

УДК 579

DOI 10.18286/1816-4501-2019-3-116-123

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ ВИДА
*PSEUDOMONAS STUTZERI***

Федотова Татьяна Александровна, соискатель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Шестаков Андрей Геннадьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор заведующий кафедрой «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, дом 1; тел.: 8-917-606-07-73 8(8422) 55-95-47, e-mail: fedotova.tatyana@list.ru

Ключевые слова: бактерия, *Pseudomonas*, *Ps. stutzeri*, тинкториальные свойства, культуральные свойства, биохимическая активность.

В статье представлены результаты изучения биологических свойств бактерий *Pseudomonas stutzeri*. Данные микроорганизмы важны особенностями своего метаболизма, так как влияют на процессы преобразования металлов, деградацию биогенных ксенобиотиков и способны вызывать заболевания. На данный момент стоит вопрос о получении быстрого и высокоспецифичного метода дифференцирования бактерий *Ps. stutzeri*. Работа была выполнена на штаммах *Ps. stutzeri* под регистрационными номерами 1-03, 2-06, 3-92, 4-04, полученных из коллекции музея бактериальных культур кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновского ГАУ с использованием лабораторного оборудования, посуды, питательных сред и реактивов. В результате проведенных исследований изучены тинкториальные, культуральные свойства и биохимическая активность бактерий *Ps. stutzeri*. Большая часть полученных результатов исследований (морфологические, тинкториальные свойства, рост на МПА при 5°C, 37°C, 42°C, рост в отсутствие свободного кислорода, расщепление цистина, мочевины, гидролиз крахмала, утилизация цитрат натрия, тест на оксидазу и каталазу, манит, глюкозу, лактозу, арабинозу, ксилозу, мальтозу) подтверждается в научной литературе. Однако, некоторые полученные результаты собственных биохимических исследований *Ps. stutzeri* (разжижение желатина, гемолиз, рамноза, сахароза, сорбит, рост при 26°C) не совпадают с литературными данными. В собственных исследованиях получены новые результаты по культивированию бактерий *Ps. stutzeri* на МПБ, образованию сероводорода, их росту при 8°C, 11°C на МПА, характеристике бактериальных колоний на среде с желтком и молоком.

Введение

Бактерии *Ps. stutzeri* обитают во многих природных ареалах. Их выделяют из почвы, навоза, растений, сточных, грунтовых вод, морской воды, болот, очистных сооружений, объектов больничной среды, редко – из клинических материалов человека и животных [1 - 8]. Данные микроорганизмы имеют отличительные особенности в своем метаболизме, которые позволяют включать механизмы и процессы преобразования металлов и деградацию биогенных ксенобиотиков (нефтепродукты,

ароматические и неароматические углеводороды, биоциды). В ряде случаев отмечается появление факторов патогенности со способностью вызывать заболевания. В зарубежной литературе описаны случаи регистрации инфекций, вызванных бактериями *Ps. stutzeri* у людей, а их роль в патогенезе домашних и сельскохозяйственных животных изучается и начинает проясняться.

В отечественной литературе практически не встречается упоминаний, посвященных разностороннему изучению биологических свойств

и разработке шкалы классификации как бактерий *Ps. Stutzeri*, так и их бактериофагов. В зарубежной литературе имеются некоторые данные, в которых упоминаются биологические свойства бактерий *Ps. stutzeri*. Некоторые данные о биологических свойствах *Ps. stutzeri* противоречивы по разным научным литературным источникам, в связи с этим необходимо было детальнее изучить биологию бактерий этого вида.

На данный момент стоит вопрос о получении быстрого и высокоспецифичного метода дифференцирования бактерий *Ps. stutzeri* от других микроорганизмов. В связи с этим актуальной проблемой является разработка методов выделения индикации и идентификации бактерий *Ps. stutzeri* из объектов внешней среды и патологического материала различными схемами, в частности, с помощью реакции нарастания титра фага (РНФ) и отобранных фагов *Ps. stutzeri*, которые отвечают всем требованиям к ним.

Бактерии *Ps. stutzeri* культивируются при широком диапазоне температур от 15°C до 43°C и эта физиологическая характеристика позволяет им обитать во многих ареалах.

В 1895г Burri и Stutzer впервые описали *Ps. stutzeri*. [9], а в 1952г Van Neal и Allen точно определили их фенотипические особенности и дали название *Ps. stutzeri* [10].

Цель работы - разностороннее исследование основных биологических свойств бактериальных культур *Ps. stutzeri*, по результатам которых будет возможно создание схемы выделения и видовой идентификации бактерий *Ps. stutzeri*.

Объекты и методы исследований

Работа была выполнена на штаммах *Ps. Stutzeri* под регистрационными номерами 1-03, 2-06, 3-92, 4-04, полученных из коллекции музея бактериальных культур кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновского ГАУ.

При этом использовалось оборудование: автоклав (ГК-100-3), термостат (ТС-80М-2), анаэрозонт (Норзонт), мультимедийный микроскоп «Биомед-6» с видеофотонасадкой, персональный компьютер с установленным Windows 8 и программой «ТоурВью», дистиллятор (Liston), ультрафиолетовая лампа марки «Phillips» с длиной волны 253 нм, плитка электрическая, лабораторные весы, термометр, лупа бинокулярная МБС-9, стерильная бактериальная лабораторная посуда.

