

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАЗАНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ Н.Э. БАУМАНА

На правах рукописи

Гинятов Нурбек Сатканулы

КЛИНИКО-ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПСЕВДОМОНОЗА ОСЕТРОВЫХ РЫБ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В
УСТАНОВКАХ ЗАМКНУТОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук,
профессор **Залялов И.Н.**

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Состояние индустриальной аквакультуры в мире и перспективы ее развития	12
1.2 Основные препятствия на пути развития индустриальной аквакультуры в условиях УЗВ	15
1.3 Общее понятие о псевдомонозе	18
1.3.1 Характеристика возбудителя	19
1.3.2 Эпизоотологические данные псевдомоноза	22
1.3.3 Течение и клинико-морфологическое проявление болезни	24
1.3.4 Диагностика псевдомоноза	29
1.3.5 Лечение и меры борьбы с псевдомонозом	32
1.3.6 Профилактика псевдомоноза	38
II СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1 Материалы и методы исследований	41
2.1.1 Определение нозологического профиля болезней осетровых и изучение закономерности возникновения псевдомоноза в УЗВ	43
2.1.2 Методика изучения естественной микрофлоры среды обитания	43
2.1.3 Бактериологическая идентификация возбудителя при постановке диагноза	44
2.1.4 Определение чувствительности возбудителя к антибиотикам <i>in vitro</i>	45
2.1.5 Методика проведения гистологических исследований	46
2.1.6 Методика определения лечебной эффективности антибиотиков	47
2.1.7 Определение экономической эффективности применения лечебных мероприятий	48
2.2 Результаты собственных исследований.	48

2.2.1	Эпизоотическая ситуация в хозяйствах	48
2.2.2	Результаты клинического осмотра больных осетров	51
2.2.3	Результаты патологоанатомического вскрытия осетровых рыб	57
2.2.4	Определение степени заболеваемости и летальности при псевдомонозе	59
2.3	Результаты бактериологических исследований	61
2.3.1	Изучение микробного пейзажа в участках УЗВ	61
2.3.2	Идентификация возбудителя инфекционной патологии	63
2.3.3	Уровень чувствительности возбудителя псевдомоноза к антибиотикам <i>in vitro</i>	65
2.4	Патоморфология псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ	67
2.4.1	Патоморфология кожи больных псевдомонозом осетров, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения	67
2.4.2	Патогистологические изменения в жабрах осетровых рыб при псевдомонозе в условиях УЗВ	71
2.4.3	Оценка патоморфологического состояния селезенки осетров больных псевдомонозом	73
2.4.4	Патогистологические изменения в сердце осетров больных псевдомонозе, выращиваемых в УЗВ	80
2.4.5	Патоморфологическая оценка состояния печени и желчного пузыря при псевдомонозе осетров, выращиваемых в УЗВ	81
2.4.6	Органопатология поджелудочной железы при псевдомонозе осетров, выращиваемых в УЗВ	85
2.4.7	Патогистологические изменения в почках осетров больных псевдомонозом в УЗВ	87
2.4.8	Влияние патологического процесса на мочевыводящие пути осетра	90
2.5	Обоснование патогенеза псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ	91

2.6	Разработка способа лечения псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ	94
2.6.1	Терапевтическое обоснование применения нового способа лечения	94
2.6.2	Экономическое обоснование эффективности применения методов лечения псевдомоноза	100
2.7	Выявление возможных осложнений псевдомоноза вторичными инфекциями	103
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
	ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ	115
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	116

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации использованы следующие обозначения и сокращения:

УЗВ – установка замкнутого водоснабжения;

АПК – агропромышленный комплекс;

НАО – некоммерческое акционерное общество;

ТОО – товарищество с ограниченной ответственностью;

РГП на ПХВ – республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения;

ГУ – государственное управление;

НИИ Б и ПП ЗКАТУ – научно-исследовательский институт биотехнологии и природопользования Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана;

РК – Республика Казахстан;

РФ – Российская Федерация;

РТ – Республика Татарстан;

КОЕ – колониообразующая единица;

МПА – мясо-пептонный агар;

МПБ – мясо-пептонный бульон;

ОМЧ – общее микробное число;

БГКП – бактерии группы кишечной палочки;

АМП – антимикробный препарат;

УПМ – условно-патогенный микроорганизм;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;

тыс. – тысяч;

млн. – миллион;

г.г. – годы.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Индустриальное осетроводство с применением установок замкнутого водоснабжения (УЗВ) – одно из наиболее перспективных направлений рыбоводства в современных условиях техногенного сокращения естественного ареала обитания осетровых рыб. Повышенный спрос на ценную продукцию осетроводства (пищевая черная икра и товарная осетрина) и полный запрет на рыболовный промысел в Урало-Каспийском бассейне (почти все виды семейства внесены в Красную книгу), порождает развитие альтернативных методов разведения рыб, таких как воспроизводство рыб семейства осетровых (*Acipenseriformes*) в УЗВ. Активно ведутся научно-исследовательские работы по разработке методик выращивания рыб в искусственных условиях, которые ориентированы, во-первых на сохранение и восполнение популяции ценных пород рыб в естественных условиях, и во-вторых эффективное ведение товарного осетроводства [65].

Данный метод выращивания осетров считается наиболее эффективным способом выращивания ценных пород рыб, позволяющий вести тщательный контроль за рационом, условием содержания (уровни кислорода, нитратов и нитритов в воде, скорость ее обновления и фильтрации) и др., способный увеличить прирост гидробионтов и повысить качественные и количественные показатели продукции (с 1 м² бассейнов до 100 кг товарной рыбы). Кроме того, при создании наиболее оптимальных условий для рыб и при грамотном управлении температурным режимом уменьшается период восстановления организма после прижизненного сцеживания, то есть данный техногенный способ выращивания осетров позволяет оптимизировать процесс получения икры и увеличить ее объем по сравнению с естественной добычей данной рыбной продукции [101].

Осетровые рыбы издавна отличаются высоким уровнем врожденного иммунитета, который способствовал к сохранению представителей данного семейства, и по праву считается одним из древнейших представителей фауны, несмотря на это многие стороны биологии, морфологии и патологии осетровых

рыб остаются недостаточно изученными особенно при их содержании в искусственных водных системах. В отличие от других видов рыб осетровые в естественной среде обитания относительно меньше подвержены заболеваниям. В промышленных условиях с интенсивным темпом получения продукции осетроводства происходит снижение естественной резистентности организма рыб и, следовательно, возникновение патологии различной этиологии. Даже при хорошо контролируемых условиях выращивания осетровых рыб в УВЗ периодически регистрируются заболевания инфекционного характера, на долю которых приходится до 70% из числа болезней осетров. В последние годы рыбоводы все чаще сталкиваются с инфекционными болезнями осетровых рыб, выращиваемых в УВЗ, возникающих по ряду причин, в том числе нарушении технологии выращивания и изменения в рационе. Наиболее распространенным бактериозом в условиях искусственного воспроизводства осетровых рыб является псевдомоноз, который наносит значительный ущерб хозяйствам [10].

Несмотря на повсеместное распространение инфекции, и существующих представлениях о возбудителях, клинических проявлениях и этиологии псевдомоноза, нет полного представления картины патогенеза, патоморфологических изменений в органах и тканях, влияний патологического процесса на гематологические показатели и т.д., а имеющиеся данные касательно этих вопросов недостаточны и весьма противоречивы. Кроме того, представленные меры лечения и профилактики не дают должных результатов – полной ликвидации болезни в хозяйствах с данным способом выращивания рыб.

Цель и задачи исследований. Целью работы является изучение этиологии, патогенеза, патоморфологии, разработка эффективного способа лечения и усовершенствование методов профилактики псевдомоноза осетровых, выращиваемых в условиях УВЗ, для достижения которой необходимо решить следующие задачи:

1. Выявить определяющие факторы, способствующие возникновению псевдомоноза осетровых рыб;

2. Изучить особенности возбудителя псевдомоноза осетров, выращиваемых в УЗВ;

3. Изучить клинические проявления, патологоанатомические изменения и гистологическую структуру органов и тканей осетров при псевдомонозе;

4. Разработать способ лечения и усовершенствовать профилактику, а также выявить возможные осложнения псевдомоноза у осетров в условиях УЗВ.

Научная новизна.

1. Установлена сезонная динамика заболеваемости рыб псевдомонозом в условиях УЗВ, выявлены основные факторы, способствующие возникновению данной патологии.

2. Изучены особенности возбудителя, проведена дифференциация инфекционного начала, установлены основные участки УЗВ, служащих резервуаром для накопления условно-патогенной микрофлоры.

3. Впервые изучена гистологическая структура органов и тканей осетровых рыб, наиболее предрасположенных к поражению при псевдомонозе, на основании которых обоснован механизм развития патологического процесса. Поэтапно описан процесс тромбоцитопоза у осетров в норме и при патологии.

4. Даны научно-практические и экономические обоснования применения антибиотика Нитокс-200 при лечении осетров, больных псевдомонозом, определены наиболее оптимальные дозы для борьбы с инфекцией, а для профилактики болезни обоснован метод комплексного озонирования и ультрафиолетовой обработки при обеззараживании оборотной воды.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты научно-квалификационной работы внедрены в учебный процесс ВУЗов ветеринарного профиля по дисциплинам «Патологическая анатомия» и «Ихтиопатология» (приложения Д-Л).

Благодаря изучению гистологической структуры органов и тканей установлены пути внедрения инфекционного начала в организм рыб, механизма

развития патологического процесса позволили разработать практические предложения для хозяйств по лечению и профилактике псевдомоноза.

Поэтапные индивидуальные внутримышечные инъекции осетровым рыбам противомикробного средства Нитокс-200, оказали значительный терапевтический эффект даже при более тяжелых случаях псевдомоноза. Получен патент на изобретение №32737 «Способ лечения псевдомоноза осетровых рыб в установке замкнутого водоснабжения», выданный Министерством юстиции Республики Казахстан (приложение А). Включение в систему обеззараживания оборотной воды ультрафиолетовой обработки дало результат по подавлению условно-патогенной микрофлоры, способствовало предупреждению данной патологии в условиях УЗВ. Результаты исследований апробированы и внедрены в производственные условия двух осетроводческих предприятиях г. Уральск Республики Казахстан (приложения В, Г).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Факторы, служащие предпосылкой для развития псевдомоноза среди осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ. Дифференциальная диагностика болезни с дальнейшей типизацией возбудителя.

2. Патоморфологические изменения в органах и тканях осетровых рыб при псевдомонозе в условиях УЗВ. Представление полного патогенеза болезни.

3. Обоснование разработанного метода лечения и усовершенствованной меры профилактики псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ.

Апробация работы. Материалы научно-квалификационной работы представлены на международных конференциях:

1. Международная научно-практическая конференция, посвященная 20-летию Конституции Республики Казахстан и Ассамблеи народов Казахстана «Наука и образование XXI века: опыт и перспективы» (г. Уральск, 2015);

2. Международная научная конференция «Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования» (г. Казань, 2016);

3. Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной

медицины и АПК страны» (г. Санкт-Петербург, 2016), в которой представленный научный доклад «Выявление в участках УЗВ резервуаров возбудителя инфекционной патологии осетровых рыб» признан лучшим и удостоен диплома I степени (приложение Б);

4. Международная научно-практическая конференция «Современные направления инновационного развития ветеринарной медицины и зоотехнии в интересах развития агропромышленного комплекса» (г. Казань, 2017);

5. 102-ая Международная научно-практическая конференция студентов и аспирантов «Молодежь – науке и практике АПК» (г. Витебск, Республика Беларусь, 2017);

6. XIV Конгресс Международной ассоциации морфологов (МАМ) (г. Астрахань, 2018).

Публикации. По теме научно-квалификационной работы опубликовано 10 работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК – 4:

1. Гинаятов Н.С., Залялов И.Н., Сергалиев Н.Х., Какишев М.Г., Патоморфологическая оценка состояния тромбоцитопоза в селезенке осетровых осетров при псевдомонозе / Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии, 2017. – № 3 (52) – С.3-8.

2. Гинаятов Н.С., Залялов И.Н., Абсатиров Г.Г., Определение чувствительности к антибиотикам возбудителя псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ / Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2017. – № 230 (II). – С.64-67.

3. Гинаятов Н.С. Сравнительная оценка эффективностей методов обеззараживания воды в установках замкнутого водоснабжения / Н.С. Гинаятов, И.Н. Залялов, Г.Г. Абсатиров, М.Г. Какишев, А.М. Жунусов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2017. – № 232 (IV). – С.43-46.

4. Гинаятов Н.С. Сравнительная морфология кожи здоровых и больных псевдомонозом осетров, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения / Н.С. Гинаятов, И.Н. Залялов, Ф.Х. Нуржанова // Ученые

записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2018. – № 235 (III). – С. 85-88.

В научных изданиях с ненулевым импакт-фактором, индексируемых в базе данных Scopus – 2:

1. Sergaliyev N.H. et al., Nosological Description of Fish Pathologies in RAS / N.H. Sergaliyev, G.G. Absatirov, A.N. Tumenov, B.T. Sariyev, N.S. Ginayatov, J. Pharm. Sci. & Res. – Vol. 9 (9), 2017, – P. 1637-1641.

2. Гинаятов Н.С., Патоморфология кожи осетровых рыб при псевдомонозе / Н.С. Гинаятов, И.Н. Залялов, Ф.Х. Нуржанова // Морфология, 2018. – С. 172.

