

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

doi:10.18286/1816-4501-2025-4-133-139

УДК 579.62

Изучение основных биологических свойств полевых изолятов *Aeromonas salmonicida*

С. С. Картакаева✉, соискатель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

А. А. Ломакин, ассистент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Н. А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432000, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, дом 1

✉seravka@mail.ru

Резюме. Актуальность комплексного изучения штаммов бактерий *Aeromonas salmonicida* на основе их фенотипической и генотипической характеристики определяется совокупностью факторов, связанных с устойчивым развитием современной аквакультуры, таких как постоянные угрозы со стороны инфекционных заболеваний, и необходимостью применения современных методов диагностики и контроля для обеспечения устойчивого развития отрасли. Применение авторской селективной среды накопления AsSB УлГАУ и селективной среды AsSA УлГАУ на основе RYAN-агара показало свою эффективность для первичного выделения полевых изолятов *Aeromonas salmonicida*. Все изученные полевые изоляты представляют собой грамотрицательные неподвижные палочки, обладающие комплексом фенотипических признаков, характерных для вида *A. salmonicida*: психрофильный характер роста (активный рост при 20...30 °С и отсутствие роста при 35 °С), способность к образованию коричневого пигмента на LB-агаре, толерантность к 3% NaCl и отсутствие роста в присутствии 5% NaCl, характерный рост на CIN-агаре и среде RYAN с образованием колоний специфической окраски (малиновой и сине-зеленой соответственно), наличие β-гемолитической активности. Установлен типичный биохимический профиль: положительные реакции на оксидазу, каталазу, ДНКазу, желатиназу, декарбоксилазу лизина и аргинина; ферментация глюкозы, мальтозы, маннитола, фруктозы и галактозы; отрицательные реакции на продукцию индола, утилизацию цитрата, орнитиндекарбоксилазную активность и ферментацию лактозы, сорбита и ряда других углеводов. В рамках характерного для вида фенотипа выявлена внутривидовая вариабельность изолятов по таким признакам, как: интенсивность и скорость образования коричневого пигмента (полевые изоляты продуцировали пигмент активнее, чем референс-штамм ATCC 33658 и изолят *A. salmonicida* 65), интенсивность окраски колоний на среде RYAN (штаммы *A. salmonicida* 61 и 76 образовывали колонии более зеленого оттенка), чувствительность к росту на CIN-агаре (у штаммов *A. salmonicida* 61, 87, 88 наблюдали частичное ингибирование роста). Видовая принадлежность полевых изолятов и референс-штамма была достоверно подтверждена методом ПЦР с детекцией гена *varA*, что свидетельствует о специфичности использованной праймерной системы. Комплексное фенотипическое и генотипическое исследование позволило идентифицировать выделенные полевые изоляты, как *Aeromonas salmonicida* и выявить особенности их культуральных и биохимических свойств, что имеет значение для разработки и совершенствования средств диагностики и контроля данного патогена в аквакультуре.

Ключевые слова: *Aeromonas salmonicida*, полевые изоляты, штаммы, биохимические свойства, идентификация, ПЦР.

Для цитирования: Картакаева С. С., Ломакин А. А., Феоктистова Н. А. Изучение основных биологических свойств полевых изолятов *Aeromonas salmonicida* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2025. №4 (72). С. 133-139. doi:10.18286/1816-4501-2025-4-133-139

Study of the main biological properties of field isolates of pathogen *Aeromonas salmonicida*

S. S. Kartakaeva✉, **A. A. Lomakin**, **N. A. Feoktistova**

FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University

432000, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, Building 1

✉seravka@mail.ru

Abstract. The relevance of a comprehensive study of *Aeromonas salmonicida* bacterial strains based on their phenotypic and genotypic characteristics is determined by a combination of factors associated with the sustainable development of modern aquaculture, such as the constant threat of infectious diseases and the need for modern diagnostic and monitoring methods to ensure sustainable development of the industry. The use of the proprietary selective accumulation medium AsSB ULSAU and the selective medium AsSA ULSAU based on RYAN agar has proven effective for primary isolation of

