

УДК 579.62

## ВЫДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУРЫ *AEROMONAS HYDROPHILA* ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,  
dav\_ul@mail.ru*

*В.С. Маланина, аспирант, vlada240535@mail.ru*

*К.В. Мартынова, аспирант, belova\_ksenya@mail.ru*

*Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,  
feokna@yandex.ru*

*Е.В. Сульдина, ассистент кафедры, e.suldina2006@yandex.ru*

*А.В. Мастиленко, кандидат биологических наук, доцент,  
avmastilenko@mail.ru*

**ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ**

**Ключевые слова:** *Aeromonas hydrophila*, бактериофаг, специфичность, биологические свойства.

В статье описаны результаты выделения бактерий рода *Aeromonas hydrophila* из пищевого сырья и сравнения двух методов дифференциации – фагоидентификации и метод изучения физиолого-биохимических свойств.

**Введение.** Бактерии *Aeromonas hydrophila* имеют широкое распространение в биосфере. Данный микроорганизм может быть выделен практически из всех экологических ниш, где существуют бактериальные экосистемы. Бактерии рода *Aeromonas* были признаны патогенными для человека и животных. Данный микроорганизм вызывает заболевания многих видов рыб, обуславливая их падеж и гибель, в результате чего экономика многих стран несет огромные экономические потери. Так как основными резервуарами бактерий рода *Aeromonas* является вода, то главным инфекционным источником для человека являются продукты питания из пресной и солёной воды [3,5].

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследования стали пробы речной рыбы. Всего исследовано 30 проб объектов внешней среды. Выделение и идентификацию бактерий проводили в соответствии с «Инструкцией по выделению и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*», разработанной в ФГБОУ ВПО Ульяновская ГСХА Канаевой Т. И., методическими рекомендациями «Методы исследований объектов окружающей среды и патологического матери-

ала на аэромонады», разработанные Московским НИИ гигиены им. Эрисмана [6]. Индикацию бактерий *Aeromonas hydrophila* в объектах внешней среды проводили по методам В. Д. Тимакова, Д. М. Гольдфарба, В. Я. Ганюшкина [1,2].

**Результаты исследования и выводы.** Посев материала производили на накопительную среду УГСХА-1, инкубировали в термостате 24 часа при температуре 37°C. По окончании инкубации при помутнении среды и разжижении желатина делали посевы на плотную селективную среду УГСХА-2. Чашки со средой УГСХА-2 инкубировали в термостате 24 часа при температуре 37°C. После инкубации на чашках наблюдали рост округлых, выпуклых, светло-бежевых, блестящих колоний 2–3 мм в диаметре. Данные колонии по 4–6 штук пересевали в пробирки с МПБ и инкубировали в термостате 24 часа при температуре 37°C. После инкубации проводили микроскопию и окрашивание по Граму. При обнаружении в мазках грамотрицательных прямых палочек с закругленными концами, располагающихся поодиночке или небольшими цепочками, проводили дальнейшую идентификацию культур на основе определения культурно-морфологических и биохимических свойств. Было выделено 11 штаммов, колонии которых были грамотрицательные и морфология которых сходна с бактериями *Aeromonas hydrophila* [2,5]. Дальнейшую идентификацию выделенных штаммов бактерий проводили по следующим тестам: определение подвижности методом «висячая капля» и посев «уколом» в 0,3% МПА, тест на оксидазу, тест на каталазу, образование индола, реакция с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра, образование сероводорода, ферментации глюкозы (OF-тест), тест на наличие аргинина, лизина, гидролиз эскулина, усвоение цитрата, уроганиновой кислоты, DL-лактата, окисление глюконата. Изучали ферментативные свойства штаммов на средах с углеводами: L-арабинозой, целлобиозой, лактозой, L-рамнозой, D-сорбитолом, маннитом, мальтозой, сахарозой. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Из 11 штаммов бактерий рода *Aeromonas*, 8 штаммов проявили биохимические свойства, характерные для бактерий *Aeromonas hydrophila*. Дальнейшую идентификацию выделенных штаммов бактерий проводили методом фагоидентификации. На предварительно разлитые и подсушенные чашки Петри с 1,5% МПА пипеткой нанесли 2–3 капли бульонной 12-24-часовой бульонной культуры, затем равномерно распределяли стерильным шпателем, инкубировали в

