

РАЗРАБОТКА СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ БАКТЕРИИ *Y. RUCKERI*

Воротников Антон Павлович¹, аспирант кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич¹, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Шморгун Борис Игоревич², кандидат ветеринарных наук

¹ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

²ФГБУ «ВГНКИ»

¹432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел. 8(8422)55-23-75;

e-mail: vorot.ru@mail.ru

Ключевые слова: *Y. Ruckeri*, бактерии, идентификация, селективная среда, субстрат, азид натрия, додецилсульфат натрия.

В работе представлены результаты исследований по разработке селективной бифазной среды для выделения и бактериальной идентификации микроорганизма *Y. ruckeri*. Селективная среда состоит из двух фаз: 1) жидкой, на основе мясо-пептонного бульона, азид натрия (NaN_3) и додецилсульфата натрия; 2) плотной, включающей в себя агар, мальтозу, триптон и бромтимоловый синий. Установлено, что субстрат на основе азид натрия и додецилсульфата натрия допускает рост *Y. ruckeri* на плотной фазе только при условии снижения концентрации NaN_3 с 0,08%, за счёт миграции его молекул в агар. При испытании на специфичность, сконструированная бифазная среда продемонстрировала наличие достаточной устойчивости микроорганизмов рода *Yersinia* к ингибирующим компонентам среды. Бактерии видов *Y. ruckeri*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* показали хороший рост даже в небольших концентрациях, что не продемонстрировали используемые в опытах бактерии грамположительных и грамотрицательных групп, такие как *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Aeromonas hydrophila*. Таким образом, использование данной селективной среды вполне достаточно для первоначального проведения дифференциации бактерий рода *Yersinia* от остальных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов встречающихся в ареале водного пространства рыб.

Для дальнейшей дифференциации *Yersinia ruckeri* достаточно культуры, полученной на экспериментальной среде прокультивировать на среде Гисса с арабинозой 48 часов при температуре 26°C. Бактерия вида *Y. ruckeri* не ферментирует арабинозу в отличие от других бактерий рода *Yersinia*, что позволяет четко установить видовую принадлежность изучаемых культур.

Введение

Бактерия *Y. ruckeri* является достаточно новым для мировой практики рыбоводства инфекционным агентом, поражающим широкий спектр рыб различных видов в различных ареалах [1, 2, 3, 4]. В Российской Федерации данный микроорганизм как инфекционный агент зарегистрирован в 2010 году и до настоящего времени слабо изучен как биологический объект [4].

Целью данного исследования являлась разработка селективной среды для выделения и бактериальной идентификации микроорганизма *Y. ruckeri*.

Для выполнения цели наших исследований были сформулированы следующие задачи по конструированию двухфазной селективной среды:

– Составить прописи обеих фаз разрабатываемой среды.

– Сконструировать среду как основу для последующего проведения индикации и иденти-

фикации бактерии *Y. ruckeri*.

– Провести проверку полученного комплекса селективной среды по показателям её специфичности по отношению к симбиотической микрофлоре ареала распространения *Y. ruckeri*.

Материалы и методы исследований

Работы выполнялись на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновского ГАУ.

При разработке селективной среды в жидкую ее часть был введён такой субстрат как азид натрия в качестве ингибитора сопутствующей грамотрицательной микрофлоры [4, 5, 6, 7, 8]. Также на основе работ Роджерса нами в жидкой фазе среды для дифференциации *Y. Ruckeri* был добавлен додецилсульфат натрия (SDS) в качестве ингибитора роста грамположительной микрофлоры [9, 10, 11, 12].

В конструирование плотной части среды введены: мальтоза, триптон, агар-агар и бромтимоловый синий в качестве индикатора изменения

Таблица 1

Результаты эксперимента по изучению влияния субстрата жидкой фазы с добавлением азидата натрия и додецилсульфата натрия на рост различных концентраций бактерий *Y. ruckeri*

Время	№ штамма	Степень разведения бактериальной суспензии в титре 1:10.								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Сутки	58639	Г	Г	К	К	М	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	К	К	М	М	-	-	-
3 сутки	58639	Г	Г	К	К	М	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	Г	К	М	М	-	-	-
7 Сутки	58639	Г	Г	Г	К	К	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	Г	К	К	М	-	-	-

Примечание: «г»- газонный рост, «к» - количество колоний больше 10, «м» - количество колоний меньше 10, «-»-роста нет.

pH.

Питательные среды: МПБ, стерильный физиологический раствор, МПА, экспериментально сконструированная среда.

Штаммы *Yersinia ruckeri* № 58639 и № 46-123.

