

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

doi:10.18286/1816-4501-2024-1-117-124

УДК 579.62

Разработка и апробация схемы выделения и бактериологической идентификации *Aeromonas hydrophila*

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

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

Е. В. Сульдина, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы»

А. А. Нафеев, доктор медицинских наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы», заведующий отделением особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

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

✉ feokna@yandex.ru

Резюме. Работа посвящена разработке и апробации ускоренной схемы выделения и бактериологической идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*. Авторская схема включала четыре этапа исследования – посев на среду накопления (авторской рецептура), пересев на *Aeromonas selective agar* (BSIBG), третий этап – выделение чистой культуры на ГРМ-агаре с добавлением 1 % ксилозы и 0,08 % бромтимолового синего, четвертый этап – изучение 14 биохимических свойств. Применение разработанного алгоритма позволило изолировать из объектов ветеринарно-санитарного надзора 8 штаммов бактерий вида *A. hydrophila*. Все выделенные штаммы *Aeromonas hydrophila*, – это грамотрицательные палочки, ферментирующие лизин- и аргининдекарбоксилазу, не ферментирующие орнитин. Штаммы (100 %) положительны в реакции Фогеса-Проскауэра и тесте на желатиназу, установлен β-гемолиз, зафиксирована ферментация мальтозы, маннита, сахарозы, глюкозы. Изоляты не давали положительную реакцию в тестах на уреазу, ксилозу и сорбит. Дополнительно изучены еще 40 физиолого-биологических характеристик выделенных изолятов. Установлено, что на цитратном агаре 25 % штаммов были способны к ферментации лактозы и 100 % – арабинозы. Все выделенные бактерии продуцировали фенилаланин и были положительны на β-галактозидазу, способны продуцировать β-аланин, γ-глутамилтрансферазу, фосфатазу. Ни один из изолятов не давал положительной реакции на α-галактозидазу. Выделенным штаммам был характерен рост в присутствии 3 % хлорида натрия при температуре 30°C. Положительный тест на ДНКазу у 100 % штаммов. Из 8 штаммов ни один штамм не давал положительную реакцию на цитратном агаре Кристенсена и на среде Симмонса. 25 % штаммов были способны к ферментации лактозы и 100 % – арабинозы. 100 % выделенных изолятов продуцировали фенилаланин.

Ключевые слова: *Aeromonas hydrophila*, аэромонад, бактерии, типирование, индикация, идентификация.

Для цитирования: Ломакин А. А., Феоктисова Н. А., Сульдина Е. В., Нафеев А. А. Разработка и апробация схемы выделения и бактериологической идентификации *Aeromonas hydrophila* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. № 1 (65). С. 117-124. doi:10.18286/1816-4501-2024-1-117-124

Elaboration and testing of a scheme for isolation and bacteriological identification of *Aeromonas hydrophila*

A. A. Lomakin, N. A. Feoktistova ✉, **E. V. Sulдина, A. A. Nafeev**

Ulyanovsk State Agrarian University

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, building 1,

✉ feokna@yandex.ru

Abstract. The work is devoted to elaboration and testing of an accelerated scheme for isolation and bacteriological identification of *Aeromonas hydrophila* bacteria. The author's scheme included four stages of the study - inoculation on an accumulation medium (author's recipe), subculture on *Aeromonas selective agar* (BSIBG), the third stage - isolation of a pure culture on HFM agar with the addition of 1% xylose and 0.08% bromothymol blue, the fourth stage – study of 14

biochemical properties. The usage of the developed algorithm allowed to isolate 8 strains of *A. hydrophila* species bacteria from objects of veterinary and sanitary supervision. All isolated strains of *Aeromonas hydrophila* are gram-negative rods that ferment lysine and arginine decarboxylase and do not ferment ornithine. The strains (100%) are positive in the Voges-Proskauer reaction and gelatinase test, β -hemolysis is established, and fermentation of maltose, mannitol, sucrose, and glucose is detected. The isolates did not react positively in tests for urease, xylose and sorbitol. Additionally, other 40 physiological and biological characteristics of the isolated isolates were studied. It was found that 25% of strains were capable of fermenting lactose and 100% - arabinose on citrate agar. All isolated bacteria produced phenylalanine and were positive for β -galactosidase, capable of producing β -alanine, γ -glutamyltransferase, and phosphatase. None of the isolates tested was positive for α -galactosidase. The isolated strains were characterized by growth in the presence of 3% sodium chloride at a temperature of 30°C. Positive DNAase test has 100% of strains. None of the 8 strains gave a positive reaction on Christensen citrate agar or Simmons medium. 25% of strains were capable of fermenting lactose and 100% - arabinose. 100% of the isolated isolates produced phenylalanine.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, aeromonosis, bacteria, typing, indication, identification

For citation: Lomakin A. A., Feoktistova N. A., Sulдина E. V., Nafeev A. A. Elaboration and testing of a scheme for isolation and bacteriological identification of *Aeromonas hydrophila* // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2024;1(65): 117-124 doi:10.18286/1816-4501-2024-1-117-124

Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2023 году.