Aeromonas salmonicida field isolates. All the studied field isolates are gram-negative, non-motile rods with a complex of phenotypic features characteristic of the species *A. salmonicida*: psychrophilic growth pattern (active growth at 20...30 °C and no growth at 35 °C), ability to form brown pigment on LB agar, tolerance to 3% NaCl and no growth in the presence of 5% NaCl, characteristic growth on CIN agar and RYAN medium with formation of colonies of a specific color (crimson and blue-green, respectively), the presence of β -hemolytic activity. A typical biochemical profile was established: positive reactions to oxidase, catalase, DNase, gelatinase, lysine and arginine decarboxylase; fermentation of glucose, maltose, mannitol, fructose and galactose; Negative reactions to indole production, citrate utilization, ornithine decarboxylase activity, and fermentation of lactose, sorbitol, and a number of other carbohydrates. Within the species-specific phenotype, intra-specific variability was revealed among isolates for the following traits: intensity and rate of brown pigment formation (field isolates produced pigment more actively than the reference strain ATCC 33658 and *A. salmonicida* isolate 65), colony color intensity on RYAN medium (*A. salmonicida* strains 61 and 76 formed colonies of a greener shade), and sensitivity to growth on CIN agar (partial growth inhibition was observed in *A. salmonicida* strains 61, 87, and 88). The species identity of the field isolates and the reference strain was reliably confirmed by PCR with detection of the vapA gene, demonstrating the specificity of the primer system used. A comprehensive phenotypic and genotypic study identified the isolated field isolates as *Aeromonas salmonicida* and revealed their cultural and biochemical properties, which is important for development and improvement of diagnostic and control tools for this pathogen in aquaculture.

Keywords: *Aeromonas salmonicida*, field isolates, strains, biochemical properties, identification, PCR

For citation: Kartakaeva S. S., Lomakin A. A., Feoktistova N. A. Study of the main biological properties of field isolates of pathogen *Aeromonas salmonicida* // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2025;4(72): 133-139 doi:10.18286/1816-4501-2025-4-133-139

Введение

Рыба, выращенная в аквакультуре, подвергается большему стрессу, чем рыба в дикой природе. Высокое содержание органики в окружающей среде, низкий уровень растворенного кислорода и близкое расположение особей способствуют повышению восприимчивости рыб к инфекциям [1].

Aeromonas spp. – естественные обитатели водных экосистем и широко распространены в пресной и соленой водах [2]. Бактерии *Aeromonas hydrophila*, *A. veronii*, *A. sorbia*, *A. caviae* и *A. jandei* считаются этиологическими агентами нескольких заболеваний человека, рыб и животных, многие из них являются условно-патогенными [3-4].

A. salmonicida – широко известный патоген рыб, на сегодняшний день он считается эндемичным почти во всем мире как в пресных, так и в морских водах [5]. По мнению ихтиопатологов, к *A. salmonicida* наиболее восприимчива рыба из семейства лососевых, однако, есть данные, что им могут быть заражены многие другие виды [6]. Фурункулез лососевых, вызываемый типичными штаммами *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, на протяжении десятилетий остается одним из наиболее разрушительных заболеваний в лососевой аквакультуре, приводя к массовой гибели молоди и взрослой рыбы и колоссальным экономическим потерям [7]. Атипичные штаммы *A. salmonicida*, демонстрирующие значительное фенотипическое разнообразие, поражают широкий спектр видов рыб (карповые, окуневые, камбаловые и др.) как в условиях аквакультуры, так и в дикой природе. Их способность вызывать оппортунистические инфекции делает их постоянной угрозой при любых стрессовых ситуациях (ухудшение условий среды, транспортировка) [2, 6]. Комплексный подход, включающий изучение физиолого-биологических свойств бактериальных изолятов, фенотипическое определение антибиотикочувствительности (микробиологические методы) и генотипический анализ (поиск генов

антибиотикорезистентности, мобильных генетических элементов – плазмид, транспозонов) считаются необходимыми для мониторинга резистентности и разработки эффективных схем профилактики и терапии инфекций, вызываемых *A. salmonicida*.

