

УДК 579.62

DOI 10.18286/1816-4501-2022-1-155-161

**РАЗРАБОТКА УСКОРЕННОЙ СХЕМЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ *AEROMONAS VERONII***

**Минаева Ангелина Николаевна**, аспирант кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно – санитарная экспертиза»

**Ломакин Артем Андреевич**, аспирант кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно – санитарная экспертиза»

**Феоктистова Наталья Александровна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно – санитарная экспертиза»

**Сутьдина Екатерина Владимировна**, ассистент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно – санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; 8(8422)55-95-47

e-mail: feokna@yandex.ru

**Ключевые слова:** *A. veronii*, аэромоноз, схема, выделение. идентификация, питательные среды, физиолого-биохимические показатели

В статье представлены результаты исследований по разработке ускоренной схемы выделения и бактериологической идентификации бактерий *Aeromonas veronii*, вызывающих совместно с *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. eucrenophila* *A. caviae* аэромоноз лососевых и карповых рыб. Эксперименты осуществлялись на бактериальном штамме *Aeromonas veronii* biogroup *sobria* – ATCC 9071. Схема состоит из трех этапов: первый - выделение микроорганизмов из исследуемого образца с применением накопительной питательной среды А.в.1-УГАУ оригинальной авторской рецептуры; второй этап – пересев типичных для *Aeromonas veronii* колоний на авторскую плотную дифференциально-диагностическую среду А.в.2-УГАУ; третий этап - изучение физиолого-биохимических показателей: определение подвижности, продукция оксидазы, утилизация ксилозы, образование пигмента у выросших бактериальных колоний на ГРМ-агаре с тирозином, декарбоксилирование лизина и орнитина, гидролиз аргинина, ферментация лактата. Предложенный способ выделения и идентификации позволит за 120 часов дифференцировать *Aeromonas veronii* от бактерий-ассоциантов, включая *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, при относительно невысоких затратах на питательные среды и реактивы.

**Введение**

Согласно литературным данным, бактерии вида *Aeromonas veronii* являются инфекционным агентом, вызывающим заболевания человека, животных и рыб [1-4]. *Aeromonas veronii* выделяют при желудочно-кишечных заболеваниях и широком спектре системных заболеваний теплокровных [5-6]. Часто вышеназванные бактерии выделяются при воспалительных процессах у иммунокомпрометированных паци-

ентов, особенно с циррозом печени и злокачественными новообразованиями [7-8].

Бактерии вида *Aeromonas veronii* широко встречается в водной среде, большинство выделенных бактериальных штаммов проявляют высокую патогенность [9-10]. Некоторые исследователи относят *Aeromonas veronii* к группе возбудителей аэромоноза лососевых и карповых рыб совместно *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. eucrenophila* *A. caviae*

[11-13].

На сегодняшний день в Российской Федерации стандартизированная методология для типизации бактерий *Aeromonas veronii* отсутствует, поэтому разработка схемы выделения и идентификации *A. veronii* является актуальной темой для исследований, разработка которой позволит провести скрининг объектов ветеринарного надзора на наличие вышеназванного патогена.

Цель исследований - разработка ускоренной схемы выделения и бактериологической идентификации бактерий вида *Aeromonas veronii*.

#### Материалы и методы исследований

Эксперименты осуществлялись на бактериальном штамме *Aeromonas veronii biogroup sobria* – ATCC 9071.

Для оценки эффективности разрабатываемых селективных сред для *Aeromonas veronii* были использованы штаммы бактерий: *Aeromonas caviae* ATCC 15468, *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658, *Aeromonas hydrophila* ATCC 49240, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella infantis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mirabilis*, *Escherichia coli*, *Alcaligenaceae spp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, характеризующиеся типовыми биологическими свойствами.

