

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 579.62
ГРНТИ 34.27.19

ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ ВИДА *BORDETELLA HOLMESII*

Масиленко А.В.

кандидат биологических наук, доцент кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Васильева Ю.Б.

кандидат биологических наук, доцент кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Латыпова Ф.М.

студент-магистр кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Картакаева С.С.

аспирант кафедры микробиологии, вирусологии,
эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза",
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия.

Васильев Д.А.

доктор биологических наук, заведующий кафедры
"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза"
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия

STUDY OF BASIC BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIA SPECIES *BORDETELLA HOLMESII*

Masilenko A.V.

Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Vasilyeva Yu.B.

Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Latypova F.M.

Master's student of the Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Kartakaeva S.S.

Postgraduate Student, Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia.

Vasiliev D.A.

Doctor of Biological Sciences,

Head of the Department of Microbiology, Virology,

Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin

Ulyanovsk, Russia.

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена изучению основных биологических характеристик бактерий вида *Bordetella holmesii*. Бактерии данного вида являются грамотрицательными, неподвижными коккоподобными палочками, располагающиеся в мазках одиночно или парами. Как и другие представители рода *Bordetella* облагаются слабой сахарлитической активностью. Не способны утилизировать такие соединения как цитрат натрия и мочевины, не расщепляют такие аминокислоты как лизин, аргинин и орнитин. При этом нами была выявлена у изучаемого штамма положительная реакция на каталазу, В- галактозидазу, триптофандеаминазу, желатиназу. Полученные результаты исследований будут использованы для создания схемы индикации идентификации бактерий вида *Bordetella holmesii*.

ABSTRACT

The article is devoted to the study of the main biological characteristics of bacteria of the species *Bordetella holmesii*. Bacteria of this type are gram-negative, motionless cocco-like rods, located in smears singly or in pairs. Like other representatives of the genus *Bordetella*, they are subject to weak sacchaltic activity. They are not able to utilize compounds such as sodium citrate and urea, they do not break down such amino acids as lysine, arginine and ornithine. At the same time, we revealed a positive reaction to catalase, B-galactosidase, tryptophanedaminase, gelatinase in the studied strain. The obtained research results will be used to create a scheme for indicating the identification of bacteria of the species *Bordetella holmesii*.

Ключевые слова: *Bordetella*, *B.holmesii*, биологические свойства, культуральные, морфологические, биохимические.

Key words: *Bordetella*, *B. avium*, biological properties, cultural, morphological, biochemical, proteome, in-silico.

Введение

Бактерии род *Bordetella* это грамотрицательные коккобациллы, обладающие слабой ферментативной активностью [2,3].

В настоящий момент известно о существовании 16 видов в роду *Bordetella*: это так называемые «классические» виды: *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica* и «неклассические» виды, открытые сравнительно недавно: *Bordetella holmesii*, *Bordetella hinzii*, *Bordetella avium*, *Bordetella petrii*, *Bordetella trematum*, *Bordetella ansoipii*, *Bordetella sputigena*, *Bordetella bronchialis*, *Bordetella flabilis*, *Bordetella muralis*, *Bordetella tumbae*, *Bordetella tumulicola*, *Bordetella ansoipii* [1,4].

Первый штамм *Bordetella holmesii* был получен в 1983 г. в лаборатории Центра по контролю и профилактике заболеваний США и был известен под рабочим названием 2-я группа неокислителей (non-oxidizer group 2 – NO-2). В 1995 г. Weyant R. S. с коллегами впервые описал данную бордетеллу и предложил переименовать NO-2 в *Bordetella holmesii* в честь английского микробиолога Barry Holmesa. Бактерии вида *Bordetella holmesii* вызывают бактериемии, эндокардит, менингит, перикардит, артрит, пневмонию, бронхит, заболевания с коклюшеподобными симптомами причем данные симптомы клинически неотличимы от инфекций, вызываемых *B.pertussis* [5,6,7].

Биологические свойства большей часть бактерий видов рода *Bordetella* малоизучены не только в России, поэтому целью нашего исследования является изучение

основных биологических свойств бактерий рода *Bordetella holmesii*.

Цель работы

Изучить основные биологические характеристики *Bordetella holmesii*.

