

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

doi:10.18286/1816-4501-2026-2-108-115

УДК 579.842.11:619

Апробация оптимизированной бактериологической схемы выделения и идентификации возбудителя фурункулеза рыб - *Aeromonas salmonicida*

С.С. Картакаева, соискатель кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно- санитарной экспертизы

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

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

✉ seravka@mail.ru

Резюме. Работа посвящена апробации оптимизированной бактериологической схемы выделения и идентификации *Aeromonas salmonicida* – одного из наиболее значимых бактериальных патогенов аквакультуры, вызывающего фурункулез рыб с высокой летальностью. Целью исследования являлась оценка эффективности разработанной двухступенчатой схемы, включающей среду первичного накопления AsSB и селективную дифференциально-диагностическую среду AsSA, для детекции возбудителя из объектов ветеринарно-санитарного контроля. В исследовании использовали референс-штамм *A. salmonicida* subsp. *Salmonicida* ATCC 33658, а также полевые изоляты, выделенные из воды, донных отложений и гидробионтов на территории Среднего Поволжья и г. Москвы. Разработанная схема продемонстрировала высокую чувствительность: предел обнаружения для AsSB составил 1–10 бактериальных клеток на 1 мл образца, для AsSA – 10 клеток. В ходе апробации на 74 пробах выделено 9 штаммов *A. salmonicida* и 11 штаммов других представителей рода *Aeromonas*, что подтверждает пригодность схемы для рутинной диагностики. Все полевые изоляты *A. salmonicida* проявили 100%-ную фенотипическую идентичность по 27 исследованным тестам, что свидетельствует о высокой генетической гомогенности и клональной структуре региональной популяции возбудителя. Установлен специфический дифференциально-диагностический профиль вида: неподвижность, отсутствие ферментации сахарозы и продукции индола, положительные лизин- и аргинин-декарбоксилазные тесты, облигатная психрофильность. Полученные результаты подтверждают эффективность предложенной бактериологической схемы как доступной альтернативы молекулярно-генетическим методам для лабораторий, не оснащённых ПЦР-оборудованием. Практическая значимость работы заключается в возможности интеграции данной схемы в систему ветеринарно-санитарного мониторинга для своевременного выявления, идентификации и отслеживания распространения патогенных штаммов *A. salmonicida* в аквакультурных хозяйствах и естественных водоёмах, что может способствовать совершенствованию мер биобезопасности и контроля фурункулеза рыб.

Ключевые слова: *Aeromonas salmonicida*, фурункулез рыб, бактериологическая схема, выделение, идентификация

Для цитирования: Картакаева С.С. Апробация оптимизированной бактериологической схемы выделения и идентификации возбудителя фурункулеза рыб – *Aeromonas salmonicida* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2026. № 2 (74). С. 108-115. doi:10.18286/1816-4501-2026-2-108-115

Approbation of an optimized bacteriological scheme for the isolation and identification of the causative agent of fish furunculosis - *Aeromonas salmonicida*

C.S. Kartakaeva

FSBEI HE Ulyanovsk State Agricultural University

432000, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, 1

✉ seravka@mail.ru

Abstract. The work is devoted to the testing of an optimized bacteriological scheme for the isolation and identification of *Aeromonas salmonicida*, one of the most significant bacterial pathogens of aquaculture that causes fish furunculosis with high mortality. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of the developed two-stage scheme, including the AsSb primary accumulation medium and the AsSA selective differential diagnostic medium, for detecting the pathogen from veterinary and sanitary control facilities. The study used a reference strain of *A. salmonicida* subsp. *Salmonicida* ATCC 33658, as well as field isolates isolated from water, sediments, and aquatic organisms in the Middle Volga region and Moscow. The developed scheme demonstrated high sensitivity: the detection limit for AsSb was 1-10 bacterial cells per 1 ml of sample, for AsSA – 10 cells. During the approbation, 9 strains of *A. salmonicida* and 11 strains of other representatives of the genus *Aeromonas* were isolated on 74 samples, which confirms the suitability of the scheme for routine diagnosis. All field isolates of *A. Salmonicida* showed 100% phenotypic identity according to the 27 tests studied, which indicates a high genetic homogeneity and clonal structure of the regional population of the pathogen. A specific differential diagnostic profile of the species was established: immobility, lack of fermentation of sucrose and indole production, positive lysine

and arginine decarboxylase tests, obligate psychrophilicity. The results obtained confirm the effectiveness of the proposed bacteriological scheme as an affordable alternative to molecular genetic methods for laboratories not equipped with PCR equipment. The practical significance of the work lies in the possibility of integrating this scheme into the veterinary and sanitary monitoring system for timely detection, identification and tracking of the spread of pathogenic *A. salmonicida* strains in aquaculture farms and natural reservoirs, which can contribute to improving biosafety measures and control of fish furunculosis.