Для инкубирования применялся термостат ТС-1/20 производства СКТБ-СПУ настроенный на 26⁰С градусов, микроскоп Carl ZEISS Primo Star, автоклав ТЗМОИ ВК-75.

Результаты исследований

Первоначально был использован сконструированный нами субстрат - жидкая фаза, содержащая: МПБ, 0,08% азидата натрия и 2% SDS. На разработанный субстрат была высеяна суточная культура исследуемых штаммов *Y. ruckeri*. Контроль эффективности роста производился высевом 1 мл среды жидкой фазы на среду плотной фазы - МПА методом рассеивания для получения роста газоном. Инкубирование проводилось при температуре 26 °С в течение 72 часов [13, 14, 15].

В результате после впитывания субстрата в плотную фазу – МПА наблюдался рост, зависящий от концентрации азидата натрия и додецилсульфата натрия. Результаты представлены в таблице 1.

Исходя из полученных результатов, субстрат на основе азидата натрия и додецилсульфата натрия допускает рост микроорганизма на твердой фазе конструкции селективной среды только при условии, что концентрация азидата натрия с 0,08%, за счет впитывания в агар постепенно снижается, что позволяет и обеспечивает применение бифазной среды для заданной цели. Концентрация додецилсульфата натрия в величине не более 2% не повлияла на рост изучаемого микроорганизма.

Особенностью двухфазных сред является использование двух субстратов разной плотности: один жидкий, содержащий МПБ, и второй

полужидкий на основе агара при наложении одного субстрата на другой происходит активный переход молекул азидата натрия и додецилсульфата натрия из жидкой части в плотную. А по прошествии суток жидкая фаза полностью впитывается в агар. Как следует из выше представленного, можно компоновать жидкую фазу на основе субстрата, используемого в предыдущем эксперименте, а плотную фазу требуется разрабатывать отдельно.

В плотную фазу вошли мальтоза в качестве источника углеводов, триптон как источник аминокислот, так же в среду вошли натрия хлорид 0.9%, бромтимоловый синий 0,004% и агар 1,5 %.

Чтобы определить оптимальную концентрацию углевода был произведен ряд экспериментов с различными концентрациями мальтозы (0,5 % 1% 1,5% и 2 %). Поскольку при концентрациях углевода в 2% наблюдался устойчивый рост, то была взята данная концентрация.

Испытание конструкции полученной двухфазной селективной среды на специфичность

Плотная фаза разливалась в чашки Петри в асептических условиях. Жидкая фаза, содержащая азид натрия 0,08%, SDS 2% и МПБ, разливалась по пробиркам в объеме 4 мл, затем засеивалась суточными культурами различных микроорганизмов в объеме 1 мл и выдерживалась в течение 1 часа, а затем наслаивалась в количестве 1 мл на чашку, которые инкубировали при температуре 26 С⁰, поскольку в чашках содержался жидкий компонент, то они инкубировались крышками в верх в течение 72 часов. В точке перехода фаз из жидкой в плотную происходит снижение концентрации ингибиторов за счёт их диффузии в агар, в связи с этим при достижении определённой концентрации бактерии, находившиеся в жидкой фазе в состоянии бактериостатики, переходят в фазу роста [16, 17,

Таблица 2

Результаты специфичности сконструированной двухфазной селективной среды для выделения и идентификации *Yersinia ruckeri*

Время	Микроорганизм	Степень разведения.								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Сутки	<i>Staphylococcus aureus</i>									
	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Г	Г	Г	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Г	Г	К	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia ruckeri</i>	Г	Г	Г	К	К	М	-	-	-
2 Сутки	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Г	Г	Г	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Г	Г	К	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia ruckeri</i>	Г	Г	Г	К	К	М	-	-	-
3 Сутки	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Г	Г	К	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Г	Г	Г	К	М	-	-	-	-
	<i>Yersinia ruckeri</i>	Г	Г	Г	К	М	-	-	-	-

18]. После выпитывания жидкой фазы в плотную через сутки наблюдали на поверхности среды небольшие колонии желтоватого цвета на поверхности агара.

Далее был проведен эксперимент на чувствительность разработанной селективной среды. В ходе опыта суточные культуры бактерий титровали в физиологическом растворе. Затем 1 мл полученной суспензии добавлялся в 4 мл жидкой фазы разработанной экспериментальной среды. После перемешивания 1 мл смеси наслаивался на плотную фазу. Посевы инкубировали в течение трех суток. Показатели результатов по наличию или отсутствию роста фиксировали каждые сутки. Сконструированная селективная среда продемонстрировала наличие достаточной устойчивости микроорганизмов изучаемого рода *Yersinia* к ингибирующим факторам. Бактерии видов *Yersinia ruckeri*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* показали хороший рост даже в небольших концентрациях, что не продемонстрировали используемые в опытах бактерии грамположительных и грамотрицательных групп (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Flavobac-*

terium psychrophilum, *Aeromonas hydrophila*) (табл. 2) [19, 20].