**Оборудование:** микроскоп ZEISS Primo Star (Германия), тринокуляр с видеосистемой, термостат ТС-80М-2, шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80п УХЛ 424, автоклав ГК-100-3, установка бактерицидная УГД-2, холодильник бытовой, лабораторная посуда.

**Питательные среды и реактивы:** бульон с лизином (HiMedia, Индия), бульон с аргинином (HiMedia, Индия), бульон с орнитином (HiMedia, Индия), ГРМ-агар (ФБУН «ГНЦ ПМБ», Оболенск), D-ксилоза (Dia-m, Россия), мальтоза (Dia-m, Россия), лактат (JINDAN, Китай), натрий хлорид (Dia-m, Россия), сульфат магния (ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург), гидрофосфат калия (AppliChem, Испания), пептон сухой ферментативный (ГНЦ ПМБ, Россия), хлорид бария (НеваРеактив, Россия), SDS (Appelchem, Германия), агар бактериологический (Dia-m, Россия), крахмал (HiMedia, Индия), иргозан (Sigma-Aldrich, Германия), хлорид аммония (ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург), бромтимоловый синий (ЛенРеактив, г. Санкт-Петербург), тирозин-L (Dia-m, Россия), гидроксид калия (Компонент-Реактив,

Россия).

Микроскопические исследования проводились с использованием Диахим набора для окраски по Граму(НПФ АБРИС +, Россия).

Бактериологическая схема выделения и идентификации *A. veronii* строилась на использовании общепринятых микроскопических и бактериологических методов идентификации бактерий [14-15].

#### Результаты исследований

Первый блок исследований был посвящен изучению биологических свойств *Aeromonas veronii* – ATCC 9071. Было установлено, что бактерии обладают типовыми свойствами и могут быть использованы в качестве тест-объекта для апробации разрабатываемой ускоренной схемы выделения и идентификации *Aeromonas veronii*.

Вторым этапом исследований была разработка оригинальных селективных сред – жидкой среды накопления и плотной дифференциально-диагностической среды. Конструирование питательных сред осуществлялось методом эмпирического подбора компонентов и их концентраций. Составы сконструированных селективных сред представлены в таблицах 1-2.

Таблица 1

**Состав жидкой среды накопления А.в.1-УГАУ для выделения бактерий вида *A. veronii* (рН=7,4)**

Компонент среды	Концентрация (г/л)
H <sub>2</sub> O (дистиллированная)	1000 мл
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	3,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0
NaCl	5,0
Пептон сухой ферментативный	1,0
BaCl	1,0
Додецилсульфат натрия	5,0
Бромтимоловый синий	0,08

Таблица 2

**Состав дифференциально-диагностической среды А.в.2-УГАУ для идентификации бактерий вида *A. veronii* (рН=7,4)**

Компонент среды	Концентрация (г/л)
H <sub>2</sub> O (дистиллированная)	1000 мл
Агар бактериологический	15,0
Пептон	6,0
(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	20,0
NaCl	5,0
BaCl	1,0
Додецилсульфат натрия	5,0
Иргозан	0,06
Бромтимоловый синий	0,08

Способ приготовления: в дистиллированной воде растворяли вышеперечисленные компоненты. Среду накопления перед стерилизацией разливали по 5 мл в пробирки. Для выведения рН среды использовали 0,1 М раствор гидроксида калия. Водородный показатель доводили до значения 7,4. Стерилизовали при температуре 121°C 40 мин. Среда имеет болотно-зеленый цвет.

Изучение специфичности авторских селективных сред (А.в.1-УГАУ и А.в.2-УГАУ) осуществляли, используя контрольный высев на них бактерий-ассоциантов. Параметры культивирования - в течение 23±1 ч. при температуре 30-35°C. По итогам исследования было установлено, что в жидкой среде накопления на среде А.в.1-УГАУ не способны развиваться: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Alcaligenaceae spp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas caviae* ATCC 15468, *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658 (рис. 1). Бактерии видов *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella infantis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mirabilis*, *Aeromonas hydrophila* ATCC 49240 подобно штамму *Aeromonas veronii* - ATCC 9071 растут с изменением цвета среды с болотно-зеленого на желтый (рис. 2).