Введение

Индустрия аквакультуры имеет важное значение для поддержания жизни более 1 миллиарда человек во всем мире, для которых рыба является основным источником белка [1, 2]. Мезофильные виды *Aeromonas*, в первую очередь *A. hydrophila*, связаны с массовой гибелью рыбы по всему миру за последние два десятилетия, что привело к огромным экономическим потерям [3, 4]. В число этих вымираний вошли более 25 000 карпов в реке Св. Лаврентия в 2001 г. [5], 820 тонн золотых рыбок в Индонезии в 2002 году, что привело к убыткам в размере 37,5 миллионов долларов США, вымирание сома в Миннесоте и Северной Дакоте в 2007 году [6]. Во многих из этих случаев представители рода *Aeromonas*, и *A. hydrophila* в частности, были единственными патогенами, вызывающими инвазивные вторичные инфекции у рыб с ослабленным иммунитетом из-за нереста или факторов окружающей среды, например, таких, как высокие температуры или низкий уровень воды [7]. Обнаружение ранних поведенческих изменений у рыбы, связанных с этим заболеванием, может помочь в прогнозировании начала лечения, увеличивая вероятность успеха. Но исследований в данной области чрезвычайно мало [8].

Согласно Ghenghesh K., et al. идентификация аэромонад на уровне рода может быть проведена с использованием рутинного теста, используемого при идентификации других кишечных бактерий. Коммерческие наборы, такие как система Microbact 24E использовали его группой для типирования представители рода *Aeromonas*. В результате они смогли идентифицировать более 95 % аэромонад на уровне рода по сравнению с данными, полученными методом ПЦР [8].

Есть острая необходимость в создании коллекции эталонных штаммов, представляющих все известные клинически значимые виды *Aeromonas*, с

определенными генотипами и фенотипами, чтобы помочь исследователям в разработке лучших коммерческих продуктов, с помощью которых можно идентифицировать эту группу микроорганизмов на уровне рода и вида [6, 9].

Цель исследований – разработка и апробация ускоренной схемы выделения и бактериологической идентификации *Aeromonas hydrophila*.

Материалы и методы

Объекты исследований: полевые изоляты *Aeromonas*, выделенные из объектов внешней среды: *Aeromonas hydrophila* 11 (пруд Сюткюль, Моргаушский муниципальный округ, Чувашская область), *Aeromonas hydrophila* 12 (озеро Большое, Чердаклинский район, Ульяновская область), *Aeromonas hydrophila* 13 (Красная река, Старомайский район, Ульяновская область), *Aeromonas hydrophila* 14 (пруд, д. Малая Андреевка, Чувашская Республика), *Aeromonas hydrophila* 15 (Михайловские пруды, Кинельский район, Самарская область), *Aeromonas hydrophila* 16 (пруд Кортик, Цивильский муниципальный округ, п. Молодежный, Республика Чувашия), *Aeromonas hydrophila* 17 (пруд, Пестравский район Самарской области, недалеко от села Тростянь), *Aeromonas hydrophila* 18 (пруд, Волжский район, Самарская область, недалеко от с. Сухая Вязовка). Референс-штамм *A. hydrophila* ATCC 49140 из коллекции бактериальных штаммов кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

В работе применяли ГРМ – агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), пептон основной сухой (Микроген, РФ), *Aeromonas* selective agar (BSIBG) (Himedia, Индия), агар бактериологический (Испания), питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (Оболенск), BD *Aeromonas Yersinia* агар (Becton Dickinson GmbH, Германия), Agar Base *Aeromonas* (RYAN) (Conda, Испания), среду Симмонса (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), уреазную среду Кристенсена (Himedia, Индия), основу колумбийского агара