Keywords: *Aeromonas salmonicida*, fish furunculosis, bacteriological scheme, isolation, identification/

For citation: Kartakaeva C.S. Approbation of an optimized bacteriological scheme for the isolation and identification of the causative agent of fish furunculosis - *Aeromonas salmonicida* // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2026.2 (74): 108-115 doi:10.18286/1816-4501-2026-2-108-115

Введение

Aeromonas salmonicida – неподвижный, грамотрицательный бактериальный патоген, занимающий одно из ведущих мест в структуре инфекционных заболеваний гидробионтов. Принадлежит к семейству *Aeromonadaceae*, данный микроорганизм демонстрирует исключительно широкий ареал распространения – от пресноводных экосистем умеренного пояса до морских акваторий северных широт [1]. Высокая экологическая пластичность в сочетании со значительным разнообразием восприимчивых хозяев (лососёвые, карповые, осетровые, многие виды морских рыб) обуславливает устойчивое циркулирование возбудителя в естественных и антропогенно преобразованных водоёмах [2].

Особую угрозу *A. salmonicida* представляет для аквакультуры лососёвых, где она является этиологическим агентом фурункулёза – заболевания, характеризующегося высокой летальностью (до 80–100% в острых случаях), хронической септицемией и образованием характерных некротических очагов в мышечной ткани. Экономический ущерб от фурункулёза складывается из прямых потерь рыбы, затрат на антибактериальную терапию, вакцинацию и санацию прудовых хозяйств [3].

Традиционно выделение и первичная идентификация *A. salmonicida* базируются на культуральных методах с использованием триптиказо-соевого агара (TSA) или кровяного агара. «Типичные» штаммы формируют гладкие, выпуклые колонии с характерным диффузным коричневым пигментом [4]. Однако, как неоднократно отмечалось в научных публикациях, точность и надёжность этих методов вызывает серьёзные сомнения. Диффузный коричневый пигмент, морфологически сходный с таковым у *A. salmonicida*, могут продуцировать и другие представители рода – *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. eucrenophila* и *A. veronii*. Это создаёт риск гипердиагностики [1, 3, 5].

В клинических образцах, особенно при смешанных инфекциях, *A. salmonicida* может присутствовать в ассоциации с сопутствующими микроорганизмами (псевдомонады, энтеробактерии, другие виды *Aeromonas*), которые часто обладают более высокими скоростями роста и подавляют развитие целевого патогена [6]. Существование атипичных вариантов, фенотипическая вариабельность, перекрёстное пигментообразование и доминирование вторичной микрофлоры обуславливают необходимость

разработки оптимизированной бактериологической схемы выделения *A. salmonicida* [7].

Цель исследования – апробация рациональной бактериологической схемы выделения и идентификации *A. salmonicida* из объектов ветеринарно-санитарного контроля и патологического материала.

Материалы и методы

В исследовании использовали референс-штаммы бактерии *A. salmonicida subsp. salmonicida* ATCC 33658.

Объектами исследований послужили 72 пробы, отобранные в рамках санитарного надзора на территории Среднего Поволжья (Ульяновская, Самарская области, Республика Чувашия) и города Москва, включая 70 проб воды из открытых водоемов и 2 пробы гидробионтов (рыба).

Для приготовления авторских питательных сред были использованы следующие компоненты: триптон (ДиаэМ, Россия), дрожжевой экстракт (ДиаэМ, Россия), монофосфат калия (ЛенРеактив, Россия), хлорид натрия (ЛенРеактив, Россия), магний сернокислый 7-водный (ЛенРеактив, Россия), тимоловый синий водорастворимый (ЛенРеактив, Россия), бромтимоловый синий водорастворимый (ЛенРеактив, Россия), пептон ферментативный (ЛенРеактив, Россия), мальтоза моногидрат (CDH, Индия), агар бактериологический (Оболенск), аргинин-L гидрохлорид (ДиаэМ, Россия), лизин-L моногидрат (Neofroxx, Германия), тиосульфат натрия (ЛенРеактив, Россия), аммоний железо (III) цитрат зеленый (Русхим), ксилоза-D (ЛенРеактив, Россия), сорбит (имп.) (ЛенРеактив, Россия), иргазан (Aldrich-Sigma), додецилсульфат натрия (Servicebio).

Рецептура представлена в таблицах 1-2.