Объем и структура научно-квалификационной работы. Научно-квалификационная работа изложена на 138 страницах текста и состоит из введения, глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложений. Список цитируемой литературы включает 209 работ, из которых 80 работ иностранных авторов. В работе представлено 12 таблиц и 50 рисунков.

Благодарности. Выражаю благодарность за консультации и оказанную помощь в выполнении научно-квалификационной работы ректору РГП на ПХВ «Западно-Казахстанский государственный университет имени М. Утемисова», к.б.н., ассоциированному профессору Н.Х. Сергалиеву, за поддержку и возможность проведения опытно-производственных испытаний на базе НИИ биотехнологии и природопользования НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана» заведующему лаборатории биотехнологии инженерного профиля, д.в.н., профессору Г.Г. Абсатирову, заведующему кафедрой незаразные болезни и морфологии, доктору PhD М.Г. Какишеву, первому заместителю генерального директора ТОО «Учебно-научный комплекс опытно-промышленного производства аквакультуры» С.Л. Ульянову (г. Уральск, Республика Казахстан), начальнику ГУ «Республиканская ветеринарная лаборатория Республики Татарстан» М.М. Валиеву (г. Казань, Республика Татарстан, РФ).

I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Состояние индустриальной аквакультуры в мире и перспективы ее развития

На сегодняшний день теряет свою значимость производство рыбы и рыбной продукции традиционными методами, основанных преимущественно на активной эксплуатации природных ресурсов, из-за определенных естественных ограничений. На этом фоне набирают актуальность индустриальные хозяйства, обеспеченные инновационными технологиями, позволяя индустриальной аквакультуре считаться по праву динамично развивающимся направлением, способным значительно решить проблемы продовольственной безопасности [202].

Весьма актуально воспроизводство ценных пород рыб, таких как осетровые и их гибриды в условиях установок замкнутого водоснабжения (УЗВ). Развитие такого альтернативного способа, как выращивание осетровых рыб в УЗВ позволило сохранить и восстановить запасы осетровых рыб в естественных водоемах путем снижения промыслового давления на их популяции, а также обеспечить население качественной продукцией (черной икрой и товарной осетриной) [193].

Рыбы семейства осетровых (*Acipenseridae*) издавна ценятся, как источник ценного мяса и высокопитательной икры. Благодаря свойственной им приспособляемости к постоянно изменяющимся условиям среды они смогли дожить до наших дней. В связи с этим данные гидробионты довольно легко адаптировались к ограниченным условиям с высокой плотностью посадки, существенно отличающейся от их естественного ареала [99, 100].

Аквакультура, так называемое «подводное сельское хозяйство», сравнительно новая отрасль в мировой практике, которая началась с воспроизводства радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) после 70-х годов. Позже стали разводить морского окуня (*Dicentrarchus labrax*) и морского леща (*Sparus aurata*), рыб семейств лососевых (*Salmonidae*) и карповых (*Cyprinidae*),

которые по сей день являются наиболее широко выращиваемыми видами рыб [173, 179].

Воспроизводство осетровых рыб для получения икры и мяса впервые была апробировано в бывшем СССР в 80-х гг. XX в. В основе этого лежал разведение бестера – гибрида белуги и стерляди (*Huso huso* x *Acipenser ruthenus*). Сегодня же развитие осетроводства базируется в основном на выращивании сибирского (*Acipenser baerii*) и русского осетров (*Acipenser gueldenstadtii*).

С 1989 года в Румынии начала развиваться аквакультура в хозяйствах, специализированных на выращивании стерляди (*Acipenser ruthenus*), севрюги (*Acipenser stellatus*), белуги (*Huso huso*).

В странах ЕС экологически чистой признаётся только та рыбная продукция, которая получена в условиях УЗВ [152].

Поэтому начиная с 1990 года, данное направление аквакультуры развивается активными темпами на территории этого политико-экономического образования. Где в таких основных странах-производителях, как Италия, Германия и Испания, привлекательными видами для аквакультуры считаются белый (*Acipenser transmontanus*), сибирский (*Acipenser baerii*) и адриатический осетры (*Acipenser naccarii*). За 10 лет развития в выше упомянутых странах производственная мощность получаемой икры возросла до 5-6 тонн в год. Для увеличения объемов производства икры проводятся исследования по установлению возможностей выращивания двух важных для этих целей осетровых видов рыб (белуги и русского осетра) с использованием различных условий выращивания в экспериментальном и коммерческом потенциалах [179].

В последние годы идет активное развитие индустриальной аквакультуры с использованием УЗВ в странах Черноморского побережья, например Турция. По последним данным, страна производит около 212 000 тонн рыбы в год, став одним из крупнейших производителей рыбы из европейских стран.

В России в условиях УЗВ основными объектами индустриального выращивания рыбы являются – русский и сибирский (ленский) осетры, стерлядь и гибриды осетровых (бестер, стербел) и т.д [114].

В значительно меньших объемах выращивается белуга, а севрюга, как объект индустриального осетроводства, практически не используется. В отличие от получения товарной осетрины в России развито производство пищевой черной икры, как одно из перспективных направлений осетроводства. Практически все предприятия, имеющие маточные стада осетровых рыб осваивают производство пищевой икры, проводятся научно-исследовательские исследования по усовершенствованию прижизненного сцеживания икры [2].

Значительная часть мировой аквакультуры сосредоточена в странах Восточной Азии (Китай, Япония). Китай является одним из передовых поставщиков товарной осетрины и черной икры на мировой рынок и остается ведущей силой, мощность производства которого достигает до 40 млн. тонн в год, способствующих увеличению общемирового производства рыбной продукции. Также в последние годы стала интенсивно развиваться аквакультура и во Вьетнаме, где в основном культивируется стерлядь, ранее интродуцированная из Украины и России [80, 89].

За последнее десятилетие воспроизводство осетровых рыб в условиях УЗВ находит широкое применение в странах Средней Азии. К примеру, в Казахстане данный способ выращивания ценных пород рыб является одним из рентабельных и динамично развивающихся направлений. Казахстанскими учеными за короткий срок проведены работы от детальной разработки технологии с «нуля» и до получения конечного коммерческого продукта. И это не осталось без внимания инвесторов. Так, в настоящее время на базе государственно-частного партнерства ТОО «Ordabasy Group» ведется строительство одного из крупнейших в мире заводов по производству черной пищевой икры, мощностью 8 тонн икры в год. Реализация такого крупного проекта выводит Казахстан в число мировых лидеров по производству этого продукта в соответствии со стратегией «Казахстан-2050».

Технологии аквакультуры, связанные с восстановлением и повторным использованием систем водоснабжения, продолжают привлекать внимание во всем мире, в том числе и в странах, где в естественной среде не водятся осетровые, к примеру, Уругвай, производящий до 20 тонн черной икры. Тому подтверждение данные FAO (продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), свидетельствующие о том, что сегодня продукция, получаемая в условиях УЗВ, составляет 1/3 от общей продукции рыбного хозяйства, а 2030 году по прогнозам картина будет обратная, т.е. 2/3 мировой рыбной продукции будет давать аквакультура, основная цель, которой заключается в уменьшении потенциального загрязнения, вызываемого деятельностью в данной области и снижения эвтрофикации естественных водоемов [80, 133].

1.2 Основные препятствия на пути развития индустриальной аквакультуры в условиях УЗВ

Успех разведения аквакультуры зависит от эффективного управления здоровьем рыб, однако с развитием отрасли и разведением осетровых рыб в промышленных масштабах, как правило, рыбоводческие предприятия сталкиваются с проблемой возникновения и распространения патологии инфекционного характера (бактериальных, инвазионных, микотических), а также незаразных болезней и, как следствие, возникают экономические потери для хозяйства. Ежегодный ущерб, причиняемый отрасли аквакультуры болезнями, оценивается во всем мире в миллиарды долларов США [131, 199, 206].

Интенсивные темпы производства нацелены на получение максимальной продукции при минимальных затратах, и самый простой способ достижения этой цели является высокая плотность рыбы в посадочных бассейнах, что невольно вызывает стресс у рыб, которые в природе привыкли жить свободно [190].

Увеличение плотности посадки приводят также к ухудшению условий выращивания осетровых рыб, вследствие нарушения гидрохимических показателей и процессов восстановления и самоочищения водной среды, что вызывает загрязнение воды экскриментными продуктами рыб, остатками кормовых масс и т.д. Все эти стресс-факторы способствуют резкому увеличению общего микробного числа (ОМЧ) сапрофитных, условно-патогенных микроорганизмов, а также повышению патогенной активности этих бактерий [58, 95, 77].

Значительная доля болезней, регистрируемых в условиях системы замкнутого водообеспечения приходится на бактериальные инфекции. Следует отметить, что в последние годы наблюдается снижение количества заболеваний, вызываемых облигатно-патогенной микрофлорой, и наоборот, значительное увеличение доли болезней, возбудителями которых являются условно-патогенной бактерии, среди которых наиболее распространен аэромоназ, псевдомоназ, миксобактериоз, фурункулез, вибриоз и т.д. При этих болезнях уровень летальности достигает от 50 до 70% рыбы, а переболевшие гидробионты значительно теряют в массе и отстают в развитии [7, 68, 182].

Исследованиями румынских ученых установлена тенденция распространения болезней, так у осетровых рыб, культивируемых в соленой воде – вибриозы, вызванные штаммами *Vibrio anguillarum*, а у рыб, выращиваемых в пресной воде, часто выявлялась бактериальная геморрагическая септицемия, вызванная видами, принадлежащими к *Aeromonas* и *Pseudomonas*, в то же время для которых соленость воды не лимитирующий фактор. Так исследованиями установлено, что патогенные штаммы последних сохраняли жизнеспособность даже при 10%-ном растворе NaCl [94].

Международным эпизоотическим бюро в зависимости от критериев (потенциальная способность инфекционного начала к территориальному распространению, тяжесть заболевания, вероятность возникновения эпизоотических вспышек и т.д.) представлен список патогенов, в том числе для гидробионтов, представляющих реальную и потенциальную угрозу для

рыбоводческих предприятий с искусственным способом выращивания рыб. В этом списке патологии бактериальной этиологии классифицируются на 2 типа:

1) Болезни I типа (аэромоноз, бактериальная почечная болезнь, миксобактериоз) – массовые заболевания с высокой летальностью рыб, повсеместным распространением возбудителей;

2) Болезни II типа, к числу которых относится псевдомоноз карпов (краснухоподобное заболевание), псевдомоноз (бактериальная геморрагическая септицемия), вибриоз, гемофилез, отличаются ограниченной распространённостью, возникновением в рыбхозах при нарушении условия содержания рыб, а также особенностью возбудителей (условно-патогенные микрофлора, которая в нормальных условиях встречается в водной среде) [15, 63, 76, 112].

Возбудители бактериозов рыб в отличие от инфекционного начала болезней теплокровных животных имеют ряд особенностей, ввиду приспособления к биологическим свойствам организма хладнокровным животным (рыб), температура тела которых напрямую зависит от температуры водной среды. В связи с этим оптимальная температура для размножения возбудителей инфекции и проявления патогенных свойств в организме рыб имеет довольно широкий предел колебания от 10 до 25°C и выше, при условии, что температурный оптимум для самих осетровых рыб равен 20-24°C. В то время как патогенные агенты бактериальных болезней теплокровных животных к таким температурным изменениям не приспособлены [31].

Еще одним осложняющим ликвидацию бактериальной патологии у осетровых рыб в УЗВ является недостаточная изученность факторов, обуславливающих вирулентность возбудителей, таких как образование защитных спор и капсул, выделение экзо- и эндотоксинов и т.д. [84].

Также широкий ассортимент представленных антибиотиков еще не ключ к успеху в борьбе с псевдомонозом. А наоборот неправильный выбор, частое или неправильное применение антибиотиков в аквакультуре приводят собой к

появлению устойчивых к лекарственным формам бактерий и генов устойчивости к антибиотикам у патогенных бактерий рыб [176].

Идеальным способом борьбы с инфекционными болезнями рыб является предотвращение воздействия патогенных агентов, однако при работе с водной средой практически невозможно определить все возбудители болезней и оградить их от рыб. Вода является способствующим фактором для переноса многих инфекционных агентов от больных рыб к здоровым. Помимо этого, многие болезнетворные организмы эндемичны для водной среды, и являются условно-патогенными, факультативными патогенами.

Возникающие на фоне интенсивного рыбоводства и стрессовых условий инфекционные заболевания рыб, особенно бактериального происхождения, сопровождаются высокой степенью летальности, сложностью проведения мер борьбы и профилактики. Следовательно, они являются наиболее значительной преградой на пути развития индустриального рыбоводства в условиях УЗВ, оставаясь одним из основных сдерживающих факторов в аквакультуре [4, 8, 15, 22, 189].

1.3 Общее понятие о псевдомонозе

Псевдомоноз – (от лат. – *Pseudomonosis*; септический) инфекционная болезнь тепловодных, холодноводных и декоративных рыб, встречающаяся в прудовых и индустриальных рыбоводческих хозяйствах, со сложной и недостаточно изученной этиологией. Болезнь протекает с поражением кожного покрова, центральной нервной системы, паренхиматозных органов, а также в форме геморрагической септицемии, поэтому некоторые авторы считают необходимым называть ее именно «геморрагической септицемией». Нередко в отечественных источниках упоминается как краснуха, однако это не соответствует действительности, так как эта болезнь относится к другой таксономической группе [60].

