

doi:10.18286/1816-4501-2024-3-138-144
УДК 579.62

Выявление участков генов, кодирующих факторы вируленности изолятов *Aeromonas veronii*

А. Н. Минаева✉, аспирант кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы»

А. А. Ломакин, ассистент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы»

Н. А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, дом 1

✉lina.minaeva.11@mail.ru

Резюме. Статья посвящена исследованиям по выявлению наличия участков генов, кодирующих факторы вирулентности, характерных для представителей рода *Aeromonas*, у 18 штаммов бактерий вида *A. veronii*, выделенных из объектов окружающей среды и гидробионтов. Обнаружение генетических детерминант вирулентности бактерий *A. veronii* проводили с помощью специфических праймеров для детекции участков генов, кодирующих экспрессию гемолизина (hlyA), белка внешней мембраны A (ompA), аэролизина (aerA), АДФ-рибозилтрансферазы (aexT) цитотоксического энтеротоксина (alt), компонентов системы T3SS (ascV и aopB), термостабильного цитотоксического энтеротоксина (ast), флагеллина (fla), липазы (lip) и эластазы (ela), методом ПЦР с электрофоретической детекцией результатов амплификации. По результатам проведенного скрининга факторов вирулентности была дана молекулярно-генетическая характеристика «полевых» изолятов *Aeromonas veronii*, выделенных из проб воды из открытых водоемов и проб рыбы. Установлено, что изучаемые штаммы *Aeromonas veronii* характеризуются наличием основных генов, отвечающих за вирулентность: aerA, ascV, aopB, aexT. Исходя из полученных данных, можно сделать предположение, что наиболее вирулентными являются 7 штаммов бактерий, входящих в группы 1, 4 и 5, это обусловлено наличием у них в совокупности 6 генов: fla, ompA, aerA, aexT, ascV, aopB. Ген ompA был детектирован у всех изучаемых изолятов бактерий. Не было выявлено штаммов *Aeromonas veronii*, геном которых характеризовался наличием генов липазы (lip) и эластазы (ela). Полученные данные позволяют судить о существовании патогенного потенциала у выделенных бактериальных изолятов *Aeromonas veronii*.

Ключевые слова: *A. veronii*, ген, факторы вирулентности, ПЦР, hlyA, ompA, aerA, aexT, alt, ascV, aopB, ast, fla.

Для цитирования: Минаева А. Н., Ломакин А. А., Феоктистова Н. А. Выявление участков генов, кодирующих факторы вируленности изолятов *Aeromonas veronii* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. №3 (67). С. 138-144. doi:10.18286/1816-4501-2024-3-138-144

Identification of gene segments encoding virulence factors in *Aeromonas veronii* isolates

A. N. Minaeva✉, N. A. Feoktistova, A. A. Lomakin

FSBEI HE Ulyanovsk State Agricultural University

432017, Ulyanovsk, Novy Venets Boulevard, Building 1

✉lina.minaeva.11@mail.ru

Abstract. The article is devoted to the study of the presence of gene regions encoding virulence factors characteristic of representatives of the genus *Aeromonas* in 18 strains of bacteria of the species *A. veronii* isolated from environmental objects and aquatic organisms. Detection of genetic determinants of virulence of *A. veronii* bacteria was carried out using specific primers for detection of gene regions encoding the expression of hemolysin (hlyA), outer membrane protein A (ompA), aerolysin (aerA), ADP-ribosyltransferase (aexT) of cytotoxic enterotoxin (alt), components of the T3SS system (ascV and aopB), heat-stable cytotoxic enterotoxin (ast), flagellin (fla), lipase (lip) and elastase (ela), using PCR with electrophoretic detection of amplification results. Based on the results of the conducted screening of virulence factors, a molecular genetic characteristic of the "field" isolates of *Aeromonas veronii*, isolated from water samples from open reservoirs and fish samples, was given. It was found that the studied *Aeromonas veronii* strains are characterized by the presence of the main genes responsible for virulence: aerA, ascV, aopB, aexT. Based on the data obtained, it can be assumed that the most virulent are 7 bacterial strains included in groups 1, 4 and 5, this is due to the presence of a total of 6 genes: fla, ompA, aerA, aexT, ascV, aopB. The ompA gene was detected in all studied bacterial isolates. No *Aeromonas veronii* strains were identified whose genome was characterized by the presence of lipase (lip) and

elastase (ela) genes. The obtained data allow us to judge the existence of pathogenic potential in the isolated bacterial isolates of *Aeromonas veronii*.

Keywords: *A. veronii*, gene, virulence factors, PCR, hlyA ompA, aerA, aexT, alt, ascV, aopB, ast, fla.

