

УДК 579.8

ВИРУЛЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Чупрак Д., Смирнова Л.И.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»,
Санкт-Петербург, e-mail: darya.chuprak@mail.ru

На различных биомоделях нами изучены вирулентные свойства культур *Proteus mirabilis*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas rhodesiae*, выделенных при исследовании биологического материала из гнойно-некротических очагов на коже белухи, содержащейся в океанариуме Крыма. Перед изучением вирулентности делали их пересев на скошенный ГРМ-агар, культивировали и довели концентрацию полученной суспензии микробных клеток до 1 млрд КОЕ/мл по стандарту мутности. Биомодели были представлены в виде взрослых белых мышей, куриных эмбрионов, взрослых рыбок гуппи, пресноводных аквариумных моллюсков – красные роговые катушки (*Planorbarius corneus*).

Ключевые слова: *Proteus mirabilis*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas rhodesiae*, белухи, вирулентность, биомодели, белые мыши, куриные эмбрионы, рыбки гуппи, моллюски роговые катушки *Planorbarius corneus*

VIRULENCE OF BACTERIA – THE FORCES OF PURULENT SEPTIC PROCESSES IN MARINE MAMMALS

Chuprak D., Smirnova L.I.

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, e-mail: darya.chuprak@mail.ru

We have studied the virulent properties of *Proteus mirabilis*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas rhodesiae* cultures in various biomodels, which were isolated from the study of biological material from purulent necrotic foci on the beluga skin contained in the oceanarium of the Crimea. Before the study of virulence, they were done by reseeded on chamfered GRM agar, cultured and the concentration of the resulting suspension of microbial cells was adjusted to 1 billion CFU / ml according to the turbidity standard. The biomodels were presented as adult white mice, chick embryos, adult guppies, freshwater aquarium mollusks – red horny reels (*Planorbarius corneus*).

Keywords: *Proteus mirabilis*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas rhodesiae*, beluga, virulence, biomodels, white mice, chicken embryos, guppies, shellfish *Planorbarius corneus*

Proteus mirabilis – повсеместно встречающийся в природе, в том числе в загрязненной органическими веществами воде, условно-патогенный гнилостный микроорганизм из семейства *Enterobacteriaceae*. Представляет собой грамотрицательную, не образующую спор и капсул, очень подвижную полиморфную палочку, хорошо растущую на различных субстратах и обладающую сильной протеолитической активностью. В санитарной микробиологии протей считают индикатором гнилостного загрязнения объектов окружающей среды. Протей может обладать вирулентностью в отношении ослабленных животных и людей.

Shewanella putrefaciens – грамотрицательная полиморфная бактерия, обитает в пресной, солоноватой и солёной водных средах, является факультативным анаэробом. Впервые *Shewanella putrefaciens* была выделена из молочных продуктов Derby и Hammer в 1931 году, в тот момент ей было присвоено название *Achromobacter putrefaciens*. Затем её имено-

вали *Pseudomonas putrefaciens*. В 1981 году она была отнесена к виду *Shewanella putrefaciens*. *Shewanella putrefaciens* оказывает значительное влияние на водную флору и фауну. У инфицированных этим микроорганизмом морских животных возникают повреждения кожных покровов в виде гнойно-некротических очагов. Могут также поражаться мягкие ткани, брюшина, кровь. Обычно морские животные заражаются в условиях экологического стресса, и тогда все внутренние органы могут быть инфицированы, что наносит большой урон морскому промыслу. В результате способности бактерии производить летучие сульфиды, амины и дурнопахнущие соединения триметиламина, объекты морского промысла, обсеменённые шewanеллой, выделяют запах гниющих водорослей, интересно также, что *Shewanella putrefaciens* может вызывать коррозию на стальных поверхностях морских судов. Это происходит за счёт её способности производить сульфиды и разрушать структуру железа. Биологические свойства

Shewanella putrefaciens как патогена, общего для человека и животных, изучены недостаточно.

Pseudomonas rhodesiae – бактерия, обитающая в пресной, солоноватой и солёной водных средах. *Pseudomonas rhodesiae* – микроорганизм из семейства Pseudomonadaceae. Представляет собой аэробные, психрофильные, грамотрицательные мелкие палочки, не образующие спор и капсул, располагающиеся в мазке беспорядочно, одиночно и попарно. *Pseudomonas rhodesiae* проявляет замедленный и скудный рост на различных питательных средах для энтеробактерий и псевдомонад. Потенциальная вирулентность изучена недостаточно.

Объектом нашего изучения были культуры *Shewanella putrefaciens*, выделенные при исследовании мазка из гнойно-некротического очага на коже белухи, содержащейся в океанариуме Крыма.

Цель исследования:

1. Определение вирулентных свойств выделенных из патологического материала микроорганизмов – представителей водной среды обитания;

2. Поиск оптимальной биомодели для изучения вирулентности бактерий – возбудителей болезней животных, обитающих в воде.

Материалы и методы. Исследовали чистые культуры *Proteus mirabilis*, *Shewanella putrefaciens* и *Pseudomonas rhodesiae*, выделенные в виде ассоциации из гнойно-некротического очага на коже белухи. Перед изучением вирулентности делали их пересев на скошенный ГРМ-агар, культивировали в течение 24 часов при 37 градусах С, (а медленно растущую *Pseudomonas rhodesiae* – в течение 48 часов при 20 градусах С), производили смыв культур 0,9%-м раствором хлорида натрия и доводили концентрацию полученной суспензии микробных клеток до 1 млрд КОЕ/мл по стандарту мутности.