Первые случаи болезни были описаны немецкими учеными Плен (1904) и Шеперклаус (1926) еще в начале прошлого столетия. Первые упоминания о септическом псевдомонозе карповых и толстолобиков в прудовых хозяйствах СССР относятся к началу 70-х годов XX в, а как самостоятельное заболевание выведено из группы краснухи только в 1979 г. Несмотря на достаточную изученность возбудителя, который был известен и впервые описан еще в 1894 году Мигулой, по сей день остается одной из распространенных болезней в индустриальной аквакультуре, и нет конкретных методов борьбы с псевдомонозом [71, 107].

Данная патология распространена повсеместно в странах, использующих методы индустриальной аквакультуры в естественных прудовых условиях и условиях замкнутого водоснабжения, таких как Российская Федерация, Китай, страны Европы (Германия), центральной Азии (Казахстан), а также ближнего Востока (Иран). В Турции патоген впервые относительно недавно был зарегистрирован у морского леща в Эгейском море. Болезнь сопровождается значительным ущербом для рыбоводческих хозяйств, складывающегося из высокого уровня летальности (до 50-70%), порчи товарного вида рыбы в виде наличия поверхностных язвенных поражений, а также дорогостоящих лечебно-профилактических мероприятий, которые не всегда дают полное освобождение от псевдомоноза, в виду устойчивостью возбудителя к антибиотикам [204].

1.3.1 Характеристика возбудителя

Бактерии рода *Pseudomonas* – гетерогенная группа микроорганизмов, широко населяющих биосферу (в почве, в морской и пресной воде), которые активно участвуют в процессах минерализации органических соединений, очищении окружающей среды от загрязнения и т.д [102].

Однако существуют виды данной бактерии, такие как *Ps. chlororaphis*, *Ps. anguilliseptica*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. plecoglossicida*, *Ps. aeroginasa* и *Ps.*

luteola, которые патогенны для человека и животных, в том числе и рыб [135, 172].

Почти среди всех видов пресноводных и морских рыб встречается псевдомоноз, возбудителем которого являются бактерии данного рода. У рыб псевдомонозы могут вызываться вирулентными или условно-патогенными штаммами, активизирующими свою патогенность при изменении среды, как первого, так и второго порядка. К примеру, рыбы семейства карповых восприимчивы к *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. cyprinisepticum*, *Ps. plecoglossicida*; *Ps. intestinalis* вызывает энтеральный псевдомоноз у амура; толстолобиков, айю (Япония, Турция) и радужной форели (Шотландия); к *Ps. dermoalba* – лососевые; *Ps. fluorescens* и *Ps. chlororaphis*, которые также поражают жабры кеты; *Ps. aureofaciens* – угрей, а *Ps. anguilliseptica* вызывает образование субэпидермальных петехий (покраснений) по всей поверхности тела, а также стоматит у данных видов рыб [34, 107, 130].

Среди этих патогенов стоит отметить *Ps. anguilliseptica* как наиболее значимый патоген для рыб, который вызывает «зимнюю болезнь», т.е. патогенные свойства активизируются при снижении температуры воды до 15°C. Впервые он был выделен в Японии у японских угрей в 1972 году, а позднее выявлен в Великобритании и Нидерландах у европейских угрей, больных псевдомонозом [189, 195, 205].

Инфекционным началом псевдомоноза у осетров являются вирулентные штаммы бактерий рода *Pseudomonas* (*Ps. intestinalis*, *Ps. putida*, *Ps. fluorescens* и др.). Кроме того известны случаи выявления у осетра *Ps. luteola*, и *Ps. alcaligenes* – у китайского осетра (*Acipenser sinensis*) [116, 134, 141].

Возбудителями псевдомонозов являются вирулентные штаммы бактерий, рода *Pseudomonas* – аэробные грамотрицательные прямые оксидазоположительные палочки размером 0,5-1,0 x 1,5-5,0 мкм, с одной или несколькими полярно расположенными жгутиками, относящиеся к четвертой группе патогенности. Большинство видов не способно расти в кислой среде при pH от 4,5 [144].

По результатам гибридизации нуклеиновых кислот, данных секвенирования рибосомальных РНК, и ряда других исследований возбудителя определена таксономическая структура рода *Pseudomonas* и его положение в системе микробного мира. Наряду с родами *Bacillus* и *Bacterium*, возбудитель был включен в состав семейства *Bacteriaceae* [154, 180, 184, 186].

Многие виды данной бактерии имеют подвижность, а некоторые из них неподвижны. Спор не образуют. Имеются виды, способные образовывать капсулы и флюоресцирующий пигмент. Например, *Ps. fluorescens var. Capsulata* – неподвижные палочки, образующие капсулы, которые при инкубации стекают на крышки чашек Петри в виде тяжей. Их часто выделяют из воды, особенно в весенние и осенние периоды, но в последние годы их стали выделять и из воды в прудовых, садковых и бассейнах рыбоводных заводов и в летнее время. Слизистые капсулы служат защитной оболочкой для бактерий, и являются одной из причин высокой антибиотикорезистентности псевдомонад, а также и к другим антимикробным препаратам. Благодаря этому они способны вытеснять сапрофитных бактерий из водной среды и занимать доминирующее положение, что в разы ухудшает эпизоотическую ситуацию [126, 128].

Исследования ученых по изучению этиологии заболевания показали, что возбудителем может служить только один вид, а также при ассоциации с другими микроорганизмами данного рода. Существует также сведения, что возбудителями заболевания являлись сразу и аэромонады, и псевдомонады [35, 169].

Кроме того, псевдомоноз может осложняться патологиями различной этиологии, вызванными попаданием вторичной инфекции (бактерий, вирусы, грибы) в организм рыбы через образовавшиеся язвы. Например, у сильно ослабевшей рыбы на месте язв поселяются плесневые грибы родов *Saprolegnia* и *Achlya*, тем самым, осложняя течение основной болезни [29].

Также выявлена способность бактерии рода *Pseudomonas* вызывать бактериальную септицемию у осетровых рыб в Волго-Каспийском регионе, но

при этом она не являлась первопричиной патологии рыб, тем самым подтверждая существующее мнение, что данные бактерии сами могут служить вторичной инфекцией, ввиду их выделения с другими бактериями. Еще один пример тому, изолирование *Ps. pseudoalcaligenes* у радужной форели, зараженной *Y. ruckeri* [68, 143].

Известна способность возбудителей к временному паразитизму в организме животных, в том числе и рыб, и наличие представителей рода *Pseudomonas* их доля в кишечной микрофлоре у осетровых рыб составляет $23,5 \pm 3,8\%$, что является еще одним фактором осложняющий полную ликвидацию болезни [5, 48, 85, 98].

1.3.2 Эпизоотологические данные псевдомоноза

Псевдомонозом поражаются чаще всего карпы, караси, толстолобики, белые амуры, буффало, а также все виды лососевых, осетровых (русский и сибирский осетры, белуга, стерляди, шипы, а также их гибриды), а также представляет опасность и для аквариумных рыб. К болезни восприимчивы рыбы всех возрастов от сеголеток до половозрелых особей, считается, что максимально подвержены сеголетки и двухлетки. Больные и переболевшие рыбы, а также рыбы-бактерионосители и их трупы служат источником возбудителей. Переносчиками возбудителя также могут выступить эктопаразиты, пиявки и т.д. [135].

Ряд авторов сообщают об ассоциативном течении псевдомоноза рыб с инвазионными заболеваниями. Например, распространение псевдомоноза и значительное осложнение болезни напрямую зависит от уровня зараженности толстолобиков микроспоридиями вида *Mухobolus pavlovskii*. Доказательством служит тот факт, что в прудах, где интенсивность инвазии была значительно ниже (1-2 цисты на жаберном аппарате) псевдомоноз не регистрировался [7, 82, 91].

Заражение рыб происходит непосредственно при прямом контакте больных и здоровых особей, через корм, в составе микрофлоры которых выявлены условно-патогенные бактерий рода *Pseudomonas*, а также распространению болезни способствует среда обитания (вода), тара для транспортировки рыбы, используемый обслуживающий инвентарь, спецодежда рабочего персонала и т.д. [59].

Шеперклаусом (1926) были выдвинуты 2 возможных путей заражения рыб псевдомонозом:

- эндогенный, вызывающийся аутоинфекциями при снижении резистентности организма рыб;

- экзогенный – через органы воздухообмена (жабры) и механические повреждения кожного покрова, служащие «воротами» инфекции. Нарушение целостности кожи рыб возникает вследствие высокой концентрации гидробионтов на ограниченной территории (нарушение зоогигиенических требований). У условно-здоровых осетров на поверхности тела в естественной среде установлено наличие бактерий рода *Pseudomonas* [67, 69].

Возникновению и развитию псевдомоноза способствуют и нарушения рыбоводно-мелиоративных и ветеринарно-санитарных правил в водоемах: перепад температуры, рН воды, загрязнение ее отходами жизнедеятельности организмов, остатки корма при недостаточном уровне очистки посадочных бассейнов, садков и т.д., что таит в себе серьезную опасность в виде накопления и спонтанного пассажирования возбудителя через восприимчивый организм, а также снижение общей резистентности организма рыб. Поскольку рыбы являются холоднокровными, то они быстрее реагируют на любые изменения окружающей среды, чем теплокровные наземные животные. Кроме того, псевдомонады являются представителями естественной микрофлоры дистальных отделов кишечника осетровых, однако они способны вызывать заболевание только при их концентрации, превышающей нормальные показатели микробного фона [11, 25, 37, 53, 64, 189].

Вспышки псевдомоноза часто регистрируют в зимний и весенний период при температуре воды ниже 10-12°C. В зимовальных прудах болезнь возникает во второй половине декабря и продолжается в январе и феврале, при этом поражается от 5 до 10% рыб, в основном молодь. В этот период физико-химические показатели воды составили: температура воды равнялась 0,8-1,6°C, рН – 8,2-8,4, окисляемость от 3,6 до 22 мг/л, содержание кислорода 12-14 мг/л, наличие углекислоты, нитритов и нитратов не установлены [7].

Однако и в летнее время в рыбоводческих предприятиях могут возникать вспышки псевдомоноза из-за бесконтрольного использования противомикробных препаратов. Летальность молоди достигает 30-40%, а взрослых особей – до 60% и более. После повышения температуры воды уровень заболеваемости рыб снижается. Но это не значит, что возбудители ослабевают и теряют патогенные свойства летом. Исследованиями Бороздиной И.Б. (2011) по изучению сезонных особенностей бактерий рода *Pseudomonas* наоборот установлена их активизация при повышении температуры воды, указывающая на увеличение количества условно-патогенных форм бактерий в летнее время. По сравнению с весенним периодом их количество увеличилось на глубине 10 см на 20,7%, а на глубине 50 см – 7,6% [12, 175, 208].

Определены также распространенные условно-патогенные формы микроорганизмов, преобладающих в поверхностных слоях воды в естественных водоемах: *Ps. acidovorans*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. alcaligenes*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. pseudoalcaligenes*, *Ps. maltophilia*, *Ps. putrefaciens*, *Ps. stutzeri*, *Ps. testosteroni*, *Ps. mendocina* и т.д.

1.3.3 Течение и клинико-морфологическое проявление болезни

Патологический процесс при псевдомонозе развивается под влиянием эндотоксинов, освобождающихся при аутолизе бактериальных клеток после их гибели. Псевдомонады наделены слабовыраженным дерматонекротическим свойством, способствующим к образованию язвенных поражений на

поверхности тела рыб. Развитие заболевания в основном сходно с аэромонозом, и протекает в форме бактериальной септицемии [39].

Инкубационный период при псевдомонозе недостаточно изучен и его точная продолжительность не установлена. Болезнь протекает в 3-х видах: острая септическая, подострая асцитно-язвенная и хроническая язвенная. Клинические признаки заболевания практически у всех видов рыб сходны, однако они варьируют в зависимости от патогенных свойств возбудителя и уровня восприимчивости рыб, также от степени развития патологического процесса [196].

Японскими исследователями проведены опытные заражения рыб аю, или айю (*Plecoglossus altivelis*) путем погружения в микробную суспензию культуры *Pseudomonas plecoglossicida* (107 КОЕ/мл) на 15 мин с целью определения механизма заражения и выявления в органах возбудителя псевдомоноза. В ходе проведенных опытов установлено, что воротами инфекции служат жабра и кожа, в них инфекционное начало выявили через 1-3 часа после заражения рыб, а во внутренних органах (печень, селезенка и почки) обнаружены через 6 часов, в крови – через 48 часов, следовательно, септический процесс начинается через 2 суток с момента заражения [200].

Ярко выраженное проявление заболевания наблюдаются у карповых, толстолобиков и буффало при псевдомонозах, вызванных *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. chloroaphis* и при смешанных псевдомонозах и аэромонозах аквариумных рыб, проявление которых было сходно с острой формой аэромоноза.

Позже отечественными исследователями было приведено описание острого септического псевдомоноза у карповых, возбудитель которого *Ps. 19 cyprinisepticum*. При этом у рыб были отмечены взъерошение чешуи, пучеглазие, увеличение брюшка, очаговые кровоизлияния на поверхности тела. Наиболее подробно представлена клиническая картина псевдомоноза у разных видов рыб (карпа, карася, толстолобика и буффало), вызванного также *Ps. cyprinisepticum*, которая проявлялась в виде асцитной (септической) формы

болезни. Также были выявлены клинико-морфологические особенности, имеющие важное дифференциально-диагностическое значение [38].