(TMedia, Индия), гемоглобин сухой (Tmedia, Индия); бульон с лизином / орнитинном / аргинином (Himedia, Индия), агар для определения ДНКазы (Conda, Испания), среду Кларка (глюкозофосфатный бульон) (НПЦ «Биокомпас-С», РФ), среды Гисса (Биотехновация, РФ), питательную среду № 15 ГРМ для контроля микробной загрязненности (для определения индола) (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), нитратный бульон, N, N-диметил-п-фенилендиамин (Aldrich, США), набор д/опр. ацетона в реакции Фогес-Проскауэра (НИЦФ, РФ), реактив Эрлиха (НИЦФ), раствор сульфаниловой кислоты (Himedia, Индия), альфа-нафтиламинный реактив (Himedia, Индия), реактивы для окраски по Граму (НИЦФ), гидролизат казеина (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), глюконат натрия (Aldrich-Sigma, Германия), сукцинат натрия (Aldrich-Sigma, Германия), глутамат натрия (Aldrich-Sigma, Германия), дигидрофосфат калия (PanReasAppliChem, Германия), натрия хлорид (PanReasAppliChem, Германия), бромтимоловый синий (Ленреактив, РФ), хлорид бария (НеваРеактив, РФ), хлорид аммония (НеваРеактив, РФ), нитрат калия (ЛенРеактив, РФ), сульфат магния семиводный (ЛенРеактив, РФ), карбонат кальция (ЛенРеактив, РФ), глюкозу (Диаэм, РФ), сульфат аммония (ЛенРеактив, РФ), нитрат калия (ЛенРеактив, РФ), раствор теллурида калия 1% (Aldrich, США), пролин -L (Sigma-Aldrich, Германия), β- аланин (Sigma-Aldrich, Германия), тирозин -L (Scharlab, Испания) и L-метионин (Servicebio, Китай), мальтозу-D (+) моногидрат (NeoFroxx, Германия), хлорид аммония (Прохим-А, РФ), сульфат магния (Химический завод имени Л.Я. Карпова, РФ), K_2HPO_4 (РЕАТЭКС, РФ), $NH_4H_2PO_4$ (Донспецплав, РФ), додецилсульфат натрия (Реахим, РФ), ксилозу (Интерхим, РФ).

Для оценки оптимальных температурных условий роста бактериальные культуры выращивали при температурных диапазонах 19...20, 30...31, 36...37, 41...42°C на бульоне LB по Lennox (Диаэм, РФ).

Для биохимической идентификации использовали набор НЕФЕРМтест 24 (Erba Lachema, Чехия).

Оборудование: микроскоп ZEISS Primo Star (Германия), тринокуляр с видеосистемой; термостат ТС-80М-2, термостат ТСО-1/80 СКТБ, автоклав ГК-100-3, шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80п УХЛ 424, установка бактерицидная УГД-2, лабораторная посуда общего назначения, мерная лабораторная посуда.

Алгоритм исследований по определению фенотипических признаков полевых бактериальных штаммов *Aeromonas hydrophila* (морфологических, культуральных и биохимических) осуществляли, применяя классические бактериологические методы идентификации микроорганизмов [10, 11, 12], опираясь на алгоритм, разработанный для типирования аэромонад (*Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб: часть 1. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонадом карповых рыб. Москва, Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. С. 142-*

150. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб: часть 1. Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной активности. Москва, Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. С. 150-152

Подвижность определяли при помощи посева в 0,3 % мясо-пептонный агар. Гемолитическую активность исследовали на кровяном колумбийском агаре с добавлением 5 % крови барана, также используя гемоглобин в концентрации 2 %.

Изучение способности бактерий использовать в качестве единственного источника углерода проводилось на глутамате натрия, сукцинате натрия, пролине - L, β - аланине, тирозине - L и L-метионине. В качестве солевой основы был использован следующий солевой состав: хлорид аммония – 0,08 г/л, сульфат магния – 0,002 г/л, хлорид натрия – 4 г/л. Культивирование проводили в течение 48 ч. при 30 °С.

Штаммы тестировали на способность использования DL-лактата в качестве источника углерода, на скошенной среде, приготовленной по следующей формуле, на литр: DL-молочная кислота (80% мас./об.) – 2,5 мл, NaCl – 5 г, $NH_4H_2PO_4$ – 1 г, K_2HPO_4 – 1 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2 г, МПА – 15 г, 0,2 % бромтимолового синего – 40 мл, доведенного до pH 6,8. Затем среду автоклавируют, разливали в пробирки по 5 мл, формировали скоп под углом 30...35° и подсушивали в термостате. Среду засеивали 18...24-часовой бульонной культурой. Инкубацию проводили при 30°C в течение 5 дней. Положительным результатом служил рост и изменение цвета среды на синий, который начинает проявляться с вершины скошенного столбика.

Результаты

Для выделения штаммов бактерий рода *Aeromonas* была разработана ускоренная схема выделения и идентификации на референсном штамме *A. hydrophila* ATCC 49140, представленная на рисунке 1.