Цель исследования – выделение и идентификация полевых штаммов *A. salmonicida*, изолированных из объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Материалы и методы

Штаммы. В экспериментах были использованы штамм *Aeromonas salmonicida* ATCC 33568 и полевые изоляты *A. salmonicida* 2001, *A. salmonicida* 4914, *A. salmonicida* 61, *A. salmonicida* 43, *A. salmonicida* 54, *A. salmonicida* 65, *A. salmonicida* 76, *A. salmonicida* 87, *A. salmonicida* 88, выделенные коллективом авторов из объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Оборудование. Для постановки полимеразной цепной реакции использовался амплификатор детектирующий ДТпрайм (ДНК-технология, Россия). Для визуализации результатов амплификации применялась гель-документирующая система Bio-print CX4 Edge (Vilber, Франция). Для электрофореза использовали источник питания PowerPac Basic (BioRad, США) и камеру для горизонтального электрофореза SE-2 (Helicon, РФ). Параметры электрофореза: продолжительность - 30 минут при силе тока 150 В.

Для выделения ДНК и подготовки реакционной смеси использовались: твердотельный термостат TDB-120 (BioSan, Польша), центрифуга-встряхиватель медицинская серии CM-50M (ELMI, Польша), микроцентрифуга Tico 17 (Thermo Science) и ламинарный бокс БМБ-ii-«Ламинар-с»-1 2 (ЛамСистем, РФ).

Питательные среды и реактивы. Для анализа роста оптимального температурного диапазона микроорганизмов проводили их культивирование при следующих режимах: 20±2°C, 30±2°C и 36±2°C. В качестве питательной среды использовался бульон LB по Lennox (Диазм, РФ).

Для изучения тинкториальных свойств изолятов были использованы реактивы для окраски по Граму (НИЦФ, РФ).

Для изучения культуральных свойств штаммов применяли питательный бульон LB по Lennox (Диаэм, РФ), агар CIN (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin) (Becton Dickinson GmbH, Германия), основу селективного агара для выделения *Aeromonas* (RYAN) (Conda, Испания), селективную добавку для RYAN - агара (Conda, Испания), МакКонки агар с лактозой и желочными кислотами (Conda, Испания), основу селективного агара для *Pseudomonas* и *Aeromonas* (GSP-агар) (Sigma-Aldrich, США), хлорид натрия (ЛенРеактив, РФ), агар бактериологический (Диаэм, Россия).

Для определения гемолитической активности полевых изолятов была использована основа Колумбийского агара (TmMedia, Индия), гемоглобин (Himedia, Индия) и дефибрированная кровь барана (5% от объема среды).

Изучение биохимических свойств полевых изолятов осуществляли на среде Симмонса (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), цитратной среде Кристенсена (Биотехновация, РФ), уреазной среде Кристенсена (Himedia, Индия), бульоне с лизином / орнитинном / аргинином (Himedia, Индия), агаре для определения ДНКазы (Conda, Испания), среде Кларка (глюкозофосфатный бульон) (НПЦ «Биокомпас-С», РФ), средах Гисса (Биотехновация, РФ), питательной среде № 15 ГРМ для контроля микробной загрязненности (для определения индола) (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), нитратном бульоне (Himedia, Индия). Так же были использованы N, N-диметил-фенилендиамин (Sigma-Aldrich, США) для определения оксидазой активности, раствор 6% перекиси водорода (РусбиоАгроФарм, РФ), набор для определения ацетона в реакции Фогес-Проскауэра (НИЦФ, РФ), реактив Эрлиха (НИЦФ, РФ) для изучения продукции штаммами индола, раствор сульфаниловой кислоты (Himedia, Индия) и альфа-нафтиламино-вый реактив (Himedia, Индия) для определения продукции нитратов.

Для изучения желатиназной активности были использованы на 1 литр 120 грамм желатина (ЛенРеактив, РФ) и 20 грамм ГРМ-бульона. После культивирования исследуемых штаммов на данной среде пробирки были помещены в холодильник на 4 °С на 30 минут.