Некоторые авторы полагают, что рыбы, пораженные псевдомонозом, плавают, не подходя на приток, как при аэромонозе. При аутоинтоксикации продуктами метаболизма возбудителя болезни происходит поражение ЦНС и органов координации движения. Вследствие чего рыбы принимают неестественное положение тела, и плавают не ровными движениями. Также на теле рыбы обнаруживаются мелкие пятна, с виду напоминающие укусы рачка аргулуса, далее с развитием патологии они переходят в язвочки правильной округлой формы красноватого цвета. В дальнейшем при таком течении болезни развивается дерматомиозит [109].

У больных рыб при подостром течении отмечают такие клинические признаки как одно- или двусторонняя экзофтальмия (пучеглазие), односторонне или диффузно взъерошенная чешуя, увеличение в объеме брюшины, при надавливании или при пробной пункции которой может вытекать желтоватая слизь с кровянистой примесью, багровая опухоль в области анального отверстия. У рыб отмечают также точечные или очаговые кровоизлияния на поверхности тела, которые в последующем перерастают в язвы серого цвета с красными краями, которые могут увеличиваться до образования кратерообразных углублений. Язвенные поражения часто локализируются на поверхности жаберных крышек, на основаниях «жучек», в перепонках между лучами грудных, брюшных и хвостового плавников. При крайне запущенных случаях болезни отмечается выпадение плавников. На органах зрения в склере отмечается серповидная гиперемия, наблюдается пучеглазие, не исключено даже «выстреливание» глаза [7].

Гемопоз и основные изменения морфологических и биохимических показателей при данной патологии недостаточно изучены. В различных исследованиях ученых описаны особенности кроветворных органов осетровых рыб. Установлено, что селезенка (у представителей осетровых в этом органе формируются все форменные элементы, в том числе и

тромбоциты), почки, тимус и в малой степени перикард, слизистая оболочка среднего отдела кишечника (в спиральной складке) являются универсальными органам кроветворения [47, 72, 74, 75].

При изучении учеными ЮНЦ РАН микроструктуры селезенки ленского (русского) осетра при смешанной бактериальной инфекции отмечалась лимфопения, появление участков геморрагического некроза, в которых выявлено наличие лимфоцитов с нарушением целостности оболочки и кариорексисом. По всей площади некротического участка (чаще всего по краям, реже в середине) обнаруживались множественные скопления бактерии. В печени, которая также участвует в кроветворении, отмечены патологические изменения в виде геморрагии, рассеянных некротизированных очагов со светлым центром, окруженных ацидофильным веществом [57].

Следовательно, в виду особенностей кроветворения осетровых рыб, в котором помимо вышеуказанных органов принимают участие кроветворные участки печени и даже жабы. Учитывая то, что псевдомоноз в различной степени поражает все перечисленные органы, то непосредственно патологический процесс сказывается на общей гематологической картине, в частности на процесс тромбоцитопоза, так как болезнь сопровождается со значительными кровопотерями [29].

У значительной части переболевших рыб наблюдается вздутие брюшной полости вследствие асцита или серозного перитонита, завала кишечника неперевавшими кормовыми остатками, а также жировое перерождение или дистрофические процессы в печени [34, 39].

Массовый падеж обычно регистрируются на 3-4 день после появления первых клинических признаков болезни. При патологоанатомическом вскрытии осетровых рыб отмечают следующие изменения: анемия жаберных дуг, которая приобретает некротический серо-белый цвет; отмечается эпикардит; брюшная полость характеризуется скоплением большого количества опалесцирующей (отечная жидкость) или кровянистой

жидкости (брюшная водянка); гиперплазией почек, они отечны и размягченной консистенции с серозным гломерулонефритом и дистрофией эпителия мочевых канальцев; печень бледная, с желто-зеленоватыми оттенками, в ней отмечается также зернистая дистрофия и застойная гиперемия, гидропическая дистрофия печеночных клеток; желчный пузырь переполнен желчью; селезенка значительно увеличена (спленомегалия), темно-красной окраски, отмечается воспаление органа (сплениит). На брыжейке множественные мелкие геморрагии, серозное или катаральное воспаление кишечника, выпячивание анального отверстия. В местах поражения при вскрытии мышечная ткань легкоотделяема от хорды [23, 39].

Патоморфологические изменения и микроструктура органов и тканей при псевдомонозе осетровых рыб плохо изучена. Нет упоминаний относительно описаний патоморфологии пораженных органов при данном бактериозе и в зарубежной литературе.

При экспериментальном заражении у рыб аю (*Plecoglossus altivelis*) с целью определения его гистопатологических особенностей проявления псевдомоноза установлены некротические поражения селезенки, сопровождающиеся отеком, отложением фибрина и кровоизлиянием. Печень рыб имела также некротические поражения и микроабсцессы. При внутрибрюшинном заражении у рыб наблюдались некротические поражения и кровоизлияния в брюшной жировой ткани и поджелудочной железе, а при инфицировании внутримышечными инъекциями рыбы имели определенные повреждения мускулатуры в месте заражения. В результате исследований установлено, что основные патологические изменения при псевдомонозе у аю наблюдаются в очагах поражения, в селезенке и почках [203].

Из анализа отечественных и зарубежных литературных источников следует о недостаточной изученности иммунитета осетровых рыб при псевдомонозе, а также нет конкретных данных по работе иммунной системы рыб в норме. Известно, что переболевшие особи приобретают относительный иммунитет [60].

1.3.4 Диагностика псевдомоноза

Псевдомоноз у осетровых рыб диагностируют на основании результатов комплекса бактериологических исследований, эпизоотологических данных, учета клинических признаков, а также изменений в органах, установленных при патологоанатомическом вскрытии.

Бактериологические исследования по установлению возбудителя инфекции проводят поэтапно, начиная с изучения морфологических признаков колоний, установления их размеров, образование пигментов, цвета, структуру, определяют при культивировании на плотных питательных средах. При дифференциации бактерии рода *Pseudomonas* учитывают, что *Ps. fluorescens* на МПА образуют диссоциацию из трех типов колоний: желтовато-серые, слабо выпуклые, маслянистой консистенции; слизистые, выпуклые, розоватые, крупные; розоватые, более плотные, мелкие. *Ps. putida* – на твердой питательной среде образуют росинчатые, круглые, гладкие колонии, с блестящей поверхностью, желтоватого или прозрачного цвета. *Ps. alcaligenes* на элективной среде (кровяной агар) растут в виде колонии с тонкими, неровными, «ползущими» краями. *Ps. aeruginosa* образует на МПА зеленовато-слизистые колонии. Колонии белого цвета на МПА образуют *Ps. diminuta*. Для *Ps. pseudoalcaligenes* свойственна способность окислять сахар, и специфичный температурный режим инкубации (растут при 42°С, образуя колонии серовато-белого цвета на кровяном агаре). При инкубации *Ps. maltophilia* на МПА образуются выпуклые к центру, слизистые, желтовато-серые колонии, с более насыщенным жёлтым оттенком в центре [60].

Бактериоскопией определяют тинкториальные признаки с определением подвижности микроба. Далее с помощью биохимических свойств производят идентификацию с целью определения межродовой и родовой принадлежности бактерий. Также неотъемлемым компонентом бактериологических исследований является постановка биологической пробы на естественно

восприимчивых животных для подтверждения патогенности инфекционного начала.

Научными исследованиями французских ученых установлено, что только 70 видов бактерий из числа микрофлоры, содержащихся в водной среде, могут вызывать заболевания рыб. Несмотря на процентную вариацию микробного состава водоемов в зависимости от типов, климатических условий и т.д., отмечается относительная стабильность спектра микроорганизмов, где в основном установлено доминирование сапрофитной микрофлоры, в частности родов *Pseudomonas* ($24,9 \pm 4,6\%$) и *Aeromonas* (16,9%) [61, 85, 125, 188].

Данные бактерии, известные еще как условно-патогенные также преобладают и в условиях замкнутой системы водоснабжения, следовательно, псевдомоноз и аэромоназ относятся к числу наиболее широко распространенных инфекционных болезней осетровых. Основной проблемой в дифференциальной диагностике этих болезней является схожесть по клинико-морфологическому проявлению. Поэтому, по мнению исследователей, дифференциацию нужно проводить не только на основании бактериологических исследований, но и с учетом результатов клинического обследования больных рыб, патологоанатомического вскрытия, эпизоотологических данных и результатов биологической пробы [70, 96].

Псевдомоноз, в отличие от аэромоназа, вспышки которого приходится в весенне-летний период при температуре 10-20°C, к осени идет снижение эпизоотии, возникает в условиях УЗВ в периоды понижения температуры, а в естественных условиях обитания – в осенне-летний сезон, особенно чаще регистрируется в промежутке с января по март включительно [15, 34].

Клинические признаки аэромоназа, в отличие от псевдомоноза, с более разнообразной симптоматикой и динамикой развития патологического процесса: постепенной сменой или комбинацией острой септической, подострой асцитно-язвенной и хронической язвенной формой. Такая четко выраженная стадийность патогенеза при аэромоназе является немаловажным

признаком при дифференциации от псевдомоноза рыб, поскольку при его протекании, в виде моноинфекций, образование язв не установлено [39].

Кроме аэромоноза исследуемый бактериоз нужно дифференцировать от фурункулеза, который сопровождается наличием у больных рыб нескрытых абсцессов, наполненных продуктом разложения мышечной ткани, гнойным экссудатом, и только с последующим изъязвлением, что не свойственно псевдомонозу. Возбудителем фурункулеза считается типичный *Aeromonas salmonicida*, которого не следует путать с атипичной формой бактерии [142].

Во многих источниках указываются, что к фурункулезу восприимчивы лососевые, однако к это заболевание регистрировали у более чем 50 различных видов рыб во всем мире, в том числе и у осетровых [146, 174].

Еще одна инфекционная патология, которую необходимо дифференцировать от псевдомоноза, это ассоциативные инфекции, он же миксобактериоз – болезнь из перечня карантинных и особо опасных болезней вызываемая бактериями родов *Flexibacter*, *Cytophaga* и *Sporocytophaga*. Внешне по клиническим признакам протекает схоже с псевдомонозом, сопровождается повреждением жаберных лепестков и межлучевых перепонок, множественных кровоизлияний на поверхности тела и у оснований жучек и плавников. Еще проявляется в виде появлений беловато-серых пятен, с развитием болезни, которой покрывается все тело. Возникает при более высоких температурах от 20°C и выше. Для дифференциации от псевдомоноза необходимо проведение комплекса бактериологических исследований [49].

Вибриоз возникает при высокой температуре воды 19-25°C, эпизоотия ослабевает соответственно при понижении температуры. Дифференцируют вибриоз путем изучения возбудителя, которым являются бактерий рода *Vibrio*, обладающие подвижностью, положительные результаты для производства индола, расщепление орнитина, образование кислот из D-маннита и особенным температурным режимом культивирования при 42°C. Клинические признаки заболевших рыб схожи с псевдомонозом: общая анорексия и аналогичные

поверхностные или более глубокие кровотокающие поражения кожи. Которые располагались на основаниях грудных и хвостовых плавников и вокруг заднего прохода рыбы. Геморрагическая септицемия наблюдалась в кишечнике, полости тела и селезенке. Особенностью клинических признаков, свойственных вибриозу, является затемнение окраски тела [199].

Патологические изменения внутренних органов при острой форме заболевания: сильные кишечные отеки, опухшие селезенка и почки, скопления и кровоизлияния в брюшину и внутренние органы [193].

Также необходимо дифференцировать от хронических токсикозов, вызванных осложнениями псевдомонадами.

1.3.5 Лечение и меры борьбы с псевдомонадом

Первыми действиями при возникновении вспышки псевдомонады является наложение ограничения на перевозку рыб в другие рыбоводческие предприятия. Для дальнейшего оздоровления хозяйства проводят непосредственно комплексные ветеринарно-санитарные и лечебно-профилактические мероприятия.

Основным сдерживающим фактором развития псевдомонады осетровых рыб, как в естественных условиях, так и индустриальной аквакультуре в УЗВ на сегодняшний день является антибиотиковая терапия. Лечебные или профилактические мероприятия с использованием антибиотиков проводятся повсеместно для снижения потерь выращивания гидробионтов от инфекционных болезней [122].

В странах-членах ЕС и в США существуют резкие ограничения на использование антибиотиков в аквакультуре, направленные на получение продуктов, предназначенных для потребления человеком. В отличие от этого, в большинстве развивающихся стран правила использования противомикробных препаратов являются необузданными или практически отсутствуют. Так, в интенсивных условиях аквакультуры используется очень большое количество

противомикробных препаратов в качестве стимулятора роста, профилактики и лечебных целях, что приводит к резистентности бактерий к антибиотикам, а также к накоплению остатков антибиотиков в рыбе. Кроме того, бактерии, как известно, могут развить устойчивость к противомикробным препаратам, если они используются слишком часто, в течение длительного периода времени или при неправильном применении [203].

С применением антибиотиков необходимо параллельно проводить восстановительную терапию для восстановления естественной микрофлоры (применять пробиотические препараты с бактериями субтилис и бифидобактерии). Однако следует помнить, что применение антибиотиков при лечении бактериозов допускается рыбам только содержащихся в ремонтно-маточных стадах, а для молоди, выпускаемой в естественные водоемы, и рыбам, направляемых в торговые точки для реализации запрещено [13, 27, 103, 115].