В качестве среды накопления и первичной идентификации была использована среда А.в.1-УГАУ, имеющая следующий состав на 1000 мл дистиллированной воды: мальтоза-D (+) моногидрат – 3,0 г, фосфат калия двухосновной – 1,0 г, натрия хлорид – 5,0 г, пептон сухой ферментативный – 1,0 г, хлорид бария – 1,0 г, додецилсульфат натрия – 5,0 г, бромтимоловый синий – 1,0 г.

В качестве дифференциально – диагностической среды был использован агар с желчными солями и иргасановым бриллиантовым зеленым (BSIBG agar). После инкубирования изолятов в течение 48 ч. при температуре 30°C, производили дальнейшее типизацию только тех бактерий, которые имели характерную для представителей рода *Aeromonas* морфологию колоний.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что все выделенные штаммы *A. hydrophila* способны к росту на дифференциально-

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

диагностической среде BSIBG-агаре, в отличие от бактерий *Aeromonas caviae* и *Aeromonas veronii*.

Для бактериологической идентификации и получения чистой культуры использовали ГРМ-агар с добавлением 1 % ксилозы и 0,08 % бромтимолового синего. Посевы рекомендуется инкубировать в течение 24 ч. при температуре 30 °С.

Заключительным этапом разработанной схемы бактериологической идентификации является изучение способности штаммов продуцировать аргинингидролазу, орнитиндекарбоксилазу и лизиндекарбоксилазу, постановка реакции Фогеса-Проскауэра, определение способности изолятов к утилизации DL-лактата, продукции желатиназы и уреазы, ферментации углеводов, в частности, глюкозы, сахарозы, маннита, мальтозы, сорбита и ксилозы, гемолитической активности.

В результате апробации разработанной бактериологической схемы выделения и идентификации бактерий вида *A. hydrophila* было изолировано 8 штаммов из объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Далее для подтверждения эффективности разработанной схемы был сформирован пул физиологических свойств, основанный на анализе литературных данных для получения расширенной информации о выделенных штаммах [9-12].

Все выделенные штаммы *Aeromonas hydrophila*, как и референсный штамм *A. hydrophila* ATCC 49140, – это грамотрицательные, подвижные оксидазоположительные палочки, ферментирующие лизин- и аргининдекарбоксилазу, растущие в широком температурном диапазоне (t +20...42°C). Штаммы (100 %) были положительны в реакции Фогеса-Проскауэра, росли при 3 % NaCl, продуцировали нитраты и 2-кетоглюконат, утилизировали сукцинат и глутамат натрия, пролин-L, β-аланин, тирозин-L и L-метионин. Была отмечена положительная реакция у всех 8 изолятов на желатиназу и β-гемолиз, при ферментации глюкозы, мальтозы, маннитола, сахарозы. Положительный тест на ДНКазу. Из 8 штаммов ни один штамм не давал положительную реакцию на цитратном агаре Кристенсена и на среде Симмонса. 25 % штаммов были способны к ферментации лактозы и 100 % - арабинозы. 100 % выделенных изолятов продуцировали фенилаланин.

