

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Научный Совет по проблемам гидробиологии и ихтиологии РАН
Институт биологии внутренних вод
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
Отделения ветеринарной медицины и зоотехнии
ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ
ФГУ Межведомственная ихтиологическая комиссия
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Московский государственный университет технологий и управления

ПРОБЛЕМЫ ИММУНОЛОГИИ, ПАТОЛОГИИ И ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ – 2

*Расширенные материалы
Международной научно-практической конференции*

БОРОК – МОСКВА
2007

УДК [597.08:612.017] (063)

Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2.
//Расширенные материалы Международной научно-практической конференции, Борок, 17-20 июля 2007 года. М.: Россельхозакадемия 2007 – 564 с. Под редакцией д.б.н., проф. В.Р. Микрякова, д.б.н. проф. А.М. Наумовой, д.б.н., проф. А.Л. Никифорова-Никишина, к.б.н. Е.А. Заботкиной, к.б.н. Д.В. Микрякова. Печатается по решению Оргкомитета Международной научно-практической конференции

Рассматриваются вопросы эволюционной, экологической, инфекционной, инвазивной патологии и иммунологии. Дается характеристика последствий антропогенного загрязнения водных экосистем, транспортного, токсического стрессов, условий содержания гидробионтов в аквакультуре на иммунологических, биохимических, генетических механизмы адаптации, темпы роста, развития, выживаемости, характер проявления патологических, эпизоотических процессов. Предлагаются новые подходы управления состоянием здоровья гидробионтов и иммунитетом рыб, основанные на использовании специфических и неспецифических иммуномодуляторов, гормональных препаратов и создании благоприятных для их роста и развития экологических условий. Приводятся данные о возможности использования морфопатологических, биохимических, иммунологических, паразитологических показателей для оценки состояния гидробионтов, обитающих в морских и пресноводных экосистемах и в условиях аквакультуры.

Тематика представленных сообщений будет интересна специалистам академических, рыбохозяйственных и ветеринарных НИИ, а также преподавателям ВУЗов: биологам, ихтиопатоологам и ветеринарным врачам, иммунологам, паразитологам, экологам, токсикологам, рыбаводам, практическим работникам по разведению и борьбе с болезнями гидробионтов, специалистам, занимающимся вопросами охраны природы.

Ответственные за выпуск: академик РАН Д.С. Павлов;
академик РАСХН А.М. Смирнов;
д.б.н., проф. В.Р. Микряков;
д.б.н., проф. С.И. Никоноров;
д.б.н. проф. А.М. Наумова;
д.б.н., проф. А.Л. Никифоров-Никишин;
д.б.н. проф. Ю.С. Решетников;

За достоверность представленных к публикации материалов ответственность несут авторы.

ISBN 978-5-85941-135-1

©Институт биологии внутренних вод РАН, 2007

©Межведомственная ихтиологическая комиссия, 2007

©Московский государственный университет технологии и управления, 2007

© Россельхозакадемия

Problems of immunology, pathology, health protection fishes and other aquatic animals – 2. Enlarged materials of International scientific and applied research conference, Borok, 17-20 July 2007. M.: RASHN, 2007-564 p. Under the editorship of Doctor of Biological Sciences, Prof. V. R. Mikryakov, Doctor of Biological Sciences, Prof. A. M. Naumova, Doctor of Biological Sciences, Prof. A. L. Nikiforov-Nikishin, Candidate of Biological Sciences E. A. Zabolkina, Candidate of Biological Sciences D. V. Mikryakov.

Questions of evolutionary, ecological, infectious, invasion pathology and immunology are considered. Characteristic is given of the effects of anthropogenic pollution of aquatic ecosystems, of transport, toxic stresses, and aquaculture conditions on immunological, biochemical, genetic mechanisms of adaptation, growth rates, development, survival, pathological and epizootic processes. New approaches for the control of hydrobiont health and fish immunity based on specific and non-specific immunomodulators, hormonal preparations and ecological conditions favorable for growth and development are suggested. Data on the use of morphopathological, biochemical, immunological and parasitological indices for assessment of aquatic organisms inhabiting marine and freshwater ecosystems as well as in aquaculture are presented.

