

## АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ, ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ ВИДА *AEROMONAS CAVIAE*

*О.В. Коровенкова, Т.И. Канаева, Д.А. Васильев*

Бактерии вида *Aeromonas caviae* считались сапрофитами, циркулирующими в воде открытых водоемов и в некоторых случаях вызывающих заболевания у холоднокровных животных. Внимание медицинских работников эти бактерии привлекли лишь с 1975 г., когда была выявлена их токсигенная активность. За последние 6 лет число научных публикаций по проблеме аэромонадной инфекции по сравнению с 1970-1975 гг. увеличилось в 3 раза. Было установлено, что бактерии вида *Aeromonas caviae* являются причиной острых кишечных заболеваний. Поэтому в 1986 г. во время работы 14-го Международного конгресса микробиологов в Манчестере было проведено специальное рабочее совещание по проблеме аэромонадной инфекции (Чайка Н.А., 1987).

Бактерии вида *Aeromonas caviae*, относящиеся к семейству *Aeromonadaceae*, являются грамотрицательными полиморфными палочками, размером 1,0/3,5x0,3/1,0 мкм с одним полярным жгутиком. Кроме того, принято считать их факультативными анаэробами, хемоорганотрофами. Метаболизм у бактерий *Aeromonas caviae* окислительный и бродильный. Обладая оксидазной и каталазной активностью, многие углеводы (глюкозу, фруктозу, мальтозу и трегалозу) бактерии данного вида расщепляют до кислоты или кислоты и газа. Установлено, что бактерии *Aeromonas caviae* гидролизуют крахмал и казеин, разжижают желатин, восстанавливают нитраты, продуцируют ДНКазу, органилдегидролазу, уреазу. Температурный оптимум 22—28 °С, большинство растут при температуре 37 °С. (G. Castro-Escarpullia et al. 2003)

**Распространение.** Аэромонады широко встречаются как в природных пресных и соленых водах, так и в почве. Известно, что бактерии *Aeromonas spp.* (в частности отдельные штаммы *A. caviae*) являются патогенами для рыб, земноводных (жаб, лягушек) и других морских животных – например крабов. Однако они могут встречаться также и в кишечном тракте млекопитающих, в том числе и человека. С 1968 *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* и *A. sobria* признаны факультативными патогенами для людей с ослабленным иммунитетом. По данным FDA ([U.S. Food & Drug Administration](#)) - Управления по Пищевым Продуктам и Лекарствам США, несколько позже было выявлено, что бактерии потенциально способны вызывать гастроэнтериты и у здоровых людей (G. Castro-Escarpullia et al. 2003)

Таким образом, бактерии вида *Aeromonas caviae* обнаруживают во внешней среде, а также у больных людей и животных повсеместно. Хотя в южных широтах их выделяют значительно чаще. Нередко *Aeromonas* являются возбудителями ОКЗ в странах Африки и юго-восточной Азии, где эти бактерии выделяют от 3-5% больных с диарейным синдромом. Аэромонадные гастроэнтериты зарегистрированы также в США, Австралии и во многих странах Европы - Италии, Франции, Нидерландах и т.д. Чаще *Aeromonas* выделяют от детей, но они могут быть возбудителями ОКЗ и у взрослых людей. В частности по данным Public Health Laboratory Service (Лондон), в Великобритании только за последние 2 года было зарегистрировано 690 больных, у которых ОКЗ были

обусловлены аэромонадами. При этом необходимо отметить, что в 1986 г. число больных по сравнению с 1985 г. увеличилось более чем в 1,4 раза - соответственно было зарегистрировано 405 и 285 случаев аэромонадной инфекции. Как и во многих других странах, в Великобритании отмечается отчетливая летне-осенняя сезонность аэромонадных гастроэнтеритов (Boxmie E. Rose and Anita J.G. Okaend, 1998).

Сезонный рост числа заболеваний, вызванных бактериями вида *Aeromonas caviae*, наблюдается обычно летом. В это же время увеличивается частота обнаружения аэромонад в пресной или морской воде, что дает основание считать воду одним из факторов передачи возбудителей. Отсюда можно сделать вывод, что бактерии *Aeromonas caviae* имеют существенное значение в биологии диарейных заболеваний (Mishra S., Nair G. et al., 1987).

Как правило, бактерии вида *Aeromonas caviae* выделяют при спорадических случаях ОКЗ, однако описаны и вспышки, во время которых эти микроорганизмы рассматривали как возможный этиологический фактор групповых диарейных заболеваний. В эпидемиологии аэромонадных гастроэнтеритов, которые в разных странах составляют от 2% до 10% в структуре ОКЗ бактериальной природы, определенную роль помимо больных людей и инфицированных продуктов питания или объектов внешней среды могут играть бессимптомные бактерионосители и реконвалесценты. Это следует учитывать при выявлении источников инфекции и определении факторов передачи возбудителей.

