УДК 619:616-07

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШИРОКО РАСПРОСТРАНЁННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СРЕД ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ИРСЕНИОЗА РЫБ

Воротников А. П., аспирант факультета ветеринарной медицины и биотехнологии, Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, г. Ульяновск, Россия

Ключевые слова: Ирсениоз, дигностические среды, Yersinia ruckeri, заболевания рыб.

Работа посвящена изучению возможности применения распространённых сред для диагностики Y.ruckeri.

Введение. В настоящее время Yersinia ruckeri является одним из самых распространённых патогенов рыб в мире. В 2010 году данный микроорганизм был зарегистрирован в России. Существует множественные данные, что Y.ruckeri, вызывает заболевания у широкого спектра видов рыб. В него входят Onchorhyncus mykiss, Acipenser schrencki, A. Baerii, а также многие другие важные промысловые виды рыб.[1.2.3]

Цели и задачи. Основными целями исследования являлось разработка оптимального метода культивирования *Y. ruckeri* на широко распространённых твёрдых средах и разработка схемы дифференциации на основе полученных данных.

Задачи исследования:

- 1. Сравнить рост *Y. Ruckeri* с *Yersinia Enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* на различных средах при температуре инкубации 37 градусов.
- 2. Сравнить рост *Y. Ruckeri* с *Yersinia Enterocolitica* и *Yersinia pseudo-tuberculosis* на различных средах при температуре инкубации 26 градусов.
- 3. Сравнить рост Y. Ruckeri с Yersinia Enterocolitica и Yersinia pseudotuberculosis на различных средах при температуре инкубации 8 градусов.

Материалы и методы. Работы выполнялись на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УГАУ.

В работе использовались только твёрдые среды разлитые в чашки Петри. Данный выбор обусловлен доступностью сред и удобством их использования. Список использованных сред: Среда гисса с глюкозой, Иерсиния- агар, Среда левина, Среда Плоскирева, ЧПС, Эндо.

Для изучения свойств были использованы следующие микроорганизмы:

- Штамм *Yersinia ruckeri* № 50699, полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УГАУ.
- Штамм *Yersinia Enterocolitica,* № полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УГАУ.
- Штамм Yersinia pseudotuberculosis, № полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарносанитарной экспертизы УГАУ.

Для инкубирования применялись 3 термостата. Для температур 37 и 26 градусов использовались TC-1/20. Для температуры 8 градусов TCO-1/80.

Все термостаты производства СКТБ-СПУ.

Ход работ. Все чашки со средами делились на три части. В каждую засевалась культура. Затем чашки инкубировались в термостатах с различной температурой. Снятие результатов происходило каждые 24 часа в течении 72 часов с момента засева чашек.

Результаты исследований. Результаты исследований представлены в таблицах 1,2 и 3

Показатели роста *Y. ruckeri* совпали с литературными даными [1,3] и позволяют не только достаточно точно диагностировать не только род микроорганизма но и дифференцировать *Y. ruckeri* от *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*. А также от сопутствующей микрофлоры, такой как *Escherichia coli*.

Выводы. Согласно результатом исследования *Y. ruckeri* хорошо растёт на всех основных диагностических средах. Свойства роста не значительно отличаются от других Бактерий рода *Yersinia*, за исключением специализированого Иерсиния-агара, где *Y. ruckeri* даёт заметное жёлтое окрашивание. На данном агаре, согласно комментарием производителя, подобное жёлтое окрашивания могут давать только *Escherichia coli* и некоторые бактерии рода *Shigela*. Но на остальных средах рост был свойственным роду *Yersinia*, также колонии данного микроорга-

Таблица 1 - Результаты инкубирования при 37 градусах

		1 25	i cayanalan	igoninga T - I caynelatel manyonboeanna tibu ay ibadycay		בייי	VB 2		
Название		Yersinia ruckeri		Yersinia Enterocolitica	terocolitic	a	Yersinia ps	Yersinia pseudotuberculosis	culosis
сред	1 сут	2 сут	3 сут	1 сут	2 сут	3 сут	1 сут	2 сут	3 сут
Среда гисса с глюкозой	Обильный рост. Цвет среды вокруг колоний изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже	Обильный рост. Цвет среды вокруг колоний изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже	Обильный рост. Цвет среды вокруг колоний изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже
агар агар	Очень обиль- ный рост. Цвет среды практически не изменился в пределах одного мм от колонии стал слегка желто- ватым сами колонии колонии ярко жёлтые с бледной верхушкой.	Очень обильный рост. Цвет среды практически не изменился в пределах одного мм от колонии стал слегка желто- ватым. Цвет колоний на- чал бледнеть верхушка стала нежно зелёного цвета.	Стало замет- но общая тенденция к измене- нию цвета келоний с жёлтого на зеленый. Но полно- ценной сме- ны цвета не произошло. Цвет среды такой же как в прошлые	Среда без из- менения цвета. Колонии бело- вато зелёного цвета.	Тоже	Тоже	Колонии имеют насыщено зелёный цвет. Цвет среды без изменений.	Тоже	Тоже