The themes of presented works are diverse and will be of interest to biologists, ichthyopathologists, immunologists, parasitologists, ecologists, toxicologists, pisciculturists, aquatic organism breeders, specialists in the field of environmental protection and health control and lecturers at institutes of higher education.

Editorial Board: Academician RAN D.S. Pavlov
Academician RAAS A. M. Smirnov
Doctor of Biological Sciences, Prof. V. R. Mikryakov;
Doctor of Biological Sciences, Prof. S. I. Nikonorov;
Doctor of Biological Sciences, Prof. A.M. Naumova;
Doctor of Biological Sciences, Prof. A. L. Nikiforov-Nikishin;
Doctor of Biological Sciences, Prof. Yu.S. Reshetnikov;

Authors of the corresponding materials are responsible for reliability of the data presented in these collected articles.

©Institute for Biology of Inland Waters RAS, 2007

©Interdepartmental Ichthyological Commission, 2007

©Moscow State University of Technology and Management, 2007

© RAAS

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ

Л.Н. Юхименко*, Л.И. Бычкова**

* ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Рыбное, Россия; E-mail: vnprh@mail.ru
** ФГУ Московский государственный университет технологий и управления, Москва, Россия

Анализ обширного материала, полученного при бактериологическом обследовании рыбоводных хозяйств России и стран СНГ, показал, что основными этиологическими агентами инфекционных бактериальных болезней рыб являются ассоциации микроорганизмов, относящиеся к различным таксономическим единицам. Выделены наиболее часто встречающиеся группы микроорганизмов, которые имеют большое не только эпизоотологическое значение, но и эпидемиологическое, вызывая развитие различных бактериальных патологий у человека, способных передаваться с рыбной продукцией.

Использование при идентификации аэромонад сокращенной биохимической схемы исследований выявило 11 биоваров подвижных аэромонад, что позволило оценить их этиологическую значимость.

Как показывает анализ эпизоотической ситуации в рыбоводных хозяйствах в Российской Федерации и странах СНГ, уже давно отмечается тенденция к значительному снижению уровня заболеваний, вызываемых одним возбудителем (аэромонад, псевдомонад, вибриоз, фурункулез), а на первое место выходят заболевания, этиологическими агентами которых являются ассоциации микроорганизмов, в основном грамотригативных.

Проводя диагностику бактериальных болезней рыб в различных регионах до 1980 г., мы выделяли в основном аэромонады с преобладанием *Aeromonas hydrophila* и *A. caviae* (Юхименко и др., 1987). До 1983 г. *A. sobria* не была выделена ни разу, а все штаммы, не укладывающиеся в эту классификацию, мы относили вплоть до 1989 г. к группе *A.sp.* С 1989 г. для удобства проведения эпизоотологического анализа, пользуясь сокращенной схемой и более поздней классификацией (Берджи, 1997; Юхименко, Койдан, 1997; Joseph et al., 1987) стали *A.sp.* подразделять на биовары *A.sp. 1*, *A.sp. 2* и т.д. В 1989 г. таких биоваров выделили 5 - *A.sp.*, *A.sp. 1*, *A.sp. 2*, *A.sp. 3*, *A.sp. 4*. В 1983 г. от больных рыб начали выделяться *A. sobria*, которые сразу заняли доминирующее положение (Юхименко и др., 2001). Всего от рыбы с 1980 г. по 1989 г. было выделено 2259 штаммов аэромонад, из них 37,2% составляли *A. sobria*, 33,8% - *A. hydrophila*, 23,4% - *A. caviae*, 2,9% - *A.sp.*, 0,5% - *A.sp. 1*, 1,3% - *A.sp. 2*, 0,2% - *A.sp. 3*, 0,7% - *A.sp. 4*. При этом следует отметить, что ни в одном случае от больной рыбы не были выделены возбудители в монокультуре. Даже аэромонады, выделяющиеся от одной рыбы из разных органов, относились к разным группам. Кроме того, в качестве сопутствующей микрофлоры, хотя и в небольшом количестве, выделялись другие микроорганизмы. При этом 26,0% составляли энтеробактерии (бактерии группы кишечной палочки - БГКП, гафнии, энтеробактер, протей, цитробактер), а 50,9% составляли неферментирующие щелочеобразователи - НФЩ (моракселла и ацинетобактер). В меньшем количестве выделялись эпидермальный стафилококк, псевдомонады (в том числе *Pseudomonas fluorescens var. capsulata*), алкалингенес, флавобактерии, плесневые грибы, бациллы, дрожжевые грибы, миксобактерии, сарцины, плезомонасы и коринебактерии (представлены в порядке убывания). Всего в 80-е годы в микробиоценозе рыб было идентифицировано 2259 штаммов аэромонад и 549 прочих микроорганизмов, относящихся к 20 родам.