Определение возможности роста бактерий-ассоциантов на дифференциально-диагностической среде А.в.2-УГАУ позволило установить, что *Aeromonas hydrophila* ATCC 49240 проявляет сходный рост с колониями *Aeromonas veronii* - ATCC 9071 (колонии округлые, желтые, размером в диаметре 0,5 мм, с гладкой поверхностью и ровным краем), с изменением цвета среды с болотно-зеленого на желтый под колониями (рис. 1 А). Бактерии вида *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658 и *Citrobacter freundii* растут также с изменением цвета среды с болотно-зеленого на желтый (рис. 1 Б). Выросшие колонии – округлой формы, желто-зеленого цвета, им характерна гладкая поверхность, ровный край и мелкий размер. Рост микроорганизмов вида *Serratia marcescens* и *Acinetobacter calcoaceticus* отличаются цветом колоний (фиолетовые и зеленые соответственно) и отсутствием изменения цвета среды. Бактерии *Salmonella infantis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Alcaligenaceae spp.*, *Aeromonas caviae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas mirabilis* на разработанной дифференциально-диагностической среде роста не



Рис. 1 - Культивирование бактерий *Escherichia coli*, *Alcaligenaceae spp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas caviae* ATCC 15468, *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* в пробирках со средой накопления А.в.1-УГАУ через 24 ч при температуре 30°C

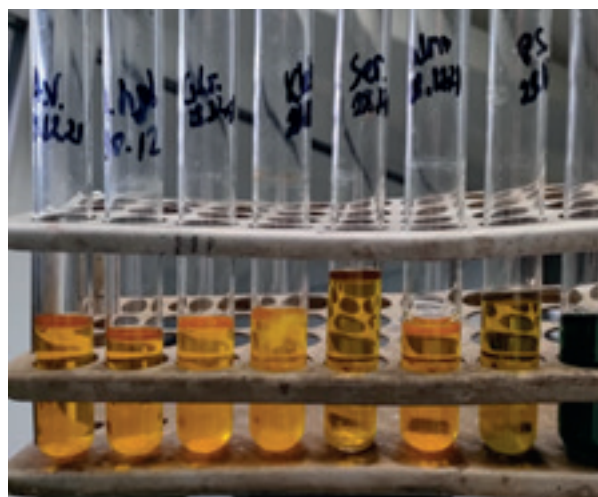
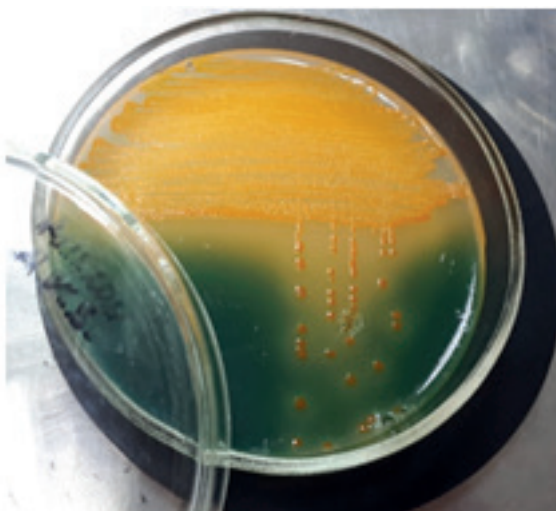


