

БАКТЕРИИ РОДА *FLAVOBACTERIUM* И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЫБ

А.П. Воротников, П.А. Антошкин, Лисихин А.А., Викторов Д.А.

ФГБОУ ВПО "Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина"

BACTERIA OF THE GENUS *FLAVOBACTERIUM* AND THEIR ROLE IN THE PATHOGENESIS OF FISH

Vorotnikov A.P., Antoshkin P.A., Lisikhin A.A., Viktorov D.A.

Ulyanovsk State Agricultural Academy named P.A. Stolypin

Среди многочисленных бактерий, ежегодно заражающих рыб, *Flavobacterium psychrophilum* за последние годы вызывает большой интерес, как в экономической, так и в экологической сфере. *F. psychrophilum* встречается во всех водных экосистемах мира, особенно в пресной воде.

Этот возбудитель вызывает холодноводную бактериальную болезнь (bacterial coldwater disease (BCWD)), которую впервые описал Борг в 1948 году (Парамонова, 2012). В Европе данное заболевание называют «обжаренный синдром радужной форели» (rainbow trout fry syndrome (RTFS)). Инфекции, вызванные *F. psychrophilum* были обнаружены по всей Северной Америке, почти в каждой стране Европы, Австралии, Чили, Перу, Японии, Корее, и Турции. *F. psychrophilum* имеет по крайней мере три основных серотипа.

Бактериальная холодноводная болезнь, вызванная *F. psychrophilum*, встречается во всем мире, преимущественно у лососевых при искусственном выращивании. Все виды лососевых рыб считаются чувствительными к данному возбудителю, кроме того, холодноводную бактериальную болезнь можно встретить у таких рыб как угорь (*Anguilla anguilla*), карп (*Cyprinus carpio*), карась (*Carassius carassius*).

Заболевание может распространяться как горизонтальным путем, так и вертикальным.

Вспышки заболевания BCWD возникают при отрицательных температурах, когда температура воды колеблется от 4° до 20°С. Смертность может быть как очень низкой (1%) и непрерывной, так и достигать 75% при вспышках заболевания. Самый высокий показатель смертности составил 90% у радужной форели, 85% у семги.

Первичным очагом инфекции являются жабры и плавники, на которых образуются некротические проявления, также отмечается некроз тканей в области рта. Зараженные рыбы становятся вялыми, часто вздут живот и заполнен жидкостью, наблюдается пучеглазие. В связи с тяжелой анемией жабры, почки и селезенка часто бледные. При хронической форме инфицируется мозг или короткие части позвоночника. *Flavobacterium psychrophilum* может вызвать размягчение оболочек икры.

Способность возбудителя холодноводной болезни приобретать устойчивость к антибиотикам, вероятно, приводит к быстрому развитию резистентности к лечебным препаратам, а также к рецидивирующим инфекциям. Применяемые в настоящее время методы лечения рыб от данной инфекции малоэффективны.

Вирулентные формы условно-патогенных бактерий *F. psychrophilum* вызывают эпизоотии и массовую гибель при неблагоприятных или стрессовых для рыб условиях, способствующих повышению восприимчивости гидробионтов к инфекциям и усиливающих приспособляемость бактерий.

F. psychrophilum удавалось выделять из патологического материала лососевых, сомовых, карпа, карася и некоторых аквариумных рыб при температуре воды 4-10 °С. При холодноводной болезни у личинок рыб происходит коагуляция желтка, эрозия кожных покровов и желточного мешка. Гибель личинок может достигать 50 %. У мальков отмечают потемнение окраски тела, появление характерных поражений в виде белых пятен. У сеголетков отмечают эрозию спинного и хвостового плавников, гиперемиию в области анального отверстия, некроз спинного плавника,

хвостового стебля с оголением скелета, нижней челюсти. У годовиков выявляют разрушение кожи с оголением мышц на голове, челюстях, на разных участках тела, анемию и геморрагии жабр. Больные рыбы отказываются от корма. Гибель мальков, сеголетков и годовиков достигает 10-20 %. У форели первыми поражаются плавники, которые постепенно обесцвечиваются к основанию. Хвостовой плавник рыбы приобретает грязно-белый цвет. Иногда разрушение хвостового плавника развивается до такой степени, что обнажаются мышцы и позвоночник. У балтийского лосося поражения кожи могут начаться на спине. У кижуча часто поражаются голова, рот и почки. Повышение температуры воды до 15—16 °С ведет к прекращению заболевания.