Обсуждение

Исходя из полученных в ходе эксперимента данных, можно сделать вывод, что использование данной двухфазной среды вполне достаточно для первоначального проведения дифференциации бактерий рода *Yersinia* от грамположительных и грамотрицательных бактерий, встречающихся в ареале водного пространства рыб. Данная среда позволяет выделять бактерии рода из объектов внешней среды в течение 3-х суток. Также из-за особенностей разработанной конструкции селективной среды возможно использование уже её готовых компонентов в нестерильных условиях, поскольку из-за особенностей состава и механизма подавления бактериального роста в среде прорастают только бактерии рода *Yersinia*.

Однако указанная конструкция селективной среды не позволяет обеспечить проведение видовой дифференциации *Yersinia ruckeri*. Чтобы в дальнейшем проводить видовую дифференциацию, культуры, полученные на экспериментальной среде, высеиваются на среду Гис-

са с арабинозой в следующих режимах: время культивирования 48 часов, температура 26°C. Бактерия вида *Y.ruckeri* не ферментирует арабинозу, в отличие от других бактерий рода *Yersinia*, соответственно не происходит изменения pH в кислую сторону, исходя из этого отсутствует изменение цвета [6].

Заключение

Обобщая всё вышеизложенное, можно заключить, что разработанная среда позволяет проводить быструю первичную индикацию бактерий рода *Yersinia* в образцах, ингибируя любую сопутствующую микрофлору.

Библиографический список

1. *Yersinia ruckeri* SD. nov. redmouth (RM) bacterium / W. H. Ewing, A. J. Ross, D. J. Brenner, G. R. Fanning // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1978. - 28. - P. 37-44.
2. Ross, A. J. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) / A. J. Ross, R. R. Rucker, W.H. Ewing // *Can. J. Microbiol.* – 1966. - 12. - P. 763-770.
3. Казарникова, А. В. Заболевания осетровых рыб в замкнутой системе водоснабжения / А. В. Казарникова // *Ветеринария.* - 2007. - № 3. - С. 25-29.
4. Первое обнаружение *Y. ruckeri* у выращиваемого в прудах карпа *cyprinus carpio* на юге России / А. В. Казарникова, Е. В. Шестаковская, А. В. Тришина, М. Галеотти, М. Манзано // *Наука юга России.* - 2017. - № 1. - С. 102-114.
5. Rodgers, C. J. Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies / C. J. Rodgers // *Journal of Fish Diseases.* – 1992. - № 15. – P. 243-254.
6. Воротников, А. П. Материалы к созданию бактериологический тест – системы для идентификации и дифференциации бактерий вида *Yersinia ruckeri* / А. П. Воротников, Д. А. Васильев // *Вестник УГСХА.* - 2019. - № 4. - С. 110-116.
7. Ценева, Г. Я. Иерсинии и иерсиниозы / Г. Я. Ценева. – Санкт-Петербург, 2006. – 170с.
8. Микробиологическая и антимикробная химиотерапия / Г. П. Сомов, В. И. Покровский, Н. Н. Беседнова, Ф. Ф. Антоненко // *Псевдотуберкулёз.* - 2004 - №1 (6). - С. 10-21.
9. *Yersinia massiliensis* sp. nov., isolated from fresh water / V. Merhej, T. Adekambi, I. Pagnier, D. Raoult, M. Drancourt // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* - 2008. - V. 58. - P. 779-784.
10. First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon *Acipenser baeri* Brandt, in South West of France / A. Vuillaume, R. Brun, P. Chene, E. Sochon, R. Lesel // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists.* – 1987. - № 7(1). – P. 18–19.
11. Влияние условий выращивания и смешанной бактериальной инфекции на гибель ленского осетра *Acipenser baerii* в садках / А. В. Казарникова, Е. В. Шестаковская, А. В. Тришина, М. Галеотти, А. А. Турченко // *Вестник Южного научного центра.* - 2015. - № 11(1). - С. 70-79.
12. *Yersinia ruckeri*, an unusual microorganism isolated from a human wound infection / S. De Keuke-leire, Y. Jansen, M. Janssens, G. Wauters, D. Pierard // *New Microbes and New Infections.* - 2014. - V. 2, Issue 4. - P. 134-135.
13. The repeat structure of two paralogous genes, *Yersinia ruckeri* invasin (*yrInV*) and a «*Y. ruckeri* invasin-like molecule», (*yrInM*) sheds light on the evolution of adhesive capacities of a fish pathogen / A. Wrobel [et al.] // *Struct Biol.* - 2018. - V. 2. - P.76-83.
14. Diet type dictates the gut micro-biota and the immune response against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. C. Ingerslev, Mikael Lenz Strube, Louise von Gersdorff Jørgensen, Inger H. Dalsgaard, Mette Boyé, Lone Madsen // *Fish & shellfish immunology.* - 2014. - V. 11. - P.73-80.
15. Evidence of an Antimicrobial-Immuno-modulatory Role of Atlantic Salmon Cathelicidins during Infection with *Yersinia ruckeri* / R. Andrew, Bridle, Elizabeth Nosworthy, Mark P. Polinski, Barbara S. Nowak // *PLoS one.* - 2011. - V.11. - P.36-42.
16. Martin, K. R. Bath vaccination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) against *Yersinia ruckeri*: effects of temperature on protection and gene expression / K. R. Martin // *Kurt Buchmann Vaccine.* - 2008. - V. 2. - P.79-96.
17. Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany / Y. Huang [et al.] // *Diseases of aquatic organisms. Dis Aquat Org.* - 2015. - V. 116. - P. 243-249.
18. Jeffrey, T. Polymerase chain reaction for definitive identification of *Yersinia ruckeri* / T. Jeffrey, Fred LeJeune, R. Rurangirwa // *J.Vet.Diagn.Invest.* - 2000. - № 12. - P. 558-561.
19. Hunter, V. A. Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson / V. A. Hunter, M. D. Knittcl, J. L. Fryer // *Journal of Fish Diseases.* - 1980. - V. 3. - P. 467 - 472.
20. Multilocus sequence typing for studying genetic relationships among *Yersinia* species / M. Kotetishvili [et al.] // *Jour.of Clin.Microbiol.* - 2005. - V. 43, № 6. - P. 2674-2684.

