

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К НЕКОТОРЫМ ФИЗИЧЕСКИМ И ХИМИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ БАКТЕРИЙ РОДА *AEROMONAS*

Родионова А.В., аспирант 1 года обучения факультета ветеринарной медицины и биотехнологии, 8(8422) 55-95-47, arina.rodionova-arina2012@yandex.ru

Сулдына Е.В., ассистент, 8(8422) 55-95-47, e.suldina2006@yandex.ru

Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор 8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Aeromonas*, *A. hydrophil*, *A. caviae*, *A. sobria*, штаммы, устойчивость, культивирование, колонии.

Работа посвящена изучению устойчивости бактерий рода *Aeromonas* к некоторым физическим (температура культивирования) и химическим (содержание NaCl в питательной среде) факторам.

Aeromonas - это род грамотрицательных, факультативно-анаэробных палочковидных бактерий, которые морфологически напоминают представителей семейства *Enterobacteriaceae* [1]. Большинство из 14 описанных видов были связаны с заболеваниями человека. Наиболее важные патогены: *A. hydrophil*, *A. caviae* и *A. veronii* биовар *sobria* [2-3]. Эти организмы повсеместно встречаются в пресной и солоноватой воде [4].

Два основных заболевания, связанные с аэромонадами - это гастроэнтерит и раневые инфекции, с возможной бактериемией. Гастроэнтерит обычно возникает после употребления загрязненной воды или пищи, тогда как раневые инфекции возникают в результате контакта с зараженной водой [5].

Целью данной работы является изучение устойчивости бактерий рода *Aeromonas* к некоторым физическим и химическим факторам.

Задачи исследования:

1. Изучить способность бактерий рода *Aeromonas* к росту при различных температурных режимах.
2. Исследовать устойчивость бактерий рода *Aeromonas* к различным концентрациям NaCl.

Материалы и методы исследования:

В работе были использованы штаммы бактерий рода *Aeromonas*: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria* полученные из коллекции кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновского ГАУ.

Для бактериологического исследования использовали питательные среды: мясопептонный бульон (TM Media, Rajasthan, India); мясопептонный агар (TM Media, Rajasthan, India); NaCl; Микро-ГРАМ-НИЦФ набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама ТУ 9398-002-39484474-2002 (ЗАО НИЦФ, РФ).

Термостат ТС-80М-2, автоклав ГК-100-3, шкаф сушильно стерилизационный ШСС-80п УХЛ 42, холодильник бытовой “Бирюса” СПО 4М1-16-4М1, дистиллятор, микроскоп «Биомед-6» с видеофотонасадкой.

Для проведения боксовых работ использовали комплект лабораторной посуды.

При работе с культурами использовали стандартные бактериологические методы [6-7].

Результаты исследований:

Для работы ампулы со штаммами вскрывали в стерильных условиях и переносили все содержимое в пробирки с мясопептонным бульоном. Культивировали 24 часа при температуре 28°C. Далее производили 5-последовательных пересевов с жидкой среды на плотную

для стабилизации биологических свойств культур после хранения.

При посеве на МПА штамма *Aeromonas sobria* через 24 часа при температуре 28^oC наблюдался рост белых, гладких, полупрозрачных колоний. При посеве штамма *Aeromonas hydrophila* через 24 часа при температуре 28^oC наблюдался рост белых, диаметром от 0,1 до 0,5 мм, округлой, слегка выпуклой формы, с ровными краями, гладкой, влажной поверхностью полупрозрачных колоний. Штамм *Aeromonas salmonicida* через 24 часа на МПА образовывал рост белых, диаметром от 0,2 до 1 мм, округлой, выпуклой формы, с неровными краями, гладкой поверхностью. При посеве *Aeromonas caviae* на МПА наблюдали рост белых, диаметром от 0,1 до 0,8 мм, округлой, выпуклой формы, с ровными краями, гладкой, влажной поверхностью полупрозрачных колоний.

Для проведения оценки интенсивности роста при различных температурах производили посев штамма *Aeromonas sobria* на мясопептонный агар, помещали в термостат при температурах 28^oC, 37^oC, 45^oC, при комнатной температуре 22^oC и в холодильник при температуре 4^oC. По истечении 24 часов был обнаружен рост на чашках, которые культивировались при температурах - 22^oC, 28^oC и 37^oC. При микроскопии окрашенных по Граму мазков, установили, что штамм был представлен мелкими грамотрицательными палочками.

Роста на чашках, культивируемых при 4^oC и 45^oC, не был обнаружен по истечении даже 5 суток.

Посевы штаммов *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas caviae* на мясопептонный агар, выращивали при таких же комбинациях температур. По истечении 24 часов был обнаружен рост на чашках, культивируемых при - 22^oC, 28^oC и 37^oC (рис. 1-3).



Рисунок 1 – рост *Aeromonas hydrophila* на МПА при 37°C



Рисунок 2 – рост *Aeromonas salmonicida* на МПА при 37°C



Рисунок 3 – рост *Aeromonas caviae* на МПА при 37°C

Роста на чашках, при температурах 4°C и 45°C не был обнаружен по истечении 5 суток.

В окрашенном по Граму мазке, штамм *Aeromonas hydrophila* представлен мелкими грамотрицательными палочками (рис.4). Штамм *Aeromonas salmonicida* - крупными грамотрицательными палочками (рис.5). *Aeromonas caviae* - грамотрицательными палочками среднего размера (рис.6).