Широкий ассортимент антибиотиков, представленный на фармацевтическом рынке, еще не гарантия успешной ликвидации бактериальных инфекций без определения чувствительности возбудителя к антибиотикам *in vitro*, поэтому возрастает ее роль при выборе наиболее эффективного антимикробного препарата (АМП) [110, 117, 198].

Для лечебно-профилактических мероприятий, нацеленных на подавление псевдомоноза осетровых в условиях УЗВ, пользуются общепринятыми методами и приемами антибиотиковой терапии [54, 115].

В ряде европейских странах и Турции для лечения инфекционных заболеваний рыб обычно используются такие антибиотики, как ампициллин, неомицин, канамицин, имипенем, эритромицин, оксолиновая кислота, окситетрациклин, комплекс триметоприма с сульфаметоксазолом и стрептомицин. Антибиотик амфеникол (флорфеникол) был введен в аквакультуру всего несколько лет назад [172].

Препарат под коммерческим названием SILOhealth 108, благодаря специфическому составу, показывает селективное антибактериальное действие

против патогенных бактерий независимо от pH окружающей среды. Следовательно, при концентрациях 0,1% или 0,01% во внутренних органах гидробионтов, где pH равен 7-8, препарат способен подавлять патогенные бактерии, такие как *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas dermoalba* и *anguilliseptica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Streptococcus uberis*, *Flavobacterium columnare*, *Yersinia ruckeri*, *Bacillus cereus*, при этом, не подавляя, полезные бактерии, такие как *Lactobacillus acidophilus* и *plantarum*. В исследовании с больными псевдомонозом осетровыми индивидуальными внутрибрюшинными инъекциями позволили ликвидировать инфекцию и снизить падеж на 76%, по сравнению с контрольной группой. Он оказался эффективной альтернативой кишечным антибиотикам при высокой бактериальной угрозе, кроме того, обладающим стимулирующим действием на рост рыб [187].

В испытаниях, проведенных турецкими учеными, несколько видов противомикробных препаратов потерпели неудачу и показали неэффективность в лечении бактериальных болезней рыб, такие как сульфаметоксазол, ампициллин, и азтреонам [150].

В производственных условиях, где необходимо массово обработать рыб часто используют способ лечебных кормлений. В корм добавляют различные противомикробные препараты такие, как левомицитин, субалин, Антибак различной активности. Известен также метод терапии псевдомоноза антибиотиками «Левомецетин» и «Тетрациклин», которые скармливают больным рыбам в дозе 50 мг/кг живой массы в течение 5 суток вместе с кормом, чередуют лечебный процесс с 3-дневным перерывом [109].

Для лечения и профилактики желудочно-кишечных и респираторных заболеваний животных используют также отечественный лечебный препарат ПВЭНТИ (поливинилэтилитриметилпиперидол с йодом), являющейся доступным и недорогим. Водный раствор, который в соотношении 1:10 применяется путем ежедневных двухразовых выпаивания (в течение 5 суток) рыб с клиническими признаками псевдомоноза из расчета 3-5 мл/кг живой массы [88, 167].

Данный способ усовершенствован учеными Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко, которые предложили увлажнять корм разведенным препаратом ПВЭНТИ (0,8-1,2 мг препарата на 1 кг массы корма) и скармливают ежедневно в течение 4-5 дней. При лечении форели больных псевдомонозом этот метод позволил через 5 суток со дня окончания лечебного кормления избавиться от клинических признаков заболевания, которые исчезли через 5 дней после окончания лечебного кормления. Количество выздоровевших рыб достигла 96% [10].

В представленной Hochleithner и Gessner схеме лечебных и профилактических мероприятий болезней молоди осетровых рыб в УЗВ для борьбы с псевдомонозом рекомендуется применение препарата Фуразолидон в дозе 10-15 г на 100 кг корма продолжительностью лечебного кормления 10 суток [168].

В хронических случаях болезни, при кишечной локализации, для терапии могут быть использованы фурановые продукты (фураксон), назначаемой в корм, в суточной дозе 100 мг/кг рыбы, в течение 6 дней.

Благодаря исследованиям, установившим способность артемии (*Artemia branchiopoda*) накапливать в себе лекарственные вещества достаточного количества, позволяют использовать такие живые корма для подавления бактериальной инфекции [87].

По результатам научных опытов установленных группой итальянских исследователей установлен эффективный метод лечения псевдомоноза, с использованием порошка окситетрациклина (98%), в дозах 50 мг/ кг рыбы или 5 г/кг корма, в течение 7 дней. Кроме того, процедуры с тетрациклином и хлорамфениколом были также эффективны в борьбе с данным бактериозом, дозировка которых и длительность лечения схожи с окситетрациклином [192].

Однако данный способ лечения должного терапевтического эффекта не влечет, наоборот длительное скармливание кормами с антибиотиком привело к увеличению количества псевдомонад, и появились устойчивые к

хлортетрациклину бактерии. Поэтому антибиотики не рекомендуется использовать в качестве кормовых добавок, а также длительно применять их для лечения без учета чувствительности к ним бактериальной флоры [131].

Кроме того лечение с использованием лечебных кормов усложняется еще тем, что у истощенных болезнью рыб наблюдается снижение аппетита или вовсе отказ от корма [32, 116].

Должный эффект дает метод терапии псевдомоноза осетровых рыб путем индивидуальных внутримышечных инъекции антибиотиковых препаратов. Необходимо учесть тот факт, что псевдомонады, отличие от аэромонад, устойчивы к действию таких препаратов, как левомицетин, фуразолидон, нитрофурантоину, и наибольшую чувствительность проявляют к хлортетрациклину, тетрациклину, неомицину [21, 52].

Известный способ борьбы с данной инфекцией – это использование антибактериального препарата цефазолин, который наиболее эффективен при двухступенчатой схеме инъекирования. Предложенный Чепурной М.А. (2013) способ заключается во введении антибиотика в дозе 50 мг на кг массы тела, а повторное – в количестве 25 мг на кг массы рыбы. Если этот способ дает положительный результат при средней тяжести заболевания, а при более запущенных случаях заболевания допускается двоекратное увеличение дозы. При этом автор предлагает проводить данный способ лечения в комплексе с пробиотиком, например «ВИТАН+», при этом кормление начинают через полсуток после начала лечения [116].

Широко используемый на практике способ лечения бактериоза путем внутрибрюшинных инъекций антибактериальным препаратом дибиомицин (экмодибиомицин), которого растворяют в соотношении 1:10 в экмолине и вводят из расчета 0,25 мг/кг массы рыбы. Однако применение данного препарата не обеспечивает полное выздоровление при тяжелых случаях псевдомоноза [32].

Внутримышечное или внутрибрюшинное введение 10%-ного раствора метациклина – полусинтетического аналога окситетрациклина в дозах 5-15

мг/кг массы рыб через каждые 3-4 дня показал значительные результаты при лечении псевдомоноза карповых. Авторы работы отмечают нецелесообразность применения производных пенициллина (доксциклин, оксалицин) ввиду быстрого выведения из организма рыб и сверхчувствительности к ним патогенных псевдомонад, а гентамицин – из-за низкой всасываемости [82].

Для лечения псевдомоноза конкретных методов терапии не разработаны. Однако на производственной практике, помимо инъекции и лечебных кормлений применяют метод лечебных ванн с растворами формалина, активного хлора, органических красителей, а также вышеуказанного Антибака, который в значительной мере дают положительный эффект. Следует отметить, что такие процедуры нужно проводить в отдельных бассейнах вне системы УЗВ, так как высока вероятность повреждения биологических фильтров.

Проведение манипуляции путем погружения больных осетров в лечебные ванны с перманганатом калия (KMnO_4), в расчете 0,5 г на 10 л воды, с длительностью экспозиции 15 минут, двукратно; основным фиолетовым К – 0,002 г на 10 л воды, выдерживают рыбу 4 суток, однократно; хлорной известью или антибиотиками (окситетрациклин) соответствующей концентрации [104].

Также известно применение хлорамина Б, марганцовокислого калия, перекиси водорода, нитрофуразона и препаратов тетрациклинового ряда для наружных обработок язвенных поражений [56].

Шестикратное использование через день путем добавления препарата «Бициллин-5» в общие посадочные бассейны с больными рыбами (500 000 ЕД на 100 л воды); четырехкратная обработка гидрохлоридом хлортетрациклина – 1,5 г на 100 л, дают положительные результаты.

Авторами отмечается, что данный способ лечения болезни наиболее эффективен в начальных стадиях болезни. Однако в производственных условиях при средней степени зараженности данные методы не способны оказывать никакого положительного действия, как при кратковременном, так и при пролонгированном использовании. При сильном псевдомонозом

поражении особей применение данного метода лечения способствует лишь к ускорению их гибели.

1.3.6 Профилактика псевдомоноза

Основными манипуляциями, нацеленных на профилактику псевдомоноза являются систематическая очистка всех компонентов УЗВ, проведение комплекса плановой текущей и заключительной дезинфекции всех посадочных бассейнов, предупреждение механического травмирования путем урегулирования плотности посадки гидробионтов и исключения грубых, острых предметов в емкостях, способных нанести повреждение кожного покрова осетровых рыб.

Еще одним составляющим в профилактировании возникновения инфекционной патологии является карантинирование новой завезенной партии осетров из других рыбоводческих предприятий.

В профилактических целях данного бактериоза в условиях замкнутых систем водообеспечения используют пробиотики, которые ввиду отсутствия пагубного воздействия на бактериальную пленку биологических фильтров, нашли широкое применение как в осетроводстве, так и индустриальной аквакультуре в целом [3, 92, 121].

Из опыта зарубежных ученых известно использование бактерии *Ps. chlororaphis* качестве потенциальных пробиотиков в борьбе с бактериальными заболеваниями пресноводных рыб [161].

В России также известны методы применения препаратов на основе бактерии, так например, отечественный препарат Субалин из *Bacillus subtilis* используется для иммуностимуляции и подавления аэромонад, псевдомонад, а также нейтрализации микробных токсинов [41, 93, 111, 129].

Для поднятия иммунного статуса рыб находит применение препарат Субтилис на основе ассоциации бактерии рода *Bacillus*, имеющих способность

антагонического подавления широкого спектра условно-патогенной и патогенной микрофлоры [56].

Существует разработанный специалистами Токийской экспериментальной рыбохозяйственной станции метод вакцинирования рыб ацетон-сухим Бактерином – вакцины против бактериальных геморрагических септицемии, изготовленной из культивированных бактерий *Ps. plecoglossicida* путем инкубирования в течение 2 часов и обезвоживания ацетоном. Вакцину проводили перорально введение в аю (средняя масса тела: 4,0 г и 3,6 г) с пищей дважды через 2 недельный интервал. После 2 недели после профилактического вакцинирования рыб инфицировали погружением в микробную суспензию или инъекцией *Ps. plecoglossicida*. Бактерин показал значительную эффективность при бактериальной геморрагической септицемии 40-90%, однако эти исследования не нашли применения в производственных условиях.

Экспериментальная вакцина на основе формалин- и термоинактивированные клетки *Ps. anguilliseptica*, используемый для предотвращения псевдомоноза угрей обеспечивает защиту в незначительной степени от патогенных форм бактерии рода *Pseudomonas* [170].

Бактерин против *Ps. anguilliseptica* также смог обеспечить защиту тюрбо (*Scophthalmus maximus*) в течение 12 недель при тестировании в экспериментальном испытании. Однако в настоящее время в продаже нет вакцины для защиты водных животных от бактериальных инфекций *Pseudomonas* [191].

Необходимо учитывать, что регулярное применение в условиях индустриальной аквакультуры противомикробных препаратов в целях лечения и профилактики невольно приводят к повышению антибиотиковой резистентности штаммов бактерии рода *Pseudomonas*, помимо того, что возбудителям псевдомоноза свойственен высокий уровень естественной устойчивости к действиям антибиотиков и химических препаратов, применяемых в рыбоводстве [71, 155].

Следовательно, распространение устойчивых к антибиотикам штаммов возбудителя будут расширяться по мере использования противомикробных препаратов, опережая на шаг. Так как еще в мире не создано ни одного химиотерапевтического соединения, к которому не возникала бы микробная резистентность [18, 178].

II СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Научно-квалификационная работа выполнена в период с октября 2015 по май 2018 гг., экспериментально-производственная часть, которой произведена на базе специализированного центра аквакультуры научно-исследовательского института биотехнологии и природопользования НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана» и в ТОО «Учебно-научный комплекс опытно-промышленного производства аквакультуры» (г. Уральск, Республика Казахстан) на основании соглашения о сотрудничестве в сфере научных исследований № 12 от 10 октября 2015 года. Лабораторные исследования по идентификации возбудителя проведены в бактериологическом отделе ГБУ «Республиканская ветеринарная лаборатория РТ», изучение патогистологических изменений органов и тканей осетров при данной инфекционной патологии – на кафедре анатомии, патологической анатомии и гистологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (г. Казань, Республика Татарстан, РФ).