Таблица 1 – Биохимические признаки бактерий рода *Aeromonas*

Тест	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Другие <i>Aeromonas</i>
Подвижность	+	+
Оксидаза	+	+
Каталаза	+	+
Желатин	+	+
Образование индола	+	+
Реакция с метиловым красным	+	-
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	-
Образование H <sub>2</sub> S	+	-
OF-тест	+	-
Лизин	+	-
Орнитин	-	-
Гидролиз эскулина	+	-
Усвоение уроканиновой кислоты	-	+
Окисление глюконата	-	-
Усвоение DL-лактата	+	-
Образование кислоты из:		
Целлобиозы	-	+
L-арабинозы	+	-
L-рамнозы	-	-
Д-сорбитола	-	+
Мальтозы	+	-
Сахарозы	+	-
Эластазы	-	+
Количество штаммов	8	3

термостате в течение 15 - 20 минут для подсушивания. Легким прикосновением пипетки наносили по предварительно разделенным на чашке секторам штамм фага 43-УГСХА, для контроля каплю МПБ, для стечения капли чашки наклоняли. Инкубировали в термостате 18 - 24 часа при температуре 37°C в перевернутом виде. При наличии зоны лизиса на чашке Петри результат считался положительным. [1.4]

**Выводы.** Из 30 проб речной рыбы было выделено 8 штаммов *Aeromonas hydrophila* методом фагоидентификации, который строго специфичен и позволяет значительно сократить сроки исследования,

уменьшает расход реактивов, посуды. Методика исследования фаго-идентификацией занимает 22±2 часа. Физиолого-биохимическая идентификация бактерий *Aeromonas hydrophila* – это материалоемкое и трудоемкое исследование в течение 192 часа (8 суток).

Исследование проводится в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2018 году.

#### *Библиографический список*

1. Адамс М. Бактериофаги (перевод с англ.) // М., 1961.-521 С.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия // М.: Медгиз., 1961, -297С.
3. Васильев Д.А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Aeromonas hydrophila*/ Д.А. Васильев, А.В. Алёшкин, С.Н. Золотухин, Н.А.Феоктистова, И.Р. Насибуллин, П.С.Майоров, Е.В.Сульдина, [и др.] // Естественные и технические науки № 12 (114) 2017. С. 48-53.
4. Насибуллин И.Р. Влияние физических, химических факторов и режимов хранения на литическую активность аэромонадных бактериофагов/ И.Р. Насибуллин, Д.А. Васильев, И.Г. Швиденко // Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. № 3 (27) . С. 73-76
5. Тугаринов О.А. Бактериофаги в биотехнологии и пищевой промышленности / Тугаринов О.А., М.К.Пирожков, Ю.А.Малахов // Сборник научных трудов. М.:ВГНКИ, Т.62, 2001. С. 68-75.
6. Васильев Д.А. Разработка бактериологического метода идентификации микроорганизмов *A.hydrophila*/ Васильев Д.А., Мерчина С.В., Молофеева Н.И. Канаева Т.И., Н.Г.Барт // Материалы VII Международной научно-практической конференции. Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина. 2016. С.192-203.

## **ISOLATION CULTURE OF AEROMONAS HYDROPHILA FROM ENVIRONMENTAL OBJECTS**

***Vasilyev D. A., Malanina V.S., Martynova K.V., Feoktistova N.A.,  
Suldina E.V., Mastilenko A.V.***

**Key words:** *Aeromonas hydrophila, bacteriophage, specificity, biological properties.*

*The article describes the results of isolation of bacteria of the genus *Aeromonas hydrophila* from food raw materials and comparison of two methods of differentiation – vasodentinal and method for the study of physiological and biochemical properties.*