

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИБРИОЗА РЫБ

*Дрошнев Алексей Евгеньевич,
Булина Кристина Юрьевна,
Карпова Марианна Алексеевна,
Завьялова Елена Александровна*
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени Я.Р.Коваленко

В статье описана структура микробиоценоза Белого моря, представленная 5 видами вибрионов. *V.anguillarum*, *V.alginolyticus*, *V.ordalii* более толерантны к концентрации солей и более распространены, *V.parahaemoliticus* встречаются в опресненных районах с высоким содержанием органических веществ. Загрязнение внутренних органов вибрионами зарегистрировано у зубатки, горбуши, у культивируемой радужной форели в виде эпизоотических вибрионов. Галофильные вибрионы видов *V.anguillarum* и *V.ordalii* изолированные из воды потенциально опасны для гидробионтов и в опытах по заражению вызывали гибель подопытных рыб.

Ключевые слова: инфекционные болезни гидробионтов, микрофлора соленых вод, вибрионы, вирулентность, вакцина, микробиоценоз

Введение

Среди инфекционных болезней гидробионтов лидирующее место занимают бактериозы, в связи с широким распространением условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в пресной и морской воде. Из большого разнообразия микрофлоры солёных вод особого внимания заслуживают представители рода *Vibrio*. Некоторые виды галофильных вибрионов потенциально опасны для гидробионтов и являются возбудителями остропротекающей болезни – вибриоза [1].

Вибриоз рыб широко распространён в морях и солоноватых водоемах, поражает как морских, так и заходящих в прибрежные участки моря пресноводных рыб различных видов: лососёвых, тресковых, угрёвых, сельдёвых, окунёвых, камбаловых.

Вспышки вибриоза начинаются при температуре выше 10°C, но чаще, в летний период с середины июня до конца августа. Симптомы заболевания

различаются в зависимости от вида рыб. Общим признаком является воспаление и покраснение участков кожного покрова, грудных плавников, кровоизлияния, экзофтальмия. Степень наружных проявлений болезни также различна, от небольших участков воспаления и потери чешуи до язвенно-некротических поражений кожи и мускулатуры. При остром течении вибриоза не всегда есть видимые патанатомические изменения. При вскрытии больных рыб наблюдаются изменения размеров селезенки, отёчность почек, печень с явлениями дегенерации и точечными кровоизлияниями, перегруженность каудальных отделов кишечника и гиперемия слизистых оболочек. При вибриозе отмечаются явные признаки анемии, характеризующиеся пониженным содержанием гемоглобина, эритроцитов и гематокрита [2].

На возникновение и течение болезни большое влияние оказывают условия содержания. Несбалансированные, некачественные комбикорма, разновозрастной посадочный материал, переуплотнённая и загрязненная вода являются факторами, повышающими восприимчивость рыб. При молниеносном развитии вибриоза и отсутствии терапии гибель достигает 50-90% [3].

На сегодняшний день признано, что возбудителем вибриоза является *Vibrio (Listonella) anguillarum*, вызывающий эпизоотические вспышки у рыб различных видов. Однако, при этом не исключена возможность, что и другие виды вибрионов, распространенных в морской воде, могут быть причиной заболевания и гибели рыб.

Целью настоящего исследования было изучение видового состава галофильных вибрионов Белого моря и определение этиологической структуры вибриоза разных видов рыб для последующего конструирования вакцинного препарата из актуальных штаммов [4,5,6].

Материалы и методы

Видовой состав галофильных вибрионов изучали в условиях Белого моря на примере участка акватории - губа Домашняя, а также в открытой воде на расстоянии 3 км от берега. Пробы воды отбирали в стерильную посуду на глубине 10-15 см от поверхности воды и не более 10-15 см от дна. В районе садков расположенного в акватории форелевого хозяйства исследованию подвергли не менее 50 образцов воды в разные сезоны года, с мая по октябрь.

Исследования уровня контаминации морской воды проводили по методу предварительного обогащения, с таким расчётом, чтобы пептон имел концентрацию – 1%, рН – 8,0-8,7.

Дальнейшее изучение биологических свойств выполняли согласно общепринятым в микробиологии методам. В целом схема включала: получение культур вибрионов на среде накопления, выделение чистой культуры и идентификация их по морфологическим, культуральным, биохимическим и прочим свойствам.