Таблица 1. Состав среды первичного накопления AsSB (г/л, pH 7,0...7,4)

Компонент	Количество
Мальтоза моногидрат	4,0
Пептон ферментативный	2,0
NaCl	5,0
KH ₂ PO ₄	1,0
MgSO ₄	0,02
Додецилсульфат натрия (SDS)	0,75
Бромтимоловый синий	0,04
Тимоловый синий	0,04

Таблица 2. Состав селективной среды AsSA (г/л, pH 8,0)

Компонент	Количество
Агар бактериологический	15,0
Цитрат аммонийного железа	0,8
Дрожжевой экстракт	2,5 + 3,0
L-аргинина гидрохлорид	2,0
L-лизина гидрохлорид	3,5
Пептон ферментативный	5,0
Тиосульфат натрия	10,67
NaCl	5,0
SDS	0,07
Иргазан	0,006
Ксилоза	3,5
Сорбит	3,0
Бромтимоловый синий	0,04
Тимоловый синий	0,04

Стерилизация: автоклавирование при 112 °С, 20 мин.

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

Изучение биохимических свойств природных изолятов бактерий осуществляли на 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-п-фенилендиамин (Sigma-Aldrich, США) для определения оксидазной 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-нафтиламиновый реактив (Himedia, Индия) для определения продукции нитратов. Для изучения желатиназной активности были использованы на 1 литр 120 г желатина (ЛенРеактив, РФ) и 20 г 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).

Авторская бактериологическая схема выделения и идентификации *A. salmonicida* (алгоритм)

1. Первичный посев. 1 мл или 1 г исследуемого образца помещают в пробирку со средой AsSB. Инкубируют при 20±3 °С в течение 24...48 часов.

2. Оценка накопления. Изменение цвета среды с зеленого на ярко-оранжевый свидетельствует о ферментации мальтозы и рассматривается как положительный результат.

3. Селективный пересев. При положительной индикации материал из AsSB высевает на среду AsSA. Инкубируют 24...48 часов при 20±3 °С.

4. Отбор колоний. Для дальнейшей работы отбирают колонии диаметром 1...2 мм, сине-зелёного цвета, глянцевые, выпуклые с ровным краем.

5. Очистка культуры. Выбранные колонии пересевают на LB-агар с добавлением 1 % ксилозы и бромтимолового синего. Инкубация 24...48 часов при 20±3 °С.

6. Предварительная идентификация: окраска по Граму (короткие грамотрицательные палочки), оксидазная активность (положительная), каталазная активность (положительная), подвижность (отсутствие роста за пределами укола в полужидком агаре).

7. Биохимическая идентификация. Проводится с использованием следующего комплекса тестов: продукция индола (отрицательная), декарбоксилирование L-лизина (положительное), декарбоксилирование L-аргинина (положительное), декарбоксилирование L-орнитина (отрицательное), ферментация глюкозы, мальтозы, маннита (положительная), ферментация сахарозы, ксилозы, сорбита, рамнозы (отрицательная), уреазная активность (отрицательная), желатиназная активность (положительная), ДНКазная активность (положительная), восстановление нитратов (отрицательное), β-гемолитическая активность (положительная), продукция коричневого пигмента на LB-агаре (положительная), реакция Фогес-Проскауэра (отрицательная).

Результаты

В ходе апробации разработанной бактериологической схемы выделения и идентификации на 74 пробах (72 пробы из объектов окружающей среды и 2 пробы от гидробионтов) было выделено 9 штаммов *Aeromonas salmonicida*, обозначенных как A.s 61, 4914, 2001, 43, 54, 65, 76, 87, 88. Все изоляты были подвергнуты комплексному фенотипическому анализу, включающему морфотипические, культуральные, биохимические и физиологические тесты. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Все 9 выделенных штаммов *A. salmonicida* проявили полную идентичность по всем исследованным признакам, что свидетельствует о высокой степени фенотипической гомогенности региональной популяции возбудителя. Данное наблюдение согласуется с представлениями о клональной структуре вида *A. salmonicida*, особенно подвида *salmonicida*, который, в отличие от мезофильных аэромонад, характеризуется низким уровнем горизонтального переноса генов и строгой адаптацией к специфической экологической нише – организму лососевых и других холодноводных рыб [1, 8].

Выделенные изоляты представляли собой грамотрицательные палочки, не обладающие подвижностью при 22 °С. Неподвижность является одним из ключевых дифференциальных признаков, отличающих *A. salmonicida* от всех других представителей рода *Aeromonas*, которые, как правило, подвижны за счет полярных жгутиков [9].