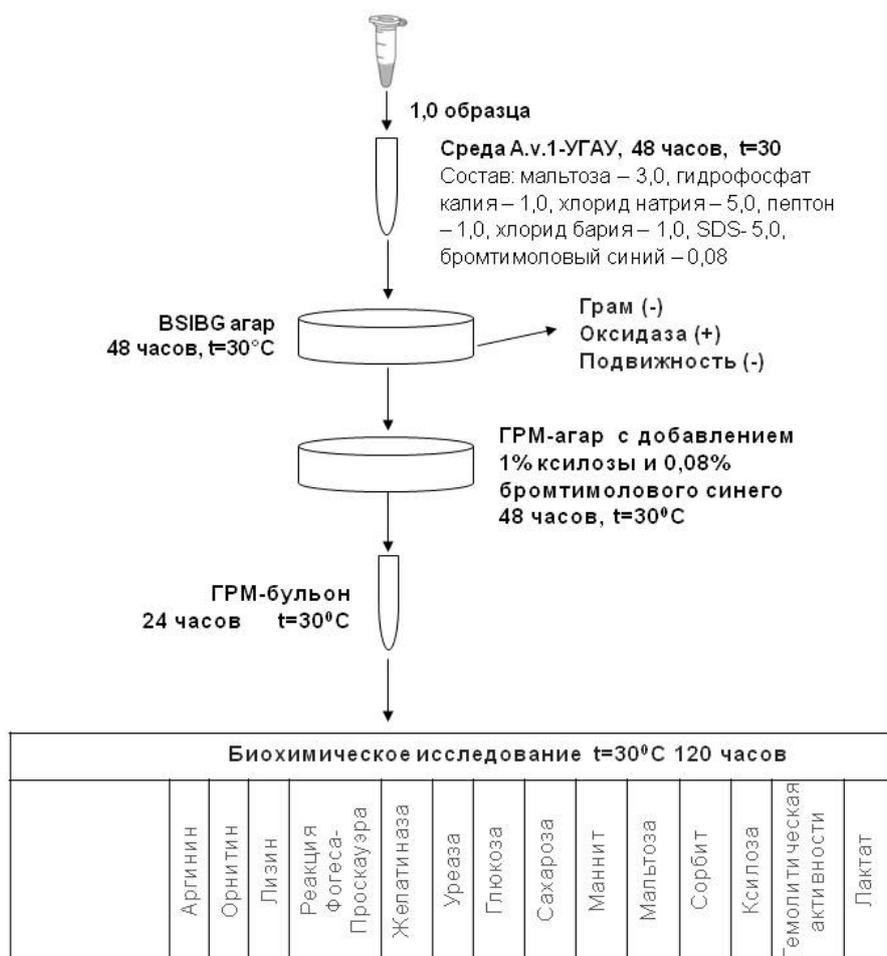


Рис. 1. Схема выделения, индикации и идентификации *A. hydrophila*

В результате экспериментов было установлено, что 100 % штаммов положительны на β-галактозидазу, 0 % – на α- галактозидазу, 100 % – способны

продуцировать β-аланин, 100 % γ-глутамилтрансферазу, 100 % штаммов продуцировали фосфатазу (табл. 1).

Таблица 1. Результаты изучения физиолого-биологических свойств выделенных штаммов бактерий *Aeromonas hydrophila*

Свойство	Aeromonas N=8								
	A. hydrophila 11	A. hydrophila 12	A. hydrophila 13	A. hydrophila 14	A. hydrophila 15	A. hydrophila 16	A. hydrophila 17	A. hydrophila 18	«%» + реакции
1. Окраска по Граму	-	-	-	-	-	-	-	-	0
2. 1. Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	100
3. Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
4. Фогеса-Проскауэра	+	+	+	+	+	+	+	+	100
5. Рост при 3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	100
6. Рост при 5% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	0
7. Продукция нитратов	+	+	+	+	+	+	+	+	100
8. Образование пигмента	-	-	-	-	-	-	-	-	0
9. Ацетат	-	-	-	-	-	-	-	-	0
10. Индол	-	-	-	-	-	-	-	-	0
11. Среда Симмонса на цитрат	-	-	-	-	-	-	-	-	0
12. Среда Кристенсена на цитрат	-	-	-	-	-	-	-	-	0
13. Уреазный агар Кристенсена	-	-	-	-	-	-	-	-	0
14. ДНКаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
15. Окраска по Граму	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16. Желатиназа	+	+	+	+	+	+	+	+	100
17. О/Ф глюкозы	-	-	-	-	-	-	-	-	0
18. Лактоза	+	-	+	-	-	-	-	-	25
19. Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
20. Маннит	+	+	+	+	+	+	+	+	100
21. Рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-	0
22. Сорбит	-	-	-	-	-	-	-	-	0
23. Салицин	-	-	-	-	-	-	-	-	0
24. Ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	0
25. Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
26. Арабиноза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
27. Лизиндекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
28. Аргениндекарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
29. Орнитиндекабоксилаза	-	-	-	-	-	-	-	-	0
30. 20°C	+	+	+	+	+	+	+	+	100
31. 30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	100
32. 35°C	+	+	+	+	+	+	+	+	100
33. β-гемолиз	+	+	+	+	+	+	+	+	100
34. DL-лактат	+	+	+	+	+	+	+	+	100
35. 2-кетоглюконат	+	+	+	+	+	+	+	+	100
36. фенилаланин	+	+	+	+	+	+	+	+	100
37. Ацетамид	-	-	-	-	-	-	-	-	0
38. β-глюкозидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
39. N - ацетил - β- D- глюкозаминидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
40. Трегалоза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
41. α- галактозидаза	-	-	-	-	-	-	-	-	0
42. β- галактозидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
43. Малонат	-	-	-	-	-	-	-	-	0
44. Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
45. Целлобиоза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
46. γ-глутамилтрансфераза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
47. Фосфатаза	+	+	+	+	+	+	+	+	100
48. Эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	100
49. Сукцинат натрия	+	+	+	+	+	+	+	+	100
50. Глутамат натрия	+	+	+	+	+	+	+	+	100
51. Пролин -L	+	+	+	+	+	+	+	+	100
52. β- Аланин	+	+	+	+	+	+	+	+	100
53. L-метионин	+	+	+	+	+	+	+	+	100
54. LB-агар с 320 мг/л теллурида калия	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Выделенные штаммы бактерий были способны к росту на LB-бульоне по Lennox, росли в присутствии 3 % хлорида натрия при температуре 30°C, через 24 часа культивирования при вышеназванных условиях на среде с 5 % хлорида натрия рост изолятов зафиксирован не был.