Инфицированность внутренних органов диких рыб (треска, зубатка, сельдь, камбала, горбуша) и выращиваемых в садках (радужная форель) вибрионами изучали согласно «Временной инструкции по борьбе с вибриозом рыб» [7]. При определении видовой принадлежности руководствовались схемами Берджи. [8].

Первичные посевы из паренхиматозных органов рыб и воды проводили на месте (в безветренном помещении, с соблюдением правил асептики), на накопительные и селективные среды: щелочная пептонная вода, мясопептонный солевой агар, трипозосоевый агар с солями желчи и NaCl (3,0-5,0%), дифференциально-диагностический агар, агар TCBS.

Идентификацию выделенных культур и изучение вирулентности проводили в лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ВИЭВ в рамках Программы

Фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг., тема (проект) №0578-2014-0016 «Разработать адъювант-вакцину против вибриоза лососевых рыб, позволяющую проводить массовую обработку и профилактику рыб» без привлечения дополнительных источников финансирования.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных микробиологических исследований было установлено, что численность вибрионов в воде напрямую зависит от температурного режима. В летнее время выделено подавляющее большинство культур с максимальным пиком с конца июля до середины августа. Микрофлора воды представлена видами: *Vibrio anguillarum* – 50%, *V.alginolyticus* – 15%, *V.ordalii* – 10%, *V.vulnificus* – 10%, *V.parahaemoliticus* -15%. Необходимо отметить, что вибрионы вида *V.parahaemoliticus* встречались в основном в солоноватых водах, порядка 8-15‰. Из 23 изолятов, 18 были выделены у береговой линии в районе сельского поселения. Причиной тому индивидуальные свойства вида, оптимальный рост на питательных средах наблюдали при 3%-ной концентрации NaCl, а также факт поступления органических веществ с пресной водой впадающей реки Поньгома и антропогенного характера. По галофильности *V.parahaemoliticus* относится к I биотипу, учитывая также высокую гемолитическую активность, данные микроорганизмы следует рассматривать как индикаторов ветеринарно-санитарного состояния среды (таблица 1).

Таблица 1 - Галофильные свойства изолированных культур вибрионов

Вид вибрионов	Рост на МПА, с различными концентрациями NaCl		
	Биотип I – 3%	Биотип II – 3-7%	Биотип III – 3, 7-10 %
<i>V. anguillarum</i>	+	+	+ (30% культур)
<i>V.alginolyticus</i>	+	+	-
<i>V.ordalii</i>	+ (50% культур)	+	+ (25% культур)
<i>V.vulnificus</i>	+ (40% культур)	+	+ (15% культур)
<i>V.parahaemoliticus</i>	+	+ (20% культур)	-

Из представленных в таблице данных видно, два вида *V.parahaemoliticus* и *V.alginolyticus*, относятся к I и II биотипу, что может представлять потенциальную опасность для здоровья человека, в связи со способностью вызывать пищевые токсикоинфекции. Культуры *V. anguillarum*, *V.ordalii*, *V.vulnificus* встречались в пробах морской воды по всем точкам отбора, реже в опреснённой воде с соленостью менее 10‰. Такое распространение этих видов обусловлено их толерантностью к концентрации солей. Данные представленные в таблице 1 свидетельствуют о способности вибрионов размножаться в условиях содержания солей NaCl – 10‰, в некоторых случаях – 16‰.

В районе садков форелеводческого хозяйства преобладали виды *V.anguillarum*, *V.alginolyticus*, *V.ordalii*. Их численность была в 5-8 раз выше, что, по-видимому, объясняется повышенным содержанием в воде органических веществ.

Доказано, что роль микроорганизмов в формировании микробиоценоза наружных покровов и внутренней среды первостепенна. Результаты наших исследований также показали взаимозависимость между микробным фоном воды и контаминацией внутренних органов рыб. Наибольшую зараженность вибрионами регистрировали у трёх видов рыб: зубатка, горбуша, радужная форель. За три года исследований от рыб было выделено 54 штамма галофильных вибрионов, различающихся биологическими свойствами. Тридцать восемь от радужной форели: *V.anguillarum* – 26 шт., *V.alginolyticus* – 7 шт., *V.ordalii* – 5шт. Двенадцать штаммов из паренхиматозных органов горбуши, из них *V.anguillarum* - 8, *V.alginolyticus* - 3, *V.ordalii* – 1. И четыре штамма от зубатки, по 2 шт. *V.anguillarum* и *V.ordalii*. У других видов рыб вибрионосительство не выявляли.