Тинкториальные, культуральные и биохимические свойства *Ps. stutzeri* изучались согласно общепринятым в микробиологии методикам [11 - 24] с использованием следующих материалов: набор реагентов для окраски микроорганизмов по мето-

дам Грама и Циля Нильсена (НИЦФ Россия, Санкт-Петербург), гидроокись калия (ООО «МиниМед» Россия, г. Брянск), Mikrobiologie Bactident Oxidase (оксидазный тест Merck RGA Germany), реактив для определения цитохромоксидазы-N,N-диметил-п-фенилендиамин (ФБУН НИИ ЭИМ им Пастера), 3% перекись водорода (водорода пероксид) ЗАО «Производственная фармацевтическая компания Обновление» Россия, г.Новосибирск, NaCl (УлХим Россия, г Ульяновск), крахмал (АО компания «Проксима» Россия), раствор Люголя (НИЦФ Россия г Санкт-Петербург), ультрапастеризованное молоко (ОАО «Милком»), свежее куриное яйцо, желатин (Нева Реактив Россия Санкт-Петербург), кровь стерильная, этанол 70%, дистиллированная вода, Бакто-Триптон (DIFCO LABORATORIES), желатин (Нева Реактив Россия Санкт-Петербург), сухой мясо-пептонный питательный агар общего назначения (Производитель HiMedia Laboratories, страна Индия, поставщик Арт-Медика» г. Екатеринбург), среда Кристенса с мочевиной и Симмонса (ООО «БиоКомпас-С», Россия г Углич Ярославская область), агар Эндо и среды Гисса с маннитом, сорбитом, глюкозой, лактозой, арабинозой, сахарозой, ксилозой, мальтозой, рамнозой (ООО «НПЦ «Биокомпас-С» Россия, г. Углич), агар Клигlera-ГРМ, ГРМ-агар, среда Левина-ГРМ и Плоскирева-ГРМ, среда Пизу, пептон сухой ферментированный для бактериологических целей, дрожжевой экстракт, агар бактериологический (ФБУН ГНЦ ПМБ г Оболенск).

Результаты исследований

Тинкториальные свойства штаммов *Pseudomonas stutzeri* под регистрационными номерами *Pseudomonas stutzeri* 1-03, *Pseudomonas stutzeri* 2-06, *Pseudomonas stutzeri* 3-92, *Pseudomonas stutzeri* 4-04 в коллекции кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновского ГАУ.

Методами окраски по Граму, Циль-Нильсену и тесту КОН было подтверждено, что все изучаемые микроорганизмы штаммов *Ps. stutzeri* 1-03, *Ps. stutzeri* 2-06, *Ps. stutzeri* 3-92, *Ps. stutzeri* 4-04 являются грамотрицательными бактериями. Исследуемые штаммы, культивируемые на ГРМ агаре в течение одного месяца, для сравнения, окрасились по Граму лучше и были более четкими в мазках при микроскопировании, чем их суточные культуры с МПА.

Визуально при микроскопировании изучаемые бактерии обнаружены в форме палочек, хаотично расположенных. Среди изучаемых штаммов в виде самых длинных палочек оказались бактерии *Ps. stutzeri* 2-06, а в виде самых коротких палочек *Ps. stutzeri* 4-04.

Посевы бактерий всех исследуемых штам-

мов *Ps. stutzeri* уколом в столбик полужидкого ГРМ-агара подтвердили их способность к подвижности при температуре культивирования 37 °С.

Культуральные свойства штаммов *Ps. stutzeri* под регистрационными номерами *Pseudomonas stutzeri* 1-03, *Pseudomonas stutzeri* 2-06, *Pseudomonas stutzeri* 3-92, *Pseudomonas stutzeri* 4-04 в коллекции кафедры МВЭиВСЭ Ульяновского ГАУ.

Оптимальной температурой для роста всех исследуемых штаммов *Ps. stutzeri* оказался диапазон от 26 °С до 37 °С. При этом наблюдался хороший рост колоний бактерий всех исследуемых штаммов уже в первые сутки на ГРМ агаре и при температуре культивирования 42 °С.

При культивировании в течение 72ч при температуре 8 °С и 5 °С рост всех исследуемых бактерий *Ps. stutzeri* на ГРМ агаре отсутствовал, а после 48ч культивирования при температуре 11 °С наблюдалось появление роста колоний у всех исследуемых культур.

Среди колоний бактерий всех исследуемых штаммов на ГРМ агаре при культивировании с температурой 37 °С, через 24 ч самыми мелкими оказались колонии штамма *Ps. stutzeri* 1-03, ($d = 1\text{ мм}$), средними *Ps. stutzeri* 4-04 ($d = 3\text{ мм}$), а самыми крупными *Ps. stutzeri* 2-06 и *Ps. stutzeri* 3-92 ($d = 4\text{ мм}$).

Среди колоний бактерий исследуемых штаммов на МПА при культивировании с температурой 26 °С через 24 ч самыми мелкими опять оказались колонии бактерий штамма *Ps. stutzeri* 1-03, ($d = 2\text{ мм}$), средними – *Ps. stutzeri* 3-92 и *Ps. stutzeri* 2-06 ($d = 4\text{ мм}$), а крупными *Ps. stutzeri* 4-04 ($d = 5\text{ мм}$).

