

УДК 579.22

## РАЗРАБОТКА СЕЛЕКТИВНОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ФЛАВОБАКТЕРИОЗА

*А.Г. Семанин, аспирант, 8(8422) 55-95-47, Anton-vet@mail.ru,*

*Н.П. Пекарская, студентка, 8(8422) 55-95-47, Nat-v@mail.ru,*

*С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор,  
тел. 8(8422)55-5-47, fvm.zol@yandex.ru,*

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

*(8422)55-95-47, dav\_ul@mail.ru*

**ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА**

**Ключевые слова:** *Flavobacterium psychrophilum*, селективная среда, бактериологическое исследование, бактериальная холодноводная болезнь, флавобактериоз.

В статье освещаются результаты собственных исследований по подбору компонентов питательных сред для первичного выделения возбудителя флавобактериоза рыб.

**Введение.** По статистике приблизительно один миллиард человек полагается на рыбу как на свой основной источник животного белка, особенно в областях с небольшим количеством домашнего скота. Вспышки бактериальных инфекций - основная проблема в аквакультурах, причиняющая значительный ущерб рыбоводческим хозяйствам во всем мире.

Бактериальный инфекционный агент *Flavobacterium psychrophilum* является возбудителем жареного синдрома радужной форели (RTFS) и бактериальной болезни холодной воды (BCWD) [1-3].

Диагноз на флавобактериоз устанавливают на основании комплексных клинико-эпизоотологических данных, результатов бактериологических исследований, патологоанатомического заключения. Для лабораторной идентификации возбудителя рекомендованы культуральный и иммунологические методы.

Целью работы явилась разработка селективной добавки для первичного выделения и идентификации бактерий вида *F. psychrophilum*.

**Материалы и методы.** Штаммы *F. Psychrophilum* №512, №10, №502 из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской ГСХА, пробы воды с реки Волга, Урень, Нева, бассейнов с осетром и сомами, мясо-пептонный агар и бульон (ФБУН ГНЦПМиБ), набор окраски по Граму (НИЦФ), 2% - раствор перекиси водорода (Тульская фармацевтическая фабрика); Среды Гисса (Биокомпас-С), среда с

желатином, 1% раствор тетраметилпарафенилендиамин дигидрохлорида, конго-красный (LACHEMA), канамицин.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для выбора селективных компонентов были использованы 36 антимикробных средств.

Мы провели количественное определение максимальной подавляющей концентрации антибиотиков методом серийных разведений в бульоне (макрометод) согласно МУК 4.2.1890-04.

Для приготовления основного раствора антибиотиков в качестве растворителя использовали стерильный физиологический раствор.

Суспензию *F. psychrophilum* 512 готовили из агаровой культуры. Отобрали несколько однотипных четко изолированных колоний с МПА. Бактериологической петлей перенесли материал с верхушек колоний в пробирку со стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, доводя плотность инокулята до 0,5 по стандарту МакФарланда. Стандартную микробную взвесь разводили в 100 раз в питательном бульоне, после чего концентрация микроорганизма в ней составила примерно  $10^6$  КОЕ/мл. Инокулят вносили в пробирки не позднее 30 минут с момента приготовления.

Из полученных результатов, стало очевидно, что концентрация канамицина в субстрате не должна превышать 100 мкг/мл.

Далее были проведены исследования по определению чувствительности канамицина к сопутствующей микрофлоре при выделении *F. psychrophilum* из внешних объектов окружающей среды. Данная микрофлора полностью подавлялась антибиотиком в испытуемой концентрации.

**Вывод.** Как правило, рост желтых пигментных колоний *F. Psychrophilum* составлял менее 10% при культивировании только на питательном агаре, но после добавления в питательную среду канамицина рост колоний *F. Psychrophilum* составил 80%. Эта среда является полезным дополнением к ряду питательных сред, доступных для выделения и дальнейшего исследования данных микроорганизмов.

#### Библиографический список

1. Викторов Д.А. Результаты изучения биохимических свойств *Flavobacterium psychrophilum* / Д.А. Викторов, А.П. Воротников, Н.А. Парамонова, Д.А. Васильев // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург, 2014. - С. 53-54
2. Семанин А.Г. Разработка параметров идентификации *Flavobacterium psychrophilum* / А.Г. Семанин, Д.Г. Сверкалова, А.Г. Шестаков // Достижения

- молодых учёных – в ветеринарную практику. Материалы IV Международной научной конференции. –Владимир, 2016. – С. 149-156
3. Семанин А.Г. Выделение и типирование *Flavobacterium psychrophilum* из объектов аквакультуры / А.Г. Семанин, Д.Г. Сверкалова, А.И. Калдыркаев, А.Г. Шестаков, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. –Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2016. - С. 280-283.
  4. Семанин А.Г. Таксономия бактерий рода *bordetella*/ А.Г. Семанин, Е.И. Суркова, А.С. Скорик // В мире научных открытий. Материалы IV Всероссийской студенческой научной конференции. –Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2015. - С. 176-179.
  5. Семанин А.Г. Селективные компоненты к питательной среде для выделения *b.bronchiseptica* / А.Г. Семанин, Е.И. Суркова, А.С. Скорик, А.Н. Пирюшова // В мире научных открытий. Материалы IV Всероссийской студенческой научной конференции. –Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2015. - С. 265-268.
  6. Maya Maria Mihályi Henriksen. *Flavobacterium psychrophilum* experimental challenge and immune response, 2013. - С. 25-28
  7. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition Vol. 4 Springer New York Dordrecht Heidelberg London, 2010

## DEVELOPMENT OF SELECTIVE ADDITIVE FOR ALLOCATION OF THE FLAVOBAKTERIOZ ACTIVATOR

*Semanin A.G., Pekarskaya N.P., Zolotukhin S.N., Vasiliev D.A.*

**Keywords:** *Flavobacterium psychrophilum, selective environment, bacteriological research, bacterial cold water disease, flavobakterioz.*

*Results of own researches on selection of components of nutrient mediums for primary allocation of the activator of a flavobakterioz of fishes are covered in article.*