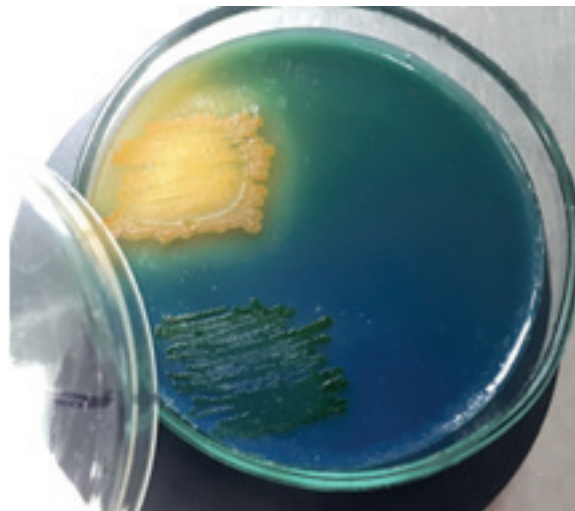
Рис. 2 - Культивирование бактерий *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella infantis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mirabilis*, *Aeromonas hydrophila* ATCC 49240, *Aeromonas veronii* ATCC 9071 в пробирках со средой накопления А.в.1-УГАУ через 24 ч при температуре 30°C

проявляли (рис. 1 Б).

Третьим этапом экспериментов была аналитическая работа по подбору физиолого-биохимических свойств, которые позволят ускоренно дифференцировать бактерии, культивированные на питательных средах оригинальной авторской рецептуры. Было установлено, что изучение таких характеристик, как определение подвижности, продукции оксидазы, утилизации ксилозы, образования пигмента у выросших бактериальных колоний на ГРМ-агаре с тирози-



А



Б

Рис. 3 - Чашки со средой А.в.2-УГАУ: А – *Aeromonas veronii* - ATCC 9071, Б – *Aeromonas salmonicida* ATCC 33658; *Acinetobacter calcoaceticus*, *Alcaligenaceae* spp., *Aeromonas caviae* (параметры культивирования - 48 часов при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ )

ном, декарбоксилирование лизина и орнитина, гидролиз аргинина, ферментация лактата, позволяет получить положительный результат исследований. Вышеназванные показатели были выбраны на основании твердо положительного или твердо отрицательного результата для изучаемого вида бактерий, так как иные дифференциально-диагностические тесты, описанные в литературных источниках [16-17], не дают точных результатов.

Таким образом, авторский коллектив разработал ускоренную схему выделения и типирования бактерий вида *Aeromonas veronii*, схематично изображенную на рисунке 3, позволяющую получить результат за 120 часов.

Алгоритм исследования по авторской схеме:

1. Выделение бактерий из пробы, которую в количестве 1 (г) мл вносят в А.в.1-УГАУ (параметры культивирования - 24 ч при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ ). Установлено, что на данной среде изучаемые штаммы бактерий *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Salmonella* растут, изменяя цвет среды с болотно-зеленого на желтый, также образуют осадки и помутнение среды.

2. Из А.в.1-УГАУ делается посев на А.в.2-УГАУ (параметры культивирования 24 ч при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ ). На данной среде бактерии вида *A. veronii* ATCC 9071 образуют колонии, характеризующиеся: округлой формой, глянцевой поверхностью с ровными краями, диаметром 0,5 мм, желтым цветом колоний и пожелтением среды под ними.

3. Проводят дальнейшее исследование для видовой идентификации выросших колоний на селективной среде А.в.2-УГАУ.

3.1 Окраска колоний бактерий по методу Грама – грамотрицательные палочки.

3.2 Изучают подвижность на полужидком ГРМ-агаре (параметры культивирования 24 ч при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ ). Бактерии вида *A. veronii* подвижны.

3.3 Бактериальные колонии исследуют на оксидазную активность - продуцируют оксидазу.

3.4 Способность утилизировать ксилозу проверяют на ГРМ-агаре с ксилозой. Колонии бактерии вида *A. veronii* синего цвета (отрицательная реакция).

