрицательные кокко-овоидной и овоидной формы, иногда присутствовали полиморфные формы, биполярность выражена в разной степени, капсула от слабо до четко выраженной (Рисунок 7). Подвижность отсутствует. В мазках из культур обнаруживали клетки овоидной формы, расположенные чаще всего отдельно, но встречаются парные,

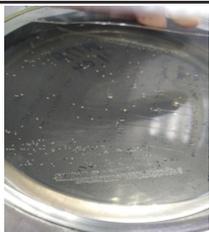


Рисунок 1 – Рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66 на МПА 24 ч культивирования в условиях термостата при $+ 37\pm 1^\circ\text{C}$

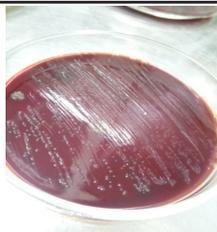


Рисунок 2 – Рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66 на кровяном агаре 24 ч культивирования в условиях термостата при $+ 37\pm 1^\circ\text{C}$



Рисунок 3 – Пробирка слева рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66 на МПБ 24 ч культивирования в условиях термостата при $+ 37\pm 1^\circ\text{C}$. Пробирка справа чистый МПБ



Рисунок 4 –Рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66 на МПБ (осадок) 42 ч культивирования в условиях термостата при $+ 37\pm 1^\circ\text{C}$

групповые скопления. В пересевах культур иногда встречаются цепочки разной длины. В старых культурах иногда обнаруживали палочковидные формы, в культурах хранящихся более 3-4 месяцев рост микроорганизма практически отсутствовал, при этом ослаблялись биохимические свойства.

Третий этап работы был направлен на изучение биохимических свойств бактерий *Pasteurella multocida*. У данной культуры изучали ферментативные свойства. Так суточную агаровую культуру высевали на среды Гисса с глюкозой, лактозой, маннозой, маннитом, сахарозой, в МПА, с молоком, желатином, на кровяной сывороточный МПА, в МПБ с 1% нитрата калия, в среду с мочевиной. Кроме этого, учитывали выделение культурами сероводорода и индола, определяли стандартный набор сахаролитических, протеолитических, окислительно-восстанови-



Рисунок 5 –Рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау Р.м.-66 по уколу на МППА 24 ч культивирования в условиях термостата при + 37±1°C

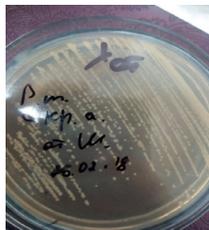


Рисунок 6 – Рост штамма *Pasteurella multocida* УлГау Р.м.-66 на агаре по Хоттингеру и инкубировании в термостате 24 часов при температуре 37°C

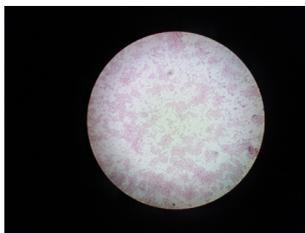


Рисунок 7 –Окрашенные грамотрицательно бактерии штамма *Pasteurella multocida* УлГау Р.м.-66 на МПА 24 ч культивирования в условиях термостата при + 37±1°C

тельных и гемолитических свойств, необходимых для дифференциации вида. Из сахаров культура ферментирует с образованием кислоты без выделения газа глюкозу, маннозу, сахарозу, маннит.

Протеолитические свойства слабые. Культура не свертывает молоко, не разжижает желатину, однако постоянно выделяет индол. Из окислительно восстановительных свойств для пастерелл характерна редукция нитратов до нитритов, отрицательная уреазная активность, гемолитическая активность отсутствует.

Выводы. Изучены культуральные свойства полевых штаммов бактерий *Pasteurella multocida* УлГау Р.м.-66, 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 тем-



Рисунок 9 – Изучение биохимических свойств бактерий *Pasteurella multocida* на средах Гисса

пературе 37°C мы отмечали хороший рост росинчатых, круглых колоний.

Изучены тинкториальные свойства штаммов *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66. Были обнаружены грамотрицательные клетки, кокко-овоидной формы с четко выраженной биполярностью. Изучены биохимические свойства бактерий *Pasteurella multocida* УлГау P.m.-66. Из сахаров культура ферментирует 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.

Библиографический список:

1. Aida Y. et al. *Pasteurella multocida* pneumonia with hemoptysis: A case report // *Respiratory medicine case reports*. – 2019. – Т. 26. – С. 31-34.
2. Dabo S. M., Taylor J. D., Confer A. W. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease // *Animal Health Research Reviews*. – 2007. – Т. 8. – №. 2. – С. 129-150.
3. Massacci F. R. et al. Characterization of *Pasteurella multocida* involved in rabbit infections // *Veterinary microbiology*. – 2018. – Т. 213. – С. 66-72.

THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF FIELD STRAINS OF PASTEURELLA MULTOCIDA, ULGAU P. M.-66

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 *Pasteurella multocida*. These microorganisms are obtained from the Museum of the Department of Microbiology, Virology, epizootology and VSE.*