For citation: Minaeva A. N., Feoktistova N. A., Lomakin A. A. Identification of gene segments encoding virulence factors in *Aeromonas veronii* isolates // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2024;3(67): 138-144 doi:10.18286/1816-4501-2024-3-138-144

Введение

Aeromonas veronii многими авторами описан как возбудитель заболеваний рыб и людей. Их патогенность объясняется рядом факторов, включая структурные липополисахариды клеток (ЛПС), наружные мембранные белки (OMP), пили и жгутики, систему секреции типа III (T3SS), выступающих в роли адгезионных структур и внеклеточные факторы, такие как ферменты и токсины. Среди них аэролизин, термостойкий цитотоксический энтеротоксин, термолабильный цитотоксический энтеротоксин и цитолитический энтеротоксин. Внеклеточные ферменты, которые могут вызывать повреждение и дегенерацию клеток-хозяина, могут способствовать проникновению патогена в клетку хозяина и возникновению инфекции [1].

Аэролизин – основной фактор вирулентности для бактерий рода *Aeromonas*, вносящий вклад в бактериальный патогенез. Исследования, включающие обнаружение и удаление генов, связанных с экспрессией компонентов системы секреции III типа, а также его эффекторных молекул, способствуют пониманию важности этой системы в бактериальной вирулентности. По результатам проведенного анализа в геноме штаммов *A. veronii* обнаружено преобладание генов, кодирующих систему секреции III типов *asc-V* и *ascF-ascG*, а также двух эффекторных белков комплекса *aexU* и *aexT*, кодирующих АДФ-рибозилирующий токсин. Чаще всего в штаммах *Aeromonas*, выделенных из больных рыб, которые вызывали самые высокие показатели смертности при внутрибрюшинном введении нильской тилапии, обнаруживаются гены *ascV* и *aopB*. В исследовании Wang (2021 г.) было отмечено обнаружение гена *ascV* у 66,7 % изолятов *A. veronii* и у 79,3 % - гена *aexT*. *OmpA* является фактором адгезии *A. veronii*. Боковые (*laf*) жгутики важны у некоторых видов *Aeromonas* для процесса прикрепления и образования биопленок [2].

Оценка вирулентных свойств проводится с применением традиционных методов обнаружения, включающих исследование биологических свойств патогенов. Однако, это позволяет выявить только фенотипические характеристики штаммов, а экспрессия предполагаемых факторов, связанных с вирулентностью, зависит от условий окружающей среды [3]. По этой причине эти методы могут в некоторых случаях не указывать на потенциальную патогенность изолятов. В последние годы актуальным является применение молекулярных методов для изучения патогенности бактерий, основанное на обнаружении генетических детерминант факторов патогенности. Патогенность бактерий *Aeromonas*

veronii обусловлена сочетанием нескольких факторов вирулентности. В настоящее время трудно сказать или определить их роль в патогенезе [4]. Иными словами, постоянное изучение наличия факторов, связанных с вирулентностью, в клинических изолятах *Aeromonas veronii* имеет важное значение для понимания патогенеза и эпизоотологии.

Цель исследований – выявление наличия участков генов, кодирующих факторы вирулентности, характерных для представителей рода *Aeromonas*, у штаммов бактерий вида *A. veronii*, выделенных из объектов окружающей среды и гидробионтов.

Материалы и методы

При выполнении исследований были проанализированы «полевые» изоляты бактерий *A. veronii*, входящие в коллекцию микроорганизмов, выделенных и идентифицированных как бактерии рода *Aeromonas*, составленную в 2023 г. в ходе реализации проекта, выполняемого по тематическому заданию МСХ РФ (регистрационный номер ЕГИСУ НИ-ОКТР 123031600041-9). Идентификацию бактерий осуществляли в соответствии с Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [5] и была подтверждена разработанной комплексной трехкомпонентной тест-системой для диагностики аэромоназы карпа [6]. Штаммы бактерий: *A. veronii* bv *sobria* 1, *A. veronii* bv *sobria* 2, *A. veronii* bv *sobria* 3, *A. veronii* bv *sobria* 4, *A. veronii* bv *sobria* 5, *A. veronii* bv *sobria* 10, *A. veronii* bv *sobria* 7И, *A. veronii* bv *sobria* 8В, *A. veronii* bv *sobria* 9В3, *A. veronii* bv *sobria* 13А, *A. veronii* bv *sobria* 11, *A. veronii* bv *sobria* 12, *A. veronii* bv *sobria* 13, *A. veronii* bv *sobria* P1, *A. veronii* bv *sobria* P2, *A. veronii* bv *veronii* P3, *A. veronii* bv *sobria* 43, *A. veronii* bv *sobria* 3ВН и референс-штамм *Aeromonas veronii* bv *sobria* ATCC 9071 из коллекции микроорганизмов кафедры МВЭ и ВСЭ Ульяновский ГАУ.