3.5 Фиксируют продукцию изучаемыми бактериальными штаммами аргинингидролазы, орнитин- и лизиндекарбоксилазы. Для определения способности выделенных бактерий декарбоксилировать лизин и орнитин, вызывать гидролиз аргинина производят посев в бульоны с указанными аминокислотами (параметры культивирования 24 ч при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ ). Положительный результат отмечается только в пробирках с аргинином и лизином в виде изменения цвета среды, что свидетельствует о способности декарбоксилировать указанные аминокислоты.

3.6 Определяют ферментацию лактата. Для исследования готовят солевую среду, содержащую лактат, используя следующую рецептуру: NaCl- 4,0 г/л, MgSO<sub>4</sub> - 0,2 г/л, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> -1,0 г/л, лактат – 6,0 мл, NH<sub>4</sub>Cl - 0,8 г/л, бромтимоловый синий - 0,08 г/л. (параметры культивирования 24 ч при  $t = 30^{\circ}\text{C}$ ). Бактерии вида *A. veronii* на

данной среде не растут и цвет среды не изменяют, поскольку не утилизируют лактат.

3.7 Образование бурого пигмента определяют путем посева на скошенный ГРМ-агар в пробирках с 0,1% тирозином. Результат снимают после 48 ч культивирования при температуре 30°C (бактерии вида *A. veronii* пигмент не образует).

#### Обсуждение

Полученные нами данные, характеризующие физиолого-биохимические свойства бактерии *Aeromonas veronii* – ATCC 9071, свидетельствуют о том, что изучаемый штамм обладает типовыми характеристиками, описанными в литературных источниках [18-20]. Научных публикаций на русском языке, описывающих схемы выделения и идентификации вышеназванных бактерий нами найдено не было.

Изложенный экспериментальный материал по разработке ускоренной схемы выделения и типирования бактерий *Aeromonas veronii* включает три этапа и применение питательных сред оригинальной авторской рецептуры – А.в.1-УГАУ - накопительной, А.в.2-УГАУ – дифференциально-диагностической. Таким образом, предложенный авторами способ выделения и идентификации позволит за 120 часов дифференцировать *Aeromonas veronii* от бактерий-ассоциантов, включая *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, при относительно невысоких затратах на питательные среды и реактивы.

#### Заключение

На основании данных, полученных при изучении биологических свойств штамма *Aeromonas veronii* – ATCC 9071, была разработана ускоренная схема выделения и бактериологической идентификации указанного микроорганизма, которая позволяет конкретизировать количество тестов для типирования вышеназванного микроорганизма до 10, снизив тем самым материальные затраты на исследования, а также провести скрининг объектов ветеринарного надзора на наличие вышеназванного патогена в течение 120 часов. Полученные в ходе планируемых экспериментов «полевые» штаммы бактерий *Aeromonas veronii* будут использованы в перспективе как индикаторные штаммы при выделении и селекции специфических бактериофагов.

#### Библиографический список

1. Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives / A. Bodor, N. Bounedjoum, G. Vincze, A. Kis, K. Laczi, G. Bende, A. Szilágyi, T.

Kovács, K. Perei // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2020. - № 19. – P. 1–22.

2. Proteomic characterization and discrimination of *Aeromonas* species recovered from meat and water samples with a spotlight on the antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* / A. Elbehiry, E. Marzouk, E. Abdeen, M. Al-Dubaib, A. Alsayeqh, M. Ibrahim, M. Hamada, A. Alenzi, I. Moussa, H. Hemeg // The Open Microbiology. – 2019. – P. 1-14.

3. Distribution of virulence factors and molecular fingerprinting of *Aeromonas* species isolates from water and clinical samples: suggestive evidence of water-to-human transmission / B. Khajanchi, A. Fadl, M. Borchardt, R. Berg, A. Horneman, M. Stemper, S. Joseph, N. Moyer, J. Sha, A. Chopra // Applied and Environmental Microbiology. – 2010. – № 76. – P. 2313–2325.

4. Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants / V. Figueira, I. Vaz-Moreira, M. Silva, C. Manaia // Water Research. – 2012. – № 45. – P. 5599–5611.