Для решения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Изучить морфологические и тинкториальные свойства вида *B. holmesii*;
2. Изучить культуральные свойства на питательных средах;
3. Изучить основные биохимические свойства бактерий *B. holmesii*.

Материалы и методы

Для исследования использовался референс-штамм *Bordetella holmesii* ATCC 51541 взятый из музея «Кафедры Микробиологии, Вирусологии, Эпизотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ»;

Используемые материалы: грм-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, оболенск), угольный агар с добавлением 2% гидролизата казеина (ТММEDIA, индия), агар МакКонки с хлоридом натрия, солями желчных кислот и лактозой (ТМmedia, индия), среда Борде-Жангу (ТМmedia, индия) без и с добавлением селективной добавки для бордетелл агара (ТМmedia, индия). N, N - диметил - P - фенилендиамин (Aldrich-Sigma, Франция), шести-процентный раствор перекиси водорода (Россия), питательная среда № 14 грм (цитратный агар Симмонса) (ФБУН ГНЦ ПМБ, оболенск), уреазный агар Кристенсена (Himedia, индия, россия), бульон для определения декарбоксилаз по мюллеру с аргинином, с орнитином, с лизином (Himedia

индия), набор для идентификации других неприхотливых грамтрицательных палочек 20E (biomerieux SA, Франция).

Результаты исследования

При исследовании штамма *B. holmesii* на его морфологические и тинкториальные свойства клеток путем окраски по Граму обнаружили в мазках короткие, прямые или слегка изогнутые, с закругленными концами грамтрицательные кокоподобные палочки, располагающиеся одиночно, парами. При посеве штамма *Bordetella holmesii* методом Шукевича на скошенный ГРМ-агар рост наблюдается в месте посева при отсутствии роста вверх по косяку, таким образом, определили, что исследуемый штамм не обладает подвижностью.

На среде Борде-Жангу с глицерином, без селективной добавки и без добавления крови при культивировании в течение 24 ч. Исследуемая бордетелла дала рост в виде мелких круглых d около 1,0 мм, беловато-серых, выпуклых, гладких,

влажных, гомогенных, глянцевых, с ровным краем колоний. Через 72 ч. наблюдалось увеличение диаметра колоний, и цвет изменялся на беловато-кремовый, а при дальнейшей экспозиции при $t+3+5^{\circ}\text{C}$ колонии приобрели - желтоватый цвет.

При добавлении в среду селективной добавки для бордетелл выявили следующее: при культивировании в течение 24-48 ч. рост культуры не наблюдался, при увеличении времени экспозиции до 72 ч. наметился рост: розоватых, сероватых, гладких, выпуклых, глянцевых, гомогенных с ровным краем колоний.

При культивировании исследуемого штамма *B. holmesii* на чашке Петри с казеино-угольным агаром в течение 24 ч. наблюдается начало роста колоний – мелких $d < 1$ мм, белых колоний, гладких, округлых. На вторые сутки роста колонии увеличились в размере, стали белыми, глянцевыми, округлыми, гладкими, гомогенными, выпуклыми, с ровными краями.



Рисунок 1. Рост бактерий *Bordetella holmesii* ATCC 51541 на казеино-угольном агаре через 48 часов культивирования при $t 37^{\circ}\text{C}$

При посеве на питательный бульон через 48 ч. наблюдался придонный рост бактерий в виде осадка и без помутнения среды, при культивировании в течение 72ч. отмечали помутнение всего столбика среды, с образованием белого осадка. При встряхивании – осадок бактериальной культуры поднимался в виде косички с дальнейшим растворением в бульоне.

На среде с агаром содержащий 6% хлорид натрия при культивирование в течение 48 ч. при 37°C исследуемая бордетелла не дала роста. Хлорид натрия и желчные кислоты содержащиеся в составе агара МакКонки и 6% агара с хлоридом натрия подавляют рост исследуемой бактерии.

Каталазную активность определяли с 3% перекисью водорода. При нанесении ее на выросшие колонии штамма *B. holmesii* наблюдали катализирующее разложение пероксида водорода на воду и молекулярный кислород, выделяющегося в виде пузырьков газа, что являлось положительной реакцией на каталазу.

При нанесении и распределении выросших колоний штамма *B. holmesii* на тест полоске для обнаружения фермента цитохромоксидаза наблюдали отсутствие изменения цвета в реактивной зоне, а дальнейшее сравнение с

цветовой шкалой показало, что реакция отрицательная.

