

УДК 619:616.9:639.215.2

Божик В.Й., Крушельницька О.В. ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини і біотехнології імені С.З.Гжицького***ЕТИОЛОГІЯ АЕРОМОНОЗУ КОРОПА РИБНОГО ГОСПОДАРСТВА
«БОРСУКИ» ТЕРНОПІЛЬСЬКОГО ОБЛРИБКМБІНАТУ**

Досліджено тинкторіальні, культуральні та біохімічні властивості бактерій виділених від коропових риб із клінічними ознаками аеромонозу та проведено їх ідентифікацію.

В умовах сьогодення значно зростає значення промислового вирощування риби у внутрішніх водоймах України. Одним із факторів що гальмує розвиток даної галузі сільського господарства є інфекційні та інвазійні захворювання, які завдають значних економічних збитків. Важливим є той факт, що основним місцем локалізації і концентрації збудників хвороб є водойма з усіма її складовими. Доведеним також є і те, що склад мікрофлори та характер мікробіологічних процесів у водних об'єктах тісно пов'язаний із екологічною ситуацією у навколишньому середовищі.

Для рибних господарств, які вирощують коропових в полікультурі з об'єктами далекосхідного комплексу, за інтенсивною технологією, одним із небезпечних та широкопоширених захворювань є краснуха - аеромоноз. Відомо також, що аеромонади постійно присутні у водному середовищі, проте для даного захворювання характерним фактором є виражена сезонність – кінець весни та початок літа, при цьому летальність риби може досягати 70%.

Основною причиною цього є зниження опірності організму риб за час зимівлі. Сприяючими факторами у розвитку даного процесу є антропогенне навантаження на водні об'єкти, внаслідок чого понижується імунітет риб, підвищується чутливість до захворювань інфекційної етіології, знижуються прирости та якість продукції, а також виникає загроза масових отруєнь населення через можливість супутньої контамінації уражених аеромонадами риб збудниками інфекційних хвороб небезпечних для людей, зокрема і ботулізму.

В доступних джерелах літератури нами не було відмічено достатню кількість даних, щодо оцінки епізоотичного стану і рівня циркуляції патогенних мікроорганізмів у водному середовищі, коропових рибгосподарств та в організмі риб вирощених в умовах Західного регіону України.

Саме тому, виникає потреба розробки і впровадження негайних заходів щодо попередження виникнення та поширення заразних захворювань риб, основне місце в яких має належати проведенню глибокого мікробіологічного та імунологічного моніторингу оцінки епізоотологічного благополуччя рибгосподарств.

Метою наших досліджень було проведення бактеріологічного моніторингу органів і тканин коропових риб уражених аеромонозом і виявлення циркуляції патогенних мікроорганізмів.

Матеріали та методи. У матеріалі при дослідженні ідентифікації мікрофлори методом послідовних розведень було виділено чисті культури мікроорганізмів з досліджуваних проб патматеріалу (виразок), з наступним вивченням морфологічних (форма, угруповання, наявність спор, капсул, рухливість), тинкторіальних (фарбування за Грамом), культуральних (ріст на МПБ, МПА, вісмут-сульфітному агарі, лактозо-пептонному середовищі, лужному агарі, середовищі Ендо, Левіна, Плоскірева, Сабуро, Кітта-Тароцці та кров'яному агарі) і біохімічних властивостей (утилізація цитрату на середовищі Сімонса, окислення та ферментація глюкози на середовищі Хью-Лейфсона, наявність ферментації желатини на МПЖ, протеоліз, ферментація вуглеводів на середовищі Гісса, коагуляція молока, розщеплення сечовини, утворення лізину, фенілаланін-дезамінази, редукція маланату Na та ацетату Na). Досліджували ДНК-азну активність виділених штамів. Фермент каталази виявляли методом розщеплення перекису водню під дією каталази, утворення уреазі — методом висіву бактерій на середовище Олькеницького.

Результати досліджень та їх обговорення. Клітини були рухливі, але не утворювали спори та капсули, за Грамом фарбувалися негативно. При мікроскопії спостерігалися клітини у вигляді прямих паличок із заокругленими кінцями. Їхнє розміщення було поодиноким, попарним або у вигляді коротких ланцюжків (таблиця №1).

Таблиця 1

Основні морфологічні та тинкторіальні властивості виділених мікроорганізмів

форма	угруповання	спори	капсули	рухливість	фарбування за Грамом
палички	поодиноким, або попарно	-	-	+	-

З відібраних проб було виділено бактерії роду *Aeromonas*, родини *Vibrionaceae*, виду *Aeromonas hydrophila* які добре росли як за температури 26°C, так і за інкубування при температурі 37°C, утворювали круглі, напівпрозорі з сіруватим відтінком колонії, що легко знімались з субстрату. Діаметр колоній сягав в середньому 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.