Выделение бактериальной ДНК проводили, применяя набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот «М-Сорб-ОМ» (Синтол, Россия).

Для постановки ПЦР с электрофоретической детекцией применяли реакционную смесь со следующими составом: ДНК-полимераза Taq HS, с «горячим» стартом (Евроген, Россия), 10х Taq буфер (Евроген, Россия), набор dNTP, 25 мкмоль (Евроген, Россия) и вода для молекулярной биологии, (Neofroxx, Германия).

Обнаружение генетических детерминант вирулентности бактерий *A. veronii* проводили с помощью специфических праймеров для детекции участков генов, список которых составлен на основании анализа литературных данных, систематизированных в таблице 1.

Таблица 1. Праймерные системы для детекции участков генов бактерий *Aeromonas veronii*

Целевой ген	Последовательности праймеров	Размер продукта (п.н.)	Источник
<i>hlyA</i> (гемолизин)	F: ggccggtggccgaagataggg R: ggcggcgccggacgagacggg	595	[7]
<i>ompA</i> (белок внешней мембраны А)	F: caaccatcacaggtgcagga R: gcggtttatcgcttggtca	79	[6]
<i>aerA</i> (аэролизин)	F: cctatggcctgagcgagaag R: ccagttccagttccaccact	431	[7]
<i>aexT</i> (АДФ-рибозилтрансфераза токсин)	F: ggcgcttgggctctacac R: gagcccgcgcatcttcag	535	[7]
<i>Alt</i> (цитотоксический энтеротоксин)	F: aaagcgctgcagacgaagt R: agcgcataggcgttctct	320	[7]
<i>ascV</i> (компонент системы T3SS)	F: atggacggcgccatgaagt R: tattgccttcacccatccc	713	[7]
<i>aopB</i> (компонент системы T3SS)	F: tccagcaagttcgctgttt R: cgcatgaaagcctcaaat	129	[8]
<i>Ast</i> (термостабильный цитотоксический энтеротоксин)	F: atcgtcagcgacagcttct R: Ctcaccccttggtgtgt	504	[7]
<i>fla</i> (структурный ген флагеллин)	F: tccaaccgtytgacctc R: gmytggttgcratggt	608	[9]
<i>Lip</i> (липаза)	F: atcttctccgactggttcgg R: ccgtgccaggactgggtctt	383	[9]
<i>Ela</i> (эластаза)	F: acacggtcaaggagatcaac R: cgctggtgtggccagcagg	540	[9]

Таблица 2. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Aeromonas veronii*

Целевой ген	Наименование штамма																		% положительных результатов выявления в полученных изолятах	
	<i>Aeromonas veronii</i> -9071	<i>A.v.bv.s. 1</i>	<i>A.v.bv.s. 2</i>	<i>A.v.bv.s. 3</i>	<i>A.v.bv.s. 4</i>	<i>A.v.bv.s. 5</i>	<i>A.v.bv.s. P1</i>	<i>A.v.bv.s. P2</i>	<i>A.v.bv.v. P3</i>	<i>A.v.bv.s. 8B</i>	<i>A.v.bv.s. 7И</i>	<i>A.v.bv.s. 9B3</i>	<i>A.v.bv.s. 13A</i>	<i>A.v.bv.s. 43</i>	<i>A.v.bv.s. 3BH</i>	<i>A.v.bv.s. 10</i>	<i>A.v.bv.s. 11</i>	<i>A.v.bv.s. 12</i>		<i>A.v.bv.s. 13</i>
<i>ompA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
<i>aerA</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	72,2
<i>aexT</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	77,8
<i>ascV</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	50
<i>Ast</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Alt</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>aopB</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	55,6
<i>Fla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5,6%
<i>Lip</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Ela</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Системы праймеров для исследований были произведены ООО «ДНК-Синтез» (Россия). Факторы вирулентности у изучаемых штаммов бактерий *A. veronii* изучали методом полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией.

Протокол амплификации:

- предварительная денатурация – 95 °С в течение 5 минут, 1 цикл;
- денатурация – 95 °С в течение 10 сек;
- отжиг – 56...60 °С в течении 20 сек, 30 циклов;
- элонгация 72 °С в течении 7 минут.

Ампликоны разделяли методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Использовали источник питания PowerPac Basic (BioRad, США) и

горизонтальную камеру для электрофореза SE-1 (Helicon, Россия). Сила тока составляла 150 В. Для визуализации результатов электрофорезирования использовали гель-документирующую систему Bio-print CX4 Edge (Vilber, Франция).