Сформированные ремонтные и маточные поголовья осетровых рыб, в числе которых белуга (*Huso huso* (L.)), русский (ленский) осетр (*Acipenser guldenstadtii*), сибирский осетр (*Acipenser baerii*), севрюга (*Acipenser stellatus Pallas*), стерлядь (*Acipenser ruthenus* L.), шип, а также их гибриды: стербел, бестер и т.д., выращиваемые в условиях установок замкнутого водоснабжения, послужили объектами исследований. Собственные исследования проводили согласно нижеприведенной схеме (рис.1). Объем исследований приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Объем проведенных исследований

Наименование исследований	Всего	Начальная стадия болезни	Генерализованная форма болезни
Клинически осмотрено, рыб	1207	–	–
Выявлено больных, рыб	264	157	141
Вскрыто, рыб	152	27	125

Таблица 1 – Объем проведенных исследований (продолжение)

Наименование исследований	Всего	Начальная стадия болезни	Генерализованная форма болезни
Бактериологические исследования, проб	349	–	–
Гистологические исследования органов и тканей, рыб	46	12	34
Изготовлено гистологических препаратов, шт.	287	93	154
Лечению подвергнуто, рыб	40	40	–

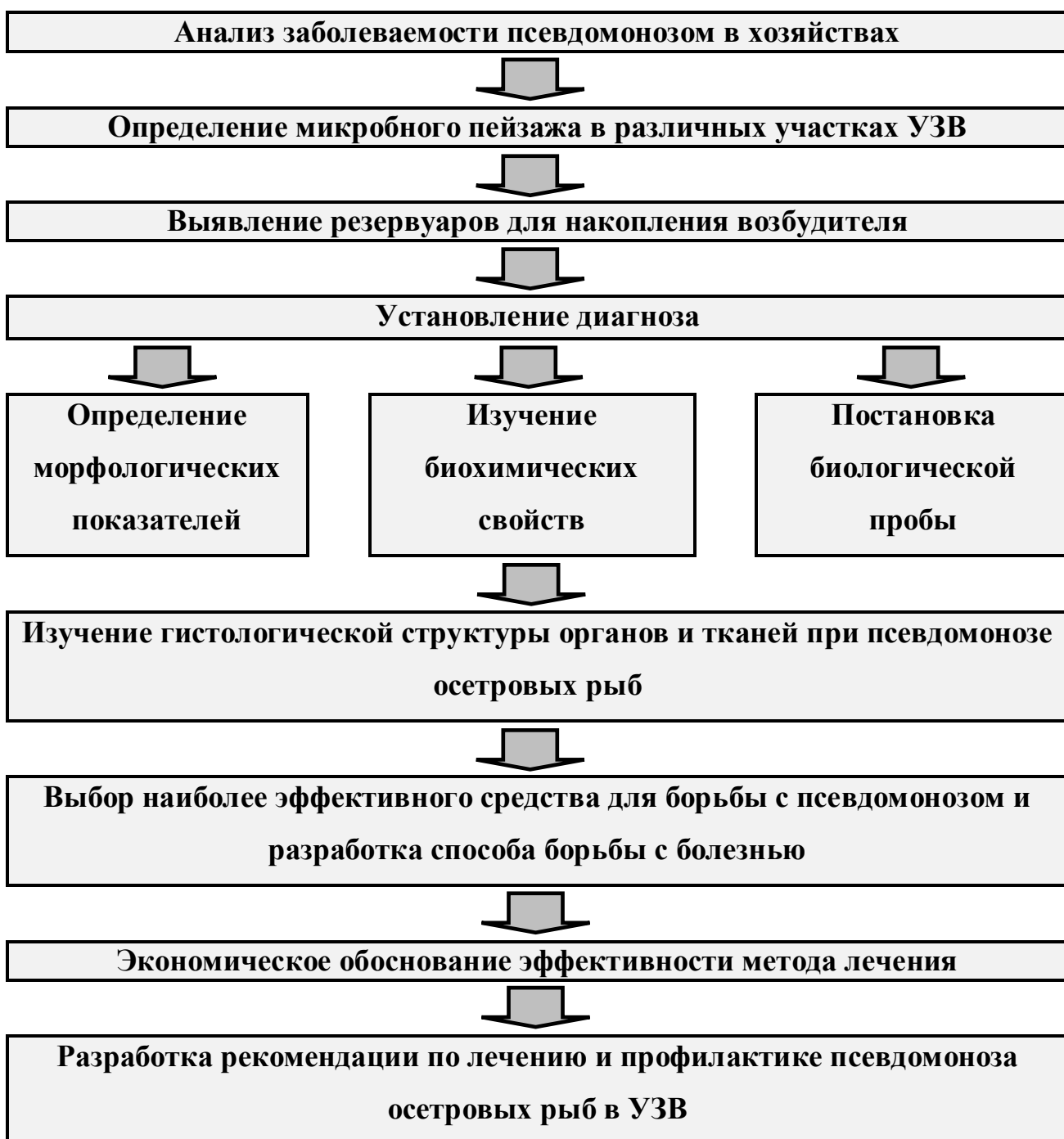


Рисунок 1 – Общая схема исследований

2.1.1 Определение нозологического профиля болезней осетровых и изучение закономерности возникновения псевдомоноза в УЗВ

При определении нозологического профиля болезней в осетроводческих хозяйствах использованы методы ретроспективного анализа, клинико-эпизоотологического обследования и лабораторного исследования [13, 120, 138].

Ретроспективный анализ заболеваемости болезнями различной этиологии проводился по данным учетной документации путем группировки зарегистрированных случаев болезни осетров в условиях УЗВ в хронологическом порядке.

Физиологическое состояние оценивали с помощью клинического осмотра рыб, при котором учитывались основные показатели (изменения в поведении рыб, снижение аппетита и дальнейшее прекращение питания, сверхнормативный отход), а также проявление клинических признаков, к примеру, образование язвенных поражений на различных участках тела, воспаление ануса, пучеглазие при псевдомонозе [13].

Микробиологические и паразитологические исследования больных и павших осетров проводили по Л.И.Грищенко, М.Ш. Акбаеву и др. [10]

Для установления закономерностей и сезонной динамики возникновения псевдомоноза в условиях УЗВ произведен учет за регулировкой температуры воды при создании искусственной зимовки для получения икры путем прижизненного сцеживания. Для оценки интенсивности эпизоотического процесса ежемесячно проводился анализ заболеваемости и летальности при псевдомонозе.

2.1.2 Методика изучения естественной микрофлоры среды обитания

Комплекс бактериологических исследований по изучению микробной обсемененности с целью выявления резервуаров для накопления патогенных

бактерий в различных участках УЗВ произведено общепринятыми методами с дальнейшей идентификацией микроорганизмов, с целью выявления возбудителя инфекционной патологии.

Материалом исследований послужили смывы, взятые со всех компонентов системы: со стен посадочных и карантинных бассейнов, отстойников для сбора продуктов первичной механической фильтрации оборотной воды, с поверхностей плавающих нагрузок биофильтров, аэрационных «флейт» стерильными ватными тампонами, смоченными в физиологическом растворе (транспортная среда). После центрифугирования проб при обороте 3000 об/мин сливается надосадочная жидкость, далее тщательно перемешанный исходный материал используют для посева на питательные среды: на МПА, среду Эндо, среду Сабуро – для определения общего микробного числа, выделения бактерий группы кишечной палочки, а также установления наличия дрожжей и плесневых грибов соответственно.

Для определения количества микробов в 1 мл исследуемого объекта использован метод подсчета КОЕ путем умножения числа выросших в чашке колоний после инкубации в термостате в течение времени, необходимой для роста каждого из видов бактерий, на степень разведения пробы и вычисляют среднее арифметическое количество колоний, подсчитанных на двух чашках [108].

2.1.3 Бактериологическая идентификация возбудителя при постановке диагноза

Для бактериологического исследования по идентификации и дальнейшей типизации возбудителя берутся смывы со всех участков установки замкнутого водоснабжения. Кроме того для этой цели происследованы патологические материалы, взятые из вскрытых осетров, павших от инфекционной патологии. Высевы произвели из асцитной жидкости, сердца, печени, селезенки, содержимого из полости раны (отдельно из каждой пробы) на скошенный

МПА, которых инкубировали в термостате при температуре 25°C в течение 48 часов.

Изучение возбудителя проведено согласно схеме Кауэн и Стил, которые в качестве исходного пункта идентификации бактерии предлагают начать с определения формы микробной клетки, далее устанавливают ее морфологические и тинкториальные признаки кислотоустойчивость, способность образовывать споры и капсулу путем микроскопии фиксированных и окрашенных препаратов, а также подвижность – живых неокрашенных микроорганизмов в раздавленной капле [153, 160].

Для определения родовой и межродовой дифференциации бактерий изучены биохимические свойства бактерии согласно инструкции по применению набора реагентов № 2 «Система индикаторная бумажная для идентификации микроорганизмов». Ключ к определению вида, подвида и типа возбудителя находят путем сопоставления полученного результата с таблицами, представленными в сборнике инструкции по борьбе с болезнями рыб (Часть I), с соответствующими характеристиками бактерии.

Биологическую пробу ставили на клинически здоровых рыбах тех же вида и возраста, от которых выделена культура возбудителя. Для этого осетрам внутримышечно в дозе 0,5 мл инъецирована двухсуточная бульонная культура. Кроме того, одновременно поставили отрицательный контроль путем введения рыбам стерильного МПБ в вышеуказанной дозировке. При появлении симптомов заболевания или гибели искусственно зараженных рыб проводят повторное бактериологическое исследование и только при повторном выявлении культуры с характерной, для возбудителя болезни, свойствами у подопытных рыб лабораторный диагноз считает установленным.

2.1.4 Определение чувствительности возбудителя к антибиотикам *in vitro*

Целью исследований является выбор наиболее эффективного средства для борьбы с псевдомонозом осетров, выращиваемых в условиях УЗВ. Для

определения чувствительности бактерии к антибиотикам использовали диско-диффузионный метод, суть которого заключается в формировании зон подавления роста микроорганизмов вокруг дисков с антибиотиками. Для этого бактериальную суспензию из культуры возбудителя, изолированных от больных псевдомонозом рыб, наносят на поверхность питательной среды АГВ, затем легким нажатием помещают диски, содержащие антибиотики по предварительно отмеренным сегментам на дне чашки. Результат учитывают путем измерения диаметра образовавшейся вокруг диска с антибиотиком зоны в миллиметрах после инкубации чашек Петри в термостате при температуре 37°С в течение 24 часов.

Интерпретируют полученные результаты исследований следующим образом: если вокруг диска отсутствует зона подавления роста микробов то, это указывает на нечувствительность возбудителя; наличие зон диаметром до 10 мм свидетельствует о малой чувствительности культуры; диаметр зоны задержки роста бактерии более 10 мм – испытываемая культура чувствительна к данной группе антибиотика и концентрации. Следовательно, чем больше зона задержки роста культуры, тем выше ее чувствительность к испытываемому противомикробному препарату.

2.1.5 Методика проведения гистологических исследований

Для гистологических исследований сразу после вскрытия, павших от псевдомоноза осетровых рыб, взяты поврежденные псевдомонозными поражениями участки кожи с прилегающей мышцей на границе со здоровой тканью, жаберные лепестки, кусочки паренхиматозных органов с признаками патологии (печень, почки, селезенки), желудочно-кишечного тракта. Взятый патологический материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, а обезвоживание производили в этиловом спирте возрастающей плотности. Материал уплотняли путем заливки в парафин. Гистологические срезы толщиной 8-10 мкм изготавливали на роторном микротоме Ротмик-5М и

окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические срезы изучали при помощи тринокулярного микроскопа МС-300 (Австрия), с фотонасадкой фотографировали с помощью программы визуализации BioVision. Параметры морфометрии органов, тканей и клеток оценивали при помощи микроскопа Carl Zeiss Iena (Германия) с окулярным винтовым микрометром МОВ-1-15х [1].

Обработку полученного цифрового материала производили методом вариационной статистики при помощи программы Microsoft Excel 2007.

Всего гистологическим исследованиям подвержено 12 экземпляров условно-здоровых и 26 – больных псевдомонозом рыб семейства осетровых.

2.1.6 Методика определения лечебной эффективности антибиотиков

Предварительно для выявления наиболее эффективных антибактериальных средств проведено сравнительный анализ чувствительности возбудителя к антибиотикам. Выбор антибиотиков производили с учетом действия на грамотрицательные бактерий, способа применения и времени действия.

Опыты проводятся в 4 карантинных бассейнах объемом 30м³ каждый. Для постановки эксперимента в опытные и контрольные группы должен быть отобран по 10 экз. (не менее) рыб больных псевдомонозом на различных стадиях болезни (начальная, язвенная) [35].

При оценке результатов лечения учитывается изменения клинического состояния гидробионтов, сроки полного выздоровления, наличие или отсутствие падежа осетровых рыб. Эффективность лечения оценивали как отношение между выздоровевшими (у которых на 7 сутки исследований отсутствовали признаки заболеваний) и заболевшими животными, выраженное в процентах.

2.1.7 Определение экономической эффективности применения лечебных мероприятий

Для оценки масштабов экономического ущерба для хозяйства, причиненной псевдомонозом осетров, выращиваемых в условиях УЗВ, произведен расчет согласно принятой методике [90].

При обосновании экономической эффективности терапевтических мероприятий проведенного сравнительного эксперимента ранее не применявшегося в ихтиопатологической практике противомикробного средства с используемым методом лечения псевдомоноза в производственных условиях рыбоводческого хозяйства определен предотвращенный ущерб, в результате лечения больных рыб, экономический эффект и экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат.

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Эпизоотическая ситуация в хозяйствах

Изучение эпизоотической ситуации по псевдомонозу осетровых проводился на базе специализированного центра аквакультуры Научно-исследовательского института биотехнологии и природопользования Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана и ТОО «Учебно-научный комплекс опытно-промышленного производства аквакультуры» в период с октября 2015 по май 2018 гг.