Обсуждение

Род *Aeromonas* рассматривается не только как важный возбудитель болезней рыб и других

холоднокровных видов, но и как этиологический агент, ответственный за различные инфекционные осложнения как у иммунокомпетентных, так и у лиц с ослабленным иммунитетом [6, 13].

Идентификация *Aeromonas* на видовом уровне может быть очень сложной, а идентификация штаммов из объектов внешней среды может оказаться экономически неэффективной. Немногие лаборатории смогут идентифицировать клинически

значимые виды этого рода за пределами комплексов или групп (например, комплекс *A. hydrophila* или комплекс *A. caviae*). Дифференциация *A. veronii* bv. *sobria* от *A. hydrophila* с помощью обычных биохимических тестов относительно длительна, так как результаты по некоторым свойствам переменны в пределах вида. Для практических целей в настоящее время применяются методы генотипирования [14-16].

Среди тестов, доступных в коммерческих системах, ферментация L-арабинозы и гидролиз эскулина являются двумя наиболее полезными для дифференциации *A. hydrophila* от *A. veronii* bv. *sobria* [17]. Выделенные изоляты также давали положительный результат при анализе этих характеристик.

Проведено исследование с целью определения фенотипических признаков изолятов *Aeromonas* от пресноводных рыб, реализуемых в Нигерии, с использованием традиционного биохимического метода идентификации и подтверждения с помощью системы идентификации Microbact™ GNB 24E. Из 400 образцов, отобранных от разных рыб (257 – от *Tilapia zillii*, 77 – от *Clarias gariepinus*, 58 – от *Lates niloticus* и 8 – от *Alestes Nursery*), культуральное и

биохимическое исследование показало, что 40 изолятов принадлежали к виду *Aeromonas*, а все изоляты (100 %) были положительны к оксидазе, каталазе, сероводороду, тестам Фогеса-Проскауэра. Набор Microbact™ GNB 24E также показал, что 15 из 40 изолятов были идентифицированы *Aeromonas hydrophila*. Статистический анализ данных показал, что общий уровень распространенности составляет 3,75 %, *Aeromonas hydrophila* была выделена от всех видов рыб в районе исследований [18].

Полученные авторами данные подтверждаются результатами исследований по способности выделенных изолятов к продукции каталазы, оксидазы, нитратов, ДНКазы, желатиназы и индола, способности к росту в температурном диапазоне с +20 до +42°C и в присутствии в составе питательной среды 3 % NaCl [7, 19-20].

Заключение

Разработанная и апробированная ускоренная схема выделения и бактериологической идентификации *Aeromonas hydrophila* позволяет изолировать из объектов внешней среды 8 штаммов бактерий, характеризующихся типовыми физиолого-биологическими свойствами.