При изучении роста исследуемых штаммов *Ps. stutzeri* на МПА при температуре 42 °С через 24 ч установили, что средний диаметр колоний штаммов *Ps. stutzeri* 3-92 и *Ps. stutzeri* 2-06 составил 2 мм, *Ps. stutzeri* 4-04 - 2,5мм, а средний диаметр колоний штамма *Ps. stutzeri* 1-03 был равен 5мм.

Эти данные показывают, что нет какой - либо зависимости между штаммом *Ps. stutzeri*, температурой культивирования и питательной средой. В среднем диаметр колоний был равен 2,5 мм через

24 ч при температуре культивирования 26 °С; 37 °С и 42 °С и незначительно увеличивался при увеличении времени культивирования до 72ч.

По форме колонии все изучаемые штаммы *Ps. stutzeri* были очень схожи: округлые, плоские с ровными краями, матовые, гладкие, с влажной поверхностью, желто-молочного цвета, мажущейся, мягкой консистенции, легко снимались со среды петлей, без запаха.

При изучении роста изучаемых штаммов бактерий *Pseudomonas stutzeri* на МПБ при температуре 37 °С через 24ч был зафиксирован рост культур в виде молочно-белой пленки на поверхности бульона. Пленка, образуемая штаммом *Pseudomonas stutzeri* 1-03, была менее заметной по сравнению с другими культурами. При взбалтывании пробирки пленки с поверхности бульона частично разрушались, оседая на дно. Далее при встряхивании пленки в виде осадка поднимались вверх, распадаясь на хлопья. При сильном встряхивании хлопья полностью растворялись, создавая равномерное помутнение всей питательной среды.

Биохимическая активность штаммов *Ps. stutzeri* под регистрационными номерами *Pseudomonas stutzeri* 1-03, *Pseudomonas stutzeri* 2-06, *Pseudomonas stutzeri* 3-92, *Pseudomonas stutzeri* 4-04 в коллекции кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновского ГАУ.

Способность роста на МПА в среде, не содержащей свободного кислорода, с использованием анаэрогастата, была выявлена у бактерий всех исследуемых штаммов *Ps. stutzeri*. Наименьшее количество выросших колоний было у *Ps. stutzeri* 1-03, наибольшее у *Ps. stutzeri* 2-06 и *Ps. stutzeri* 3-92.

Нами была доказана способность продукции фермента каталазы у всех исследуемых штаммов *Ps. stutzeri* с помощью 3% раствора перекиси водорода. Результаты представлены на рисунках 1 и 2.

Наличие фермента цитохромоксидазы было подтверждено оксидазным тестом у всех изучаемых штаммов бактерий рода *Pseudomonas* дважды. При использовании оксидазных тест - полосок Merck RgaA Germany бактерии штамма *Ps. stutzeri* 1-03 среагировали на тест, изменив цвет реактив-

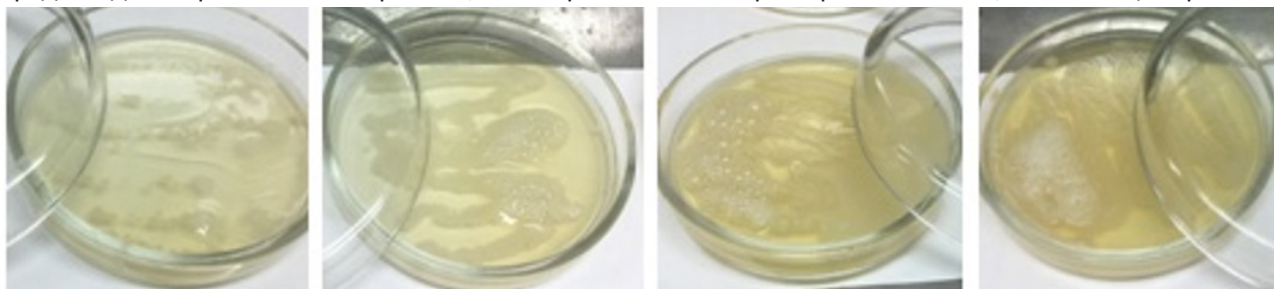


Рис. 1 - Положительный тест на каталазу бактерий *Pseudomonas stutzeri* 1-03, 3-92, 2-06, 4-04 (слева на право) в виде выделения пузырьков газа.

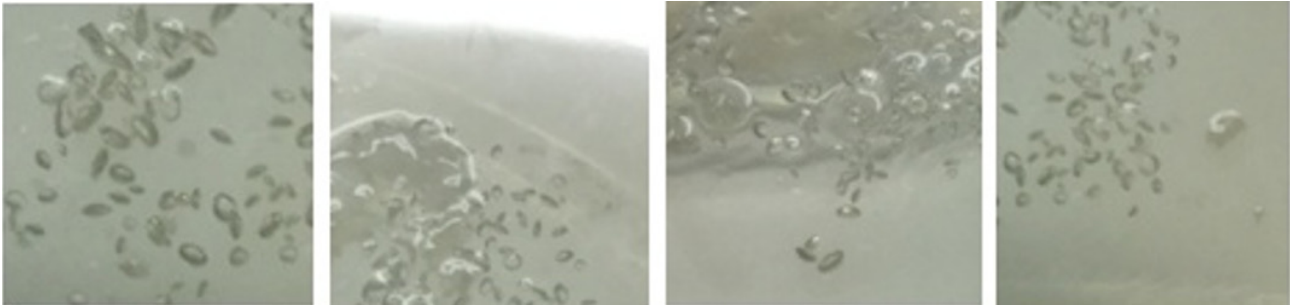


Рис. 2 - Положительный тест на каталазу бактерий *Pseudomonas stutzeri* 1-03, 3-92, 2-06, 4-04 (слева на право) в виде разрывов ГРМ-агара от выделения пузырьков газа под ростом колоний бактерий.