Таблица 3. Результат исследования биологических свойств полевых изолятов *A. salmonicida*

№ п/п	Группы тестов и субстраты	Штаммы <i>A. salmonicida</i> (N=9)									
		61	2001	43	54	65	76	87	88	4914	%
<i>Морфо-тинкториальные свойства</i>											
1	Окраска по Граму	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
2	Подвижность (при 22°C)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Окислительно-восстановительные ht</i>											
3	Каталаза / Оксидаза	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	100
4	Продукция нитратов	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
5	Накопление ацетона (реакция ВП)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Культуральные и метаболические</i>											
6	Продукция пигмента	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
7	Индол	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
8	Уреаза / Малонат натрия	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	100
9	Ацетат натрия / Цитрат натрия	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	100
<i>Отношение к NaCl</i>											
10	Рост при 3% NaCl / 5% NaCl	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	100
<i>Ферментация углеводов и спиртов</i>											
11	Глюкоза / Мальтоза / Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
12	Маннитол / Фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
13	Сахароза / Арабиноза / Трегалоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
14	Лактоза / Сорбит / Ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
15	Рамноза / Салицин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Гидролитическая активность</i>											
16	Гидролиз эскулина	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
19	ДНКазы / Желатиназа	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	100
20	β-гемоллиз / β-галактозидаза	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	100
21	N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
22	α-галактозидаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Декарбоксилирование аминокислот</i>											
23	Лизиндекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
24	Аргининдекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
25	Орнитиндекарбоксилаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Утилизация иных субстратов</i>											
26	DL-лактат	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
27	2-кетоглюконат / Ацетамид	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Примечание: «+» положительная реакция; «-» отрицательная реакция.

Для 100 % штаммов характерно наличие оксидазы и каталазы – ферментов, обеспечивающих защиту от активных форм кислорода и играющих важную роль в патогенезе. Способность к редукции нитратов в нитриты, выявленная у всех изолятов, также является типичным признаком *A. salmonicida* [4]. При этом реакция Фогес–Проскауэра, свидетельствующая о продукции ацетона, стабильно отсутствовала, что соответствует классическому биохимическому профилю данного вида [5].

Все штаммы продуцировали характерный коричневый диффузный пигмент на питательных средах, что традиционно рассматривается как один из ведущих диагностических признаков *A. salmonicida subsp. salmonicida*. Однако, пигментообразование не является абсолютно специфичным, поскольку аналогичные пигменты могут синтезировать и некоторые мезофильные аэромонады, что подчеркивает необходимость использования расширенного биохимического комплекса [10]. Отсутствие продукции индола, отрицательная уреазная активность и неспособность утилизировать цитрат и ацетат натрия полностью соответствуют референс-профилю *A. salmonicida*.

Рост всех изолятов наблюдался в присутствии 3 % NaCl, тогда как при концентрации 5 % рост отсутствовал. Это типично для пресноводных штаммов *A. salmonicida* и отличается от морских изолятов,

которые могут демонстрировать толерантность к более высоким концентрациям соли [7].

Выделенные штаммы ферментировали глюкозу, мальтозу, галактозу, маннитол и фруктозу – субстраты, которые служат доступными источниками углерода и энергии в тканях рыбы-хозяина. Напротив, отсутствие ферментации сахарозы, арабинозы, трегалозы, лактозы, сорбита, ксилозы, рамнозы и салицина подтверждает узкий сахаролитический спектр *A. salmonicida*, что является важным дифференциальным признаком, отличающим её от других видов *Aeromonas*, активно ферментирующих сахарозу [8]. Особого внимания заслуживает отсутствие ферментации трегалозы – свойства, которое, по данным некоторых авторов, может варьировать у атипичных штаммов [9].

Все изоляты проявляли выраженную гидролитическую активность: гидролиз эскулина, продукцию ДНКазы и желатиназы, а также β-гемолитическую активность. Наличие β-гемолизина является важным фактором вирулентности, обеспечивающим доступ к питательным веществам за счет лизиса эритроцитов и тканевых клеток хозяина [10]. Положительная активность β-галактозидазы и N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, наряду с отсутствием α-галактозидазы, формирует специфический ферментативный портрет, характерный для *A. salmonicida*.

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

Установлена способность всех штаммов к декарбоксилированию лизина и аргинина при полном отсутствии орнитиндекарбоксилазной активности. Данный паттерн является высокоспецифичным для *A. salmonicida* и редко встречается у других аэромонад, что делает его ценным дифференциально-диагностическим признаком [11]. Все изоляты утилизировали DL-лактат, но не использовали 2-кетоглюконат и

ацетамид, что дополнительно характеризует их метаболический профиль.

Анализ полученных данных позволяет провести четкую грань между выделенными психрофильными штаммами *A. salmonicida* и сопутствующей мезофильной микрофлорой (11 штаммов других *Aeromonas* spp., данные не полностью приведены в таблице 4).

