

## ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОВАРИАНТОВ *AEROMONAS HYDROPHILA*

Гринева Т.А., Горшков И.Г., Горшкова Н.Г., - соискатели кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Канаева Т.И., к б н, ст преподаватель кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Интенсивное развития аквакультуры, выращивание рыбы в садках, в настоящее время обеспечивающие примерно половину мировой продукции рыбы и водных беспозвоночных, приводит к нарушению экологического равновесия и росту заболеваний рыб. Основную массу составляют бактериальные инфекции, обусловленные подвижными аэромонадами.

Аэромонады являются частью нормальной микрофлоры кишечника рыб, но в неблагоприятных условиях способны вызывать бактериальную септицемию. Заболевание наносит значительный экономический ущерб, складывающийся из прямой гибели рыб, снижения темпов роста инфицированных особей (даже при отсутствии клинических признаков), затратах на санацию мест обитания.

Главными факторами, определяющими численность аэромонад в водоеме, являются повышенная температура воды, высокий уровень органической нагрузки, дефицит растворенного кислорода, рост плотности восприимчивых хозяев.

Все представители *Aeromonas* способны вызывать заболевания рыб, но в каждом конкретном случае различные представленные в водоёме штаммы этих бактерий имеют различную вирулентность и разный удельный вес в микробиоценозе, и как следствие - степень их опасности для культивируемой рыбы различна. Большое эпизоотологическое значение в патологии рыб представляет вид *Aeromonas hydrophila*, имеющий биоварианты: *A. hydrophila subsp. dhakensis*; *A. hydrophila subsp. hydrophila*; *A. hydrophila subsp. ranae*; *A. hydrophila subsp. anaerogenes*; *A. hydrophila subsp. decolorationis*.

Все представители вида грамотрицательные, прямые, подвижные, хемоорганотрофные факультативно-анаэробные палочки. Продуцируют оксидазу, каталазу, редуцируют нитраты без образования газа. Оптимальный рост при 28 °С через 24ч., но все штаммы могут расти при 41 °С 24±48ч. Не образуют коричневый водорастворимый пигмент. Не ферментируют адонит, инозит, дульцит, ксилозу, мочевины, D-мелибиозу. Не производят

орнитиндекарбоксилазу. Продуцируют аргинингидролазу, лизиндекарбоксилазу. Используют в качестве единственного источника углерода: DL-лактат, арбутин, D-мелибиозу.

Таблица 1. Тесты для фенотипической дифференциации *A. hydrophila ssp.* от других представителей *Aeromonas*.

	1	2*	3*	4†	5‡	6‡	7§	8‡	9‡	10‡	11‡	12§	13‡	14‡	15	16¶
Использование:																
DL-лактата	+	+	+	-	В+	+	-	В+	-	-	+	-	В+	НД	НД	+
Арбутина	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	НД	-
D-маннита	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	В+	+	+
D-мелибиоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	НД	НД	-
Кислота из:																
Салицина	-	+	+	В-	+	В+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
D-целлобиозы	-	-	В-	В-	В+	+	+	+	В-	В+	-	-	-	+	+	-
L-арабинозы	-	-	+	+	+	+	В+	-	-	-	-	В-	-	-	В+	В-
D-сахарозы	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	В-	-	В-	+	-
Декарбоксилирование:																
Орнитина	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	В-	-
Лизина	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	В+	+	+	-
Аргининдигидролазы	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	В+	+

1, *Aeromonas hydrophila subsp. ranae*; 2, *Aeromonas hydrophila subsp. dhakensis*; 3, *Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila*; 4, *Aeromonas bestiarum*; 5, *Aeromonas caviae*; 6, *Aeromonas media*; 7, *Aeromonas eucrenophila*; 8, *Aeromonas sobria*; 9, *Aeromonas veronii biovar sobria*; 10, *Aeromonas veronii biovar veronii*; 11, *Aeromonas jandaiei*; 12, *Aeromonas encheleia*; 13, *Aeromonas schubertii*; 14, *Aeromonas trota*; 15, *Aeromonas allosaccharophila*; 16, *Aeromonas popoffii*.