ной зоны на ярко синий сразу же от соприкосновения, самым последним через 14 минут среагировал штамм *Pseudomonas stutzeri* 3-92.

При выявлении фермента вторым способом (нанесение на поверхность колоний, выросших на ГРМ агаре при 37°C в течение 24ч, реактива на цитохромоксидазу (N,N-диметил-п-фенилендиамин)) у всех исследуемых штаммов появилось красное окрашивание колоний в течение 15 секунд. Самая яркая окраска колоний была у штамма *Ps. stutzeri* 1-03. Такой вариант теста считается более достоверным и подтверждает наличие фермента цитохромоксидазы у изучаемых культур (рис.3).

Отсутствие фермента уреазы, расщепляющей мочевины у исследуемых штаммов *Pseudomonas stutzeri*, установили с помощью среды Кристенса (отсутствие изменения цвета среды), способность этих же культур к продукции фермента цистиназы, расщепляющей цистин, доказана нами при помощи среды Пизу (почернение среды по ходу укола).

Способность утилизировать цитрат натрия выявляли на среде Симмонса. Изменение цвета среды с зеленого на синий произошло у *Pseudomonas stutzeri* 1-03 через 48ч культивирования, *Pseudomonas stutzeri* 3-92 и *Pseudomonas stutzeri* 4-04 через 144ч. Штамм *Pseudomonas stutzeri* 2-06 не подтвердил эту способность в течение 14 суток.

Среди изучаемых штаммов бактерий *Pseudomonas* только у штамма *Ps. stutzeri* 1-03 не подтвердилось наличие фермента лецитиназы, так как не образовалось вокруг колоний зон помутнения в результате расщепления лецитина желтка на фосфорхолины и не растворимых в воде жирных кислот. У колоний *Ps. stutzeri* 2-06, *Ps. stutzeri* 3-92 и *Ps. stutzeri* 4-04 были заметные зоны помутнения вокруг колоний.

Протеолитическая активность изучаемых культур была изучена на питательной среде с молоком. Все исследуемые штаммы *Ps. stutzeri* не продуцируют протеолитический фермент, обуславливающий пептонизацию молочного белка-казеина, в результате чего вокруг колоний не образовались прозрачные зоны, четко выделяющиеся на общем молочно-мутном фоне среды.

Способность культур *Ps. stutzeri* 1-03, *Ps. stutzeri* 2-06, *Ps. stutzeri* 3-92, *Ps. stutzeri* 4-04 к продукции фермента желатиназы, расщепляющей белки желатина, была подтверждена на среде с желатином, по разжижению питательной среды, с учетом контроля (рис.4).

На среде МакКонки с хлоридом натрия, солями желчных кислот и лактозой была определена ферментация лактозы у исследуемого штамма *Pseudomonas stutzeri* 4-04. Отсутствие ферментации лактозы было на этой среде у штамма *Ps. stutzeri*

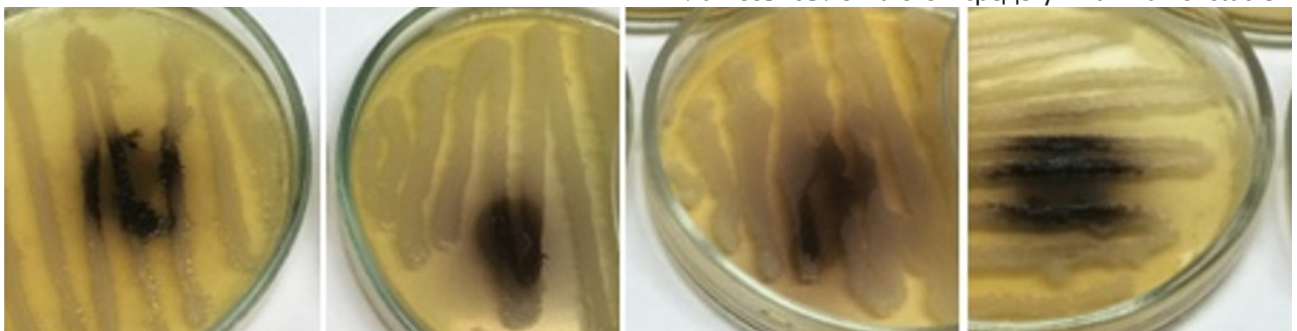


Рис. 3 - Положительный тест на определение цитохромоксидазы по Эрлиху, в виде появления окрашивания в фиолетовый цвет реактивных зон колоний бактерий *Pseudomonas stutzeri* 1-03, 3-92, 2-06, 4-04 (слева на право).



Рис. 4 - Разжижение желатина бактериями *Pseudomonas stutzeri* 1-03, 3-92, 2-06, 4-04 (слева направо).

Верхняя пробирка-контроль.

3-92 и *Ps. stutzeri* 1-03. Рост колоний бактерий исследуемого штамма *Ps. stutzeri* 2-06 на среде отсутствовал.

С помощью дифференциально-диагностических сред Гисса была выявлена способность расщеплять маннит, сорбит, арабинозу, сахарозу, ксилозу, мальтозу, рамнозу у всех изучаемых штаммов *Ps. stutzeri*.

