

ПОДБОР ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЙ БАКТЕРИЙ *AEROMONAS* *HYDROPHILA*

Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент

А.А. Ломакин, ассистент

М.А. Сергатенко, магистрант

тел. 8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: подбор, дифференциально-диагностическая среда, *Aeromonas*, *A. hydrophila*

Статья посвящена подбору дифференциально-диагностической среды для выявления бактерий *Aeromonas hydrophila*. Экспериментально было установлено, что CIN-агар, XLD-агар и RYAN - агар не обеспечивают дифференциацию штаммов *A. hydrophila* от иных представителей рода *Aeromonas* и от других бактерий - ассоциантов. Недостатком сред RYAN-агара и GSP-агара является наличие в их составе антибиотиков, на настоящий момент многие бактериальные штаммы не проявляют устойчивости к антимикробным препаратам. Оптимальной питательной средой для выделения бактерий *A. hydrophila* является BSIBG-агар (с желчными солями и иргасановым бриллиантовым зеленым).

Введение. Для дифференциальной диагностики и выделения *Aeromonas hydrophila* из клинических или экологических образцов используют селективные и дифференциальные среды, позволяющие отличить этот вид от других грамотрицательных бактерий (например, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*) [1-2]. Основные критерии выбора среды: селективность – подавление сопутствующей микрофлоры, дифференциация – ферментативные или хромогенные свойства, характерные для *A. hydrophila*, индикация – визуальное распознавание колоний [3-4]. По литературным данным для первичного выделения *Aeromonas hydrophila* оптимальны ADA или Ryan's Medium, а для

высокой селективности – модифицированный цептримидный агар. Хромогенные среды (CHROMagar™) удобны для быстрой диагностики. Подтверждение требует биохимических или молекулярных методов [5-6].

Цель исследования – произвести подбор дифференциально-диагностической среды для выделения бактерий *Aeromonas hydrophila* из объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Материалы и методы исследований. Для исследования дифференциально-диагностических свойств агара МакКонки с лактозой, цефсулодин-иргасан-новобицин агара (CIN-агар), глутамат-крахмального агара (*Pseudomonas-Aeromonas* агар/GSP-агар), XLD-агара, BSIBG-агара, агара для выделения и идентификации *Aeromonas* (RYAN) был произведен высев на них бактерий: *A. hydrophila* ATCC 49140, *A. veronii* bv. *sobria* ATCC 9071, *A. caviae* ATCC 15468, *A. salmonicida* ATCC 333658, *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecalis* ATCC 29212, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802, *P. fluorescens* B-1138, *Y. enterocolitica* ATCC 23715, *Y. ruckeri* 46-123, *K. pneumonia* C6, *Flavobacterium* sp.-2, *P. mirabilis* 5, *A. calcoaceticus* B-5971. Бактерии культивировали при температуре 30 °С в течение 24 часов на LB-бульоне, за исключением *V. parahaemolyticus*, который инкубировали на LB-бульоне с добавлением 3% хлорида натрия. Штамм *A. salmonicida* ATCC 33658 культивировали при 20°C в течение 24 часов на LB-бульоне.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты культивирования анализируемых бактерий на агаре МакКонки с лактозой, CIN-агаре, GSP-агаре, XLD-агар, RYAN-агаре, и BSIBG-агаре в течение 48 часов при температуре 30 °С представлены в таблицах 1 и 2.

На агаре МакКонки не был выявлен рост бактерий: *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecalis* ATCC 29212, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802, *A. salmonicida* ATCC 33658, *Flavobacterium* sp. (параметры культивирования: температура – 30 °С, время - 24–48 часов). Штаммы *A. hydrophila* ATCC 49140, *A. veronii* ATCC 9071, *P. fluorescens* B-1138, *Y. enterocolitica* ATCC 23715, *Y. ruckeri* 46-123, *P. mirabilis* 5, *A. calcoaceticus* B-5971 имели схожую морфологию роста. При этом колонии *A. caviae* ATCC 15468 имели розовый цвет из-за их способности

разлагать лактозу. На этой среде через 24 часа был зафиксирован рост штамма *K. pneumoniae* Сб.

Таблица 1 – Подбор селективной среды для выделения бактерий *A. hydrophila*

Штамм	Агар МакКонки с лактозой	CIN-агар	GSP-агар	XLD-агар	RYAN-агар	BSIBG-агар
<i>A. hydrophila</i> ATCC 49140	Колонии кремовые d 1-2 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малинового цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии синего цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем
<i>A. veronii</i> bv.sobria ATCC 9071	Колонии кремовые, d 1-2 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малинового цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии синего цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует
<i>A. caviae</i> ATCC 15468	Колонии малиновые d 1-2 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малинового цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует	Колонии синего цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует
<i>A. salmonicida</i> ATCC 33658	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует
<i>V.parahaemol</i> <i>yticus</i> ATCC 17802	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует

Таблица 2 – Подбор селективной среды для выделения бактерий *A.hydrophila*

Штамм	Агар МакКонки с лактозой	CIN-агар	GSP-агар	XLD-агар	RYAN- агар	BSIBG- агар
<i>P. fluorescens</i> B-1138	Колонии желтого цвета, d 1-2 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует	Колонии феолетового цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малиновые цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малинового цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 23715	Колонии желтого цвета, d около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии малинового цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем
<i>Y. ruckeri</i> 46-123	Колонии кремового цвета, d 1 около мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем
<i>Flavobacterium</i> <i>sp.-2</i>	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует
<i>Proteus mirabilis</i> 5	Колонии кремового цвета, d 1 около мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует	Колонии желтого цвета, диаметром 1-2 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует
<i>A. calcoaceticus</i> B-5971	Колонии кремовые цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии белого цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии прозрачные цвета, диаметром около 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Колонии желтого цвета, диаметром менее 1 мм, выпуклые, глянцевые с ровным краем	Рост отсутствует

A.hydrophila, *A.veronii*, *A.caviae* имели схожую морфологию колоний на агаре с цефсулодином-иргасаном-новобиоцином (CIN). Это малиновые, с уплотнением в центре, диаметром 2 мм, выпуклые

глянцевые с ровным краем белого цвета колонии (параметры культивирования: температура – 30 °C, время - 24 часа). Аналогичную морфологию имел штамм *Y. enterocolitica* ATCC 23715.

Схожая картина была выявлена на GSP-агаре для штаммов родов *Yersinia* и *Aeromonas*, при этом на данной среде присутствовал рост *P. fluorescens*. Колонии были фиолетового цвета, что обусловлено тем, что представители рода псевдомонад используют глутамат натрия в качестве основного источника углевода.

Экспериментально было установлено, что CIN-агар, XLD-агар и RYAN - агар не обеспечивают дифференциацию штаммов *A. hydrophila* от иных представителей рода *Aeromonas* и от других бактерий - ассоциантов. Недостатком сред RYAN-агара и GSP-агара является наличие в их составе антибиотиков, на настоящий момент многие бактериальные штаммы не проявляют устойчивости к антимикробным препаратам.

Заключение. Считаем, что наиболее подходящей питательной средой для скрининга бактерий *A. hydrophila* является BSIBG-агар (с желчными солями и иргасановым бриллиантовым зеленым), несмотря на то, что на ней был детектирован рост бактерий *P. fluorescens* B-1138, *Y. enterocolitica* ATCC 23715, *Y. ruckeri* 46–123, данные бактерии характеризовались уникальной морфологией колоний.

Библиографический список

1. Comparison of the multiple platforms to identify various *Aeromonas* species / X. Du et al. //Frontiers in Microbiology. – 2021. – Т. 11. – С. 625961.
2. Whole spectrum of *Aeromonas hydrophila* virulence determinants and the identification of novel SNPs using comparative pathogenomics / B. Abdella et al. //Scientific Reports. – 2023. – Т. 13. – №. 1. – С. 7712.
3. A rare case of severe gastroenteritis caused by *Aeromonas hydrophila* after colectomy in a patient with anti-Hu syndrome: a case report / M. Greiner et al. //BMC Infectious Diseases. – 2021. – Т. 21. – С. 1-6.
4. Transcriptome profiling and differential expression analysis of altered immune-related genes in goldfish (*Carassius auratus*) infected with *Aeromonas hydrophila* / M. Nawaz et al. //Fish & Shellfish Immunology. – 2023. – Т. 137. – С. 108789.

5. Suresh K. Prevalence and characterization of virulence-associated genes and antimicrobial resistance in *Aeromonas hydrophila* from freshwater finfish farms in Andhra Pradesh, India / K. Suresh, D. Pillai // *Biologia*. – 2023. – Т. 78. – №. 10. – С. 2931-2939.

6. Fructose promotes crucian carp survival against *Aeromonas hydrophila* infection / Y. Cao et al. // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Т. 13. – С. 865560.

SELECTION OF A DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC ENVIRONMENT FOR THE DETECTION OF *AEROMONAS* *HYDROPHILA* BACTERIA

Feoktistova N.A., Lomakin A.A., Sergatenko M.A.

Key words: *selection, differential diagnostic environment, Aeromonas, A. hydrophila*

The article is devoted to the selection of a differential diagnostic environment for the detection of Aeromonas hydrophila bacteria. Experimentally, it was found that CIN-agar, XLD-agar and RYAN-agar do not differentiate A. hydrophila strains from other representatives of the genus Aeromonas and from other associated bacteria. The disadvantage of RYAN-agar and GSP-agar media is the presence of antibiotics in their composition, currently many bacterial strains do not show resistance to antimicrobial drugs. The optimal nutrient medium for the isolation of A. hydrophila bacteria is BSIBG agar (with bile salts and irgasan diamond green).