
ХВОРОБИ РИБ

УДК 591.2.597

ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ РОДУ *AEROMONAS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД КОРОПА

Н.А. Рабірох

Інститут рибного господарства НААН України, м. Київ

*Розглянуто питання зв'язності властивостей бактерій роду *Aeromonas*, виділених від коропа, від абіотичних факторів природного середовища, зокрема температури.*

Відмінності імунної системи теплокровних тварин та риби зумовлені анатомічними, фізіологічними і біохімічними властивостями. Прояви імунологічної реактивності риб залежать від абіотичних факторів природного середовища, зокрема температури. Аеромонадна септицемія частіше виникає весною та на початку літа. Серед захворювань коропів, спричинених умовно патогенною бактеріальною мікрофлорою, найбільш поширеним і небезпечним є аеромоноз.

Одна з причин виникнення аеромонозу у коропів — зміна напруженості імунітету, зумовлена порушенням функції імунного захисту, що є результатом впливу на рибу стрес-факторів унаслідок порушення санітарно-гігієнічних норм утримання, технологій вирощування в аквакультури та ін. За кордоном у боротьбі з аеромонозами коропів важливе місце займає специфічна профілактика із застосуванням вакцини [1].

Аеромонади є постійними мешканцями водойм, але залежно від їх кількості та вірулентності, а також імунного статусу організму риб вони стають збудниками захворювання. Запропоновані методи ідентифікації та визначення патогенності аеромонад вимагають великих затрат праці та робочого часу, що впливає на ефективність лікувально-профілактичних заходів.

Удосконалення методів діагностики аеромонадних захворювань риби, визначення патогенності бактерій шля-

хом визначення їх ДНК-азної активності приводить до поліпшення епізоотичної ситуації у рибницьких господарствах. Хоча аеромонади здатні швидко набувати резистентності до антибіотиків. Багато дослідників вважають, що раціональними для боротьби з аеромонозами коропа є підвищення резистентності організму риби шляхом застосування біологічно чистих препаратів.

Одним із збудників захворювання коропів є *Aeromonas hydrophila* — грам-негативна, коротка, з заокругленими кінцями, кокоподібна, рухлива паличка, що не утворює спор і капсул. При добовому інкубуванні посівів на МПА бактерія утворює округлі колонії з рівними краями, блискучі, випуклі, напівпрозорі, з блакитним або білувато-матовим відтінком. При вирощуванні на МПБ виникає рівномірна каламуть середовища — “муарові хвилі” при струшуванні і білувато-сірий, пластинчастий осад на дні пробірки, а на поверхні середовища утворюється плівка [2].

Метою дослідження був аналіз властивостей бактерій, що спричиняють аеромонадну септицемію коропа.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У досліді використовували виділені нами від коропа бактерії *Aeromonas* та Мікро-ла-тест набору НЕФЕРМ 24 (Чехія). Методом висіву ізолятів *Aeromonas* у поживні середовища Гісса визначали їх цукролітичні властивості. Методом зміни

кольору паперу з відповідним інгредієнтом — утворення аеромонадами індолу, сірководню та аміаку. Фермент каталази виявляли методом розщеплення перекису водню під дією каталази, утворення уреазу — методом висіву бактерій на середовище Олькеницького. Чутливість їх до антибіотиків визначали за методом застосування дисків.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Бактерії роду *Aeromonas*, родини *Vibrionaceae*, виду *Aeromonas hydrophila*, виділені від коропа, добре росли як за температури 26°C, так і за інкубування і температури 37°C, утворювали круглі, напівпрозорі з сіруватим відтінком колонії, що легко знімались з субстрату. Діаметр колоній сягав 3–4 мм, при інкубуванні за температури 26°C через 48 год. Виділені аеромонади росли на напіврідкому 2%-му МПА під вазеліновим маслом. Вони давали позитивну реакцію на цитохромоксидазу, каталазу та з метиленовим червоним. ДНК-азна активність виділених штамів була незначною (зони деполімеризації ДНК 1,0–1,5 мм).

Виділені з води та від коропа ізоляти віднесені до родини *Aeromonas*, на середовищі Ендо — це рожеві, блискучі, вологі колонії, які на МПА — напівпрозорі, сірувато-білі колонії, округлі з рівним краєм, які на МПБ утворювали ніжну плівку та каламуть, мали рухливі клітини, за Грамом фарбувалися негативно. При мікроскопії спостерігалися клітини від прямих паличок із заокругленими кінцями до сферичних 0,3–1,0×1,0–3,5 мкм одиночні, парні або у вигляді коротких ланцюжків. Факультативні анаероби каталізували глюкозу з утворенням кислоти, а деякі ізоляти — газу. Тест на уреазу був негативний, на ДНК-азу і желатину — позитивний. Зброджували вуглеводи, включаючи мальтозу, D-галактозу і трегалозу. Під дією цитолітичних ферментів бактерій *Aeromonas* цукри розщеплювали на альдегіди та кислоти, кінцевими продуктами їх розпаду були газоподібні речовини — CO₂ і H₂. Різні підвиди аеромонад по-різному реагували на одні і ті самі цукри, використані для їх диференціації [3].