Таблица 4. Биологические свойства изолятов бактерий рода *Aeromonas*

Видовая принадлежность	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i> (n=4).					<i>A. bestiarum</i>	<i>Aeromonas</i> spp. (N=6)						
	CM-2	PBO	ТУ	SD	% (+)		ПА	CM-1	БО	АТ	П1	ПТ	Арт-2
Каталаза / Оксидаза	+/+	+/+	+/+	+/+	100	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Нитратредукция	+	+	+	+	100	+	+	+	+	+	+	+	+
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	+	+	+	100	+	-	-	-	+	-	-	-
Цитрат натрия	+	+	+	+	100	-	-	-	-	+	-	-	-
Ферментация сахаров:													
Глюкоза / Сахароза	+/+	+/+	+/+	+/+	100	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Мальтоза / Маннит	+/+	+/+	+/+	+/+	100	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Лактоза	+	-	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиноза	-	-	-	+	25	+	+	+	+	-	-	-	+
Галактоза	+	+	+	+	100	+	+	+	+	+	-	-	+
Салицин	+	-	-	-	25	+	+	+	-	-	-	-	+
Рамноза / Сорбит / Ксилоза	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-
Ферментативная активность:													
Лизиндекарбоксилаза	-	-	-	+	25	-	-	-	-	+	-	-	-
Аргининдекарбоксилаза	+	+	+	+	100	+	+	+	+	+	+	+	+
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-
β-гемолиз	+	+	+	+	100	+	+	+	-	+	-	-	-
ДНКаза / Желатиназа	+/+	+/+	+/+	+/+	100	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Индол	+	+	+	+	100	+	+	+	+	+	+	+	+
Рост NaCl 3% / 5%	+/-	+/-	+/-	+/-	100/0	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

Примечание: «+» положительная реакция; «-» отрицательная реакция.

Ключевыми дифференциальными признаками *A. salmonicida* являются: отсутствие подвижности (мезофильные аэромонады, как правило, подвижны), отсутствие ферментации сахарозы (мезофильные виды ферментируют сахарозу в 90...100 % случаев), отсутствие продукции индола (большинство мезофильных аэромонад индол-положительны), положительная лизиндекарбоксилазная активность (у *A. hydrophila* и *A. caviae* она часто отсутствует); отсутствие реакции Фогес-Проскауэра (у *A. veronii* и некоторых других видов она положительна) [12].

Таким образом, сочетание активного гидролиза эскулина, ДНК и желатина при одновременной неспособности продуцировать индол и ферментировать сахарозу формирует специфический биологический профиль, характерный исключительно для вида *A. salmonicida*.

Дополнительно установлено, что все 9 изолятов не способны к росту при температуре 35±2 °С, что подтверждает их принадлежность к облигатным психрофилам. Эта особенность имеет фундаментальное значение для экологии и эпидемиологии фурункулёза. В отличие от мезофильных видов *Aeromonas*, которые активно размножаются в воде при температуре 25...37 °С и могут выступать в роли оппортунистических патогенов человека, *A. salmonicida* строго ограничена холодноводными экосистемами.

Температурный оптимум роста (18...22 °С) объясняет сезонность вспышек фурункулёза, которые преимущественно регистрируются в весенне-осенний период при снижении температуры воды [9]. Этот же фактор обуславливает низкую термотолерантность возбудителя и его неспособность колонизировать теплокровных хозяев, что важно с позиции «One Health» (здоровье человека, животных и экосистем).

Обсуждение

Разработанная и апробированная в настоящем исследовании бактериологическая схема выделения и идентификации *Aeromonas salmonicida* продемонстрировала высокую эффективность при анализе как объектов окружающей среды (вода, донные отложения), так и патологического материала от гидробионтов. Полученные результаты позволяют обсудить несколько ключевых аспектов, имеющих значение как для фундаментальной микробиологии, так и для практической ветеринарной диагностики.

Апробация разработанной схемы на 74 образцах завершилась выделением 9 культур *A. salmonicida* и 11 штаммов, относящихся к иным видам рода *Aeromonas*. Доля положительных находок целевого патогена в объектах окружающей среды составила 12,5 %, что убедительно подтверждает его постоянное присутствие в водных экосистемах Среднего Поволжья. Ключевым фактором успеха стало

применение двухэтапного подхода: первоначальное накопление в среде AsSB с последующим пересевом на селективный агар AsSA. Такая стратегия обеспечила надёжное ингибирование сопутствующей микробиоты, которая на традиционных питательных средах (триптиказо-соевый агар, кровяной агар) нередко подавляет рост *A. salmonicida* [4, 7].