**Передача возбудителя.** Передача возбудителя аэромонады происходит через зараженную воду, но может передаваться и через пищу. Бактериями *Aeromonas caviae* бывают заражены не только морепродукты (рыба, ракообразные, моллюски), но и свинина, говядина, баранина и мясо птицы. Тем не менее, считается, что человек заражается в основном либо через открытые раны, полученные при купании, или при поступлении значительного числа бактерий с питьевой водой. Поскольку аэромонады встречаются в пресной и морской воде и патогенны для гидробионтов, человек может заразиться при проведении ремонтных работ в мелиоративных системах.

**Патогенез.** В патогенезе ОКЗ, обусловленных бактериями вида *Aeromonas caviae*, существенное значение имеет их токсигенная активность, энтеротоксигенная способность и наличие у многих штаммов факторов колонизации (адгезинов). У бактерий *Aeromonas caviae* выявлены также термостабильный энтеротоксин, протейназы, эндопептидазы, фибринолизин и лейкоцидин, однако их роль как факторов вирулентности данных бактерий еще не изучена.

**Опасность для человека.** Поражения желудочно-кишечного тракта, вызванные бактериями вида *Aeromonas caviae*, как правило, протекают сравнительно легко. Наиболее характерными симптомами является водянистая диарея, наблюдаемая практически у всех больных. Кроме того, возможно небольшое повышение температуры тела (у 50-75% больных). Нередкие признаки - рвота и боли в животе, отмечаемые в 30-60% случаев. У части больных в фекалиях обнаруживают кровь и слизь. В тяжелых случаях аэромонадная инфекция может продолжаться до нескольких недель.

Таким образом, у большей части больных диарея прекращается через 1-2 дня, но в 10-15% случаев заболевание продолжается 1,5-2 недель, а у отдельных больных и дольше (G. Castro-Escarpullia et al. 2003).

У людей с ослабленным иммунитетом при заражении бактериями *Aero-*

*monas caviae* может даже развиваться септицемия (заражение крови) и в этом случае инфекция приобретает угрожающий жизни характер, поражая мозг, кости, почки, глаза, мягкие ткани. В результате у пациентов с таким заражением может развиваться пневмония, менингит, остеомиелит, септический артрит, гангренозные поражения кожи и т.п. Особенно велика вероятность такого неблагоприятного развития событий у людей, больных лейкемией, карциномой, циррозом, а также у проходящих курс химиотерапии или принимающих иммуноподавляющие препараты (Чайка Н.А., 1987).

**Выделение и идентификация.** Для выделения бактерий вида *Aeromonas caviae* из продуктов питания и внешней среды используют кровяной агар или среду МакКонки. В то же время для получения чистых культур из клинического материала (например, из фекалий) необходимо применять селективные среды. Большая часть штаммов растет на кровяной среде в виде влажных серых колоний, окруженных зоной гемолиза. При идентификации выделенных культур вначале определяют способность бактерий продуцировать оксидазу, а затем оксидазоположительные колонии испытывают в ряде тестов (реакция Фогеса-Проскауэра, глюкоза, глюконат и др.) для дифференциации данного вида аэромонад (Равилов А.З., 1999).

Для выделения и идентификации бактерий вида *Aeromonas caviae* используют среду Aeromonas Isolation Medium Base. Данная среда с добавлением ампициллина рекомендуется для селективного выделения и дифференциации *Aeromonas caviae* при исследовании клинического материала и объектов внешней среды.

Состав:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон (спец.)	5,00
Дрожжевой экстракт	3,00
L-лизина гидрохлорид	3,50
L-аргинина гидрохлорид	2,00
Инозит	2,50
Лактоза	1,50
Сорбоза	3,00
Ксилоза	3,75
Соли желчных кислот	3,00
Натрия тиосульфат	10,67
Натрия хлорид	5,00
Железа аммонийного цитрат	0,80
Бромтимоловый синий	0,04
Тимоловый синий	0,04
Агар-агар	12,50
Конечное значение pH (при 25°C) $8,0 \pm 0,2$	

Приготовление:

Для приготовления данной среды необходимо размешать 28,15 г порош-

ка в 500 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. При этом автоклавировать не рекомендуется. Остудить до 50°C и добавить растворенное в воде содержимое пузырька с селективной добавкой для бактерии *Aeromonas caviae*. Тщательно перемешать и разлить в пробирки или чашки Петри.

Принцип и оценка результата:

Среда является модификацией среды XLD, широко применяемой для выделения протеев и других энтеробактерий, а также *Aeromonas* spp. и *Plesiomonas* spp. Добавление ампициллина (FD039) повышает селективность среды.