F. psychrophilum способны к образованию желтого пигмента, а также протеолитических ферментов, которые вызывают прямое повреждение тканей и расширение зоны поражения, что является одним из предлагаемых факторов вирулентности бактерии, а также выделяет эндотоксин.

При исследовании поражённой кожи рыб *F. psychrophilum* выявлялись только на микротравмах, причем интактные участки кожи оставались неинфицированными. Бактерии имеют сродство к коллагену, благодаря чему при попадании на кожу мигрируют в миосепты через соединительную ткань. Впоследствии поражение распространяется на основную мускулатуру, что приводит к развитию некротического миозита и формированию открытых язв. Установлено, что бактерии могут передаваться от родителей потомству через инфицированное внутреннее содержимое икринки – так называемая вертикальная передача – и выживать даже после ее дезинфекции. Имеются данные о выделении *F. psychrophilum* из внутреннего содержимого оплодотворенной икринки, а также из внутренних органов рыб-производителей. Поэтому очень важно проведение бактериологического обследования производителей перед закладкой икры на инкубацию. Устойчивость к антибиотикам бактерий *F. psychrophilum* в настоящее время является серьезной проблемой (Парамонова, 2012).

Биологические свойства бактерий *Flavobacterium psychrophilum*

Flavobacterium psychrophilum – грамотрицательная палочковидные аэробы 2-5 мкм в длину 0,3-0,5 мкм в диаметре с округлыми или заостренными концами. Температурный оптимум находится в пределах 4-12 °С. В лабораторных условиях выращивается при комнатной температуре. На агаре дает колонии R-формы желтого цвета (от кремовых до оранжевых). Индол отрицательна. Широко распространяются в почве и пресноводных водоёмах.

В настоящее время зарубежными авторами проводятся обширные исследования генома данной бактерии. Осуществляется проект *Flavobacterium sp. MED217*.

Биохимические свойства бактерий *Flavobacterium psychrophilum*

Глюкоза	+
H ₂ S	-
Алетар Na	-
Цитрат Na	-
Аденилдегидрогеназа	+
Сорбит	+
Нитраты	+
Индол	-
Триптофандеаминаза	-
Адонит	-
Сахароза	+/-
Лактоза	+
Орнитиндекарбоксилаза	-
Лизиндекарбоксилаза	-
Арабиноза	+
Манноза	+
Уреаза	+
Эскулин	-

Библиографический список.

1. Дзюба Е.В. Апробация системы высокочувствительной детекции патогенных микроорганизмов в аквакультуре обыкновенного карпа *carpio linnaeus*, 1758 / Е.В. Дзюба [и др.]//Известия Самарского научного центра Российской академии наук - 2012. - том 14, №1(8). – С. 1883-1886.

2. Парамонова, Н.А. Об актуальности и практической значимости изучения *Flavobacterium psychrophilum* / Н.А. Парамонова, Д.А. Викторов,

Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы IV международной научно-практической конференции, Ульяновск, 22-24 ноября 2012. – Т. 1. – С. 303-306.

3. Парамонова Н.А. О перспективах фагодиагностики флавобактериозов рыб / Н.А. Парамонова, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции, Ульяновск, ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», 23-25 апреля 2013. – Т. 2. – Ульяновск, 2013. – С. 47-51.

4. Устименко Е. А. Бактериальные инфекции у тихоокеанских лососей при искусственном воспроизводстве на камчатке // Автореф. дис. ...канд. биол. Наук. – 2012. -22 с.