+, ≥85 % положительных штаммов; -, ≥85 % отрицательных штаммов; v+, 50–85 % положительных штаммов; v-, 50–85 % отрицательных штаммов; нд, нет данных.

\*Данные Abbott *и др.* (1992), Kämpfer & Altwegg (1992), Hänninen (1994) и Huys *и др.* (2002).

†Данные Abbott *et al.* (1992), Kämpfer & Altwegg (1992) и Hänninen (1994).

‡Данные Altwegg & Lüthy-Hottenstein (1991), Abbott *и др.* (1992) and Kämpfer & Altwegg (1992).

§Данные Huys *и др.* (1997a).

||Данные Martinez-Murcia *и др.* (1992).

*A. hydrophila* subsp. *hydrophila* биохимически активный биовариант: ферментирует L-арабинозу, L-фукозу, £-метилДманозид, образует кислоту из L-арабинозы, не утилизирует уроканиновую кислоту.

*A. hydrophila* subsp. *dhakensis* генотипически принадлежит к *A. hydrophila* группы гибридизации ДНК (HG) 1 (родство ДНК 78-92%). Биовариант отличается по восьми биохимическим свойствам. Диагностическое значение имеют по крайней мере три из них: использование уроканиновой кислоты и L-арабинозы, кислоты из L-арабинозы.

*A. hydrophila* subsp. *ranae* представляет собой уникальный фенотипический таксон, принадлежащий *A. hydrophila* группы гибридизации ДНК (HG) 1 (родство ДНК между эталонными штаммами *A. hydrophila* subsp. *hydrophila* 80-93%, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* 75-85%). В дополнение положительного теста на утилизацию уроканиновой кислоты, двенадцать отрицательных результатов позволяют дифференцировать *A. hydrophila* subsp. *ranae* от *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* и *A. hydrophila* subsp. *hydrophila* из-за биохимической инертности.

Среди этих тестов усвоение L-глицина в изобутират в качестве единственного источника углерода, кислоты из салицина и D-сахарозы, гидролиза эскулина.

#### Использованная литература:

1. Канаева, Т.И. Ускоренный метод внутривидовой дифференциации бактерий *Aeromonas hydrophila* / Т.И. Канаева, Э.А. Афонин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование в реализации национального проекта «Развитие АПК»: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, 22-24 ноября 2006. – Ульяновск, 2006. – С.345-348.

2. Канаева, Т.И. Рост бактерий *Aeromonas hydrophila* при различных температурных режимах культивирования / Т.И. Канаева, Э.А. Афонин, Д.А. Васильев // Молодежь и наука XXI века: Материалы 2-й Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, 24-26 апреля 2007. – Ульяновск, 2007. – С.71-73.

3. Канаева, Т.И. Выделение и идентификация бактерий вида *Aeromonas hydrophila* / Т.И. Канаева, Д.А. Васильев // Биотехнология. Вода и пищевые продукты: Материалы Международной научно-практической конференции, 11-13 марта 2008. – Москва, 2008. – С. 124-125.

4. Abbott, S. L., Cheung, W. K. W., Kroske-Bystrom, S., Malekzadeh, T. & Janda, J. M. (1992). Identification of *Aeromonas* strains to the genospecies level in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 30, 1262±1266.

5. Albert, M. J., Faruque, A. S. G., Faruque, S. M., Sack, R. B. & Mahalanabis, D. (1999). Case-control study of enteropathogens associated with childhood diarrhea in Dhaka, Bangladesh. *J Clin Microbiol* 37, 3458±3464.

6. Albert, M. J., Ansaruzzaman, M., Talukder, K. A. & 7 other authors (2000). Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. *J Clin Microbiol* 38, 3785±3790.

7. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 2007.

8. Huys, G., Kämpfer, P., Albert, M. J., Kühn, I., Denys, R. & Swings, J. (2002). *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* subsp. nov., isolated from children with diarrhoea in Bangladesh, and extended description of *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* (Chester 1901) Stanier 1943 (Approved Lists 1980). *Int J Syst Evol Microbiol* 52, 705–712.