Результаты

Экспериментально было установлено, что у 72,2 % штаммов бактерий обнаружен участок гена, кодирующий аэролизин (*aerA*), у 77,8 % изолятов был выявлен участок, кодирующий компонент системы T3SS, у 55,6 % выявлен участок гена *aopB* и у 5,6 % выявлен участок гена, кодирующий флагеллин (табл. 2). Ни у одного из изучаемых штаммов *Aeromonas veronii* не были обнаружены участки

генов, кодирующие гемолизин А (*hlyA*), ген термостабильного цитотоксического энтеротоксина (*ast*), липаза (*lip*), эластаза (*Ela*).

Полученные данные были систематизированы в таблице 3, где представлены основные девять

групп, которые были сформированы на основании наличия у них комбинаций генов, кодирующих факторы вирулентности.

Таблица 3. Группировка штаммов *Aeromonas veronii* на основании наличия у них комбинаций генов, кодирующих факторы вирулентности

Группа	Гены вирулентности	Штаммы
1.	<i>ompA, fla, aexT, ascV, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria 13</i>
2.	<i>ompA, aexT, ascV, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria 1</i>
3.	<i>ompA, aexT, ascV</i>	<i>A.veronii bv.sobria 4</i>
4.	<i>ompA, aerA, aexT, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria 2, A.veronii bv.sobria P 2</i>
5.	<i>ompA, aerA, aexT, ascV</i>	<i>A.veronii bv. sobria 5, A.veronii bv. sobria 8B, A.veronii bv. sobria 9B3, A.veronii bv.sobria P1</i>
6.	<i>ompA, aerA, ascV, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria 12, A.veronii bv.sobria13A</i>
7.	<i>ompA, aerA, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria43 A.veronii bv.sobria3BH</i>
8.	<i>ompA, aerA, aexT</i>	<i>A.veronii bv.sobria 3, A.veronii bv.veronii P3, A.veronii bv.sobria 7И</i>
9.	<i>ompA, aexT, aopB</i>	<i>A.veronii bv.sobria 10, A.veronii bv.sobria 11</i>

К группе 1 был отнесен *A.veronii bv.sobria 13*, у которого был детектирован гены *ompA*, АДФ-рибозилтрансфераза токсин (*aexT*), компоненты системы T3SS (*ascV* и *aopB*), а так же ген, кодирующий *fla*, при этом не выявлено гена, кодирующего токсин, характерный для рода *Aeromonas* - *aerA*.

Ко второй группе были отнесены штаммы, у которых был выявлен участок гена *aerA*, при этом присутствовали в геноме участки, кодирующие компоненты системы секреции 3 (T3SS) (*ascV* и *aopB*), эффекторный белок *aexT* и ген кодирующий белок внешней мембраны А (*ompA*). К третьей группе был отнесен штамм *A.veronii bv.sobria 4*, у которого был выявлен комплекс генов схожий с представителями группы 2, были детектированы гены *ompA*, *aexT* и *ascV*.

В четвертую группу были отнесены штаммы *A.veronii bv.sobria 2* и *A.veronii bv.sobria P 2*, в геномах которых были выявлены участки, кодирующие белок внешней мембраны А (*ompA*), аэролизин (*aerA*), АДФ-рибозилтрансфераза токсин (*aexT*), и ген, связанный с системой T3SS (*aopB*).

Штаммы, входящие в пятую группу (*A.veronii bv. sobria 5, A.veronii bv. sobria 8B, A.veronii bv. sobria 9B3, A.veronii bv.sobria P1*), имели гены, кодирующие экспрессию генов *ompA*, *aerA*, *aopB* и *aexT*.

Исходя из полученных данных, можно сделать предположение, что наиболее вирулентными являются штаммы, входящие в группы 4 и 5. Это обусловлено тем, что у этих штаммов был обнаружен ген аэролизина, который используется в качестве гена-маркера вирулентности в нескольких исследованиях [7-10], а так же выявлены гены, являющимися компонентами T3SS, и ген, кодирующий эффекторный белок (*aexT*), который при проникновении в клетку хозяина при помощи T3SS-системы и приводит к деполимеризации актина АДФ-рибозилтрансферазы и округлению клеток. Так же у этих штаммов

выявлен белок *OmpA*, который может служить рецептором для адгезии и инвазии.

У группы 6 были выявлены два гена, являющиеся компонентами системы T3SS (*ascV* и *aopB*), а так же ген *ompA* и *aerA*, при этом отсутствует ген *aexT*. В группы 7 и 8 вошли штаммы, характеризующиеся наличием генов *aerA* и *ompA*, при этом в 7 группе выявлен компонент системы секреции 3. У представителей группы 9 (*A.veronii bv.sobria 10* и *A.veronii bv.sobria 11*) в геноме не закодировано гена аэролизина, а только *ompA*, *aexT*, *aopB*.