При этом расщепление (ферментация) лактозы у всех исследуемых штаммов *Ps. stutzeri* было чаще не подтверждено, в том числе с помощью сред Клигера, Эндо, Левина и Плоскирева. Ферментация глюкозы наоборот чаще была подтверждена с помощью сред Клигера и Гисса. Опыты проводились несколько раз на разных средах.

Способность образования сероводорода у штаммов *Ps. stutzeri* 1-03, *Ps. stutzeri* 2-06, *Ps. stutzeri* 3-92, *Ps. stutzeri* 4-04 была определена и подтверждена на среде Клигера (почернение среды) в течение 46ч.

Продуцирование амилазы изучаемыми культурами было установлено при культивировании на ГРМ агаре с добавлением крахмала (от нанесения раствора Люголя образовывались зоны просветле-

ния среды вокруг колоний).

Гемолитические свойства штаммов изучались нами методом посева чистых культур на кровяной агар. Как оказалось, бактерии всех исследуемых штаммов *Ps. stutzeri* продуцируют гемолизин, разрушающий эритроциты с первых суток. Не полное разрушение эритроцитов в виде бета гемолиза, что подтвердилось незначительным просветлением среды вокруг колоний, зеленовато-коричневой окраски наблюдалось у бактерий штаммов *Ps. stutzeri* 1-03, *Ps. stutzeri* 3-92, *Ps. stutzeri* 4-04. А полное разрушение эритроцитов в виде альфа гемолиза, что подтвердилось полным просветлением среды вокруг колоний, наблюдалось только у штамма *Ps. stutzeri* 2-06 (рис.5).

Выводы

В результате проведенных исследований изучены тинкториальные, культуральные свойства и биохимическая активность бактерий вида *Ps. stutzeri*. На примере изучаемых штаммов микроорганизмов под регистрационными номерами *Pseudomonas stutzeri* 1-03, *Pseudomonas stutzeri* 2-06, *Pseudomonas stutzeri* 3-92, *Pseudomonas stutzeri* 4-04, полученных из музея бактериальных культур кафедры МВЭиВСЭ Ульяновского ГАУ, получены результаты, подтверждающиеся в большинстве случаев в научной литературе. Однако ряд данных, полученных по результатам биохимических исследований штаммов *Ps. stutzeri* (разжижение желатина, образование сероводорода, гемолиз, рамноза, сорбит), не совпадают с данными, найденными в научной литературе [1 – 3, 20 - 24].

По результатам проведенных исследований получены не найденные в научной литературе данные по росту штаммов *Ps. stutzeri* на ГРМ агаре при различных температурных режимах, росту на МПБ, среде с желтком и молоком.

По полученным результатам исследований основных биологических свойств бактериальных культур *Ps. stutzeri* нами будет создана схема вы-

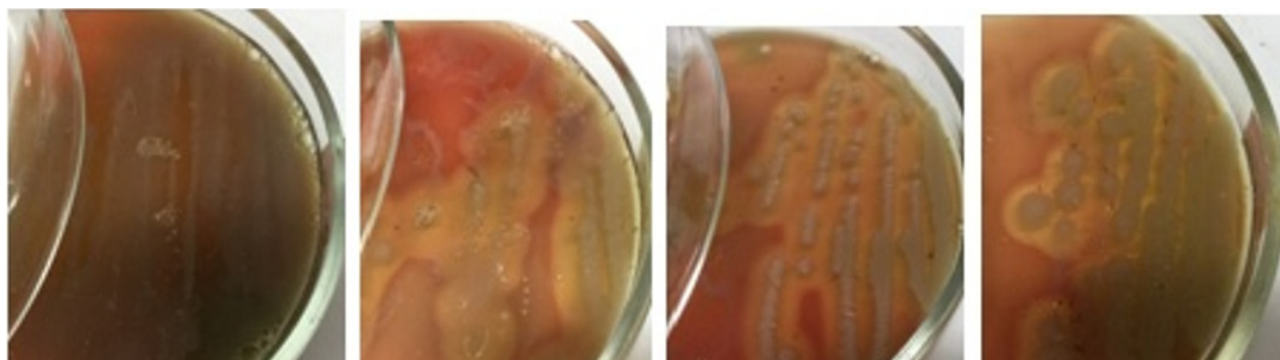


Рис. 5 - Гемолиз бактерий *Pseudomonas stutzeri* 1-03 альфа гемолиз и 3-92, 2-06, 4-04 бета гемолиз (слева направо) на кровяном агаре.