Продолжение таблицы 1

Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Слабый рост Тоже цвет среды без изми- нений. Коло- нии бледно розового цвета.	Слабый рост. Коло- нии мелкие полупро- зрачные с беловатым отливом.	Мелкие, едва земет- ные коло- нии белого цвета.	Бледные мелкие полупро- зрачные ко- лонии цвет среды не изменился.
Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Слабый рост цвет среды без изминений. Колонии бледно розового цвета.	Слабый рост. Колонии мелкие полупрозрачные с беловатым отливом.	Колонии 1-2 мм в диаметре белого цвета.	Бледные мелкие Тоже полупрозрачные колонии цвет среды не изменился.
Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Тоже	Тоже	Тоже	Тоже
Слабый рост цвет среды без измине- ний. Колонии бледно розо- вого цвета.	Слабый рост. Колонии мелкие полу- прозрачные с беловатым отливом.	Крупные белые колонии. Характерен Сливной рост	Средняя скорость рость роста цвет среды не изменился колонии малинового цвета без металического блеска
Среда левина	Среда Пло- скирева	чпс	Эндо

Таблица 2 - Результаты инкубирования при 26 градусах

Название	Yersinia ruckeri			Yersinia Enterocolitica	ica		Yersinia pseudotuberculosis	tuberculosis	
сред	1 сут	2 сут	3 сут	1 сут	2 сут	3 сут	1 сут	2 сут	3 сут
Среда гисса с глюкозой	Очень обиль- ный рост. Цвет среды почти полностью изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже	Очень обильный рост. Цвет среды почти полностью изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже	Очень обильный рост. Цвет среды почти полностью изменился с зелёного на жёлтый	Тоже	Тоже
Иерсиния- агар	Очень обиль- ный рост. Цвет среды вокруг колоний тоже стал жёлтым. Сами колонии ярко жёлтые с бледной вер- хушкой.	Желтый цвет коло- ний стал ярче.	Тоже	Рост полу- прозрачными колониями ко- лониями. Вокруг колоний желтый полупрозрачный ореол.	Колонии также про- должили сливаться между собой. Желтый ореол стал бледнее.	Тоже	Мелкие зелёный ко- лонии. Цвет среды не изменился.	Тоже	Тоже
Среда левина	Белые колонии с розоватым отливом. Цвет среды не из- менился.	Цвет колоний меняется на насыщено розовый. Цвет среды без изминений.	Тоже	Крупные розовые колонии. Цвет среды без изменений.	Тоже	Тоже	Мелкие белые колонии. Цвет среды без изменений	Колонии начали менять цвет на розовый.	Тоже

Продолжение таблицы 2

Среда Пло-	Белые колоний Тоже	Тоже	тоже	Белые колоний с тоже	тоже	тоже	Слабый рост. тоже	тоже	тоже
скирева	с розоватым			розоватым отли-			Колонии бе-		
	отливом цвет			вом цвет среды			лого цвета.		
	среды изменил-			изменился на					
	ся на жёлтый.			жёлтый					
чпс	Роста нет.	Тоже	Тоже	Умеренный рост Фиолето-	фиолето-	Тоже	Умеренный	зелё-	Тоже
				колонии белё-	вый цвет		рост колонии ныйцвет	ныйцвет	
				сые с фиолето-	начинает		белёсые с	начинает	
				вым отливом.	провя-		зелёным от-	-вводп	
					лятся все		ливом.	лятся все	
					сильнее.			сильнее.	
Эндо	Крупные коло-	Тоже	Тоже	Колонии белого	Тоже	Тоже	Колонии	Тоже	Тоже
	нии розового			цвета. Цвет			белого цвета.		
	цвета. Метал-			среды без из-			Цвет среды		
	лический блеск			менений			без измене-		
	отсутствует цвет						ний		
	среды без из-								
	менений								