Виділені з води та від коропа ізоляти віднесені до родини *Aeromonas*, які на МПБ утворювали рівномірне помутніння, муарові хвилі при струшуванні і пластівцеподібний, біло-сірий осад, на МПА — круглі колонії, з рівними краями, колонії опуклі блискучі, напівпрозорі із блакитним чи біло-матовим відтінком, на вісмут-сульфітному агарі – колонії зеленого кольору, на лужному

агарі – дрібні, слизові, напівпрозорі колонії з блакитним відтінком, на середовищі Ендо – рожеві дрібні, блискучі, вологі колонії, на середовищі Плоскірева та Левіна – напівпрозорі із блакитним відтінком колонії, на кров'яному агарі – слизові сірі колонії з бета-гемолізом, на лактозо-пептонному середовищі, а також на середовищах Сабуро і Кітта - Тароцці – ріст мікроорганізмів не спостерігався (таблиця №2).

Таблиця 2

Основні культуральні властивості виділених мікроорганізмів

тип дихання	МПБ	МПА	лактозо-пептонне с-ще	вісмут-сульфітний агар	лужний агар
аероби	рівномірне помутнення, муарові хвилі при струшуванні і пластівцеподібний, біло-сірий осад на дні	круглі колонії, з рівними краями, колонії блискучі опуклі напівпрозорі з блакитним чи біло-матовим відтінком	-	колонії зеленого кольору	дрібні, слизисті, напівпрозорі колонії з блакитним відтінком
с-ще Сабуро	с-ще Ендо	с-ще Левіна	с-ще Кітта-Тароцці	кров'яний агар	с-ще Плоскірева
-	дрібні рожеві колонії, напівпрозорі з блакитним відтінком	дрібні рожеві колонії, напівпрозорі з блакитним відтінком	-	бета-гемоліз, сірі слизисті колонії	дрібні рожеві колонії, напівпрозорі з блакитним відтінком

Факультативні анаероби каталізували глюкозу з утворенням кислоти, а деякі ізоляти — і газу. Тест на уреазу був негативний, на ДНК-азу і желатину — позитивний. Зброджували вуглеводи, включаючи мальтозу. Під дією цитолітичних ферментів бактерій *Aeromonas hydrophila* цукри розщеплювали на альдегіди та кислоти, кінцевими продуктами їх розпаду були газоподібні речовини — CO_2 і H_2 .

Для виявлення цукролітичних ферментів досліджувану культуру *Aeromonas hydrophila* висівали в поживні середовища Гісса у 5 пробірок: з глюкозою, лактозою, манітом, мальтозою та цукрозою. Середовище Гісса було напіврідким, і за наявності 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 утворенням кислоти, а й глибину ферментативного процесу за наявності в поживному середовищі кінцевих газоподібних продуктів. Ферментували глюкозу на середовищі Хью-Лейфсона, ферментували маніт, сахарозу та мальтозу з утворенням газу, проте не ферментували лактозу, не коагулювали молоко, не розщеплювали сечовину, не утворювали лізин та фенілаланін-дезаміназу, проте редукували маланат і ацетат Na. Визначення утворення індолу аеромонадами спостерігали за допомогою індикаторного паперу. Індол утворювався при розщепленні складної гетероциклічної кислоти — триптофану. 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. 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. Утилізували цитрат Na на середовищі Сімонса (таблиця №3).

Таблиця 3

Основні біохімічні властивості виділених мікроорганізмів

середовище Сімонса	середовище Хью-Лейфсона	розрідження желатини	утворення сірководню	ферментація				утворення індолу	коагуляція молока	розщеплення сечовини	лізін	фенілаланін-дезаміназа	редукція маланату Na	редукція ацетату Na
				маніт	лактоза	сахароза	мальтоза							
+	+	-	+/-	+2	-	+2	+2	+	-	-	-	-	+	+

+ позитивна реакція; - негативна реакція; +/- реакція відбувалася не завжди; +2 ферментація з утворенням газу.

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.

Висновок: мікробну культуру виділену від коропових риб із клінічними ознаками аеромонозу після проведення культуральних, тинкторіальних та біохімічних властивостей бактерій ідентифіковано як *Aeromonas hydrophila*.

Література

1. Гончаров Г.Д. Лабораторная диагностика болезней рыб. — М.: Колос, 1973. — 120 с.
2. Определитель бактерий Берги (перевод)// М.: Мир, 1997. – Т. 2. — 368 с.
3. Компанец Э.В., Исаева Н.М., Балахнин И.А. Бактерии рода *Aeromonas* и их роль в аквакультуре// Микробиол. журнал.– 1992, Т.54, Вып. 4.– С. 89-99.
4. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. — М.: Медицина, 1978. — 394 с.
5. Воробйов А.А. і ін. Мікробіологія // М.: Медицина, 2003.- 336с.

Summary

Borhyk V., Krushelnytska O.

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named
after S.Z. Grhytskyj*

**ETIOLOGY BACTERIAL CARP FISH RYBHOSPODARSTVA «BORSUKY»
TERNOPIL OBLRYBKOMBINAT**

*Cultural research, tinctirial and biochemical properties of bacteria isolated
from carp fish with clinical signs of Aeromonas and held their identification.*

*Microbial culture selected from carp fish with clinical signs of Aeromonas
infection after the cultural, tinctirial and biochemical properties of bacteria identified
as Aeromonas hidrophila.*

Рецензент – д.вет.н., професор Юськів І.Д.