Таблица 1

Биологические свойства бактерий вида *Pseudomonas stutzeri*

| Признак | Результаты собственных исследований биологических свойств штаммов бактерий <i>Ps. stutzeri</i> | | | | Данные обзора научной литературы о биологических свойствах бактерий <i>Ps. Stutzeri</i> |
|--|---|--------------|--------------|--------------|---|
| | 1-03 | 3-92 | 4-04 | 2-06 | |
| Форма | палочки | палочки | палочки | палочки | палочки |
| Расположение | хаотичное | | | | н/д |
| Отношение к окраске по Граму | грамотрицательные | | | | грамотрицательные |
| Подвижность | подвижные | | | | подвижные |
| Колонии | округлая, плоская форма колоний с средним диаметром 2,5мм., с ровными краями, матовой, гладкой или сморщенной, влажной поверхностью, желто-молочного цвета, мажущейся, мягкой консистенции, легко снимаемые со среды петлей и отсутствием запаха. | | | | морщинистая, часто утрачиваемая в процессе лабораторного культивирования |
| Рост на ГРМ агаре 5°C | - | - | - | - | -,+ |
| Рост на ГРМ агаре 8°C | - | - | - | - | н/д |
| Рост на ГРМ агаре 11°C | +(после 48ч) | +(после 48ч) | +(после 48ч) | +(после 48ч) | н/д |
| Рост на ГРМ агаре 26°C | +(d=2мм) | +(d=4мм) | +(d=5 мм) | +(d=4 мм) | - |
| Рост на ГРМ агаре 37°C | +(d=1мм) | +(d=4мм) | +(d=3 мм) | +(d=4 мм) | + |
| Рост на ГРМ агаре 42°C | +(d=5мм) | +(d=2мм) | +(d=2,5мм) | +(d=2мм) | в, +, - |
| Рост на МПБ | рост в виде молочно-белой пленки на поверхности МПБ, при встряхивании пленка распадается на хлопья до равномерного помутнения всей питательной среды. | | | | н/д |
| Цистиназа (ращепление цистина) | + | + | + | + | + |
| Уреаза (расщепление мочевины) | - | - | - | - | в, - |
| Лецитиназа (среда с желтком) зона помутнения | - | + | + | + | н/д |
| Протеазы и пептидазы-протеолитический фермент (среда с молоком) | - | - | - | - | н/д |
| Желатиназа (разжижение желатина) | + | + | + | + | -,+ |
| Амилаза (гидролиз крахмала) | + | + | + | + | +, - |
| Манит | + | + | + | + | + |
| Сорбит | + | + | + | + | - |
| Глюкоза | + | -,+ | -,+ | -,+ | + |
| Лактоза | -,+ | -,+ | -,+ | -,+ | в, - |
| Арабиноза | + | + | + | + | в |
| Сахароза | + | + | + | + | - |
| Ксилоза | + | + | + | + | в |
| Мальтоза | + | + | + | + | + |
| Рамноза | + | + | + | + | - |
| Образование сероводорода | + | + | + | + | - |
| Утилизация цитрат натрия | + | + | + | - | в |
| Рост в отсутствии свободного кислорода (анаэробостат) | + | + | + | + | + |
| Оксидаза (цитохромоксидаза) | + | + | + | + | + |
| Каталаза | + | + | + | + | + |
| МакКонки (хлорид натрия, соли желчных кислот, лактоза) рост колоний | + | + | + | - | н/д |
| МакКонки (хлорид натрия, соли желчных кислот, лактоза) ферментация лактозы | - | - | + | - | в |
| Гемолизин (разрушение эритроцитов) | +(β-гемолиз) | +(β-гемолиз) | +(β-гемолиз) | +(α-гемолиз) | - |

Примечания. «+»-положительный признак, «-»-отрицательный признак, «в» признак варьирует, н/д-нет данных (не найдено информации), d-диаметр колоний бактерий.

деления и видовой идентификации бактерий *Ps. stutzeri*.