Исследуемый штамм так же проявляет отрицательную реакцию на расщепление цитрата натрия и мочивины.

При температуре культивирования 37°C через 72ч. на бульоне Мэллера с аргинином, орнитинном и лизинном наблюдали слабое помутнение без изменения цвета среды. Таким образом мы установили, что аргининдегидралазной, орнитиндекарбоксилазной и лизиндекарбоксилазной активностью.

Исследование биохимических свойств штамма *B. holmesii* проводили при использовании тест системе API 20E. В результате исследования получили нами были получены следующие результаты: положительная реакция была выявлена на В- галактозидазу (ONPG), триптофандеаминазу (TDA), желатиназу (GEL), и отрицательная – аргининдекарбоксилаза (ADH), орнитиндекарбоксилаза (ODC), лизиндекарбоксилазы (LDC), уреазы (URE), утилизации цитрата (CIT), продукцию H_2S , индола (IND), глюкозы (GLU), манита (MAN), инозита (INO), сорбита (SOR), рамнозы (RHA), сахарозы

(SAC), мелибиоза (MEL), амигдалина (AMY), арабинозы (ARA).

Выводы

В результате проведенных исследований нами были изучены основные биологические характеристики вида *Bordetella holmesii*. Нами было установлено, что бактерии данного вида являются грамотрицательными, неподвижными коккоподобными палочками, располагающиеся в мазках одиночно или парами. Как и другие представители рода *Bordetella* облагаются слабой сахарлитической активностью. Не способны утилизировать такие соединения как цитрат натрия и мочевины, не расщепляют такие аминокислоты как лизин, аргинин и орнитин. При этом нами была выявлена положительная реакция на каталазу, В-галактозидазу, триптофандеаминазу, желатиназу. Полученные нами результаты исследований будут использованы для создания схемы индикации идентификации бактерий вида *Bordetella holmesii*.

Список литературы

1. Мاستиленко А. В., Картакаева С. С., Ломакин А. А. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ

МИКРООРГАНИЗМА *BORDETELLA HOLMESII* // ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ. – С. 86.

2. Mazengia E. et al. Recovery of *Bordetella holmesii* from patients with pertussis-like symptoms: use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize circulating strains // *Journal of clinical microbiology*. – 2000. – Т. 38. – №. 6. – С. 2330–2333.

3. Pittet L. F. et al. *Bordetella holmesii*: an under-recognised *Bordetella* species // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2014. – Т. 14. – №. 6. – С. 510–519.

4. Pittet L. F., Posfay-Barbe K. M. *Bordetella holmesii*: still emerging and elusive 20 years on // *Emerging Infections* 10. – 2016. – С. 239–254.

5. Tang Y. W. et al. *Bordetella holmesii*-like organisms associated with septicemia, endocarditis, and respiratory failure // *Clinical infectious diseases*. – 1998. – Т. 26. – №. 2. – С. 389–392.

6. Weyant R. S. et al. *Bordetella holmesii* sp. nov., a new gram-negative species associated with septicemia // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1995. – Т. 33. – №. 1. – С. 1–7.

7. Yih W. K. et al. *Bordetella holmesii*-like organisms isolated from Massachusetts patients with pertussis-like symptoms // *Emerging infectious diseases*. – 1999. – Т. 5. – №. 3. – С. 441–443.

УДК 579.62

ГРНТИ 34.27.19

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ ВИДА *AEROMONAS VERONII*

Минаева А.Н.

аспирант кафедры

«Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»,
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Ломакин А.А.

аспирант кафедры

«Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»,
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия;

Васильев Д.А.

доктор биологических наук, заведующий кафедры

"Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза"
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия

Шестаков А.Г.

кандидат биологических наук, доцент кафедры

«Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»,
ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина
Ульяновск, Россия.

GENERAL CHARACTERISTICS OF BACTERIA OF THE SPECIES *AEROMONAS VERONII*

Minaeva A.N.

Postgraduate Student, Department of Microbiology, Virology,
Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,
Department of Microbiology, Virology,
Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
Ulyanovsk, Russia;

Lomakin A.A.

Postgraduate Student, Department of Microbiology,
Virology, Epizootology and Veterinary and Sanitary Expertise,