Таблица 3 - Результаты инкубирования при 8 градусах

			2			2	The cay		
Название сред	Yers	Yersinia ruckeri		Yersin	Yersinia Enterocolitica	a	Yersinia	Yersinia pseudotuberculosis	sis
	1 cyT	2 cyT	3 сут	1 cyT	2 сут	3 сут	1 cyT	2 cyT	3 сут
Среда гисса с	Умеренный	Колонии	Тоже	Умеренный	Колонии	Тоже	Умеренный	Колонии	Тоже
глюкозой	рост среда	увеличи-		рост среда на- увеличились	увеличились		рост среда на- увеличились	увеличились	
	начала	лись в раз-		чала менять	в разме-		чала менять	в размере	
	менять	мере среда		цвет вокруг	ре среда		цвет вокруг	среда силь-	
	цвет вокруг	сильнее		колоний.	сильнее		колоний.	нее изменила	
	колоний.	изменила			изменила			цвет	
	1	цвет			цвет				
Иерсиния- агар Средний		Тоже	Тоже	Средний ин-	Тоже	Тоже	Средний ин-	Тоже	Тоже
	интенсив-			тенсивности			тенсивности		
	ности рост			рост колонии			рост колонии		
	колонии с			с желтоватым			с желтоватым		
	желтоватым			отливом			отливом		
	отливом								
Среда левина	Слабый рост	Тоже	Тоже	Слабый рост	Тоже	Тоже	Слабый рост	Тоже	Тоже
	цвет среды			цвет среды			цвет среды		
	без измине-			без измине-			без измине-		
	ний. Коло-			ний. Колонии			ний. Колонии		
	нии бледно			бледно розо-			бледно розо-		
	розового			вого цвета.			вого цвета.		
	цвета.								
Среда Плоски-	Среда Плоски- Слабый рост Тоже	Тоже	Тоже	Слабый рост	Тоже	Тоже	Слабый рост	Тоже	Тоже
рева	прозрачные			прозрачные			мелкие белые		
	колонии.			колонии. Цвет			колонии. Цвет		
	Цвет среды			среды без из-			среды без из-		
	евз измене-			менений.			менений.		
	ний.								

Продолжение таблицы 3

чпс	Рост отсут-	Тоже	Тоже	Слабый рост. Слабый рост. Тоже	Слабый рост.	Тоже	Слабый рост. Слабый рост. Тоже	Слабый рост.	Тоже
	ствует			Колонии с	Колонии		Колонии с	Колонии	
				фиолетовым	полностью		зелёным от-	полностьюзе-	
				отливом.	фиолетовые.		ЛИВОМ	лёные.	
Эндо	Очень	Тоже	Тоже	Очень слабый Тоже	Тоже	Тоже	Очень слабый Тоже	Тоже	Тоже
	слабый рост			рост колонии			рост колонии		
	колонии ро-			розового			розового		
	зового цвета			цвета без ме-			цвета без ме-		
	без мета-			талического			талического		
	лического			блеска. Цвет			блеска. Цвет		
	блеска. Цвет			среды без			среды без		
	среды без			изминений			изминений		
	изминений								

низма со временем теряли жёлтую окраску. Поэтому можно, предположить, что используя Иерсиния-агар совместно с агарами содержащими лактозу в качестве источника углерода и инкубацию при низкой температуре можно добиться приемлемого уровня специфичности данных для диагностики *Y. Ruckeri*.

Библиографический список:

- 1. Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.H. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (Sulmo gairdneri). Can. J. Microbial. 12: 763-770.
- 2. Ewing, W.H., Ross, A.J., Brenner, D.J., Fanning, G.R. (1978). Yersinia ruckeri SD. nov.. redmouth (RM) bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol. 28: 37-44.
- 3. Первое обнаружение Yersinia ruckeri у выращиваемого в прудах карпа сургіпиз сагріо на юге россии. (2017). Казарникова А.В., Шестаковская Е.В., Тришина А.В., Галеотти М., Манзано М. Наука юга россии. Издательство: южный научный центр ран (Ростов-на-Дону) 102-114 Issn: 2500-0640

STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING WIDELY DISTRIBUTED DIAGNOSTIC MEDIA FOR DETECTING IRSENIOSIS OF FISH

Vorotnikov A.P., Vasilyev D.A.

Key words: Irseniosis, Diagnostic environments, Yersinia ruckeri, fish diseases.

The work is devoted to the study of the possibility of using widespread media for the diagnosis of Y. ruckeri.