Созданный на базе Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана г. Уральск центр аквакультуры – один из крупнейших осетроводческих предприятий Республики Казахстан, специализирующийся в научных исследованиях в области разведения осетровых рыб с 2009 года. В условиях замкнутых водных систем научно-исследовательского института выращиваются осетровые рыбы многих видов, в том числе: русский осетр (*Acipenser guldenstadtii*), сибирский осетр (*Acipenser*

baerii), белуга (*Huso huso* (L.)), севрюга (*Acipenser stellatus Pallas*), шип, стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) и гибриды стербел, бестер и т.д.

ТОО «Учебно-научный комплекс опытно-промышленного производства аквакультуры» – экспортоориентированный проект по производству черной икры и товарной осетрины, где впервые данный процесс будет происходить в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ). В данных условиях, позволяющей круглый год поддерживать искусственно созданный «климат», происходит более интенсивный рост рыб, а сокращаются сроки ее готовности метать икру. Производительная мощность предприятия рассчитана на получение 10 тонн икры и более 130 тонн осетрины в год, что в четыре раза выше, чем в классических рыбных хозяйствах аналогичного профиля с открытыми водоемами.

В период проведения работы нами произведены более подробные обследования всего поголовья рыб с целью выяснения текущей эпизоотической ситуации и выявления клинически больных рыб.

По итогам ретроспективного анализа и эпизоотологического мониторинга распространения болезней рыб, выращиваемых в условиях УЗВ, проведенного в период с октября 2015 по сентябрь 2016 года определен нозологический профиль болезней осетровых рыб за 1 календарный год, представленный в основном инфекционными и инвазионными нозологическими формами, а также единичными случаями регистрации незаразных болезней и отравлений рыб. Коэффициент заболеваемости определяли соотношением заболевших животных на общее количество рыб, следовательно, летальность – по мере падежа рыб и установления диагноза патологоанатомическими и бактериологическими исследованиями соотношении их к числу заболевших в процентах (таблица 2).

Таблица 2 – Нозологический профиль патологий осетровых рыб в УЗВ

№ п/п	Нозологическая форма	За календарный год		Коэффициент заболеваемости, %	Коэффициент летальности, %
		Исследовано всего экз.	Выявлено больных экз.		
Инфекционные болезни					
1	Аэромоноз	345	71	20,8	17,7
2	Псевдомоноз	405	93	22,9	57,9
3	Миксобактериоз	372	57	15,3	9,4
Инвазионные болезни					
4	Аргулез	50	5	10,0	6,1
5	Писциколез	10	1	10,0	5,8
6	Диклиботриоз	70	9	12,8	7,6
7	Ихтиофтириоз	350	150	42,8	15,4
Болезни грибковой этиологии					
8	Сапролегниоз	15	2	13,3	8,2
Незаразные болезни					
9	Отравление нитритами	57	5	8,7	5,3
10	Механическая травма	18	1	5,5	3,4

По результатам проведенных исследований можно отразить линейно-радиальной схемой распространения болезней осетровых в условиях УЗВ (рисунок 2).

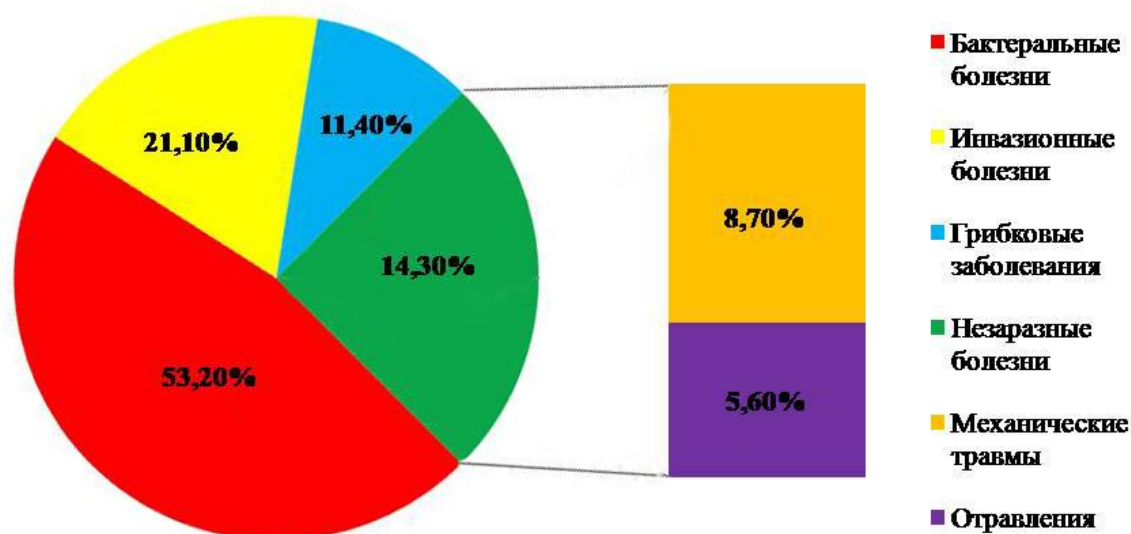


Рисунок 2 – Линейно-радианная модель нозологического профиля по основным группам патологий осетровых, выращиваемых в УЗВ

Мониторинг по выявлению больных псевдомонозом рыб в хозяйствах проводился ежемесячно для установления сезонной динамики заболеваемости выращиваемого контингента. С целью предупреждения дальнейшего распространения псевдомоноза при обнаружении рыб с язвенными поражениями и другими клиническими признаками этой патологии, больных животных переводят в карантинные бассейны для проведения лечебных мероприятий. С целью профилактики острых вспышек псевдомоноза в хозяйстве проведены плановые ветеринарно-санитарные мероприятия: солевые ванны для всего поголовья, обработка обслуживающего инвентаря дезинфицирующими растворами и т.д. Однако произведенные мероприятия полную гарантию полного прекращения болезни не дают, т.к. ежемесячно регистрировались новые случаи заболевания. Показатель уровня летальности при данной патологии довольно высок, периодически она достигала до 50-70%.

2.2.2 Результаты клинического осмотра больных осетров

В ходе клинического осмотра всего поголовья осетровых в хозяйстве было происследовано свыше 1000 голов рыб и установлено, что проявление псевдомоноза типичное. Проведенные исследования показали, что данный бактериоз в условиях УЗВ чаще протекает в острой и хронической форме и регистрируется в основном среди 2-5-летних осетров всех видов.

При острой форме болезни в поведении рыб отклонения от нормы не наблюдаются, отмечаются лишь скопление рыб вблизи аэрационных установок. Клинически болезнь проявляется обнаружением небольших очаговых кровоизлияний в основном в области спины, в перепонках между лучами грудных, анальных и хвостовых плавников или на их основаниях, жучек, а также на поверхности жаберных лепестков, незначительное покраснение рострума анального отверстия (рисунки 3-6).

При хронической форме псевдомоноза у рыб отмечаются вялость, слабовыраженная реакция на внешние раздражители, хаотичные движения при

плавании, преимущественно рыбы плавают на верхней трети слоя воды, скопление большого количества рыб у источников кислорода – аэраторных «флейт». Клинические признаки выражаются в основном глубокими язвенными поражениями с обозначенными краями и ярко красным дном, в различных частях тела осетров. Наиболее часто такие поражения обнаруживаются в области дорсальной и вентральной частей туловища, на поверхности жаберной крышки, в основаниях жучек, грудных и анальных плавников, наблюдается пучеглазие, воспалительные процессы вокруг анального отверстия все эти признаки свойственны при данной форме инфекции. При более запущенных поражениях плавников некротические процессы проявлялись полным разрушением «мягких тканей» с обнажением хрящевой основы (рисунки 7-12).



Рисунок 3 – Небольшое поражение в хвостовой части тела осетра



Рисунок 4 – Поражения при псевдомонозе осетра у основания жучек.
Воспаление анального отверстия



Рисунок 5 – Глубокие язва кожи у основания левого грудного плавника при псевдомонозе осетра



Рисунок 6 – Поражение межлучевых перепонок хвостового плавника



Рисунок 7 – Поражение на жаберной крышке и экзофтальмия при псевдомонозе осетра



Рисунок 8 – «Выстреливание глаза» при тяжелой форме псевдомонозе осетра

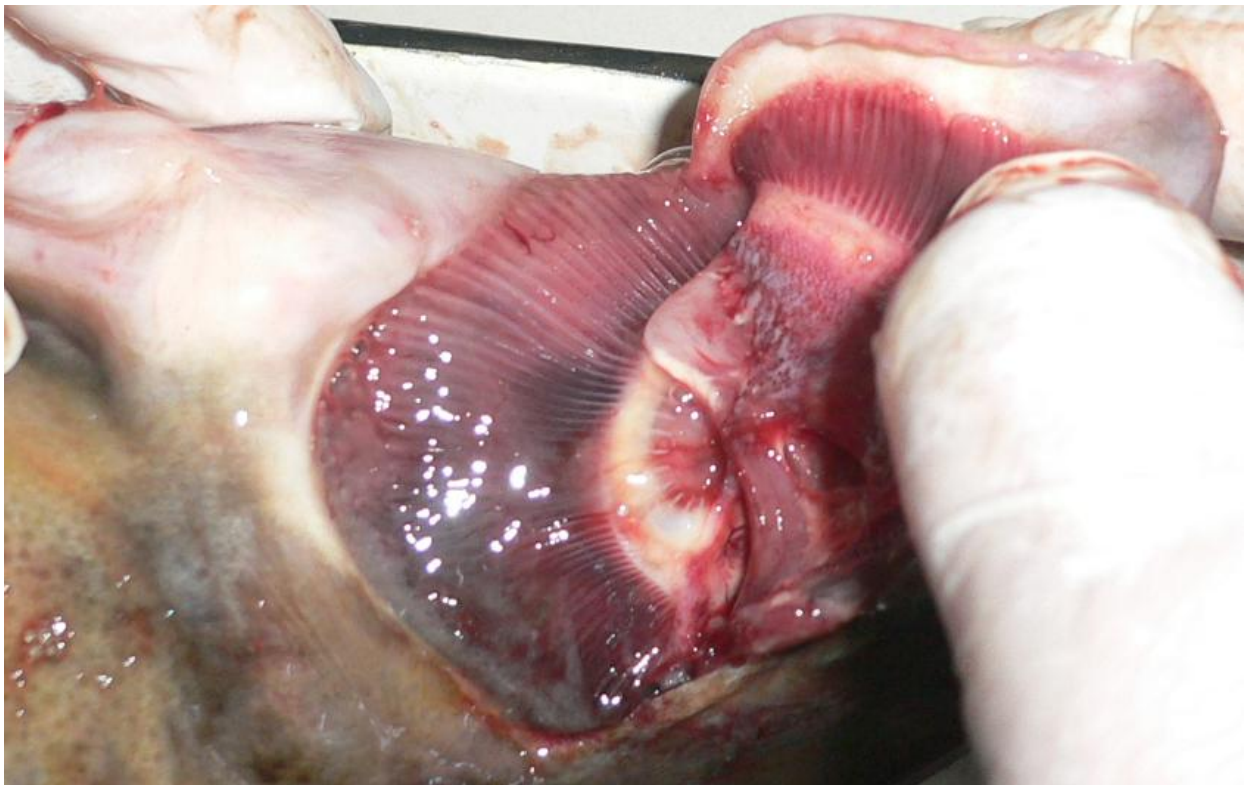


Рисунок 9 – Кровоизлияние и некроз жаберных лепестков осетра больного псевдомонозом



Рисунок 10 – Оголение хорды тела хвостового плавника



Рисунок 11 – Язвенное поражение в области спины осетра при псевдомонозе



Рисунок 12 – Большие глубокие язвенные поражения кожи с обнажением хорды в области спины осетра больного псевдомонозом

2.2.3 Результаты патологоанатомического вскрытия осетровых рыб

Для подтверждения клинического диагноза проводилась патологоанатомическое вскрытие, в ходе которого обнаруживались множественные точечные кровоизлияния на серозных оболочках органов пищеварения, спленомегалия, белковый гепатоз, а также образование в брюшной полости кровянистой жидкости (рисунки 13-15). Для более точной диагностики были взяты патологический материал: кусочки паренхиматозных органов, органов желудочно-кишечного тракта, а также из областей поражения, который направлялся для бактериологических исследований в лабораторию. При этом была выделена в основном смешанная микрофлора, включающая следующие естественную микрофлору, а также были изолированы патогенные штаммы бактерий рода *Pseudomonas*. Таким образом, нашими исследованиями подтвержден диагноз на псевдомоноз осетров.