В 90-е годы этиологическая структура аэромонад расширилась, было выделено два новых анаэробных варианта *A.sp. 5* и *A.sp. 6*. Всего было выделено 2685 штаммов

аэромонад. В микробиоценозе внутренних органов рыб продолжали доминировать аэромонады *A. sobria*, далее отмечали *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A.sp. 2*, *A.sp. 4*, *A.sp. 3*, *A.sp. 1*, *A.sp.*, *A.sp. 5*, *A.sp. 6*. В большем количестве стала высеваться сопутствующая микрофлора. Было идентифицировано 2075 штаммов, относящихся к 23 родам. Чаще всего выделялись НФЩ (более 25%) и энтеробактерии (около 34%), при этом значительно возросла частота выделения протеев, цитробактерий и энтеробактера. Увеличилась частота выделения капсулообразующих псевдомонад, появились капсулообразующие аэромонады и БГКП. Кроме вышеуказанных микроорганизмов, выделялись псевдомонады, флавобактерии, плесневые грибы миксобактерии, бациллы, плезиомонас, эпидермальный стафилококк, микроальтеромонас, алкалигенес, коринебактерии, вибрионы, грибы р. *Candida*, дрожжевые грибы (представлены также по мере убывания частоты выделения).

Начиная с 2000 г., этиологическая структура аэромонад была расширена до *A.sp. 11*. Кроме *A. caviae*, аэромонады *A.sp.5-11* также были анаэробные, и в объеме составляли более 25% выделенных аэромонад, что свидетельствует о значительном загрязнении водоемов органикой и стоками различного происхождения (Schubert, 1987). По частоте выделения от рыб аэромонады распределялись следующим образом: *A. sobria*, *A.sp.5*, *A.sp.2*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A.sp. 1*, *A.sp. 3*, *A.sp. 4* и *A.sp. 7*, *A.sp. 8*, *A.sp. 11*, *A.sp. 9*, *A.sp. 6*, *A. eucrenophila*, *A.sp. 10*.

Из 1289 штаммов сопутствующей микрофлоры на первом месте были энтеробактерии, на втором – НФЩ, дальше шли псевдомонады, плесневые грибы, эпидермальный стафилококк, бациллы, миксобактерии, флавобактерии, ксантомоны, грибы р. *Candida*.

Следует отметить, что в ряде случаев сопутствующая микрофлора от рыб была представлена 1-2 представителями, а иногда микробиоценоз внутренних органов рыб был весьма пестрым – до 8-10 видов микроорганизмов. Особенно настораживает бурное процветание НФЩ. Чем больше в рыбохозяйственном водоеме органики, тем комфортнее они себя чувствуют. В условиях неблагоприятного токсического фактора воды, повышенной агрессивности среды начинают процветать капсулообразующие микроорганизмы – кишечные палочки, аэромонады, псевдомонады, моракселлы. Капсула у микроорганизмов, выполняя защитную функцию, в то же время повышает агрессивность. С капсулообразующими микроорганизмами сложно бороться, так и лечебные препараты не в состоянии преодолеть этот барьер.

