

Rapid molecular detection of bacterial pathogens in aquaculture using nucleic acid amplification techniques

Rubel M.S.¹, Shkodenko L.A.^{1,2}, Shchekuteva E.O.², Bobkov G.A.^{1,2}, Sudakova N.V.^{1,3}, Rubel A.A.¹

¹St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

²ITMO University, St. Petersburg, Russia

³St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russia

Использование методов амплификации нуклеиновых кислот микроорганизмов для экспресс-идентификации бактериальных патогенов в аквакультуре

Рубель М.С.^{1*}, Шкоденко Л.А.^{1,2}, Щекутьева Е.О.², Бобков Г.А.^{1,2}, Судакова Н.В.^{1,3}, Рубель А.А.¹

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

²Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Россия

* m.rubel@spbu.ru

Интенсивное развитие товарного разведения радужной форели в России привело к росту производства молоди из живой оплодотворённой икры [1]. Поскольку ранние стадии развития очень чувствительны к физико-химическим и микробиологическим факторам среды, большинство хозяйств выращивают молодь в установках замкнутого водообеспечения (УЗВ) с полностью контролируемым водным режимом. Для обеспечения стабильной производительности и предотвращения вспышек заболеваний в таких системах критически важен оперативный мониторинг и раннее выявление изменений в видовом составе микробных сообществ УЗВ.

Классическим способом изучения бактериальных систем является посев проведение микробиологических исследований путем выполнения серии посевов на различных селективных и накопительных средах [2]. Для рыбоводных хозяйств в большинстве случаев организация собственного превентивного микробиологического мониторинга недоступна по причине высокой трудоемкости и стоимости, что является причиной того, что обращение в специализированные лаборатории происходит всегда уже при возникновении массовой гибели рыб из-за бактериальной инфекции. То есть проблема текущего мониторинга видового состава бактерий не имеет сегодня рабочего решения для практических рыбоводных хозяйств [3].

Ввиду того, что использование антибиотиков строго регламентируется на пищевом производстве, целью настоящего исследования является создание бактериофага, специфично нацеленного на высокопатогенные виды бактерий. В настоящей статье обсуждается этап исследования, посвященный изучению различных образцов воды и смывов из систем УЗВ для выбора оптимального способа выделения нуклеиновых кислот.

Сбор образцов осуществляли в течение 2025 года в рыбоводных хозяйствах с УЗВ по выращиванию радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) в Республике Карелия. Объектами исследования, представленными в данной статье, являются бактерии рода *Aeromonas*: *A. salmonicida* и *A. hydrophila*.

В ходе проведённых исследований было установлено, что химические методы выделения бактериальной ДНК из исследованных образцов более эффективны по сравнению с физическими методами. Эффективность выявления бактериальной ДНК в образцах при помощи методов амплификации (ПЦР и LAMP), не ниже по эффективности, чем анализ с помощью посевов на селективных средах в классических микробиологических исследованиях.

Наиболее информативными типами проб для детекции патогенов были смывы с поверхности кожи рыб и пробы, взятые рядом со стоком воды из бассейна.

Возможность получения результатов идентификации микроорганизмов методами амплификации нуклеиновых кислот вне лаборатории делает их высоко перспективными для использования в качестве экспресс-диагностики бактериальных патогенов в практической аквакультуре. После завершения этапа сбора образцов и создания коллекции патогенных организмов, в плане работ находится создание генномодифицированного бактериофага для контроля численности бактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №25-16-20127.

Ключевые слова: аквакультура, диагностика бактерий, амплификация ДНК

Список литературы:

1. Итоговые материалы к Коллегии «Итоги деятельности Федерального агентства по рыболовству за 2023 год и задачи на 2024 год» // Федеральное агентство по рыболовству URL: <https://fish.gov.ru/wp-content/uploads/2024/03/sbornik-25-03-2024.pdf> (дата обращения: 19.10.2025).

2. King, R. K., Flick, G. J., Pierson, D., Smith, S. A., Boardman, G. D., & Coale, C. W. (2004). Identification of Bacterial Pathogens in Biofilms of Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(1), 125–133. doi.org/10.1300/J030v13n01_11

3. Сидорова, Н. А. Санитарно-микробиологические исследования в рыбоводстве: учебное пособие для студентов эколого-биологического и агротехнического факультетов /Н. А. Сидорова, Л. П. Рыжков, Е. С. Обухова. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. – 56 с.