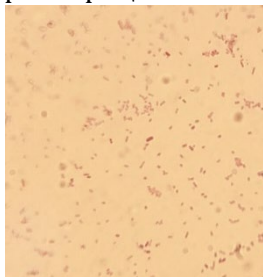


Рисунок 4 - *Aeromonas hydrophila* в окрашенном по Граму мазке

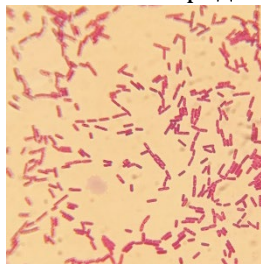


Рисунок 5 - *Aeromonas salmonicida* в окрашенном по Граму мазке

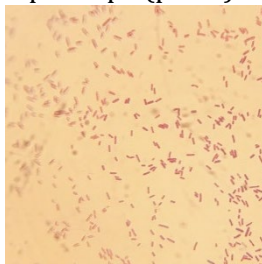


Рисунок 6 - *Aeromonas caviae* в окрашенном по Граму мазке

Для изучения устойчивости штаммов к различным концентрациям соли были приготовлены МПА с содержанием NaCl - 1%, 3%, 6%, 7%, 8%.

Высевали штамм *Aeromonas sobria* на среды с NaCl и помещали в термостат на 24 часа при температуре 28°C. Через сутки наблюдался рост на чашках с концентрацией 1% и 3%, и только на четвертые сутки на чашке с концентрацией 6%. Роста на чашках с концентрацией NaCl 7% и 8% отсутствовал.

Рост бактерий вида *Aeromonas caviae* на агаре с концентрацией 1% проявился через 72 часа (рис.7). Роста в присутствии NaCl 3%, 6%, 7% и 8% не установлен.

Бактерии вида *Aeromonas salmonicida* на агаре с 1% содержанием соли выросли через 24 часа. Рост на среде с концентрацией соли 3% проявился через 72 часа, с концентрацией 6% на 7 сутки (рис.8). Роста на средах с концентрацией NaCl 7% и 8% не установлен.

Рост *Aeromonas hydrophila* наблюдался через 24 часа на МПА с содержанием соли 1% и 3% (рис.9). Роста на чашках с концентрацией NaCl 6%, 7% и 8% отсутствовал.



Рисунок 7
- рост *Aeromonas caviae* на чашке с концентрацией 1% NaCl через 24 часа

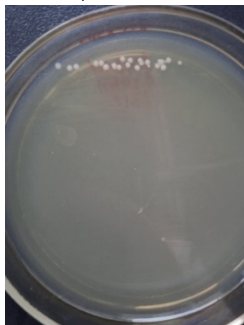


Рисунок 8
- рост *Aeromonas salmonicida* на чашке с концентрацией 3% NaCl через 3 суток

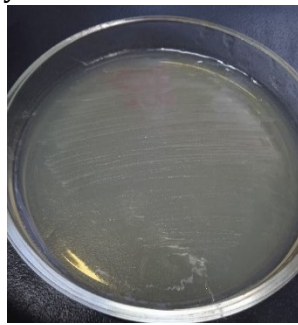


Рисунок 9 -
рост *Aeromonas hydrophila* на чашке с концентрацией 3% NaCl через 24 часа

Выводы:

Таким образом, при проведении оценки интенсивности роста бактерий рода *Aeromonas* при различных температурах, установлено, что пригодными являются температуры - 22°C, 28°C и 37°C, оптимальной температурой культивирования является - 28°C.

При изучении устойчивости аэромонад к различным концентрациям NaCl в питательной среде установлено, что наиболее устойчивыми являются виды *Aeromonas sobria* и *Aeromonas hydrophila* способные расти при содержании соли 1% и 3%. Менее выраженная устойчивость у штамма *Aeromonas salmonicida*, способной расти при 1% содержании соли в питательной среде. Наименее устойчивым видом можно считать *Aeromonas caviae* колонии, которого проявились только через 72 часа при 1% NaCl.

Библиографический список:

1. Маланина В.С. Выделение и идентификация бактерий рода *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* из патматериала/ В.С. Маланина, Н.А. Феоктистова, Н.И. Молофеева, А.И. Калдыркаев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина.- 2018.- С. 75-77.

2. Васильев Д.А., Викторов Д.А., Насибуллин И.Р., Золотухин С.Н., Нафеев А.А., Горшков И.Г., Куклина Н.Г., Барт Н.Г. Детекция *Aeromonas hydrophila* в пищевой продукции из гидробионтов с применением биосенсоров на основе гомологичных бактериофагов //Фундаментальные исследования. – 2014. – № 5-1. – С. 50-54.

3. Канаева Т.И. Разработка методов выделения и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila* //Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – Саратов. – 2009. – 19 с.

4. Controversial data on the association of *Aeromonas* with diarrhoea in a recent Hong Kong study / M.J. Figueras et al. // Journal of medical microbiology. — 2007. — V. 56, N7.-P. 996-998.

5. Huys, G. *Aeromonas hydrophila* subsp. *ranaei* subsp. nov., isolated from septicemic farmed frogs in Thailand / M. Pearson, P. Kampfer, R. Denys // Int. J. Syst. Evol. Microbiol.-2003.-V. 53,N3.-P. 85-91.

6. Методические указания, по санитарно-бактериологической оценке, рыбохозяйственных водоемов, утв. Министерством здравоохранения РФ 27 сентября 1999 г. № 13-4-2/1742.

7. Определитель Берджи: в 2 т. / пер. с англ.; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М.: Мир, 1997. 432с.

STUDY OF RESISTANCE TO CERTAIN PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS OF BACTERIA OF THE GENUS AEROMONA

Rodionova A.V., Suldina E.V., Vasiliev D.A.

Key words: Aeromonas, A. hydrophil, A. caviae, A. sobria, strains, resistance, cultivation, colonies.

The work is devoted to the study of the resistance of bacteria of the genus Aeromonas to some physical (cultivation temperature) and chemical (NaCl content in the nutrient medium) factors.