Такая ситуация возникла при изменении финансово-экономического положения многих рыболовных хозяйств: одни разорились, другие – испытывали значительные финансовые затруднения, что не могло не отразиться на качестве кормления и проведении полного объема санитарно-профилактических мероприятий. Особенно ухудшению эпизоотической ситуации в прудовых рыболовных хозяйствах привела ликвидация такого важного мероприятия, как летование прудов (Щербина, 1973). Из-за этого во многих широко эксплуатируемых прудах на дне скопилось огромное количество иловых отложений, в которых благополучно сохраняются не только эпизоотически значимые для рыб микроорганизмы, но и паразитические формы промежуточными хозяевами. При снижении уровня кормления и высоких плотностях посадки выращиваемая рыба переходит на потребление детрита, заполняя желудочно-кишечный тракт сопутствующими микроорганизмами.

Наличие большого количества органики в рыболовных водоемах приводит к аналогичным изменениям и в микробиоценозе воды.

Доминирование условно-патогенных бактерий имеет не только эпизоотическое значение. Многие микроорганизмы играют существенную роль в развитии патологических процессов у теплокровных животных и человека. Прежде всего:

также представители сем. Enterobacteriaceae, как цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, эдвардсиелла, протей, гафния, которые могут вызвать у человека поражение желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, мочеполовой системы, различные воспалительные процессы. Это же можно сказать и об аэромонадах, о патогенности которых для человека имеется обширная отечественная и зарубежная литература, описаны даже случаи с летальным исходом (Юхименко и др., 1977; Журавлева, 1998). В связи с этим некоторое недоумение вызывает консерватизм нашего ГОСТ Р 51232-98 по питьевой воде: если обнаруживается кишечная палочка – это плохо, а обнаружение аэромонад не вызывает тревоги.

Не меньшее значение имеют псевдомонады, которые могут вызывать инфекции глаз, воспаление мозговой оболочки, суставов, поражение желудочно-кишечного тракта, различные септические процессы. Важную роль в развитии патологических процессов, вызванных псевдомонадами, играет их высокая протеолитическая активность и хромосомная устойчивость к большинству антибактериальных препаратов, что часто является причиной развития вторичных инфекций. Наибольшее количество внутрибольничных осложнений вызывает *Ps. aeruginosa*-синегнойная палочка, особенно при попадании в родильное и хирургическое отделения.

Флавобактерии вызывают тяжелые формы болезней – менингиты, септицемии, эндокардиты, пневмонии. Их наиболее часто обнаруживают в крови, моче и раневых тканях.

Ацинетобактерии могут поражать кожные покровы, дыхательные пути, мочевыводящую систему, их часто выделяют при септицемиях, менингитах, перитонитах. Ацинетобактерии – неферментирующие грамотрицательные палочки, вторые после псевдомонад по частоте выделения из клинических образцов.

Моракселлы – возбудители респираторных инфекций, острых и хронических конъюнктивитов, септических менингитов, септицемий и уретритов. Следует отметить высокую устойчивость ацинетобактеров и моракселл к замораживанию, действию многих дезинфектантов и антибактериальных препаратов (Медицинская микробиология, 1999).

Из вышесказанного ясно, что все эти группы микроорганизмов широко распространены в окружающей нас среде – воде (пресной, солоноватой и морской), в почве, на наружных покровах водных и наземных животных и человека. Гидробионты – наиболее ценный объект питания человека, и поэтому от качества этой продукции зависит и здоровье человека. Снижение уровня санитарно-профилактических мероприятий, условий хранения и приготовления такой продукции (нарушение санитарно-гигиенических требований) приводит к высокой контаминации гидробионтов и в дальнейшем отмечается их порча, пищевые отравления и другие заболевания человека (Ларцева, 2003). Вот почему при диагностике заболеваний рыбы необходимо строго соблюдать правила техники безопасности.