Стоит отметить отдельно штаммы, выделенные из окружающей среды, у которых выявлены гены *aopB* и *ascV*, как в случае групп 1 и 2. Ранее полученные исследователями данные указывают на то, штаммы *A.hydrophila aopB+/ascV+*, выделенные из объектов окружающей среды, имели меньшую вирулентность в отличие от изолятов, выделенных из патологического материала [11].

Обсуждение

Бактерии *A. veronii* широко распространены в окружающей среде, особенно в пресных водах и эстуариях, и демонстрируют высокую приспособляемость. Недавние сообщения об инфицировании различных водных видов вызвали исследование бактериального патогенеза у людей, животных и рыб [12]. Патогенез инфекции *A. veronii* сложен и в настоящее время активно изучается. Однако взаимосвязь между генами вирулентности и патогенностью бактериальных штаммов до сих пор не выяснена [13]. Обнаружение генов вирулентности бактерий имеет важное значение для определения их потенциальной патогенности и предотвращения возможных инфекционных заболеваний.

Аэролизин является основным фактором вирулентности для бактерий *Aeromonas*. Однако в 1990-е годы ген аэролизина не был обнаружен ни в одном изоляте *A. veronii*. В 2002 году Gonzalez-Serrano также подтвердил, что штаммы *A. veronii*,

выделенные из водной среды, лишены гена аэролизина. В 2007 году Nawaz et al. обнаружил, что ген *aer* присутствовал в 96% бактериальных штаммов, выделенных из *Silurus asotus*. Наличие у штаммов *A. veronii* семи основных генов вирулентности, включая аэролизин (*aer*: 88,51%), цитотоксический энтеротоксин (*act*: 71,26%), сериновую протеиназу (*ser*: 54,02%), адгезин (*Aha*: 40,23%), фосфолипазу (*lip*: 45,98%), нуклеазу (*exu*: 51,72%) и фактор вирулентности, контролируемый чувством кворума (*LuxS*: 59,77%), было описано Li T. et al. [14]. В исследовании Xu X. et al. частота детекции гена *hlyA* составила 65% среди штаммов *A. veronii*, выделенных из *Tegillarca granosa* в Корею [15].

В исследовании Erickson V.I. et al. (2023) все изоляты *Aeromonas veronii* несли гены, кодирующие манинозочувствительный гемагглютинин (*Msh*) пилус, полярные жгутики и гены вирулентности пили типа *Tar*. Все изоляты также несли один тип гена, кодирующего токсины. Аэролизин/цитотоксический энтеротоксин (*aerA/act*), которые в целом играют роль в патогенезе заболевания, были обнаружены в 23/24 изолятах, а гемолизин (*hlyA*) был обнаружен во всех изолятах. Ни у одного из изолятов не было обнаружено ни гена вирулентности термостабильного цитотоксина (*ast*), ни гена внеклеточного гемолизина (*ahh1*) [16].

Исследования, включающие обнаружение и удаление генов, связанных с экспрессией компонентов пути секреции типа III, а также его эффекторных молекул, способствуют пониманию важности этой системы в бактериальной вирулентности. Проанализировано преобладание генов, кодирующих систему секреции III типа *ascV* и *ascF-ascG*, а также двух эффекторных белков комплекса *AexU* и *AexT*, характеризующихся АДФ-рибозилирующими токсинами. Двадцать протестированных штаммов *A. veronii* содержали все изученные гены; анализ последовательности выявил меньшую генетическую изменчивость *aexT*, указывая на то, что его функция консервативна для этого вида [17].

В исследовании было отмечено, что гены *ascV* и *aexT* были обнаружены у изолятов *A. veronii* с вероятностью 66,7% и 79,3%, соответственно [18]. При этом в исследовании Jessica L. Ortega-Balleza et al. (2018) из 12 изолятов *A. veronii* не было выявлено ни у одного штамма гена, кодирующего гемолизин

(*hlyA*). У *A. veronii* вариация генов *aerA/gcat* преимущественно присутствовал в 50,0% (3/6), *alt/aerA* в 16,66% (1/6) и *alt/aerA/gcat* в 33,33% (2/6) [19]. Эти данные подтверждаются и данными, в которых указывается, что частота выявления ген гемолизина у *A. veronii* варьирует от 0 до 70% [20].