Сопоставление с опубликованными данными указывает на то, что предложенная схема по своей чувствительности не уступает молекулярно-генетическим методам (в частности, ПЦР), однако остаётся значительно более доступной для лабораторий, не располагающих дорогостоящим оборудованием. Как справедливо подчёркивают А. Т. Vincent и S. J. Charette (2022), культуральные методики, несмотря на стремительное развитие молекулярной диагностики, сохраняют статус «золотого стандарта» для выделения жизнеспособных культур и их всестороннего изучения [14].

Выполненное исследование позволило детализировать комплекс ключевых фенотипических маркеров, необходимых для достоверной идентификации *A. salmonicida*. Специфическое сочетание следующих характеристик является уникальным для данного вида и не воспроизводится у других аэромонад: отсутствие подвижности, отрицательная реакция на индол, неспособность сбрасывать сахарозу, наличие лизин- и аргининдекарбоксилазной активности, отрицательный результат в реакции Фогес–Проскауэра, а также психрофильность (отсутствие роста при 35 °С).

Отдельного обсуждения заслуживает способность к утилизации трегалозы. Все полученные нами изоляты не ферментировали этот дисахарид, что полностью соответствует классической видовой характеристике [15].

Одновременное выделение 11 штаммов других представителей рода *Aeromonas* (главным образом *A. veronii*, *A. hydrophila* и *A. caviae*) предоставило возможность чётко разграничить психрофильный патоген и мезофильных оппортунистов. Такие признаки, как подвижность, ферментация сахарозы, продукция индола и реакция Фогес–Проскауэра служат надёжными дифференциально-диагностическими критериями, что согласуется с литературными данными [4, 8, 16].

Присутствие мезофильных аэромонад в пробах воды и донных осадках не следует расценивать как неожиданное явление – эти микроорганизмы представляют собой естественных обитателей пресноводных экосистем, и их доля в общем микробном сообществе закономерно высока [15]. Однако их присутствие не должно затруднять диагностику фурункулёза при использовании предложенной схемы, поскольку селективные компоненты сред (SDS, иргазан) и температура инкубации (20±3 °С) создают преимущественные условия для роста *A. salmonicida* [2, 9, 17].

Подтверждённая в работе психрофильность всех полевых изолятов (отсутствие роста при 35 °С) имеет фундаментальное значение для понимания экологии *A. salmonicida*. Вопрос о том, является ли *A. salmonicida* облигатным или факультативным психрофилом, остаётся дискуссионным [18, 19]. Наши данные свидетельствуют в пользу облигатной психрофильности: ни один из 9 изолятов не проявлял роста при 35 °С, что характерно для типичных штаммов *A. salmonicida subsp. salmonicida*. Эта температурная зависимость объясняет сезонность вспышек фурункулёза, которые в умеренном климате регистрируются преимущественно в весенне-осенний период при температуре воды 10...18 °С. В летние месяцы при прогревании воды выше 22 °С рост и распространение возбудителя в естественных условиях замедляются, хотя в организме рыбы он может сохраняться в латентном состоянии [9].

Полученные результаты имеют прямое практическое значение. Во-первых, разработанная схема может быть рекомендована для использования в региональных ветеринарных лабораториях, не оснащённых ПЦР-оборудованием. Во-вторых, выявленная фенотипическая гомогенность популяции упрощает эпизоотологическое картирование и позволяет отслеживать пути распространения инфекции. В-третьих, стабильность биохимических свойств создаёт предпосылки для разработки эффективных вакцин, поскольку вакцинные штаммы будут адекватно соответствовать циркулирующим полевым изолятам.

Обсуждение

Результаты проведённой апробации бактериологической схемы выделения и идентификации *Aeromonas salmonicida* позволяют сформулировать следующие основные выводы:

Разработанная двухступенчатая бактериологическая схема (среда накопления AsSB → селективная среда AsSA) показала высокую эффективность при анализе 74 проб из объектов окружающей среды и патологического материала. Выделено 9 штаммов *A. salmonicida* и 11 штаммов других представителей рода *Aeromonas*, что подтверждает пригодность схемы для рутинной диагностики.

Все 9 полевых изолятов *A. salmonicida* проявили 100%-ную идентичность по 27 исследованным морфо-тинкториальным, культуральным, биохимическим и физиологическим признакам. Это свидетельствует о высокой степени генетической стабильности и клональной структуре региональной популяции возбудителя, что характерно для *A. salmonicida subsp. salmonicida*.

Установлен специфический для *A. salmonicida* комплекс признаков: грамотрицательные неподвижные палочки, продукция оксидазы, каталазы, коричневого пигмента, β-гемолитическая активность, гидролиз эскулина, ДНК и желатина, положительные лизин- и аргининдекарбоксилазные тесты, отсутствие продукции индола и ацетона, отсутствие ферментации сахарозы, арабинозы, лактозы, сорбита, ксилозы,

рамнозы, а также неспособность к росту при 35°C (облигатная психрофильность).