Библиографический список

1. Зубков, М.Н. Госпитальные инфекции. Инфекции и антимикробная терапия. Неферментирующие бактерии: классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Идентификация *Pseudomonas spp.* и сходных микроорганизмов / М.Н. Зубков // *Consilium medicum*. - 2003. - Т. 5, №1. - С.32-39.
2. Ким, А.В. Биологическая характеристика морских псевдомонад, выделенных из районов с разной степенью антропогенной нагрузки / А.В. Ким. - Текст : электронный // Студенческий научный форум. Материалы VI Международной студенческой научной конференции. - URL: https://scienceforum.ru/2014/article/2014002494 (дата обращения: 12.02.2019).
3. Богатыренко, Елена Александровна. Характеристика культивируемых гетеротрофов микробного сообщества кишечника дальневосточного трепанга *APOSTICHOPUS JAPONICUS*: дис. ... канд. биологических наук: 03.02.08. - Текст : электронный / Е.А. Богатыренко. - Владивосток, 2013. - URL: www.dissercat.com/content/kharakteristika-kultiviruemykh-geterotrofov-mikrobnogo-soobshchestva-kishechnika-dalnevostoc
4. Molecular analysis of diazotroph diversity in the rhizosphere of the smooth cordgrass *Spartina alterniflora* / C.R. Lovell, Y. M. Piceno, J. M. Quattro, C. E. Bagwell // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2000. - № 66. - P. 3814-3822.
5. *Pseudomonas spp.* complications in patients with HIV disease: an eight-year clinical and microbiological survey / R. Manfredi, A. Nanetti, M. Ferri, F. Chiodo // *Eur. J. Epidemiol.* - 2000. - № 16. - P. 111-118.
6. Tan, R.J.S. Unusual cause of urinary-tract infection by *Pseudomonas stutzeri* in Singapore / R. J. S.Tan, E. W. Lim, R. Sakazaki // *Jpn. J. Exp. Med.* - 1977. - № 47. - P. 311-313.
7. Jiraskova, N. Delayed-onset *Pseudomonas stutzeri* endophthalmitis after uncomplicated cataract surgery / N. Jiraskova, P. Rozsival // *J. Cataract Refr. Surg.* - 1998. - № 24. - P. 866-867.
8. Late-onset bleb-related panophthalmitis with orbital abscess caused by *Pseudomonas stutzeri* / D. Lebowitz, R. Gurses-Ozden, R.F. Rothman, J.M. Liebmann, C. Tello, R. Ritch // *Arch. Ophthalmol.* - 2001. - № 119. - P. 1723-1725.
9. Burri, R. Ueber Nitrat zerstorende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust. *Zentbl. Bakteriol. Parasitenkd / R. Burri, A. Stutzer // Abt.* - 1895. - № 1. - PP. 257-265, 350-364, 392-398, 422-432.
10. Леманн, К. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik / K. Lehman, B. Neumann Lehman. - Munchen. - P. 1896-1927.
11. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А.С. Лабинская. - 4-е изд., перераб. и доп. - Москва: Медицина, 1978. - 394 с., ил.
12. Васильев, Д.А. Учебно-методическое пособие по методам общей бактериологии / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, И.Г. Швиденко. - Ульяновск, 2016. - 152 с.
13. Биргер, М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований / М.О. Биргер. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва: Медицина, 1982. - 464 с.
14. Равилов, А.З. Микробиологические среды / А.З. Равилов, Р. Я. Гильмутдинов, М. Ш. Хусаинов. - Казань: Фэн, 1999. - 398 с.
15. Методы исследования в микробиологии: учебно-методическое пособие / Ж.Г. Шабан [и др.]. - Минск: БГМУ, 2010. - 158 с.
16. Бакулин, М.К. МИКРОБИОЛОГИЯ: методические указания к лабораторным работам и учебной практике / М. К. Бакулин, А.А. Лещенко, Е. В. Чеботарев. - Киров, 2005. - 200 с.
17. Емцев, В.Т. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. - Москва: Дрофа, 2016. - 176 с.
18. Сбойчаков, В. Микробиология с основами эпидемиологии и методами микробиологических исследований / В. Сбойчаков. - Москва: СпецЛит, 2015. - 200 с.
19. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / редактор А.А. Воробьева. - Москва: МИА, 2016. - 126 с.
20. Рубин, Е.Л. Физиология и биохимия представителей рода *Pseudomonas* / Е.Л. Рубин. - Москва: Наука, 1986. - 200 с.
21. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, Online © 2015 Bergey's Manual Trust. This article is © 2005 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01210. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust.
22. Смирнов, В.В. Бактерии рода *Pseudomonas* / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова; ответственный редактор Б.Е. Айзспман; АН УССР; Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. - Киев: Наукова думка, 1990. - 264 с.
23. Акулов, К.И. Определение грамотрицательных потенциально патогенных бактерий- возбу-

дителей внутрибольничной инфекции: методические рекомендации / К.И. Акулов, В.М. Христюк. – Текст: электронный // ТЕХЭКСПЕРТ электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. - 1986. – URL: docs.cntd.ru/document/1200087675 (дата обращения: 12.02.2019)

24. Довгилевич, Г.А. Выделение и идентификация штаммов синегнойной палочки из клинического материала: методические рекомендации / Г.А. Довгилевич. - Текст : электронный // StandartGOST. - 1983. – URL: <https://standartgost.ru/g/pkey-14293750808> (дата обращения: 12.02.2019).

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PSEUDOMONAS STUTZERI BACTERIA

Fedotova T.A., Shestakov A.G., Vasiliev D.A.
FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University

432017, Ulyanovsk, Novy Venets boulevard, building 1; tel. : 8-917-606-07-73 8 (8422) 55-95-47, e-mail: fedotova.tatyana@list.ru

Key words: bacterium, Pseudomonas, Ps. stutzeri, tinctorial properties, cultural properties, biochemical activity.

The article presents results of a study of the biological properties of bacteria *Pseudomonas stutzeri*. These microorganisms are important due to features of their metabolism, as they affect the processes of metal conversion, degradation of biogenic xenobiotics and are capable of causing diseases. At the moment, the question is about obtaining a fast and highly specific method for differentiation of *Ps. stutzeri* bacteria. The work was performed on strains of *Ps. stutzeri* under registration numbers 1-03, 2-06, 3-92, 4-04, obtained from the collection of the museum of bacterial cultures of the Department of Veterinary medicine of Ulyanovsk State Agrarian University. Laboratory equipment, glassware, culture media and reagents were used. As a result of the studies, tinctorial, cultural properties and biochemical activity of *Ps. stutzeri* bacteria were studied. Most of the research results (morphological, tinctorial properties, growth on beef-extract agar-agar at 5 °C, 37 °C, 42 °C, growth in the absence of free oxygen, splitting of cystine, urea, starch hydrolysis, utilization of sodium citrate, oxidase and catalase test, mannitol, glucose, lactose, arabinose, xylose, maltose) are confirmed in scientific literature. However, some of the results obtained from our own biochemical studies of *Ps. stutzeri* (gelatin thinning, hemolysis, rhamnase, sucrose, sorbitol, growth at 26 °C) do not coincide with published data. In our own studies, new results were obtained on cultivation of *Ps. stutzeri* bacteria on beef-extract broth, the formation of hydrogen sulfide, their growth at 8 °C, 11 °C on beef-extract agar-agar, the characteristics of bacterial colonies on a medium with yolk and milk.

