

УДК 579(24)

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДА *AEROMONAS HYDROPHILA*

*Никитина П.А., ученица 9 класса Областного
государственного бюджетного общеобразовательного
учреждения «Гимназия №1 имени В.И.Ленина»,
polinaok81@gmail.com*

*Научные руководители: Ломакин А.А., аспирант 2 года,
Минаева А.Н., аспирант 1 года,
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Aeromonas, Aeromonas hydrophila*, биохимические свойства.

Статья посвящена изучению биохимических бактерий рода *Aeromonas, A. hydrophila*. В результате проведенного исследования нами были изучены основные биологические свойства бактерий штамма *A. hydrophila* А1. Бактерии продуцируют ферменты оксидазу и каталазу, расщепляет цитрат, лактат и рад сахаров. Полученные результаты лягут в основу разработке схемы выделения, индикации и идентификации бактерий вида *A. hydrophila*.

Введение. Бактерии *Aeromonas hydrophila* являются гетеротрофными, грамотрицательными палочками. *Aeromonas hydrophila* – самый известный из шести видов, принадлежащих к роду *Aeromonas*. Обычно клетки имеют размеры от 0,3 до 1,0 мкм в диаметре и от 1,0 до 3,5 мкм в длину. Микроорганизм не образует эндоспор и может расти при температуре до 4 ° С. Эта бактерия передвигается по полярным жгутиками. *A. hydrophila* является основным патогенном как для рыб и земноводных, но так же может вызывать заболевания у человека. Одно из заболеваний, которое он может вызвать у людей, гастроэнтерит, чаще всего встречается у маленьких детей и людей с ослабленной иммунной системой или проблемами роста. Эта бактерия может быть найдена в пресной, соленой, устьевой, морской, хлорированной и нехлорированной воде во всем мире, причем наибольшее количество наблюдается в более теплом климате [1,2,4].

Виды *Aeromonas* известны своей высокой однородностью, что затрудняет идентификацию этих видов только по внешне проявля-

емым признакам – свойствам (фенотипам). Например, несмотря на то, что бактерии *A. hydrophila* обладают типичными характеристиками микроорганизмов рода *Aeromonas*, такими как: подвижность, грамотрицательность, способность восстанавливать нитраты до нитритов, их часто ошибочно принимают за *A. dhakensis*. Кроме того, маркерные гены, такие как гены 16S рРНК, *groD* и *gyrB*, ненадежны для различения близкородственных видов *Aeromonas* или для идентификации *Aeromonas* на уровне вида из-за их низкой различаемости (гетерогенности) [1,2,5,6].

Целью данного исследования является изучение биохимических особенностей бактерий *A. hydrophila*.

Материалы и методы. В работе нам был использован полевой штамм бактерий *Aeromonas hydrophilia* A1 полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ».

Материалы: бульон с лизином (HIMEDIA, Индия), бульон с аргинином (HIMEDIA, Индия), бульон с орнитином (HIMEDIA, Индия), среда Симманса (ФБУН «ГНЦ ПМБ», Оболенск), среда для выявления ДНКазы (Condalab, Испания), среды Гисса (НПО «Питательные среды», г. Махачкала), уреазный агар Кристенсена (HIMEDIA, Индия), Питательная Среда №15 ГРМ (ФБУН ГНЦПМиБ, Россия, г. Оболенск), натрий хлорид (ДИАМ, Россия), лактат (JINDAN, Китай), сульфат магния (ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург), гидрофосфат натрия (AppliChem, Испания), хлорид аммония (ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург), 6% перекись водорода (ООО «Химмед», г. СанктПетербург), тетраметил-р-фенилендиаминдигидрохлорид (AppliChem, Испания).

Оборудование: микроскоп ZEISS Primo Star, Германия; тринокуляр с видеосистемой; термостат ТС-80М-2; автоклав ГК-100-3; шкаф сушильностерилизационный ШСС-80п УХЛ 424; установка бактерицидная УГД-2; лабораторная посуда общего назначения, мерная лабораторная посуда.