5. Bhowmick, U. D. Bacteriological, clinical and virulence aspects of *Aeromonas*-associated diseases in humans / U. D. Bhowmick, S. Bhattacharjee // Polish Journal of Microbiology. – 2018. – № 67. – P. 137–149.

6. Phylogenetic diversity, antibiotic resistance and virulence traits of *Aeromonas* spp. from untreated waters for human consumption / M. Carvalho, A. Martínez-Murcia, A. Esteves, A. Correia, M. Saavedra // The International Journal of Food Microbiology. – 2012. – № 159. – P. 230–239.

7. Hoel, S. Species distribution and prevalence of putative virulence factors in Mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from fresh retail sushi / S. Hoel, O. Vadstein, A. N. Jakobsen // Frontiers in Microbiology. – 2017. – № 8. – P. 1–11.

8. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health / I. H. Igbino, E. U. Igumbor, F. Aghdasi, M. Tom, A. I. Okoh // The Scientific World Journal. – 2012. – P. 1–13.

9. Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.) / A. K. Gupta, D. Nayduch, P. Verma [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2012. – № 79. – P. 581–593.

10. *Aeromonas* spp. from marketed *Yesso scallop* (*Patinopecten yessoensis*): Molecular characterization, phylogenetic analysis, virulence properties and antimicrobial susceptibility / B. Silva, S. Hossain, P. Dahanayake, G. Heo // Veterinary Medical Center and College of Veterinary Medicine. – 2019. – 126(1). – P. 288-299.

11. Multi-drug resistance mediated by class 1 integrons in *Aeromonas* isolated from farmed fresh water animals / Y. Deng, Y. Wu, L. Jiang, A. Tan, R. Zhang, L. Luo // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – № 7. – P. 935–942.

12. Molecular identification and epizootiology of *Aeromonas veronii* infection among farmed *Oreochromis niloticus* in Eastern Province, KSA, Egypt / M. A. Hassan, E. A. Noureldin, M. A. Mahmoud, N. A. Fita // *Journal of Aquatic Research*. – 2017. – № 43. – P. 161–167.

13. Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish / M. Nawaz, S. Khan, A. Khan, K. Sung, Q. Tran, K. Kerdahi, R. Steele // *Food Microbiology*. – 2010. – № 27. – P. 327–331.

14. Равилов, А. З. Микробиологические среды / А. З. Равилов, З. Я. Гильмутдинов, М. Ш. Хусаинов. – Казань : ФЭН, 1999. – 398 с. - ISBN 5-7544-0137-X.

15. Лабинская, А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская. – Москва : Медицина, 1972. – 356 с.

16. *Aeromonas veronii* virulence and adhesion attenuation mediated by the gene aodp / L. Zhang, S. Jin, C. Feng, H. Song, S. H. A. Raza, H. Yu,

L. Zhang, T. Chi, Y. Qi, D. Zhang, A. Qian, N. Liu, X. Shan // *The Journal of Fish Diseases*. – 2022. - № 45(2). – P. 231-247.

17. Frequency and diversity of small plasmids in mesophilic *Aeromonas* isolates from fish, water and sediment / D. Pérez-García, V. Larios-Serrato, R. Rojas-Rios, J. E. Otero-Olarrá, I. Mendoza-Sanchez, E. Curiel-Quesada, A. Pérez-Valdespino // *Plasmid*. – 2021. - No. 118. - P. 102607.

18. Characterization and Antimicrobial Resistance of Environmental and Clinical *Aeromonas* Species Isolated from Fresh Water Ornamental Fish and Associated Farming Environment in Sri Lanka / P. M. Dhanapala, R. S. Kalupahana, A. W. Kalupahana, D. P. H. Wijesekera, S. A. Kottawatta, N. K. Jayasekera, A. Silva-Fletcher, S. S. Jagoda // *Microorganisms*. – 2021. - № 9(10). – P. 2106.