Диагностика бактериальной геморрагической септицемии сложна, требует использования нескольких сред, тщательного анализа и трактовки полученных результатов. Чаще всего используют среды МПА или эритроит-агар – для определения общего уровня контаминации, среду Эндо – для выделения энтеробактерий, аэромонад, псевдомонад и НФШ, дифференциально-диагностический агар (ДДА) – для вибрионов, среду Анакера-Ордала – для миксобактерий, энтерококкагар – для стрептококков, среду Сабуро – для грибной флоры. Именно учет первичных результатов является наиболее информативным для специалистов – ихтиопатологов, так как позволяет сразу оценить степень контаминации внутренних органов рыб, воды и кормов и дифференцированно подходить к подбору дезинфекционных, терапевтических и профилактических мероприятий.

После учета результатов первичных посевов проводят пересев выросших колоний на первично-дифференцирующие среды, определяют каталазный и оксидазный тесты, дальнейшую идентификацию проводят в соответствии с дифференциальными диагностическими таблицами. У доминирующих групп микроорганизмов определяют чувствительность к антибактериальным препаратам и выбирают оптимальные, учитывая чувствительность к ним и сопутствующей микрофлоры, чтобы, подавляя рост основных микроорганизмов, не создать условия для развития других.

Однако помня о скорости появления устойчивых форм возбудителей у рыб, наиболее эффективным остается повышение резистентности организма рыбы путем использования вакцин и пробиотических препаратов на фоне создания оптимальных технологических параметров среды и полноценного питания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Берджи. Определитель бактерий. – М.: Мир, 1997. – 799 с.
- Журавлева Л.А. Распространенность аэромонад в регионе дельты Волги и некоторые эпидемиологические особенности заболеваний, вызываемых ими / Автореферат канд. дисс. мед. наук. – М., 1998. – С.14.
- Ларцева Л.В. Рыбы и гидробионты – переносчики возбудителей инфекционных болезней человека - Астрахань: КаспНИРХ, 2003. – 99 с.
- Медицинская микробиология // Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. – М. ГЭОТАР, Медицина, 1999. – 1200 с.
- Щербина А.К. Болезни рыб. – Киев: Урожай, 1973. – 404 с.
- Юхименко Л. Н. и др. Материалы по изучению аэромонад в патологии человека. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – М., 1977.
- Юхименко Л.Н., Викторова В.Ф., Федорченко В.И. Выделение аэромонад из водных рыбоводных прудов // Сб. науч. тр. / Болезни рыб и водная токсикология - М. ВНИИПРХ, 1987. – Вып. 50. – С. 37-46.
- Юхименко Л.Н., Койдан Г.С. Современное состояние проблемы аэромонадоза рыб / Рыбное хозяйство / Сер. Аквакультура: Информ. пакет. Болезни рыб. – М.: ВНИЭРХ 1997. – Вып. 2. – С. 1-5.
- Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В. Этиологическая структура аэромонад и эпизоотическая ситуация в рыбоводных хозяйствах. // Рыбное хозяйство / сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналитическая и реферативная информация. М.: ВНИЭРХ. – 2001. – Вып. 4. – С.1-9.
- Joseph S.W., Colwell R.R., McDonnel M.T. Research on Aeromonas and Plesiomonas Taxonomy, ecology, isolation and identification// Experientia. – 1987. – V. 43. – № 4. – P. 349-350.
- Schubert R. H. W. Ecology of aeromonas and isolation from environmental samples: Experientia. – 1987. – V. 43. – № 4. – P. 351-354.

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF PATHOGENES BY BACTERIAL HEMORRHAGIC SEPTICEMIA IN FISH

L.N. Yukhimenko, L.I. Bychkova

The analysis of voluminous material, received by bacteriological examination of fish-rearing farms of Russia and CIS countries, showed that the main etiological pathogens causing infections bacterial fish diseases were microorganisms' communities related to different taxonomic units. The most often occurring groups of microorganisms have been revealed which are of great epizootologic significance but also epidemiological one while causing development of various bacterial human pathologies capable to transfer with fish products.

Use by the aeromonades identification of a reduced biochemical investigation schema revealed in biovaries of mobile aeromonades what allowed to evaluate their etiological significance.