Литература

1. Parker J. L., Shaw J. C. *Aeromonas* Species. *Clinical Microbiology and Disease* // *Journal of Infection*. 2011. Vol. 62. P. 109-118. doi: 10.1016/j.jinf.2010.12.003
2. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health / I. H. Igbinosa, E. I. Igumbor, F. Aghdasi et al. // *The Scientific World Journal*. 2012. P. 13. URL: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/625023/> (дата обращения: 12.08.2023) doi: 10.1100/2012/625023.
3. *Aeromonas* spp.: An Emerging Nosocomial Pathogen / P. Batra, P. Mathur, M.C. Misra // *Journal of Laboratory Physicians*. 2016. Vol. 8. P. 1-4. doi: 10.4103/0974-2727.176234.
4. Mailafia S., Nafarnda W., Sugun M.Y. Occurrence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Aeromonas hydrophila* Isolates among Diarrhoeic Patients from University of Abuja Teaching Hospital Nigeria // *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2017. Vol. 11. P. 63-70. doi: 10.22207/JPAM.11.1.09
5. Massive mortality of common carp (*Cyprinus carpio carpio*) in the St. Lawrence River in 2001: diagnostic investigation and experimental induction of lymphocytic encephalitis / S. Monette, A.D. Dallaire, M. Mingelbier et al. // *Veterinary Pathology*. 2006. Vol. 43. P. 302-310. doi: 10.1354/vp.43-3-302.
6. Janda M. J., Sharon L. A. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection // *Clinical Microbiology Reviews*. 2010. Vol. 23. URL: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/cmr.00039-09> (дата обращения: 12.08. 2023) doi: 10.1128/cmr.00039-09.
7. Isolation, characterization, and application of a bacteriophage infecting the fish pathogen *Aeromonas hydrophila* / M. Akmal, A. Rahimi-Midani, M. Hafeez-ur-Rehman et al. // *Pathogens*. 2020. Vol. 9 (3). P. 215. doi:10.3390/pathogens9030215.
8. *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress / J. G. Bandeira, S. C. de Freitas, S. N. Descovi et al. // *Microbial Pathogenesis*. 2019. Vol. 132. P. 261-265. doi: 10.1016/j.micpath.2019.05.017
9. *Aeromonas*-Associated Infections in Developing Countries / K. Ghenghesh, S. Ahmed, R. El-Khalek et al. // *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2008. Vol. 2. P. 81-98. doi:10.3855/T2.2.81.
10. Юхименко Л. Н., Гусева Н. В. Биологические свойства аэромонад, их изменчивость и влияние на развитие инфекционного процесса // *Паразиты и болезни рыб: сборник научных трудов*. М.: Издательство ВНИРО, 2000. С.152-156.
11. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Aeromonadales* ord. nov. Order XII. / D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley. Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA: 2005. P. 976. doi: 10.1007/978-0-387-68572-4.
12. SMI ID 19: identification of *Vibrio* and *Aeromonas* species (Public Health England, 2015) - URL: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-id-19-identification-of-vibrio-species> (дата обращения 12.08.2023).
13. Fernández-Bravo, A. An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity / A. Fernández-Bravo, M. J. Figueras // *Microorganisms*. 2020. Jan 17. Vol. 8(1). P. 129. doi: 10.3390/microorganisms8010129.

14. Beaz-Hidalgo R., Figueras M. J. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease // The Journal of Fish Diseases. 2013. Vol. 36. P. 371–388. doi: 10.1111/jfd.12025
15. Hoel S., Vadstein O., Jakobsen A. N. Species distribution and prevalence of putative virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from fresh retail sushi // Frontiers in Microbiology. 2017. Vol. 8. P. 12-15. doi: 10.3389/fmicb.2017.00931
16. *Aeromonas* Isolates from Fish and Patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and Phenotypic Characteristics / C. . Wu, W. C. Ko, N. Y. Lee, et al. Applied and Environmental Microbiology. 2019. Vol. 16. No. 85 (21). P. e01360-19. doi: 10.1128/AEM.01360-19.
17. *Aeromonas veronii* tolC modulates its virulence and the immune response of freshwater pearl mussels, *Hyriopsis cumingii* / S. Zheng, X. Tang, Q. Yang, et al. // Developmental and Comparative Immunology. 2024. Vol. 14. No. 153. P. 105137. doi: 10.1016/j.dci.2024.105137.
18. Phenotypic Characterization of *Aeromonas hydrophila* Isolates in Fresh Water Fishes in FCT Using Microbact™ GNB 24E Identification Kit / S. Mailafia, B. Nabilah, H.O.K. Olabode // Open Access Library Journal. 2021. Vol. 8. P. e7066. doi: 10.4236/oalib.1107066.
19. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from Commercial Chickens in Jos Metropolis, Nigeria / Y. G. Dashe, M. A. Raji, P. A. Abdu, et al. // International Journal of Poultry Science. 2014. Vol. 13. P. 26-30. doi:10.3923/ijps.2014.26.30
20. The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver, and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*) / Z. A. Kari, M. A. Kabir, K. Mat, et al. // Aquaculture Reports. 2021. Vol. 21. P. 100815. doi:10.1016/j.aqrep.2021.100815