5. Barnes M.E. A Review of *Flavobacterium psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment /, M.E. Barnes, M.L. Brown//The Open Fish Science Journal - 2011, 4 –P.1-9

6. Cipriano RC, Holt RA: *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No. 86. United States Dept. of the Interior, U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV 2005, 1-44

7. Ekman E. Natural and experimental infections with *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid fish. Ph.D. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2008

8. Groff JM, LaPatra SE. In: Lim CE, Webster CD. Nutrition and Fish Health New York: Haworth Press 2001; pp. 11-78

9. Hesami S, Allen KJ, Metcalf D, Ostland VE, MacInnes JI, Lumsden JS. Phenotypic and genotypic analysis of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from Ontario salmonids with bacterial coldwater disease. Can J Microbiol 2008; 54: 619-29.

10. Iida Y, Mizokami A. Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub. *Fish Pathol* 1996; 31: 157-64.
11. Kumagai A. Bacterial coldwater disease in coho salmon. *Journal of the Japanese Society of Fisheries Science* 2005; 71: 645-649
12. Kum C, Kirkan S, Sekkin S, Akar F, Boyacioglu M. Comparison of in vitro antimicrobial susceptibility in *Flavobacterium psychrophilum* isolated from rainbow trout fry. *J Aquat Anim Health* 2008; 20: 245-51.
13. Lee KB, Heo GJ. First isolation and identification of *Cytophaga psychrophila* from cultured ayu Korea. *Fish Pathol* 1998; 33: 37-8.
14. Lehmann J., Mock D., Sturenberg F.J. & Bernardet J.F. (1991) First isolation of *Cytophaga psychrophila* from a systemic disease in eel and cyprinids. *Diseases of Aquatic Organisms* 10, 217-220
15. León J, Ávalos R, Ponce M. *Flavobacterium psychrophilum* and its pathology of alevins from the El Ingenio fish farm, Huancayo. *Rev Peru Biol* 2009; 15: 117-24.
16. Lorenzen E, Olesen NJ. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome II: serological studies. *Dis Aquat Organ* 1997; 31: 209-20.
17. Madetoja J., Nyman P. & Wiklund T. (2000) *Flavobacterium psychrophilum*, invasion into and shedding by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms* 43, 27-38
18. Madsen, L. Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates: ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence / L. Madsen, I. Dalsgaard// *J. Fish Dis.* 2000. Vol. 23. P. 211-218
19. Miwa, S. Pathogenesis of experimentally induced bacterial cold water disease in ayu *Plecoglossus altivelis* /S. Miwa, C. Nakayasu // *Dis. Aquat. Org.* 2005. Vol.67. P. 93-104
20. Nicolas P, Mondot S, Achaz G, Bouchenot C, Bernardet J-F, Duchaud E: Population structure of the fish-pathogenic bacterium *Flavobacterium psychrophilum*. *Appl Env Microbiol* 2008, 74: 3702. PMID: 18424537

21. Nilsen H, Olsen AB, Vaagnes O, et al. Systemic *Flavobacterium psychrophilum* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) farmed in fresh and brackish water in Norway. *J Fish Dis* 2011; 34: 403-8.
22. Post GP. Textbook of fish health. New Jersey; T.F.H. Publications 1987
23. Schmidtke LM, Carson J. Characteristic of *Flexibacter psychrophilus* isolated from Atlantic salmon in Australia. *Dis Aquat Organ* 1995; 21: 157-61
24. Sundell, K., and T. Wiklund. Effect of biofilm formation on antimicrobial tolerance of *Flavobacterium psychrophilum*. *J Fish Dis* 2011; 34: 373-83
25. Taylor PW. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in eggs and sexual fluids of pacific salmonids by a polymerase chain reaction assay: implications for vertical transmission of bacterial coldwater disease. *J Aquat Anim Health* 2004; 16: 104-8.
26. Wakabayashi H, Toyama T, Iida T. A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan. *Fish Pathol* 1994; 29: 101-4.