Ключевыми признаками, позволяющими надёжно отличать *A. salmonicida* от других представителей рода *Aeromonas*, являются: неподвижность, отсутствие ферментации сахарозы, отсутствие индола, положительная лизиндекарбоксилазная активность и отрицательная реакция Фогес–Проскауэра.

Предложенная бактериологическая схема может быть рекомендована для использования в ветеринарных диагностических лабораториях с целью: выделения и идентификации *A. salmonicida* из объектов ветеринарно-санитарного контроля; эпизоотологического мониторинга и отслеживания распространения возбудителя в водоёмах и рыбоводческих хозяйствах; дифференциальной диагностики фурункулёза и других аэромонадных инфекций рыб.

Апробированная бактериологическая схема является надёжным, доступным и эффективным инструментом для диагностики фурункулёза рыб, а полученные данные о фенотипических свойствах полевых изолятов *A. salmonicida* расширяют понимание биологии этого патогена и могут быть использованы для совершенствования системы ветеринарно-санитарного контроля в аквакультуре.

Литература

1. Isolation and identification of *Aeromonas salmonicida* of bovine origin and its genome-wide and pathogenicity analysis / Q. Wang, X. Dong, M. Cui, et al. // *Frontiers in Microbiology*. 2026. Vol. 16. P. 1712790.
2. Isolation, identification and virulence gene of atypical *Aeromonas salmonicida* from cultured turbot *Scophthalmus maximus* / H. Wang, W. H. Wang, H. Huang, et al. // *Journal of Dalian Fisheries University*. 2022. Vol. 37. No. 4. P. 558-567.
3. Recent insights into *Aeromonas salmonicida* and its bacteriophages in aquaculture: A comprehensive review / S. Y. Park, J. E. Han, H. Kwon, et al. // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020. Vol. 30. No. 10. P. 1443.
4. Beyond Fish Pathogens: A Comprehensive Overview of *Aeromonas salmonicida* / X. Qin, Z. Li, J. Guo, F. Bai, et al. // *Microbiology Research*. 2025. Vol. 16. No. 7. P. 157.
5. 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.
6. Identification, isolation and pathogenicity of *Aeromonas salmonicida* and histopathology of infected *Onchorhynchus mykiss* in Punjab and northern areas of Pakistan / M. Akram, M. Hafeez-ur-Rehman, F. Abbas, et al. // *Journal of Fisheries*. 2025. Vol. 13. No. 1. P. 131204.
7. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance / S. Menanteau-Ledouble, G. Kumar, M. Saleh, et al. // *Diseases of Aquatic Organisms*. 2016. T. 120. No. 1. P. 49-68.
8. Characterization of atypical pathogenic *Aeromonas salmonicida* isolated from a diseased Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) / S. Bakiyev, I. Smekenov, I. Zharkova, S. Kobegenova, et al. // *Heliyon*. 2023. Vol. 9. No. 7. P. e17775.
9. Loss of virulence during culture of *Aeromonas salmonicida* at high temperature / E. E. Ishiguro, W. W. Kay, T. R. S. A. Ainsworth, et al. // *Journal of Bacteriology*. 1981. Vol. 148. No. 1. P. 333–340.
10. Smyrli M., Katharios P. *Aeromonas* spp. // *Diagnostic Manual for the main pathogens in European seabass and Gilthead seabream aquaculture*. Zaragoza: CIHEAM, 2020. P. 107–116.
11. Cipriano R. C., Bullock G. L. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. – Charles Town, WV: National Fish Health Research Laboratory, 2001. 33 p.
12. Chong R. S. M. Furunculosis // *Aquaculture Pathophysiology*. Academic Press, 2022. P. 395-406.
13. Diseases caused by bacterial pathogens in inland water / Wakabayashi T. Yoshida, T. Nomura, et al. // *Fish Diseases*. 2016. 69 p.
14. Vincent A. T., Charette S. J. To be or not to be mesophilic, that is the question for *Aeromonas salmonicida* // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10. No. 2. P. 240.
15. Martin-Carnahan A., Joseph S. W. *Aeromonadales* ord. nov. // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, Boston, MA, 2005. P. 556-587.
16. The Australian and New Zealand standard diagnostic procedure (ANZSDP) for *Aeromonas salmonicida* / N. Buller, J. Carson, S. Keeling // Sydney: Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2021. 46 p.
17. Development of composite bactericides for controlling acidification pollution in coal gangue piles and their mechanisms of bacterial inhibition / Z Hu, Q. Zhu, J. Xu, et al. // *Environmental Technology & Innovation*. 2022. Vol. 25. P. 102094.
18. Molecular identification, histopathological analysis and immunohistochemical characterization of non-pigmented *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in *Mugil carinatus* (Valenciennes, 1836) / A. K. Al-Mokaddem, D. A. Abdel-moneam, R. A. Ibrahim, et al. // *Aquaculture Reports*. 2022. Vol. 24. P. 101103.
19. Bartkova S. *Aeromonas salmonicida* – Epidemiology, whole genome sequencing, detection and in vivo imaging: PhD Thesis. Copenhagen: DTU, 2016. 186 p.