Показано, что данная среда имеет преимущества перед некоторыми другими средами при обнаружении видов *Aeromonas caviae* в водопроводной воде, фасованной воде и пищевых продуктах, в том числе мясных, рыбных, домашней птице и морепродуктах. В связи с этим среда для выделения аэромонад может быть весьма полезной для диагностики диарейных заболеваний.

Контроль качества:

Внешний вид порошка должен быть в виде гомогенного сыпучего желтого порошка. Плотность готовой среды должна соответствовать по плотности 1,25%-ному агаровому гелю. Кроме того готовая среда имеет темно-зеленую окраску, прозрачна и слегка опалесцирует, если в чашках Петри формируется гель. При 25°C водный раствор (5,63% вес/об) имеет pH 8,0 ± 0,2.

Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24 ч при 37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Колонии
<i>Aeromonas hydrophila</i> (7966)	Обильный	Темно-зеленые непрозрачные с темным центром
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	Хороший или обильный	Маленькие синие (серые) прозрачные
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Отсутствует	–
<i>Salmonella typhi</i> (6539)	Отсутствует	–
<i>Shigella sonnei</i> (12022)	Отсутствует	–

Как уже говорилось, бактерии вида *Aeromonas caviae* широко распространены в объектах окружающей среды, и они вызывают острые кишечные заболевания у людей. В основном их обнаруживают в сырой и хлорированной питьевой воде, сыром молоке и пищевых продуктах. Установлено, что большинство кишечных инфекций, вызванных видами *Aeromonas caviae*, обусловлено употреблением контаминированной воды. Таким образом, для селективного культивирования и предварительной идентификации *Aeromonas caviae* из воды методом мембранных фильтров используется среда Rippey – Carbelli Agar Base с селективной добавкой.

Состав:

Ингредиенты	грамм/литр
Триптоза	5,00
Трегалоза	5,00
Дрожжевой экстракт	2,00
Натрия хлорид	3,00
Калия хлорид	2,00
Магния сульфат	0,20
Железа (III) хлорид	0,10
Бромтимоловый синий	0,04
Агар-агар	15,00
Конечное значение pH (при 25°C) 8,0 ± 0,2	

Приготовление:

Чтобы приготовить среду для выделения и идентификации бактерий *Aeromonas caviae* необходимо размешать 16,17 г порошка в 500 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C, асептично добавить 5 мл этанола и растворенное в воде содержимое 1 флакончика с селективной добавкой FD107. Затем тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

Принцип и оценка результата:

Агар позволяет дифференцировать бактерии по ферментации трегалозы. Триптоза и дрожжевой экстракт служат источником азотистых питательных веществ, витаминов группы B, микроэлементов и других веществ, необходимых для роста *Aeromonas caviae*. Ампициллин, дезоксихолат натрия и этанол служат селективными веществами, которые подавляют рост грамположительных микроорганизмов, колиформных бактерий, шигелл, *Proteus mirabilis* и актиномицет. Этанол препятствует разрастанию на фильтре клебсиелл.

Ампициллин нежелателен в качестве селективного агента для плезиомонад. К недостаткам среды надо отнести невозможность различения лизин-положительных аэромонад и необходимость дифференциации аэромонад от энтеробактерий, потому что большинство из них ферментирует трегалозу. При использовании чистых культур специфичность и чувствительность среды повышается.

Контроль качества:

Внешний вид порошка - гомогенный сыпучий бледно-зеленый порошок. Готовая среда соответствует по плотности 1,5%-ному агаровому гелю. Среда имеет темно-зеленую окраску, прозрачна или слегка опалесцирует, если в чашках Петри формируется гель. При 25°C водный раствор (3,23% вес/об) имеет pH 8,0 ± 0,2.

Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24 ч при 35°C.

Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост	Трегалоза (ферментация)
<i>Aeromonas hydrophila</i> (7966)	Обильный	+
<i>Escherichiacoli</i> (25922)	Отсутствует или слабый	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	-
<i>Shigella flexneri</i> (12022)	Подавляется	-

**Примечания:**

«+» - образование кислоты, желтый цвет колоний;

«-» - отрицательный результат, цвет сине-зеленый.

Литература:

1. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. // Микробиологические среды, Казань, 1999
2. Чайка Н.А., Семенова О.И. // Аэромонадная инфекция, библиографический указатель отечественной и зарубежной литературы // Л., 1987
3. G. Castro-Escarpullia et.al. // International journal of food microbiology 84, 2003, p.41
4. Voxmie E. Rose and Anita J.G. Okaend // Microbiology Laboratory Guidebook, 1998, 3
5. Mishra S., Nair G. et al. // J. Clin. Microbiol., 1987, v. 25, № 11