Методы: Исследований проводили по рекомендациям «Методы исследований объектов окружающей среды и патологического материала на аэромонады», разработанные Московским научно-исследовательским институтом гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана в 1980 году. Морфологические, культуральные, биохимические свойства определяли по методам рекомендованным А.С. Лабинской (1974). Подвижность бактерий исследовали двумя методом посева «уколом» в полу-

жидкий агар (Лабинская, 1974). Для определения чувствительности *Aeromonas hydrophila* к химиотерапевтическим средствам использовали метод диффузии в агар с применением стандартных дисков, содержащих антибиотики (Паркер, 1988).

Результаты собственных исследований. Нами была изучена способность продуцировать бактериями штамма *Aeromonas hydrophila* A1 ферменты оксидаза и каталаза.

В результате исследований на наличия *A. hydrophilia* фермента цитохромоксидазы, путем нанесения на колонии каплю 1% раствора тетраметил-р-фенилендиаминдигидрохлорида, наблюдали появление розового окрашивания. Данный факт указывает на присутствие фермента цитохромоксидазы у изучаемой бактерии.

Путем нанесения на выросшие колонии *A. hydrophila* 25 мкл 6% перекиси водорода, было выявлено, что исследуемый штамм проявляет каталазную активность, о чем свидетельствует активное газообразование и вспенивание после контакта перекиси водорода 6% с колониями бактерий.

Бактериальные культуры штамма *A. hydrophila* через 72 ч инкубирования при 30°C на среде ДНКазы агар формировали крупные, прозрачные, круглые, с ровными краями, выпуклые, глянцевые колонии. При добавлении 1 N раствора HCl, наблюдалось появление прозрачных зон вокруг колоний. Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что у исследуемого штамма микроорганизма присутствует дезоксирибонуклеазная активность.

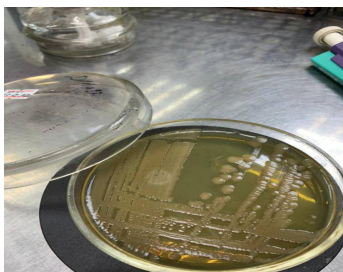


Рисунок 1 – Изучение ДНКазной активности бактерий *A. hydrophila* A1 на среде для определения ДНКазы через 48 часов культивирования при 30°C

Так же было установлено, что бактерии *A. hydrophila* A1 продуцируют такие ферменты такие как индол. Для выявления индола в среду №15 после 30°C через 72 часа был добавлен реактив Эрлиха, через 2 минуты было обнаружено изменение цвета среды на розовой, что свидетельствует о способности бактериями продуцировать индол.

Для выявления способности нашего штамма бактерий к редукции нитрата был произведен посев на нитратный бульон, через 72 часа культивирования при 30°C в пробирке были добавлены сульфаниловая кислота, альфа-Нафтиламиновый реактив и цинковую пыль. Через 2 минуты было выявлено изменение цвета среды на розовый, что указывает на редукцию нитрата.

При культивировании штамма *A. hydrophila* A1 на агаре Симмонса при температуре культивирования 30°C в течении 24 ч роста не наблюдается, через 48 ч культивирования – отмечается рост по скосу в виде штриха снизу-вверх, происходят изменения цвета среды, через 72 часа культивирования – отмечается более выраженный рост бактерий по поверхности скоса вверх, происходит изменения цвета среды на синий. При культивировании штамма *Aeromonas hydrophila* A1 на агаре Симмонса при температуре культивирования 30°C в течении 24 ч роста не наблюдается, через 48 ч культивирования – отмечается рост по скосу в виде штриха снизу-вверх, происходят изменения цвета среды, через 72 часа культивирования – отмечается более выраженный рост бактерий по поверхности скоса вверх, происходит изменения цвета среды на синий, что свидетельствует о расщеплении цитрата.