Для дополнительной биохимической характеристики изолятов был использован набор НЕФЕРМ тест 24 (Erba Lachema, Чехия).

Для экстракции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из бактериальных штаммов применялся набор реагентов «М-сорб-ООМ», предназначенный для выделения ДНК и рибонуклеиновой кислоты (РНК) из клинических образцов и биоматериалов окружающей среды на основе магнитных частиц (Синтол, Россия).

Для постановки полимеразной цепной (ПЦР) с электрофоретическим методом детекции результата амплификации реакции применяли набор

«БиоМастер HS-qPCR (2x)» (БиоЛабмикс). Для постановки электрофореза был использован 10x трис-боратный буфер (Bio-Rad, Германия), агароза (Servicebio, Китай). Для визуализации продукта к 2% агарозному гелю добавляли 20 мкл 1% раствор бромистого этидия (AppliChem, США) на 100 мл геля.

Результаты

Выделение полевых изолятов проводили на авторской среде накопления AsSB УлГАУ, основу которой составил пептон ферментативный, мальтозы моногидрат, додецилсульфат натрия (SDS) и селективной среде AsSA УлГАУ на основе RYAN – агара. Установлено, что все выделенные изоляты - грамотрицательные неподвижные палочки, располагающиеся в бактериологических мазках единично или парами.

Изоляты бактерий активно росли при 20±2 °С и 30±2 °С на LB- бульоне (время культивирования – 24 ч), при 35±2 °С рост у выделенных штаммов не был зафиксирован, что позволяет нам сделать вывод о психрофильности полевых изолятов. Согласно одной из классификаций бактерий этого вида данная характеристика свойственна типовым изолятам *A. salmonicida* [8].

Выделенные изоляты характеризовались способностью к образованию коричневого пигмента при 20±2 °С на LB-агаре. Необходимо отметить, что полевые изоляты продуцировали пигмент через 48...72 часа культивирования, в свою очередь референс-штамм *A. salmonicida* ATCC 33658 и изолят *A. salmonicida* 65 характеризовались более слабой продукцией пигмента.

Все изучаемые штаммы бактерий активно росли на среде с 3% NaCl, но не были способны к росту в присутствии 5% NaCl.

Все полевые изоляты росли на CIN-агаре при температуре 20±2 °С. Через три дня культивирования колонии приобретали характерный малиновый цвет (рис. 1), их диаметр составлял ± 2 мм. Колонии имели выпуклую форму, глянцевую поверхность и ровные края. Однако у штаммов *A. salmonicida* 61, *A. salmonicida* 87 и *A. salmonicida* 88 было зафиксировано частичное ингибирование роста в течение пяти дней культивирования.

Через 48...72 ч культивирования в среде RYAN наблюдали рост штаммов *A. salmonicida*. Колонии имели сине-зеленый оттенок (диаметр ± 2 мм) были выпуклыми и глянцевыми, с ровными краями. Штаммы: *A. salmonicida* 61, *A. salmonicida* 76 характеризовались ростом колоний интенсивно зеленого цвета, по сравнению с другими изолятами. Это может быть обусловлено более высокой окислительно-ферментативной активностью в отношении сорбита или ксилиты, входящих в состав среды RYAN. По данным S.L. Abbott (2003) 85% протестированных штаммов *A. salmonicida* ферментировали сорбит [9]. При добавлении в состав среды селективного компонента, натриевой соли ампициллина, происходило полное ингибирование роста.

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)

Также было установлено, что ни один из исследуемых изолятов не был способен к росту на агаре МакКонки и основе селективного агара для *Pseudomonas* и *Aeromonas* (GSP-агар).

Все полевые изоляты проявляют β -гемолитическую активность при инкубировании на основе Колумбийского агара с 5% дефибринированной крови барана в течение 72 ч.