Изучали влияние данных микроорганизмов при использовании следующих биомodelей:

- Взрослые белые мыши при заражении подкожно, в дозе 0,2 мл и внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл.

- Куриные эмбрионы, возраст 7 суток, при заражении в желточный мешок, в дозе 0,2 мл.

Нами предложены для изучения водных микроорганизмов ещё две биомодели:

1. Взрослые рыбки гуппи, самки, при внесении 1 см³ взвеси смыва суточной

культуры бактерий концентрацией 1 млрд КОЕ/мл на 2 л аквариумной воды.

2. Пресноводные аквариумные моллюски красные роговые катушки (*Planorbium corneum*) при внесении 1 см³ взвеси смыва суточной культуры бактерий концентрацией 1 млрд КОЕ/мл на 2 л аквариумной воды.

Наблюдение за биомоделями вели в течение 10 суток.

Результаты исследования. Установлено, что клинические изоляты *Proteus mirabilis* и *Shewanella putrefaciens* проявляют вирулентность при заражении белых мышей, куриных эмбрионов, рыбок гуппи и пресноводных аквариумных моллюсков роговых катушек (*Planorbium corneum*).

Наиболее вирулентной является культура *Proteus mirabilis*, вызывающая гибель 2 мышей из двух заражённых в течение 4 суток после введения материала. Эта же культура вызывает гибель куриного эмбриона при просмотре на 5-й день инкубации после заражения. При вскрытии наблюдалось интенсивное помутнение аллантоической жидкости, разложение тканей эмбриона и неприятный запах тухлого мяса.

Шеванелла и псевдомонада родезия не вызывали гибели мышей при подкожном и внутрибрюшинном заражении.

Куриные эмбрионы при заражении шеванеллой погибали в течение недели после заражения в желточный мешок. При просмотре вскрытых куриного эмбрионов наблюдали кровоизлияния сосудов желточного мешка, серо-зелёный цвет содержимого желточного мешка, помутнение аллантоической жидкости и неприятный резкий запах гниющих водорослей.

Однако биомодель – куриный эмбрион не является удобной при изучении вирулентных свойств микроорганизмов.

При внесении в аквариумную воду культуры *Proteus mirabilis* в течение 5 дней погибли обе рыбки гуппи. Перед гибелью у рыбок наблюдали кровоизлияния в сосудах хвоста и жабр. Это было хорошо видно невооружённым глазом. Вода сильно помутнела.

Все моллюски-катушки в воде, заражённой *Proteus mirabilis*, погибли в течение 1 суток после внесения культуры. Мы наблюдали падение моллюсков на дно аквариума, прекращение движений, расслабление мускулатуры с выпадением части тела моллюска во внешнюю среду.

При заражении воды в аквариуме культурой *Shewanella* в течение 5 дней погибла 1 рыбка из двух. У второй рыбки наблю-

далась заторможенность, нарушение координации движений, плавание под углом к поверхности воды головой вверх. Вода в аквариуме вначале сильно помутнела, однако потом – стала прозрачной.

В аквариуме после заражения культурой шеванелл погиб один моллюск-катушка из 3 при этом. Мы наблюдали, как и в случае, описанном выше, падение моллюска на дно, прекращение движений и частичное выпадение тела моллюска во внешнюю среду.

При заражении воды в аквариуме культурой *Pseudomonas rhodeziae* гибели рыбок и моллюсков не наблюдалось. Вода оставалась слегка мутноватой.

Установлено, что наиболее вирулентным возбудителем гнойно-некротического процесса на коже белухи явился *Proteus mirabilis*. Вирулентными свойствами слабой степени обладает также *Shewanella putrefaciens*. Изолят *Pseudomonas rhodeziae* авирулентен. По результатам исследования микроорганизмов – возбудителей болезней морских млекопитающих – предлага-

ем в качестве биомодели для определения их вирулентности использовать недорогую и удобную биосистему: пресноводный аквариумный моллюск – красная роговая катушка (*Planorbarius corneus*).

Список литературы

1. Смирнова Л.И., Сухинин А.А., Приходько Е.И., Белкина И.В., Макавчик С.А. Микробиологическая безопасность объектов внешней среды и пищевых продуктов. – СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016г. – 84 с.
2. Смирнова Л.И., Приходько Е.И., Макавчик С.А., Белкина И.В., Бакулин В.А.: «Биологический материал для бактериологического и вирусологического исследований в ветеринарной практике: способы его отбора, обработки и транспортировки». – СПб, Изд-во ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016г. – 48 с.
3. Смирнова Л.И., Сухинин А.А., Приходько Е.И., Белкина И.В., Макавчик С.А. Санитарно-микробиологический контроль объектов внешней среды. – СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016г. – 84 с.
4. Bagge, Dorthe, Hjelm, M., and Gram, L. *Shewanella putrefaciens* Adhesion and Biofilm Formation on Food Processing Surfaces // *Applied Environmental Microbiology*. – 2001. – 67(5). – p. 2319–2325.
5. Brink A.J., Van, Straten A., Van, and Rensburg, A.J. *Shewanella (Pseudomonas) putrefaciens* bacteraemia // *Clin Infect Dis*. – 1995. – Vol. 20. – P. 1327–1332.