DEVELOPMENT OF SELECTIVE MEDIUM FOR BACTERIA *Y. RUCKERI*

Vorotnikov A.P.¹, Vasiliev D.A.¹, Shmorgun B.I.²

¹FSBEI HE Ulyanovsk SAU named after P.A. Stolypin

² FSBI «All Russian state centre for quality and standardization of medicines for animals and feed »

1432017, Ulyanovsk, Novy Venets boulevard, 1; tel. 8(8422)55-23-75;

e-mail: vorot.ru@mail.ru

123002, Moscow, Zvenigorod highway h. 5 b. 1

Key words: *Y. Ruckeri*, bacteria, identification, selective medium, substrate, sodium azide, sodium dodecyl sulphate.

In this work the research results on development of selective biphasic medium for detachment and bacterial identification of microorganism *Y. ruckeri* are shown. The selective medium consists of 2 phases: 1) liquid, on the basis of meat-peptone broth, sodium azide (NaN₃) and sodium dodecyl sulphate; 2) dense, including agar, maltose, trypton and bromthymol blue. It was established that substrate on the basis of sodium azide and dodecyl sulphate admit growth of *Y. ruckeri* on dense phase only under condition of weakening NaN₃ with 0,08%, based on its molecule migration into agar. During the test on specificity, engineered biphasic medium showed presence of adequate stability of microorganisms of *Yersinia* species to inhibitory environmental components. Bacteria *Y. ruckeri*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* species showed good growth even in weak concentrations, but it was not showed by used I experiments bacteria of gram-positive and gram-negative groups, such as *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Aeromonas hydrophila*. So the use of this selective medium is entirely sufficient for primary differentiation carrying out of bacteria *Yersinia* species from other gram-positive and gram-negative microorganisms found in fish water area. For further differentiation of *Yersinia ruckeri*, cultures it is enough to cultivate cultures, obtained on experimental medium, on Giss medium with arabinose 48 hours at the temperature of 260C. Bacteria *Y. species* doesn't ferment arabinose, in contrast to other bacteria *Yersinia*, which allows to make clear specific belonging of studied cultures.