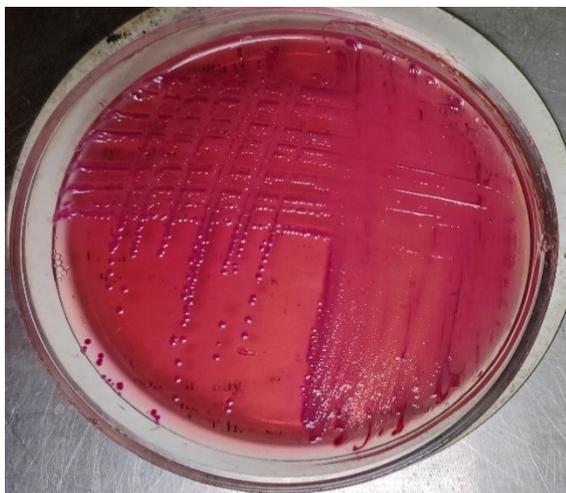


Рис.1. Рост штамма *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658 на CIN агаре при 20 °C через 72 ч культивирования

При изучении биохимических свойств выделенных полевых изолятов было установлено, что они характеризовались оксидазой и каталазной активностью, способностью к восстановлению нитратов, дезоксирибонуклеазной активностью, продуцировали желатиназу, декарбоксилировали аргинин и лизин. Была выявлена сахаролитическая активность в отношении таких углеводов, как глюкоза, мальтоза, маннитол, фруктоза и галактоза.

При использовании набор НЕФЕРМ тест 24 было также установлено, что все изучаемые штаммы продуцировали β -галактозидазу, N - ацетил - β -D- глюкозаминидазу, γ -глутамилтрансферазу, фосфатазу.

Все исследованные штаммы бактерий не проявили метаболических свойств, характерных для мезофильных штаммов *Aeromonas*. В частности, не было установлено накопления ацетоина (реакция Фогеса-Проскауэра), образования индола, утилизации цитрата и ацетата натрия.

Остальные биохимические свойства выделенных полевых изолятов были характерны для бактерий данного рода: отсутствие орнитиндекарбоксилазной активности, ферментации ксилорамнозы и сорбита, продукции уреазы.

Изучаемые штаммы бактерий были не способны к утилизации DL-лактата, у них не обнаружена α -галактозидазная активность, отмечено отсутствие ферментативной активности в отношении ряда углеводов (лактозы, рамнозы, салицина, арабинозы, трегалозы, целлобиозы).

В таблице 1 приведены результаты исследований по изучению биологических свойств выделенных полевых изолятов.

Таблица 1. Результат исследования биологических свойств полевых изолятов

Биологические характеристики	<i>A. salmonicida</i> ATCC 33658	Название полевых изолятов								
		A.s.61	A.s. 2001	A.s.43	A.s.54	A.s.65	A.s.76	A.s.87	A.s.88	A.s.4914
Окраска по Грамму	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Подвижность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Накопление ацетоина	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Рост при 3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Рост при 5% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лизиндекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Аргининдекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Продукция нитратов	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Образование пигмента	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ацетат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Индол	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Утилизация цитрата	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Уреаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ДНКаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Желатиназа	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лактоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Маннитол	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Сорбит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Салицин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Сахароза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Трегалоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -гемолиз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-лактат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-кетоглюконат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ацетамид	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -галактозидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N - ацетил - β -D- глюкозаминидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α - галактозидаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Малонат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Целлобиоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ -глутамилтрансфераза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фосфатаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Результаты исследований, указанные в таблице 1, свидетельствуют, что выделенные из объектов ветеринарно-санитарного надзора полевые изоляты бактерий принадлежат к виду *A. salmonicida*.

Для подтверждения видовой принадлежности выделенных штаммов *A. salmonicida* нами было принято решение для постановки ПЦР с визуализацией результатов амплификации методом электрофорезирования в агарозном геле. Были использованы ранее подобранные коллективом авторов праймерная

система и протокол амплификации для детекции участка гена *varA*, характерного для представителей данного вида [10].

Видовая принадлежность восьми полевых изолятов и референс-штамма была достоверно подтверждена методом ПЦР с детекцией гена *varA*, что свидетельствует о специфичности использованной праймерной системы (рис. 2).