Bibliography

1. Zubkov, M.N. Hospital infections. Infections and antimicrobial therapy. Non-fermenting bacteria: classification, general characteristics, role in human pathology. Identification of *Pseudomonas* spp. and similar microorganisms / M.N. Zubkov // *Consilium medicum*. - 2003. –V. 5, No. 1. - P. 32-39.
2. Kim, A.V. Biological characteristics of marine pseudomonads isolated from areas with varying degrees of anthropogenic load / A.V. Kim. - Text: electronic // Student Scientific Forum. Materials of the VI International Student Scientific Conference. - URL: <https://scienceforum.ru/2014/article/2014002494> (access date: 12.02.2019).
3. Bogatyrenko, Elena Aleksandrovna. Characterization of incubated heterotrophs of intestine microbial community of the Far Eastern trepang APOSTICHOPUS JAPONICUS: dissertation of Candidate of Biological Sciences: 03.02.08. - Text: electronic / E.A. Bogatyrenko. - Vladivostok, 2013. - URL: www.dissertat.com/content/kharakteristika-kultiviruemykh-geterotrofov-mikrobnogo-soobshchestva-kishechnika-dalnevostoc
4. Molecular analysis of diazotroph diversity in the rhizosphere of the smooth cordgrass *Spartina alterniflora* / C.R. Lovell, Y. M. Piceno, J. M. Quattro, C. E. Bagwell // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2000. - № 66. – P. 3814-3822.
5. *Pseudomonas* spp. complications in patients with HIV disease: an eight-year clinical and microbiological survey / R. Manfredi, A. Nanetti, M. Ferri, F. Chiodo // *Eur. J. Epidemiol.* - 2000. - № 16. – P. 111-118.
6. Tan, R.J.S. Unusual cause of urinary-tract infection by *Pseudomonas stutzeri* in Singapore / R. J. S.Tan, E. W. Lim, R. Sakazaki // *Jpn. J. Exp. Med.* - 1977. - № 47. – P. 311-313.
7. Jiraskova, N. Delayed-onset *Pseudomonas stutzeri* endophthalmitis after uncomplicated cataract surgery / N. Jiraskova, P. Rozsival // *J. Cataract Refr. Surg.* - 1998. - № 24. – P. 866-867.
8. Late-onset bleb-related panophthalmitis with orbital abscess caused by *Pseudomonas stutzeri* / D. Lebowitz, R. Gurses-Ozden, R.F. Rothman, J.M. Liebmann, C. Tello, R. Ritch // *Arch. Ophthalmol.* - 2001. - № 119. – P. 1723-1725.
9. Burri, R. Ueber Nitrat zerstorende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust. *Zentbl. Bakteriol. Parasitenkd / R. Burri, A. Stutzer // Abt.* - 1895. - № 1. – PP. 257-265, 350-364, 392-398, 422-432.
10. Lehman, K. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik / K. Lehman, B. Neumann Lehman. - Munchen. – P. 1896-1927.
11. Labinskaya, A.S. Microbiology with microbiological research method / A.S. Labinskaya. - 4th ed., revised and updated. - Moscow: Medicine, 1978.- 394 p., ill.
12. Vasiliev, D.A. Study manual on the methods of general bacteriology / D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin, I.G. Shvidenko. - Ulyanovsk, 2016. - 152 p.
13. Birger, M.O. Handbook of microbiological and virological research methods / M.O. Birger. - 3rd ed., revised and updated. - Moscow: Medicine, 1982. - 464 p.
14. Raviлов, A.Z. Microbiological media / A.Z. Raviлов, R. Ya. Gilmutdinov, M. Sh. Khusainov. - Kazan: Fen, 1999. -- 398 p.
15. Research methods in microbiology: study manual / Zh.G. Shaban [et al.]. - Minsk: BSMU, 2010. -- 158 p.
16. Bakulin, M.K. MICROBIOLOGY: guidelines for laboratory work and educational practice / M.K. Bakulin, A.A. Leshchenko, E.V. Chebotarev. - Kirov, 2005. - 200 p.
17. Emtsev, V.T. Microbiology / V.T. Emtsev, E.N. Mishustin. - Moscow: Drofa, 2016. -- 176 p.
18. Sboychakov, V. Microbiology with the basics of epidemiology and methods of microbiological research / V. Sboychakov. - Moscow: SpetsLit, 2015. -- 200 p.
19. Medical microbiology, virology and immunology / editor A.A. Vorobyova. - Moscow: MIA, 2016. -- 126 p.
20. Rubin, E.L. Physiology and biochemistry of representatives of *Pseudomonas* genus / E.L. Rubin. - Moscow: Nauka, 1986. -- 200 p.
21. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, Online © 2015 Bergey's Manual Trust. This article is © 2005 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01210. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust.
22. Smirnov, V.V. Bacteria of *Pseudomonas* genus / V.V. Smirnov, E.A. Kiprianova; executive editor B.E. Aizspman; USSR Academy of Sciences; Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny. — Kiev: Naukova Dumka, 1990. — 264 p.
23. Akulov, K.I. Specification of gram-negative potentially pathogenic bacteria-pathogens of intrahospital infection: guidelines / K.I. Akulov, V.M. Khristyuk. - Text: electronic // TEXPERT electronic fund of legal and regulatory technical documentation. - 1986. - URL: docs.cntd.ru/document/1200087675 (access date: 12.02.2019)
24. Dovgilevich, G.A. Isolation and identification of *Pseudomonas aeruginosa* strains from clinical material: guidelines / G.A. Dovgilevich. - Text: electronic // StandartGOST. - 1983. - URL: <https://standartgost.ru/g/pkey-14293750808> (access date: 12.02.2019).