Нами было установлено, что бактерии *Aeromonas hydrophila* A1 способны утилизировать лактат натрия в качестве единственно-го источника углерода в среде.

Исследуемый штамм *A. hydrophila* A1 хорошо растет на уреазном агаре Кристенсена при культивировании при температуре 30°C в течение 72 часов. Изменения цвета среды не произошло в течение 72 ч наблюдений, что позволяет сделать вывод о том, что штамм не разлагает мочевины, то есть не продуцирует уреазу (изменение цвета среды под колониями обусловлено защелачивание среды из-за утилизации пептонов среды).

При культивировании штамма *A. hydrophila* A1 в пробирках со средами Гисса при температуре культивирования 30°C в течении 24 ч помутнения среды и изменения цвета не наблюдается. Через 48 ч

культивирования в пробирках с глюкозой наблюдается слабое помутнение среды и изменение цвета на желтый, в пробирке с сорбитом - выявляется окислительный процесс в верхних слоях. Также выявляется рост и изменение цвета в пробирках с глюкозой, лактозой, сорбитом, фруктозой, маннитом, мальтозой и сахарозой. В пробирке с раффинозой изменений не наблюдается.

При культивировании штамма *Aeromonas hydrophila* в пробирке со средой бульон для определения лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, аргининдекарбоксилазы при температуре культивирования 30°C в течении 72ч наблюдается помутнение среды. Изменение цвета среды изменение цвета наблюдается в на среде с лизином и аргинином, что свидетельствует о способности бактерий расщеплять лизин и аргинином.

Выводы. В результате проведенного исследования нами были изучены основные биологические свойства бактерий штамма *A. hydrophila* A1. Бактерии продуцируют ферменты оксидазу и каталазу, расщепляет цитрат, лактат и ряд сахаров(глюкоза, лактоза, сорбит, фруктоза, маннит, мальтоза и сахараза).

Полученные результаты лягут в основу разработке схемы выделения, индикации и идентификации бактерий вида *A. hydrophila*.

Библиографический список:

1. Awan F. et al. The fight for invincibility: environmental stress response mechanisms and *Aeromonas hydrophila* //Microbial pathogenesis. – 2018. – Т. 116. – С. 135-145.
2. Ghatak S. et al. Pan-genome analysis of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* and *Aeromonas caviae* indicates phylogenomic diversity and greater pathogenic potential for *Aeromonas hydrophila* //Antonie Van Leeuwenhoek. – 2016. – Т. 109. – №. 7. – С. 945-956.
3. Rasmussen-Ivey C. R. et al. Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification //Frontiers in Microbiology. – 2016. – Т. 7. – С. 1337. Zhu W., Zhou S., Chu W. Comparative proteomic analysis of sensitive and multi-drug resistant *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish //Microbial pathogenesis. – 2020. – Т. 139. – С. 103930.
4. Stratev D., Odeyemi O. A. Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review //Journal of infection and public health. – 2016. – Т. 9. – №. 5. – С. 535-544.
5. Zhong C. et al. Comprehensive analysis reveals the evolution and pathogenic-

ity of *Aeromonas*, viewed from both single isolated species and microbial communities // *Msystems*. – 2019. – Т. 4. – №. 5.

STUDY OF THE BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE SPECIES *AEROMONAS HYDROPHILA*

Nikitina P.A.

Key words: *Aeromonas*, *Aeromonas hydrophila*, biochemical properties.

*The article is devoted to the study of biochemical bacteria of the genus *Aeromonas*, *A. hydrophila*. As a result of our research, we have studied the main biological properties of bacteria of the *A. hydrophila* A1 strain. The bacteria produce enzymes oxidase and catalase, break down citrate, lactate and rad of sugars. The results obtained will form the basis for the development of a scheme for the isolation, indication and identification of bacteria of the *A. hydrophila* species.*