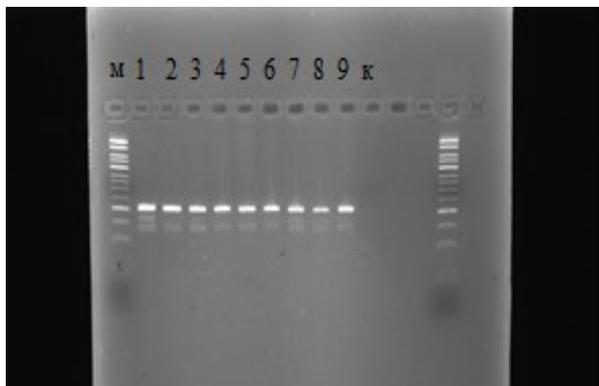


Рис. 2. Результат амплификации участка гена *varA* с подобранными праймерами: 1 – *A. salmonicida* ATCC 33658, 2 – *A. salmonicida* 2001, 3 – *A. salmonicida* 61, 4 – *A. salmonicida* 43, 5 – *A. salmonicida* 65, 6 – *A. salmonicida* 76, 7 – *A. salmonicida* 87, 8 – *A. salmonicida* 88, 9 – *A. salmonicida* 4914, к- контроль, м-маркер.

Обсуждение

Инфекции, вызываемые *A. Salmonicida*, продолжают оставаться серьезной проблемой для аквакультуры во всем мире и приводят к значительным экономическим потерям [11]. Есть данные, что представители этого вида регистрируются как возбудители инфекций у человека [12]. Комплексное изучение штаммов *Aeromonas salmonicida*, интегрирующее данные фенотипической и генотипической характеристики, является высокоактуальным и наущно необходимым. Такой интегративный подход позволит не только решить фундаментальные вопросы таксономии и эволюции патогена [13], но и имеет прямое прикладное значение для разработки современных средств точной диагностики, эффективных мер контроля и профилактики фурункулеза, что в конечном итоге будет способствовать биобезопасности и устойчивому развитию мировой аквакультуры [10, 14].

По литературным данным *A. salmonicida* – грамотрицательные неподвижные неинкапсулированные палочки, положительные по каталазе и оксидазе [15]. Нами были получены в ходе исследования аналогичные данные. Этот вид традиционно считался психрофильным, с оптимальным ростом при 22 °С, 25 °С. Для подтверждения соответствия данным показателям необходимо было изучить ряд фенотипических признаков, включая положительный фенотип на ферментацию глюкозы, активность оксидазы и каталазы и устойчивость к вибростатическому агенту O/129. Изоляты, отвечающие всем этим критериям,

считаются представителями вида *A. salmonicida*. Для определения подвида требуются дополнительные тесты. Эти тесты включают гемолитическую активность, развитие коричневой пигментации, продукцию индола, синтез желатиназы и эскулингидролазы, усвоение арабинозы и маннита [14, 16]. Проведенные нами исследования согласуются с литературными данными и подтверждают принадлежность полевых изолятов к виду *A. salmonicida*.

Другие биохимические тесты, такие как окисление глюконата, образование кислоты из лактозы и сахарозы, гидролиз эскулина, утилизация N-ацетилглюкозамина и продукция эластазы, предложенные различными исследователями для идентификации подвидов *A. salmonicida*, не обеспечивают максимальную достоверность [13-15].

Известно, что вид *A. salmonicida* считается высоко гетерогенным. Внутривидовое генетическое разнообразие постоянно пополняется новыми изолятами, которые не вписываются в существующую таксономическую схему. Это требует применения современных для точной видовой и внутривидовой идентификации, установления филогенетических связей и выявления источников инфекции. Проведенные нами исследования по подтверждению видовой идентификации полевых изолятов *A. salmonicida* методом ПЦР позволяют утверждать, что разработанная авторами ранее система праймеров по детекции участка гена *varA* специфична.