Aravena-Roman M. (2015) показала, что у изолятов *A. veronii* (33 штамма), полученных от рыб, был обнаружен ген *act* у 78,8% случаях, *alt* – у 36,4%, *aexT* – у 12,1%, *ascV* – 6,1% *ast* и *ela* – 15,2%, *lip* – 6,1%. Гены *hlyA*, *aerA*, *ascF-ascG* не были выявлены. При этом у изолятов от человека была выше частота выявления генов *act*, *ascV* и *lip* составила 100%, 63,6%, 27,3%, соответственно [21].

Puthuchery et al. (2012) и Aguilera-Arreola et al. (2007) показали наличие гена *Ast* в клинических и экологических – штаммах *A. veronii*. В исследовании Shameena S. S. et al. (2020) изоляты *A. veronii* bv.*veronii* и *A. veronii* bv.*sobria* содержали гены *alt* и *act*, ген *ast* отсутствовал у всех изолятов *A. veronii* bv.*sobria*. Sreedharan et al. (2012) сообщили об отсутствии гена *alt* в изолятах *A. veronii*. Дискретная частота генов токсинов предполагает вариацию географического распределения (Albert et al., 2000) [22].

Закключение

По результатам проведенной работы были изучены генетические детерминанты вирулентности бактерий вида *A. veronii* путем детекции следующих генов: *aerA* (кодирующий аэролизин), *aexT* (кодирующий АДФ-рибозилирующий токсин), *alt* (кодирующий цитотоксический энтеротоксин), *ascV* (кодирующий субъединицу экспортного аппарата системы секреции III типа), *ast* (кодирующий термостабильный цитотоксический энтеротоксин), *fla* (кодирующий белок субъединицы жгутика), *lip* (кодирующий липазу), *Ela* (кодирующий эластазу). Исходя из полученных данных, можно сделать предположение, что наиболее вирулентными являются 7 штаммов бактерий, входящих в группы 1, 4 и 5, это обусловлено наличием у них в совокупности 6 генов: *fla*, *ompA*, *aerA*, *aexT*, *ascV*, *aopB*. Ген *ompA* был детектирован у всех изучаемых изолятов бактерий. Не было выявлено штаммов *Aeromonas veronii*, геном которых характеризовался наличием генов липазы (*lip*) и эластазы (*ela*). Полученные результаты демонстрируют существование патогенного потенциала указанных микроорганизмов.

Литература

1. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. in marine species of shrimps cultured at inland low salinity ponds / Y. Yano, K. Hamano, I. Tsutsui, et al. // Food Microbiol. 2015. No. 47. P. 21–27. doi: 10.1016/j.fm.2014.11.003
2. Ran C. *Aeromonas veronii* and aerolysin are important for the pathogenesis of motile aeromonad septicemia in cyprinid fish // Environ. Microbiol. 2018. Vol 20. P. 3442–3456. doi: 10.1111/1462-2920.14390
3. Comprehensive analysis reveals the evolution and pathogenicity of *Aeromonas*, viewed from both single isolated species and microbial communities / C. Zhong, M. Han, P. Yang, et al. // mSystems. 2019. No. 4. P. 19. doi: 10.1128/msystems.00252-19
4. Zheng W., Cao H., Yang X. *Aeromonas veronii* infection in the cultured snakehead fish, *Ophiocephalus argus* (Cantor) // African Journal of Microbiology Research. 2012. No. 44. P. 7218-7223. doi: 10.5555/20133031984