19. Janda, J. M. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection / J. M. Janda, S. L. Abbott // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2010. - № 23. – P. 35–73.

20. Virulence and Antimicrobial Resistance Pattern of *Aeromonas* spp. Colonizing European Pond Turtles *Emys orbicularis* and Their Natural Environment / L. Guz, A. Nowakiewicz, K. Puk, P. Zięba, S. Gnat, Ł. Matuszewski // *First Study from Poland. Animals (Basel)*. – 2021. - № 11. – P. 2772.

## DEVELOPMENT OF A RAPID SCHEME FOR ISOLATION AND BACTERIOLOGICAL IDENTIFICATION OF AEROMONAS VERONII

**Minaeva A.N., Lomakin A.A., Feoktistova N.A., Suldina E.V.**  
**Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Ulyanovsk State Agrarian University**  
**432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1; 8(8422)55-95-47**  
**e-mail: feokna@yandex.ru**

**Key words:** *A. veronii*, aeromonosis, scheme, isolation, identification, nutrient media, physiological and biochemical parameters

The article presents results of the studies on development of a rapid scheme for isolation and bacteriological identification of *Aeromonas veronii* bacteria, which induce aeromonosis of salmon and cyprinids, as well as *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. eucrenophila* *A. caviae*. The experiments were carried out on the bacterial strain *Aeromonas veronii* biogroup *sobria* - ATSS 9071. The scheme consists of three stages: the first is the isolation of microorganisms from the test sample using the A.v.1-UIGAU accumulative nutrient medium of the original author's formula; the second stage is reseeding of colonies typical for *Aeromonas veronii* on the author's dense differential diagnostic medium A.v.2-UIGAU; the third stage is the study of physiological and biochemical parameters: mobility specification, oxidase production, xylose utilization, pigment formation of grown bacterial colonies on GRM agar with tyrosine, decarboxylation of lysine and ornithine, arginine hydrolysis, lactate fermentation. The proposed isolation and identification method will allow to differentiate *Aeromonas veronii* from associated bacteria, including *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, within 120 hours, at relatively low costs for nutrient media and reagents.

### Bibliography:

1. Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives / A. Bodor, N. Bounedjoum, G. Vincze, A. Kis, K. Laczi, G. Bende, A. Szilágyi, T. Kovács, K. Perei // *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. – 2020. - № 19. – P. 1–22.
2. Proteomic characterization and discrimination of *Aeromonas* species recovered from meat and water samples with a spotlight on the antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* / A. Elbehiry, E. Marzouk, E. Abdeen, M. Al-Dubaib, A. Alsayeqh, M. Ibrahim, M. Hamada, A. Alenzi, I. Moussa, H. Hemeg // *The Open Microbiology*. – 2019. – P. 1-14.
3. Distribution of virulence factors and molecular fingerprinting of *Aeromonas* species isolates from water and clinical samples: suggestive evidence of water-to-human transmission / B. Khajanchi, A. Fadl, M. Borchardt, R. Berg, A. Horneman, M. Stemper, S. Joseph, N. Moyer, J. Sha, A. Chopra // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2010. – № 76. – P. 2313–2325.
4. Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants / V. Figueira, I. Vaz -Moreira, M. Silva, C. Manaia // *Water Research*. – 2012. – № 45. – P. 5599–5611.
5. Bhowmick, U. D. Bacteriological, clinical and virulence aspects of *Aeromonas*-associated diseases in humans / U. D. Bhowmick, S. Bhattacharjee // *Polish Journal of Microbiology*. – 2018. – № 67. – P. 137–149.
6. Phylogenetic diversity, antibiotic resistance and virulence traits of *Aeromonas* spp. from untreated waters for human consumption / M. Carvalho, A. Martínez-Murcia, A. Esteves, A. Correia, M. Saavedra // *The International Journal of Food Microbiology*. – 2012. – № 159. – P. 230–239.
7. Hoel, S. Species distribution and prevalence of putative virulence factors in Mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from fresh retail sushi / S. Hoel, O. Vadstein, A. N. Jakobsen // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – № 8. – P. 1–11.
8. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health / I. H. Igbinosa, E. U. Igumbor, F. Aghdasi, M. Tom, A. I. Okoh // *The*

Scientific World Journal. – 2012. – P. 1–13.

9. Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.) / A. K. Gupta, D. Nayduch, P. Verma [et al.] // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2012. – № 79. – P. 581–593.

10. *Aeromonas* spp. from marketed Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*): Molecular characterization, phylogenetic analysis, virulence properties and antimicrobial susceptibility / B. Silva, S. Hossain, P. Dahanayake, G. Heo // *Veterinary Medical Center and College of Veterinary Medicine*. – 2019. – 126(1). – P. 288–299.

11. Multi-drug resistance mediated by class 1 integrons in *Aeromonas* isolated from farmed fresh water animals / Y. Deng, Y. Wu, L. Jiang, A. Tan, R. Zhang, L. Luo // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – № 7. – P. 935–942.

12. Molecular identification and epizootiology of *Aeromonas veronii* infection among farmed *Oreochromis niloticus* in Eastern Province, KSA, Egypt / M. A. Hassan, E. A. Noureldin, M. A. Mahmoud, N. A. Fita // *Journal of Aquatic Research*. – 2017. – № 43. – P. 161–167.

13. Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish / M. Nawaz, S. Khan, A. Khan, K. Sung, Q. Tran, K. Kerdahi, R. Steele // *Food Microbiology*. – 2010. – № 27. – P. 327–331.

14. Raviolov, A. Z. *Microbiological media* / A. Z. Raviolov, Z. Ya. Gilmudinov, M. Sh. Khusainov. - Kazan: FEN, 1999. - 398 p. - ISBN 5-7544-0137-X.

15. Labinskaya, A. S. *Microbiology with the technique of microbiological research* / A. S. Labinskaya. - Moscow: Medicine, 1972. - 356 p.

16. *Aeromonas veronii* virulence and adhesion attenuation mediated by the gene *aodp* / L. Zhang, S. Jin, C. Feng, H. Song, S. H. A. Raza, H. Yu, L. Zhang, T. Chi, Y. Qi, D. Zhang, A. Qian, N. Liu, X. Shan // *The Journal of Fish Diseases*. – 2022. - № 45(2). – P. 231–247.

17. Frequency and diversity of small plasmids in mesophilic *Aeromonas* isolates from fish, water and sediment / D. Pérez-García, V. Larios-Serrato, R. Rojas-Rios, J. E. Otero-Olarrá, I. Mendoza-Sánchez, E. Curiel-Quesada, A. Pérez-Valdespino // *Plasmid*. – 2021. - № 118. - P. 102607.

18. Characterization and Antimicrobial Resistance of Environmental and Clinical *Aeromonas* Species Isolated from Fresh Water Ornamental Fish and Associated Farming Environment in Sri Lanka / P. M. Dhanapala, R. S. Kalupahana, A. W. Kalupahana, D. P. H. Wijesekera, S. A. Kottawatta, N. K. Jayasekera, A. Silva-Fletcher, S. S. Jagoda // *Microorganisms*. – 2021. - № 9(10). – P. 2106.

19. Janda, J. M. *The Genus Aeromonas: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection* / J. M. Janda, S. L. Abbott // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2010. - № 23. – P. 35–73.

20. Virulence and Antimicrobial Resistance Pattern of *Aeromonas* spp. Colonizing European Pond Turtles *Emys orbicularis* and Their Natural Environment / L. Guz, A. Nowakiewicz, K. Puk, P. Zięba, S. Gnat, Ł. Matuszewski // *First Study from Poland. Animals (Basel)*. – 2021. - № 11. – P. 2772.