Полученные данные дают основание полагать, что эндемичные представители Белого моря иммуно-физиологически адаптировались к изменениям условий среды. Клинические признаки вибриоза отмечали только у лососевых рыб, у вселенца – горбуши в виде покраснений кожного покрова основания грудных, чаще брюшных, плавников. Из общего количества обследованного поголовья горбуши число пораженных особей и носителей составляло 1-2%. Вспышки болезни регистрировали в производственных садках, при этом гибель радужной форели составила 7-15%. Больших потерь товарной рыбы удалось избежать в результате длительного применения антибиотических веществ (окситетрациклина, левомицетина, фуразолидона и др.)

В опытах заражения радужной форели галофильными вибрионами изолированными из воды были выявлены два вида: *V.anguillarum* и *V.ordalii*, вызывающие патологии и гибель подопытных рыб. При этом для *V.anguillarum* минимальная LD₅₀ составляет 200 млн.м.к., тогда как *V.ordalii* 600-800 млн.м.к.

Заключение

Результаты наших исследований показали, что этиологическим агентом вибриоза, в подавляющем большинстве случаев, является *V.anguillarum*. Высокая вирулентность культур, изолированных как из воды, так и из внутренних органов рыб свидетельствует об облигатном паразитировании галофильных вибрионов вида *V.anguillarum*. Контаминация рыбы и большая численность в воде представителей других видов рода *Vibrio* может служить показателем загрязнения водной среды. Опыт применения антимикробных веществ при острой форме вибриоза показал, что терапия позволяет снизить гибель, но новые случаи болезни регистрируются в течение всего рыбоводного сезона. Эпизоотическая, а также эпидемиологическая значимость галофильных вибрионов определяет необходимость разработки вакцин, сконструированных из эндемичных штаммов, и широкого внедрения вакцинопрофилактики культивируемых рыб.

Список использованных источников

1. Alvares J.D., Austin B., Alvares A.M. & Reyes H. *Vibrio harveyi*: a pathogen of penaeid shrimps & fish in Venezuela. *J. of Fish Diseases*, 1998, 21, p. 313-316
2. Yong-Can Zhou, Hui Huang, Jun Wang, Ben Zhang, Yong-Quan Su. Vaccination of the grouper, *Epinephalus awoara*, against vibriosis using the ultrasonic technique. *J.Aquaculture*, 2002, 203, p.229-238

3. Olson J.C., Joborn A., Westerdahl A., Blomberg L., Kjelleberg S., Conway P.L. Survival, persistence & proliferation of *Vibrio anguillarum* in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), intestine & faeces. *J. of Fish Diseases*, 2008, 21, p.1-9.

4. Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Гулюкин М.И., Хлунов О.В. Современная вакцинопрофилактика радужной форели против вибриоза // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2012., №1, с.31-33.

5. Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Хлунов О.В. Разработка новых и совершенствование применяемых методов профилактики вибриоза лососевых рыб // В сборнике: Аграрная наука и образование в условиях становления инновационной экономики материалы международной научно-практической конференции. Оренбург, 2012. С. 341-345.

6. Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А. Конструирование вакцинного препарата против вибриоза лососевых рыб // Труды ВИЭБ, 2013.-т.77.-с.234-238.

7. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб, Москва, АБМ-Агро, 1998.

8. Определитель бактерий Берджи, Москва, 1997.

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF FISH VIBRIOSIS

Droshnev A.E., Bulina K.Y., Carpova M.A., Zavyalova E.A.

The article describes the structure of the White Sea microbiocenosis, represented by 5 kinds of vibriosis. *V.anguillarum*, *V.alginolyticus*, *V.ordalii* are more tolerant to salts' concentration and are more spread, *V.parahaemoliticus* ranges in regions of lower salinity with high concentration of organic substances. The pollution of internal organs by vibriosis is registered at lancelet fishes, pinks, at the cultivated rainbow trout as epizootic vibriosis. Such halophilic vibriosis as *V.anguillarum* and *V.ordalii*, isolated from water, are potentially dangerous for hydrobionts and decimated experimental fishes in pollution experiments.

Key words: infectious diseases of hydrobionts, microbial population of sea waters, vibriosis, virulence, vaccine, microbiocenosis

*Дрошнев Алексей Евгеньевич,
Булина Кристина Юрьевна,
Карпова Марианна Алексеевна,
Завьялова Елена Александровна, 2017*