5. Martin-Carnahan A., Joseph S.W. / Martin-Carnahan A. *Aeromonas* // Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria. 2015. Vol. 5. P. 1-44. doi: 10.1002/9781118960608.gbm01081
6. Аэромоноз карповых: возбудители, диагностика и профилактика инфекции / Н.А. Феоктистова, А.А. Ломанкин, И.И. Богданов, Е.В. Сульдина, А.А. Нафеев. Ульяновск, 2023. 250 с.
7. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* cause motile *Aeromonas* septicemia in the cultured Chinese sucker, *Muxocyprinus asiaticus*/ F. Li, D. Wu, H.R. et al. // *Aquaculture research*. 2019. Vol. 50. No. 5. P. 1515-1526. doi: 10.1111/are.14028
8. Detection and distribution of virulence genes in *Aeromonas hydrophila* isolates causing infection in cultured carps / M. Ahangarzadeh, M. G. Najafabadi, R. Peyghan, et al. // *Veterinary Research Forum*. – Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2022. Vol. 13. No. 1. P. 55. doi: 10.30466/vrf.2020.115998.2761
9. Sen K., Rodgers M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification // *Journal of applied microbiology*. 2004. Vol. 97. No. 5. P. 1077-1086. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02398.x
10. Watanabe N., Morita K. Diversity in gene arrangement in a DNA region lacking *aerA* in clinical and environmental *Aeromonas hydrophila* isolates // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2020. Vol. 113. No. 1. P. 71-81. doi: 10.1007/s10482-019-01318-z
11. Detection of type III secretion system genes in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with virulence in Nile tilapia / G. A. Carvalho-Castro, C. O. Lopes, C. A. G. Leal, et al. // *Veterinary microbiology*. 2010. Vol. 144. No. 3-4. P. 371-376. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.01.021
12. *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: a potential threat to public health / T. Li, S. H. A. Raza, B. Yang, et al. // *Animals*. 2020. Vol. 10. No 4. P. 608. doi:10.3390/ani10040608
13. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* predominate among potentially pathogenic ciprofloxacin-and tetracycline-resistant *Aeromonas* isolates from Lake Erie / T. Skwor, J. Shinko, A. Augustyniak, et al. // *Applied and environmental microbiology*. 2014. Vol. 80. No. 3. P. 841-848. doi: 10.1128/AEM.03645-13
14. *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: a potential threat to public health / T. Li, S. H. A. Raza, B. Yang, et al. // *Animals*. 2020. Vol. 10. No. 4. P. 608. doi: 10.3390/ani10040608
15. Prevalence and genetic diversity of *Aeromonas veronii* isolated from aquaculture systems in the Poyang Lake area, China / X. Xu, H. Fu, G. Wan, et al. // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. P. 1042007. doi: 10.3389/fmicb.2022.1042007/full
16. Genomic traits of *Aeromonas veronii* isolated from slaughtered Danish broilers / V. I. Erickson, A. Alfifi, Y. G. M. Hounmanou, et al. // *Veterinary Microbiology*. 2023. Vol. 283. P. 109772. doi: 10.1016/j.vetmic.2023.109772
17. The genus *Aeromonas*: A general approach / R. B. G. Pessoa, W. F. de Oliveira, D. S. C. Marques, et al. // *Microbial Pathogenesis*. 2019. No. 130. P. 81–94. doi: 10.1016/j.micpath.2019.02.036
18. Isolation, identification and molecular characterization of *Aeromonas* spp. from farmed loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) / X. Wang, J. Pan, L. Chen, et al. // *bioRxiv*. 2021. P. 2021.09. 13.460194. doi: 10.1101/2021.09.13.460194
19. Genes de virulencia en *Aeromonas* spp. (*Aeromonadales*: *Aeromonadaceae*) aisladas de *Oreochromis* spp. (*Percoformes*: *Cichlidae*) para consumo humano en México / J. L. Ortega-Balleza, A. Sánchez-Varela, I. C. Rodríguez-Luna, et al. // *Revista de Biología Tropical*. 2018. Vol. 66. No. 4. P. 1606-1613. doi: 10.15517/rbt.v66i4.32829
20. Aravena-Roman Max / Classified, antimicrobial susceptibility and virulence factors of *Aeromonas* species in Western Australia // *School of Pathology and Laboratory Medicine of Western Australia*. 2015. Vol. 6. P.339.
21. *Aeromonas* isolates from fish and patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and phenotypic characteristics/ C. J. Wu, W. C. Ko, N. Y. Lee, et al. // *Applied and environmental microbiology*. 2019. Vol. 85. No. 21. P. e01360-19. doi: 10.1128/AEM.01360-19
22. Virulence characteristics of *Aeromonas veronii* biovars isolated from infected freshwater goldfish (*Carassius auratus*) / S. S. Shameena, K. Kumar, S. Kumar, et al. // *Aquaculture*. 2020. Vol. 518. P. 734819. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734819

References

1. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. in marine species of shrimps cultured at inland low salinity ponds / Y. Yano, K. Hamano, I. Tsutsui, et al. // *Food Microbiol*. 2015. No. 47. P. 21–27. doi: 10.1016/j.fm.2014.11.003
2. Ran C. *Aeromonas veronii* and aerolysin are important for the pathogenesis of motile aeromonad septicemia in cyprinid fish // *Environ. Microbiol*. 2018. Vol 20. P. 3442–3456. doi: 10.1111/1462-2920.14390
3. Comprehensive analysis reveals the evolution and pathogenicity of *Aeromonas*, viewed from both single isolated species and microbial communities / C. Zhong, M. Han, P. Yang, et al. // *mSystems*. 2019. No. 4. P. 19. doi: 10.1128/msystems.00252-19
4. Zheng W., Cao H., Yang X. *Aeromonas veronii* infection in the cultured snakehead fish, *Ophiocephalus argus* (Cantor) // *African Journal of Microbiology Research*. 2012. No. 44. P. 7218-7223. doi: 10.5555/20133031984