Заключение

Высокая фенотипическая гетерогенность вида *A. salmonicida* делает традиционные методы идентификации, основанные только на биохимических тестах, недостаточно надежными. Как показало наше исследование, даже референтный штамм и некоторые полевые изоляты демонстрировали различия в интенсивности продукции пигмента, а часть штаммов была чувствительна к селективным компонентам сред. Это подтверждает необходимость использования молекулярно-генетических методов для безошибочной верификации.

Комплексный подход, интегрирующий данные фенотипирования (изучение культуральных и биохимических свойств) и генотипирования (ПЦР-детекция консервативных генов, таких как *varA*), является «золотым стандартом» в современной ихтиопатологии. Такой подход, примененный в нашей работе, не только позволяет точно идентифицировать возбудителя и отслеживать циркуляцию отдельных штаммов, но и является фундаментом для изучения их патогенного потенциала и механизмов устойчивости.

Проводимое исследование является актуальным и имеет прямую практическую направленность, поскольку его результаты способствуют разработке эффективных мер диагностики и контроля инфекций, вызываемых *A. salmonicida*, что напрямую влияет на биобезопасность и экономическую стабильность аквакультурных предприятий.

Литература

1. Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis / S. Dallaire-Dufresne, K. H. Tanaka, M. V. Trudel, et al. // *Veterinary microbiology*. 2014. Vol. 169. No. 1-2. P. 1-7.
2. Salvat M. J. F., Ashbolt N. *Aeromonas* // *Global Water Pathogen Project*; University of Alberta: Edmonton, AB, Canada. 2019. 29 p.
3. Enumeration and characterization of *Aeromonas* spp. isolated from milk and some dairy products in Sharkia Governorate Egypt / N. I. Ahmed, S. F. A. A El-Aal, M. A. Ayoub, et al. // *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 2014. No. 40. P.52-64.
4. Isolation of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* from aquaculture environment in India: Polyphasic identification, virulence characterization, and antibiotic susceptibility / S. K. Pradhan, R. Devi, M. I. Khan, et al. // *Microbial Pathogenesis*. 2023. Vol. 179. P. 106100.
5. Austin B., Austin D. A. *Aeromonadaceae* representative (*Aeromonas salmonicida*) // *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*. 2016. P. 215-321.
6. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance / S. Menanteau-Ledouble, G. Kumar, M. Saleh, et al. // *Diseases of aquatic organisms*. 2016. Vol. 120. No. 1. P. 49-68.
7. Janda J. M., Abbott S. L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection // *Clinical microbiology reviews*. 2010. Vol. 23. No. 1. P. 35-73.
8. Investigation of the virulence and genomics of *Aeromonas salmonicida* strains isolated from human patients / A. T. Vincent, A. Fernández-Bravo, M. Sanchis, et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. 2019. Vol. 68. P. 1-9.
9. Abbott S. L., Cheung W. K. W., Janda J. M. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes // *Journal of clinical microbiology*. 2003. Vol. 41. No. 6. P. 2348-2357.
10. Real-time multiplex PCR method for detection of *A. veronii* *A. caviae* *A. salmonicida* / N. A. Feoktissova, A. A. Nafeev, A. V. Mastilenko, et al. // *BIO Web of Conferences*. EDP Sciences, 2023. Vol. 71. P. 01076.
11. Investigation of the virulence and genomics of *Aeromonas salmonicida* strains isolated from human patients / A. T. Vincent, A. Fernández-Bravo, et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. 2019. Vol. 68. P. 1-9.
12. Biogeography of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* inferred by vapA genotyping / S. Gulla, S. Bayliss, B. Björnsdóttir, et al. // *FEMS microbiology letters*. 2019. Vol. 366. No. 7. P. fnz074.
13. Comparative Genomics of Typical and Atypical *Aeromonas salmonicida* Complete Genomes Revealed New Insights into Pathogenesis Evolution / I. Vasquez, A. Hossain, H. Gnanagobal, et al. // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10. No. 1. P. 189.
14. Detection and characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection in crucian carp *Carassius auratus* / Z. Lian, J. Bai, X. Hu, et al. // *Veterinary research communications*. 2020. Vol. 44. No. 2. P. 61-72.
15. Characterization of atypical *Aeromonas salmonicida* different methods / B. Austin, D. A. Austin, I. Dalsgaard, et al. // *Systematic and applied microbiology*. 1998. Vol. 21. No. P. 50-64.
16. Phenotypic, genotypic, and phylogenetic discrepancies to differentiate *Aeromonas salmonicida* from *Aeromonas bestiarum* / A. J. Martínez-Murcia, L. Soler, M. J. Saavedra, et al. // *International Microbiology*. 2005. Vol. 8. No. 4. P. 259-269.