Для виявлення цукролітичних ферментів досліджувану культуру *Aeromonas*

висівали в поживні середовища Гісса у 5 пробірок: з глюкозою, лактозою, манітом, мальтозою та цукрозою. Середовища Гісса були напіврідкими, і за наявністю дрібних пухирців газу в товщі середовища і стійкої піни на поверхні визначали газоутворення. Таким чином, при вивченні цукролітичних ферментів, які виділяються аеромонадами, враховували не лише явище розщеплення тих чи інших цукрів з кислотоутворенням, а й глибину ферментативного процесу за наявністю в поживному середовищі кінцевих газоподібних продуктів. Визначення утворення індолу аеромонадами спостерігали за допомогою індикаторного паперу. Індол утворювався при розщепленні складної гетероциклічної кислоти — триптофану на переварі Хоттінгера. Спостереження проводили через 24–28 год, утворення індолу в бульйоні культури супроводжувався забарвленням нижнього кінця індикаторного паперу в рожевий колір. Визначення утворення сірководню є кінцевим продуктом розщеплення амінокислот: цистину, цистеїну та метіоніну, які містять у своєму складі сірку. Петлю досліджуваної культури мікробів засівали в пробірку з м'ясо-пептонним бульйоном. Відразу після посіву туди вносили просочену щавлевокислим свинцем стрічку індикаторного паперу на визначення сірководню.

Визначення наявності каталази поряд з визначенням інших біохімічних показників використовували при ідентифікації виду. На поверхню мікробної культури, вирощеної на щільному поживному середовищі в чашці Петрі наносили 1–2 мл 1%-го розчину перекису водню так, щоб вона покрила поверхню культури тонким шаром. Утворення пухирців повітря в шарі нанесеної рідини свідчило про утворення кисню в результаті розщеплення перекису водню під дією каталази.

Визначення чутливості аеромонад до антибіотиків проводили методом дифузії в агар із застосуванням дисків. На поверхню засіяного та підсушеного середовища клали диски, просочені антибіотиками. Антибіотична речовина, наявна в диску, дифундувала в агар, утворюючи навколо нього зону пригнічення росту чутливих до нього аеромонад. Процес дифузії антибіотика в агар закінчувався через

3–4 год після нанесення диска. Більша концентрація антибіотика відмічалася в місці розміщення диска, у напрямі до периферії вміст його зменшувався. Аеромонади, чутливі до антибіотика, утворювали навколо відповідних дисків зони пригнічення росту, які чітко виділяли на фоні суцільного мікробного росту. Величина зони пригнічення визначала ступінь чутливості аеромонади до антибіотиків. Вимірювання зони пригнічення здійснювали за допомогою міліметрової лінійки, вимірюваний діаметр зони проходив через центр диска.

ВИСНОВКИ

Аеромонади, виділені від коропа, росли в анаеробних умовах. Це грамнегативні, короткі з заокругленими кінцями до сферичних $0,3-1,0 \times 1,0-3,5$ мкм палички одиничні в парах і коротких ланцюжках.

Оптимальна температура їхнього росту 26°C .

Виділені від коропа аеромонади давали позитивну реакцію на каталазу та оксидазу, желатиназу та ДНК-азу, а також на аргініндегідролазу. Негативні — на орнітіндекарбоксілазу, уреазу та феніланіндезаміназу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончаров Г.Д. Лабораторная диагностика болезней рыб. — М.: Колос, 1973. — 120 с.
2. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. — М.: Мир, 1997. — Т. 2. — 368 с.
3. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. — М.: Медицина, 1978. — 394 с.

СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ РОДА *AEROMONAS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КАРПА

Н.А. Рабирах

Рассмотрен вопрос зависимости свойств бактерий рода *Aeromonas*, выделенных от карпа, от абиотических факторов естественной среды, в частности температуры.

PROPERTIES OF BACTERIA OF SPECIES *AEROMONAS* ALLOCATED FROM THE CARP

N. Rhabiroh

In article the question concerning the properties of bacteria of species *Aeromonas* allocated from a carp depending of abiotic factors of a natural environment, in particular from temperature is considered.