5. Martin-Carnahan A., Joseph S.W. / Martin-Carnahan A. *Aeromonas* // Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria. 2015. Vol. 5. P. 1-44. doi: 10.1002/9781118960608.gbm01081
6. Aeromonosis of carp: pathogens, diagnosis and prevention of infection. Monograph. / N. A. Feoktistova, A. A. Lomakin, I. I. Bogdanov, et al. Ulyanovsk, 2023. 250 p.
7. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* cause motile *Aeromonas* septicaemia in the cultured Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*/ F. Li, D. Wu, H.R. et al. // *Aquaculture research*. 2019. Vol. 50. No. 5. P. 1515-1526. doi: 10.1111/are.14028
8. Detection and distribution of virulence genes in *Aeromonas hydrophila* isolates causing infection in cultured carps / M. Ahangarzadeh, M. G. Najafabadi, R. Peyghan, et al. // *Veterinary Research Forum*. – Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2022. Vol. 13. No. 1. P. 55. doi: 10.30466/vrf.2020.115998.2761
9. Sen K., Rodgers M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification // *Journal of applied microbiology*. 2004. Vol. 97. No. 5. P. 1077-1086. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02398.x
10. Watanabe N., Morita K. Diversity in gene arrangement in a DNA region lacking *aerA* in clinical and environmental *Aeromonas hydrophila* isolates // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2020. Vol. 113. No. 1. P. 71-81. doi: 10.1007/s10482-019-01318-z
11. Detection of type III secretion system genes in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with virulence in Nile tilapia / G. A. Carvalho-Castro, C. O. Lopes, C. A. G. Leal, et al. // *Veterinary microbiology*. 2010. Vol. 144. No. 3-4. P. 371-376. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.01.021
12. *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: a potential threat to public health / T. Li, S. H. A. Raza, B. Yang, et al. // *Animals*. 2020. Vol. 10. No 4. P. 608. doi:10.3390/ani10040608
13. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* predominate among potentially pathogenic ciprofloxacin-and tetracycline-resistant *Aeromonas* isolates from Lake Erie / T. Skwor, J. Shinko, A. Augustyniak, et al. // *Applied and environmental microbiology*. 2014. Vol. 80. No. 3. P. 841-848. doi: 10.1128/AEM.03645-13
14. *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: a potential threat to public health / T. Li, S. H. A. Raza, B. Yang, et al. // *Animals*. 2020. Vol. 10. No. 4. P. 608. doi: 10.3390/ani10040608
15. Prevalence and genetic diversity of *Aeromonas veronii* isolated from aquaculture systems in the Poyang Lake area, China / X. Xu, H. Fu, G. Wan, et al. // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. P. 1042007. doi: 10.3389/fmicb.2022.1042007/full
16. Genomic traits of *Aeromonas veronii* isolated from slaughtered Danish broilers / V. I. Erickson, A. Alfifi, Y. G. M. Hounmanou, et al. // *Veterinary Microbiology*. 2023. Vol. 283. P. 109772. doi: 10.1016/j.vetmic.2023.109772
17. The genus *Aeromonas*: A general approach / R. B. G. Pessoa, W. F. de Oliveira, D. S. C. Marques, et al. // *Microbial Pathogenesis*. 2019. No. 130. P. 81–94. doi: 10.1016/j.micpath.2019.02.036
18. Isolation, identification and molecular characterization of *Aeromonas* spp. from farmed loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) / X. Wang, J. Pan, L. Chen, et al. // *bioRxiv*. 2021. P. 2021.09. 13.460194. doi: 10.1101/2021.09.13.460194
19. Genes de virulencia en *Aeromonas* spp. (*Aeromonadales*: *Aeromonadaceae*) aisladas de *Oreochromis* spp. (*Perciformes*: *Cichlidae*) para consumo humano en México / J. L. Ortega-Balleza, A. Sánchez-Varela, I. C. Rodríguez-Luna, et al. // *Revista de Biología Tropical*. 2018. Vol. 66. No. 4. P. 1606-1613. doi: 10.15517/rbt.v66i4.32829
20. Aravena-Roman Max / Classified, antimicrobial susceptibility and virulence factors of *Aeromonas* species in Western Australia // *School of Pathology and Laboratory Medicine of Western Australia*. 2015. Vol. 6. P.339.
21. *Aeromonas* isolates from fish and patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and phenotypic characteristics/ C. J. Wu, W. C. Ko, N. Y. Lee, et al. // *Applied and environmental microbiology*. 2019. Vol. 85. No. 21. P. e01360-19. doi: 10.1128/AEM.01360-19
22. Virulence characteristics of *Aeromonas veronii* biovars isolated from infected freshwater goldfish (*Carassius auratus*) / S. S. Shameena, K. Kumar, S. Kumar, et al. // *Aquaculture*. 2020. Vol. 518. P. 734819. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734819