References

1. Parker J. L. Shaw J. C. *Aeromonas* Species. Clinical Microbiology and Disease // Journal of Infection. 2011. Vol. 62. R. 109-118. doi: 10.1016/j.jinf.2010.12.003
2. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health / I. H. Igbinosa, E. I. Igumbor, F. Aghdasi et al. // The Scientific World Journal. 2012. R. 13. URL: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/625023/> (access date: 12.08.2023) doi: 10.1100/2012/625023.
3. *Aeromonas* spp.: An Emerging Nosocomial Pathogen / P. Batra, P. Mathur, M.C. Misra // Journal of Laboratory Physicians. 2016. Vol. 8. P. 1-4. doi: 10.4103/0974-2727.176234.
4. Mailafia S., Nafarnda W., Sugun M.Y. Occurrence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Aeromonas hydrophila* Isolates among Diarrhoeic Patients from University of Abuja Teaching Hospital Nigeria // Journal of Pure and Applied Microbiology. 2017. Vol. 11. P. 63-70. doi: 10.22207/JPAM.11.1.09.
5. Massive mortality of common carp (*Cyprinus carpio carpio*) in the St. Lawrence River in 2001: diagnostic investigation and experimental induction of lymphocytic encephalitis / S. Monette, A.D. Dallaire, M. Mingelbier et al. // Veterinary Pathology. 2006. Vol. 43. P. 302-310. doi: 10.1354/vp.43-3-302.
6. Janda M. J., Sharon L. A. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection // Clinical Microbiology Reviews. 2010. Vol. 23. URL: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/cmr.00039-09> (access date: 12.08.2023) doi: 10.1128/cmr.00039-09.
7. Isolation, characterization, and application of a bacteriophage infecting the fish pathogen *Aeromonas hydrophila* / M. Akmal, A. Rahimi-Midani, M. Hafeez-ur-Rehman et al. // Pathogens. 2020. Vol. 9(3). P. 215. doi:10.3390/pathogens9030215.
8. *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress / J. G. Bandeira, S. C. de Freitas, S. N. Descovi et al. // Microbial Pathogenesis. 2019. Vol. 132. P. 261-265. doi: 10.1016/j.micpath.2019.05.017
9. *Aeromonas*-Associated Infections in Developing Countries / K. Ghenghesh, S. Ahmed, R. El-Khalek et al. // The Journal of Infection in Developing Countries. 2008. Vol. 2. P. 81-98. doi:10.3855/T2.2.81.
10. Yukhimenko L.N., Guseva N.V. Biological properties of aeromonads, their variability and influence on development of the infectious process // Parasites and diseases of fish: collection of scientific papers. M.: Publishing House of All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, 2000. P.152-156.
11. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. *Aeromonadales* ord. nov. Order XII. / D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley. Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA: 2005. P. 976. doi: 10.1007/978-0-387-68572-4.
12. SMI ID 19: identification of *Vibrio* and *Aeromonas* species (Public Health England, 2015) - URL: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-id-19-identification-of-vibrio-species> (access date 12.08.2023).
13. Fernández-Bravo, A. An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity / A. Fernández-Bravo, M. J. Figueras // Microorganisms. 2020. Jan 17. Vol. 8(1). P. 129. doi: 10.3390/microorganisms8010129.
14. Beaz-Hidalgo R., Figueras M. J. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease // The Journal of Fish Diseases. 2013. Vol. 36. P. 371–388. doi: 10.1111/jfd.12025.
15. Hoel S., Vadstein O., Jakobsen A.N. Species distribution and prevalence of putative virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from fresh retail sushi // Frontiers in Microbiology. 2017. Vol. 8. P. 12-15. doi: 10.3389/fmicb.2017.00931.

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

16. *Aeromonas* Isolates from Fish and Patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and Phenotypic Characteristics / C. . Wu, W. C. Ko, N. Y. Lee, et al. *Applied and Environmental Microbiology*. 2019. Vol. 16.№ 85 (21). P. e01360-19. doi: 10.1128/AEM.01360-19.

17. *Aeromonas veronii* toIC modulates its virulence and the immune response of freshwater pearl mussels, *Hyriopsis cumingii* / S. Zheng, X. Tang, Q. Yang, et al. // *Developmental and Comparative Immunology*. 2024. Vol. 14.№ 153. P. 105137. doi: 10.1016/j.dci.2024.105137.

18. Phenotypic Characterization of *Aeromonas hydrophila* Isolates in Fresh Water Fishes in FCT Using Microbact™ GNB 24E Identification Kit / S. Mailafia, B. Nabilah, H.O.K. Olabode // *Open Access Library Journal*. 2021. Vol. 8. P. e7066. doi: 10.4236/oalib.1107066.

19. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from Commercial Chickens in Jos Metropolis, Nigeria / Y. G. Dashe, M. A. Raji, P. A. Abdu, B, et al. // *International Journal of Poultry Science*. 2014. Vol. 13. P. 26-30. doi:10.3923/ijps.2014.26.30

20. The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver, and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*) / Z. A. Kari, M. A. Kabir, K. Mat, et al. // *Aquaculture Reports*. 2021. Vol. 21. P. 100815. doi:10.1016/j.aqrep.2021.100815.