Bibliography

1. *Yersinia ruckeri* SD. nov. redmouth (RM) bacterium / W. H. Ewing, A. J. Ross, D. J. Brenner, G. R. Fanning // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1978. – 28. – P. 37-44.
2. Ross, A. J. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Sulmo gairdneri*) / A. J. Ross, R. R. Rucker, W.H. Ewing // *Can. J. Microbiol.* – 1966. – 12. – P. 763-770.
3. Kazarnikova, A. V. Sturgeon fish diseases in recirculation system / A. V. Kazarnikova // *Veterinary science.* – 2007. – № 3. – P. 25-29.
4. The first discovery of *Y. ruckeri* in growing carp *Cyprinus carpio* in ponds of the South of Russia / A. V. Kazarnikova, E. V. Shestakovskaya, A. V. Trishina, M. Galeotti, M. Manzano // *Science of the Russian South.* – 2017. – № 1. – P. 102-114.
5. Rodgers, C. J. Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies / C. J. Rodgers // *Journal of Fish Diseases.* – 1992. – № 15. – P. 243-254.
6. Vorotnikov, A. P. Materials for the development of bacteriological test-system for identification and differentiation of bacteria *Yersinia ruckeri* species / A. P. Vorotnikov, D. A. Vasiliev // *Vestnik of USAA.* – 2019. – № 4. – P. 110-116.
7. Tseneva, G. Ya. *Yersinia* and yersiniosis / G. Ya. Tseneva. – Saint-Petersburg, 2006. – 170p.
8. Microbiological and Antibacterial chemotherapy / G. P. Somov, V. I. Pokrovsky, N. N. Besednova, F. F. Antonenko // *Pseudotuberculosis.* – 2004 – №1 (6). – P. 10-21.
9. *Yersinia massiliensis* sp. nov., isolated from fresh water / V. Merhej, T. Adekambi, I. Pagnier, D. Raoult, M. Drancourt // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2008. – V. 58. – P. 779-784.
10. First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon *Acipenser baeri* Brandt, in South West of France / A. Vuillaume, R. Brun, P. Chene, E. Sochon, R. Lesel // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists.* – 1987. – № 7(1). – P. 18-19.
11. Influence of growing conditions and mixed and mixed bacteria infection on death of Lena sturgeon *Acipenser baerii* in keepnets / A. V. Kazarnikova, E. V. Shestakovskaya, A. V. Trishina, M. Galeotti, A. A. Turchenko // *Vestnik of South scientific centre.* – 2015. – № 11(1). – P. 70-79.
12. *Yersinia ruckeri*, an unusual microorganism isolated from a human wound infection / S. De Keuke-leire, Y. Janssens, M. Janssens, G. Wauters, D. Pierarda // *New Microbes and New Infections.* – 2014. – V. 2, Issue 4. – P. 134-135.
13. The repeat structure of two paralogous genes, *Yersinia ruckeri* *invasin* (*yrInV*) and a «*Y. ruckeri* *invasin*-like molecule», (*yrIIm*) sheds light on the evolution of adhesive capacities of a fish pathogen / A. Wrobel [et al.] // *Struct Biol.* – 2018. – V. 2. – P.76-83.
14. Diet type dictates the gut micro-biota and the immune response against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. C. Ingerslev, Mikael Lenz Strube, Louise von Gersdorff Jørgensen, Inger H. Dalsgaard, Mette Boyé, Lone Madsen // *Fish & shellfish immunology.* – 2014. – V. 11. – P.73-80.
15. Evidence of an Antimicrobial-Immune-modulatory Role of Atlantic Salmon Cathelicidins during Infection with *Yersinia ruckeri* / R. Andrew, Bridle, Elizabeth Nosworthy, Mark P. Polinski, Barbara S. Nowak // *PloS one.* – 2011. – V.11. – P.36-42.
16. Martin, K. R. Bath vaccination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) against *Yersinia ruckeri*: effects of temperature on protection and gene expression / K. R. Martin // *Kurt Buchmann Vaccine.* – 2008. – V. 2. – P.79-96.
17. Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany / Y. Huang [et al.] // *Diseases of aquatic organisms. Dis Aquat Org.* – 2015. – V. 116. – P. 243-249.
18. Jeffrey, T. Polymerase chain reaction for definitive identification of *Yersinia ruckeri* / T. Jeffrey, Fred LeJeune, R. Rurangirwa // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2000. – № 12. – P. 558-561.
19. Hunter, V. A. Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson / V. A. Hunter, M. D. Knittl, J. L. Fryer // *Journal of Fish Diseases.* – 1980. – V. 3. – P. 467 - 472.
20. Multilocus sequence typing for studying genetic relationships among *Yersinia* species / M. Kotetishvili [et al.] // *Jour. of Clin. Microbiol.* – 2005. – V. 43, № 6. – P. 2674-2684.