References

1. Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis / S. Dallaire-Dufresne, K. H. Tanaka, M. V. Trudel, et al. // *Veterinary microbiology*. 2014. Vol. 169. No. 1-2. P. 1-7.
2. Salvat M. J. F., Ashbolt N. *Aeromonas* // *Global Water Pathogen Project*; University of Alberta: Edmonton, AB, Canada. 2019. 29 p.
3. Enumeration and characterization of *Aeromonas* spp. isolated from milk and some dairy products in Sharkia Governorate Egypt / N. I. Ahmed, S. F. A. A El-Aal, M. A. Ayoub, et al. // *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 2014. No. 40. P.52-64.
4. Isolation of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* from aquaculture environment in India: Polyphasic identification, virulence characterization, and antibiotic susceptibility / S. K. Pradhan, R. Devi, M. I. Khan, et al. // *Microbial Pathogenesis*. 2023. Vol. 179. P. 106100.
5. Austin B., Austin D. A. *Aeromonadaceae* representative (*Aeromonas salmonicida*) // *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*. 2016. P. 215-321.
6. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance / S. Menanteau-Ledouble, G. Kumar, M. Saleh, et al. // *Diseases of aquatic organisms*. 2016. Vol. 120. No. 1. P. 49-68.
7. Janda J. M., Abbott S. L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection // *Clinical microbiology reviews*. 2010. Vol. 23. No. 1. P. 35-73.
8. Investigation of the virulence and genomics of *Aeromonas salmonicida* strains isolated from human patients / A. T. Vincent, A. Fernández-Bravo, M. Sanchis, et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. 2019. Vol. 68. P. 1-9.
9. Abbott S. L., Cheung W. K. W., Janda J. M. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes // *Journal of clinical microbiology*. 2003. Vol. 41. No. 6. P. 2348-2357.
10. Real-time multiplex PCR method for detection of *A. veronii* *A. caviae* *A. salmonicida* / N. A. Feoktissova, A. A. Nafeev, A. V. Mastilenko, et al. // *BIO Web of Conferences*. EDP Sciences, 2023. Vol. 71. P. 01076.
11. Investigation of the virulence and genomics of *Aeromonas salmonicida* strains isolated from human patients / A. T. Vincent, A. Fernández-Bravo, et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. 2019. Vol. 68. P. 1-9.

12. Biogeography of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* inferred by *vapA* genotyping / S. Gulla, S. Bayliss, B. Björnsdóttir, et al. // *FEMS microbiology letters*. 2019. Vol. 366. No. 7. P. fnz074.

13. Comparative Genomics of Typical and Atypical *Aeromonas salmonicida* Complete Genomes Revealed New Insights into Pathogenesis Evolution / I. Vasquez, A. Hossain, H. Gnanagobal, et al. // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10. No. 1. P. 189.

14. Detection and characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection in crucian carp

Carassius auratus / Z. Lian, J. Bai, X. Hu, et al. // *Veterinary research communications*. 2020. Vol. 44. No. 2. P. 61-72.

15. Characterization of atypical *Aeromonas salmonicida* different methods / B. Austin, D. A. Austin, I. Dalsgaard, et al. // *Systematic and applied microbiology*. 1998. Vol. 21. No. P. 50-64.

16. Phenotypic, genotypic, and phylogenetic discrepancies to differentiate *Aeromonas salmonicida* from *Aeromonas bestiarum* / A. J. Martínez-Murcia, L. Soler, M. J. Saavedra, et al. // *International Microbiology*. 2005. Vol. 8. No. 4. P. 259-269.