References

1. Isolation and identification of *Aeromonas salmonicida* of bovine origin and its genome-wide and pathogenicity analysis / Q. Wang, X. Dong, M. Cui, et al. // *Frontiers in Microbiology*. 2026. Vol. 16. P. 1712790.
2. Isolation, identification and virulence gene of atypical *Aeromonas salmonicida* from cultured turbot *Scophthalmus maximus* / H. Wang, W. H. Wang, H. Huang, et al. // *Journal of Dalian Fisheries University*. 2022. Vol. 37. No. 4. P. 558-567.
3. Recent insights into *Aeromonas salmonicida* and its bacteriophages in aquaculture: A comprehensive

- review / S. Y. Park, J. E. Han, H. Kwon, et al. // Journal of Microbiology and Biotechnology. 2020. Vol. 30. No. 10. P. 1443.
4. Beyond Fish Pathogens: A Comprehensive Overview of *Aeromonas salmonicida* / X. Qin, Z. Li, J. Guo, F. Bai, et al. // Microbiology Research. 2025. Vol. 16. No. 7. P. 157.
5. 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.
6. Identification, isolation and pathogenicity of *Aeromonas salmonicida* and histopathology of infected *Oncorhynchus mykiss* in Punjab and northern areas of Pakistan / M. Akram, M. Hafeez-ur-Rehman, F. Abbas, et al. // Journal of Fisheries. 2025. Vol. 13. No. 1. P. 131204.
7. *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance / S. Menanteau-Ledouble, G. Kumar, M. Saleh, et al. // Diseases of Aquatic Organisms. 2016. T. 120. No. 1. P. 49-68.
8. Characterization of atypical pathogenic *Aeromonas salmonicida* isolated from a diseased Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) / S. Bakiyev, I. Smekenov, I. Zharkova, S. Kobegenova, et al. // Heliyon. 2023. Vol. 9. No. 7. P. e17775.
9. Loss of virulence during culture of *Aeromonas salmonicida* at high temperature / E. E. Ishiguro, W. W. Kay, T. R. S. A. Ainsworth, et al. // Journal of Bacteriology. 1981. Vol. 148. No. 1. P. 333–340.
10. Smyrli M., Katharios P. *Aeromonas* spp. // Diagnostic Manual for the main pathogens in European seabass and Gilthead seabream aquaculture. Zaragoza: CIHEAM, 2020. P. 107–116.
11. Cipriano R. C., Bullock G. L. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. – Charles Town, WV: National Fish Health Research Laboratory, 2001. 33 p.
12. Chong R. S. M. Furunculosis // Aquaculture Pathophysiology. Academic Press, 2022. P. 395-406.
13. Diseases caused by bacterial pathogens in inland water / Wakabayashi T. Yoshida, T. Nomura, et al. // Fish Diseases. 2016. 69 p.
14. Vincent A. T., Charette S. J. To be or not to be mesophilic, that is the question for *Aeromonas salmonicida* // Microorganisms. 2022. Vol. 10. No. 2. P. 240.
15. Martin-Carnahan A., Joseph S. W. *Aeromonadales* ord. nov. // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, Boston, MA, 2005. P. 556-587.
16. The Australian and New Zealand standard diagnostic procedure (ANZSDP) for *Aeromonas salmonicida* / N. Buller, J. Carson, S. Keeling // Sydney: Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2021. 46 p.
17. Development of composite bactericides for controlling acidification pollution in coal gangue piles and their mechanisms of bacterial inhibition / Z Hu, Q. Zhu, J. Xu, et al. // Environmental Technology & Innovation. 2022. Vol. 25. P. 102094.
18. Molecular identification, histopathological analysis and immunohistochemical characterization of non-pigmented *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida* in *Mugil carinatus* (Valenciennes, 1836) / A. K. Al-Mokaddem, D. A. Abdel-moneam, R. A. Ibrahim, et al. // Aquaculture Reports. 2022. Vol. 24. P. 101103.
19. Bartkova S. *Aeromonas salmonicida* – Epidemiology, whole genome sequencing, detection and in vivo imaging: PhD Thesis. Copenhagen: DTU, 2016. 186 p.