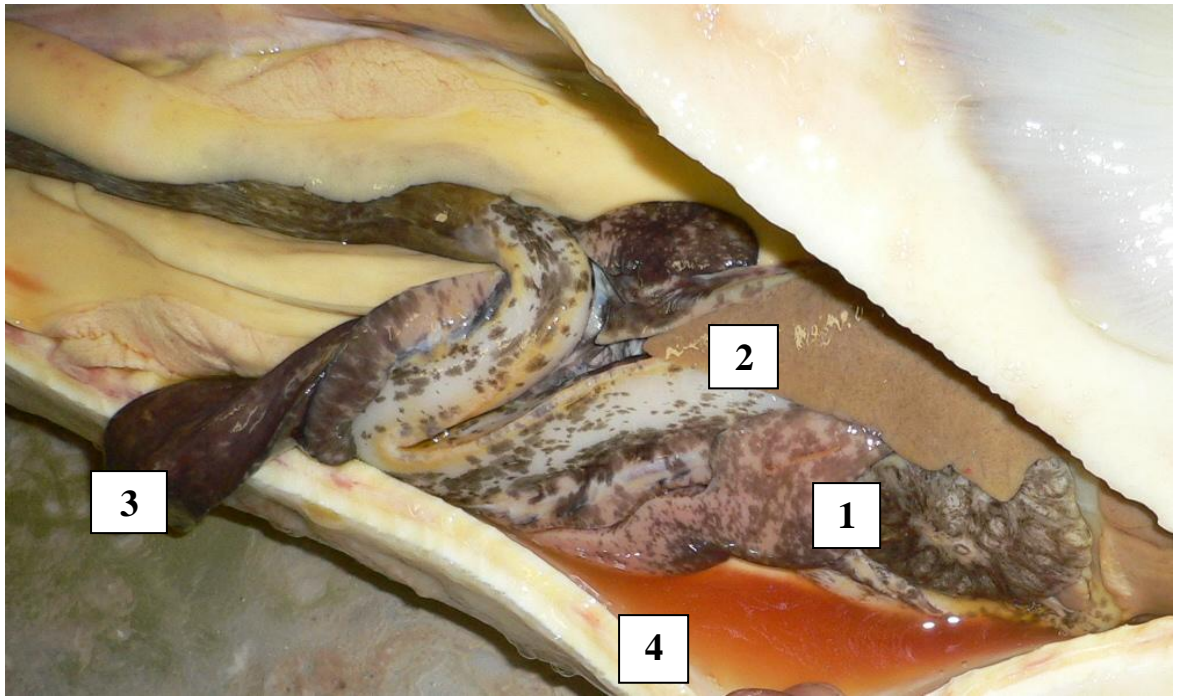


Рисунок 13 – Гиперемия пилорической железы (1), белково-жировая дистрофия печени (2), спленомегалия (3) и скопление кровянистой жидкости в брюшной полости (4) осетра при псевдомонозе

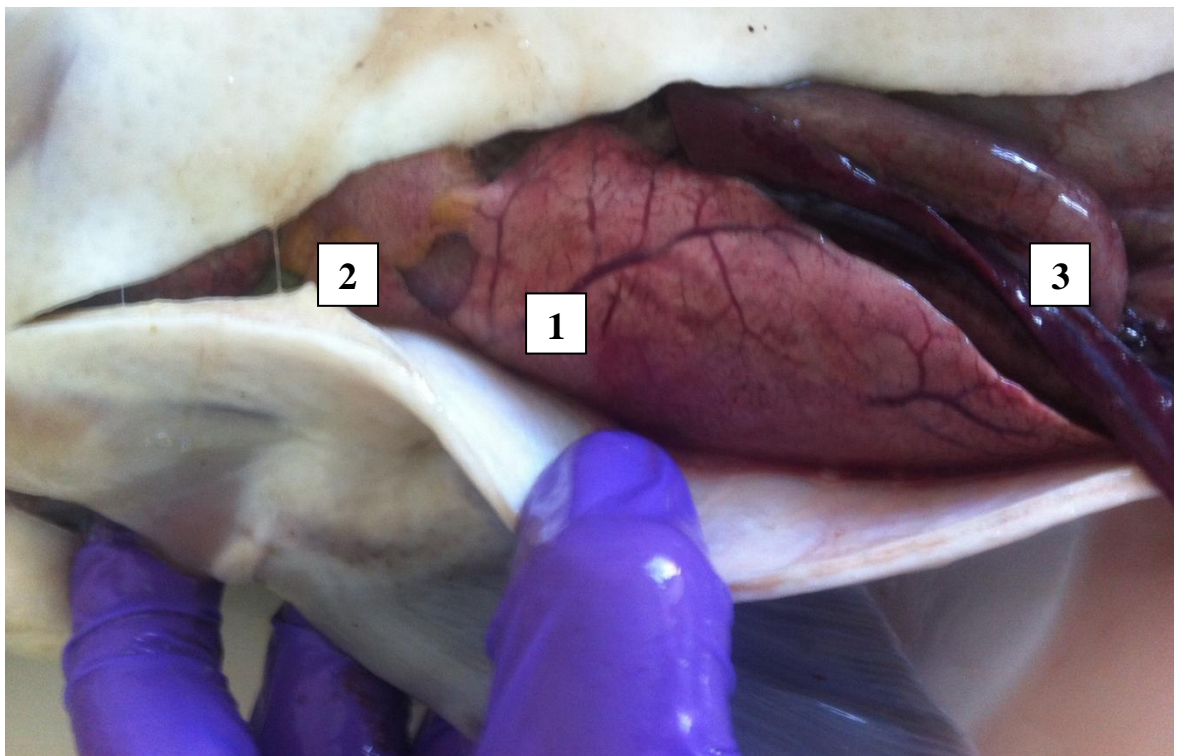


Рисунок 14 – Острая гиперемия сосудов печени (1), застой желчи (2) и увеличение селезенки (3) при псевдомонозе осетра

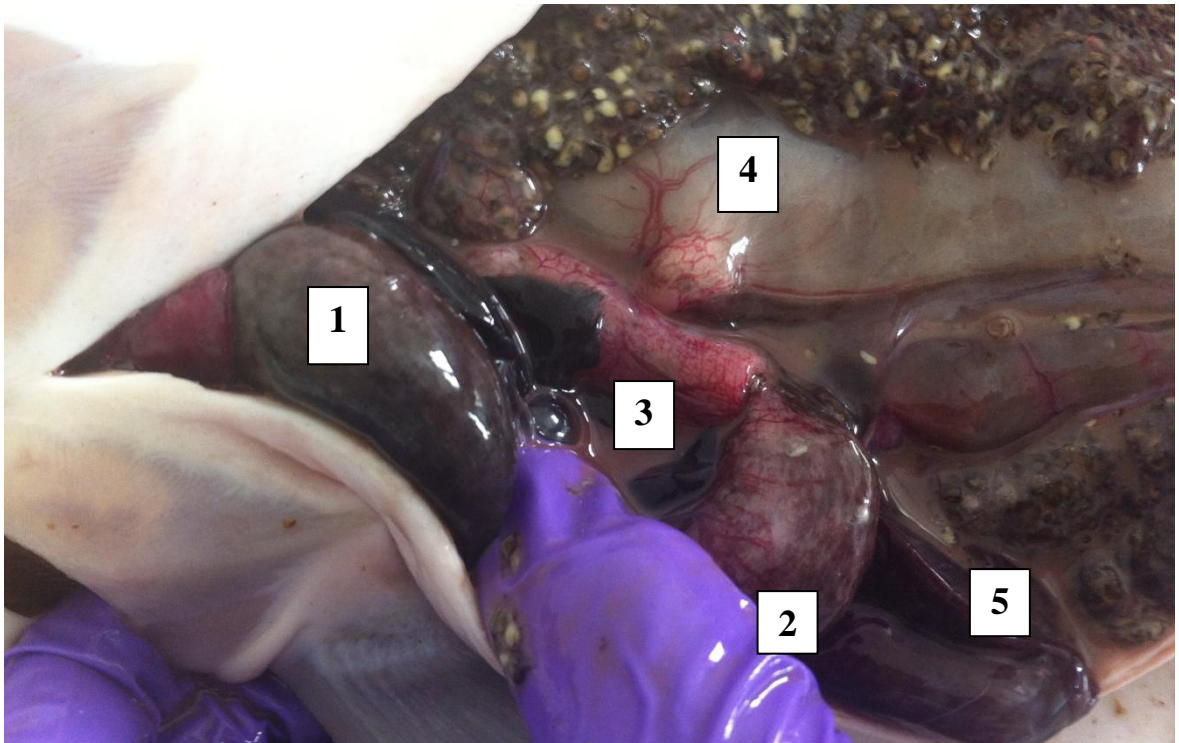


Рисунок 15 – Застойная гиперемия кардиальной (1) и пилорической (2) частей желудка, стенок тонкого кишечника (3) и воздухоносного мешка (4) и селезенки осетра (5) больного псевдомонозом

2.2.4 Определение степени заболеваемости и летальности при псевдомонозе

Для определения сезонной динамики псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в условиях УЗВ, ежемесячно проводились работы по выявлению клинически больных рыб, а также анализ регистрируемых случаев гибели от изучаемой патологии. Для представления полной картины сложившейся ситуации возникновения псевдомоноза осетровых в хозяйстве в зависимости от температуры водной среды на рисунке 16 приведены количество заболевших и павших от болезни рыб (гол.).

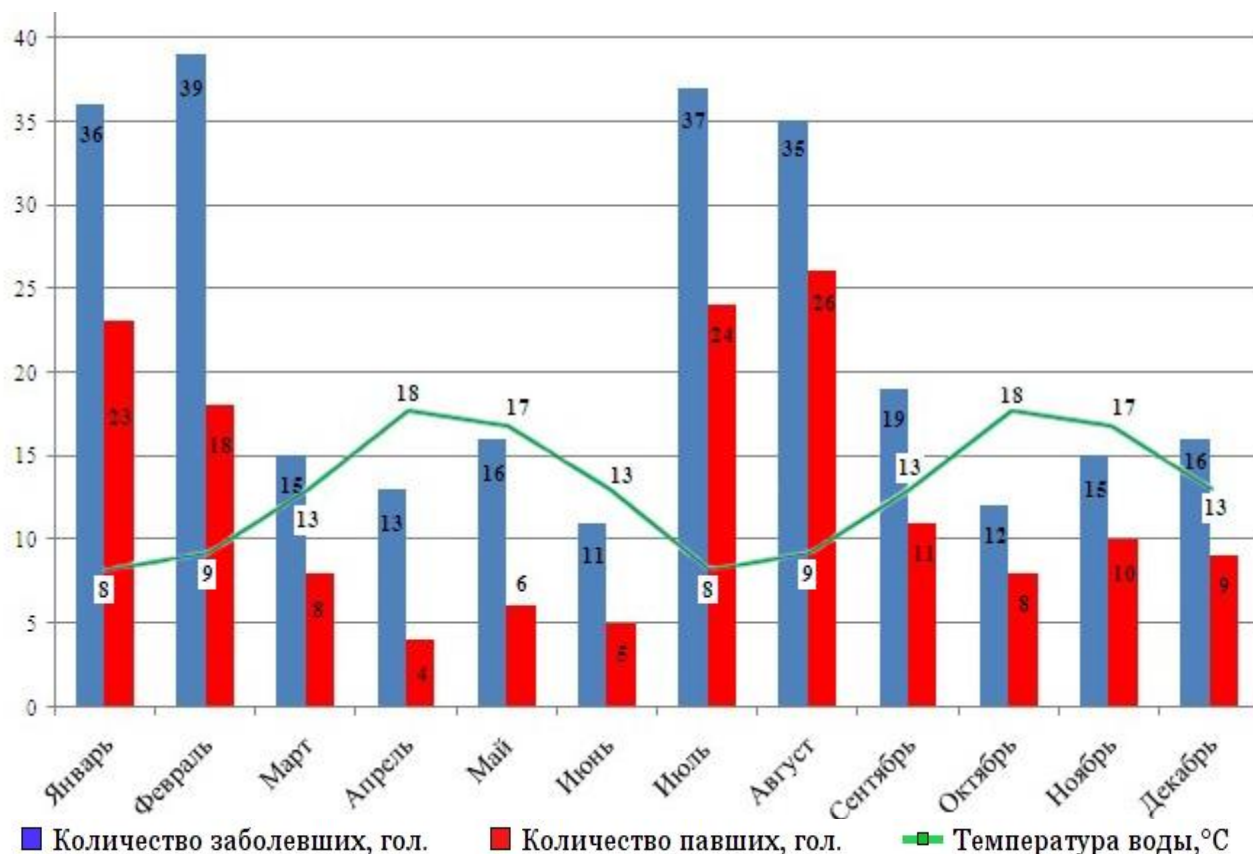


Рисунок 16 – Влияние коррекции сезонных биоритмов на заболеваемость псевдомонозом осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ

Из диаграммы следует, что основные периоды вспышки псевдомоноза приходятся на летние и зимние периоды, что соответствует периодам регулирования температурного режима для получения черной икры, то есть в чиллере (установка для понижения температуры воды) снижают температуру среды обитания (температура воды равна 8-10°C) для создания «искусственной зимовки».

Возникновение псевдомоноза среди осетровых рыб в периоды повышения температуры воды объясняется активизацией патогенности аутоинфекции (бактерий рода *Pseudomonas*) на фоне снижения общей резистентности организма после прижизненного сцеживания черной икры, как правило, заболевание возникает среди маточного поголовья, которые прочипированны, для исключения повторного использования их в течение одного года для получения икры. В ходе изучения микробного пейзажа органов

условно-здоровых осетров установлено псевдомононосительство, условно-патогенные микроорганизмы обнаружены в составе кишечной микрофлоры рыб.

2.3 Результаты бактериологических исследований

2.3.1 Изучение микробного пейзажа в участках УЗВ

Анализ бактериологических показателей в различных участках УЗВ: аэрационные флейты, поверхности посадочных бассейнов, отстойники, плавающих нагрузок биофильтра, а также инвентаря (сачок) показал, что рост

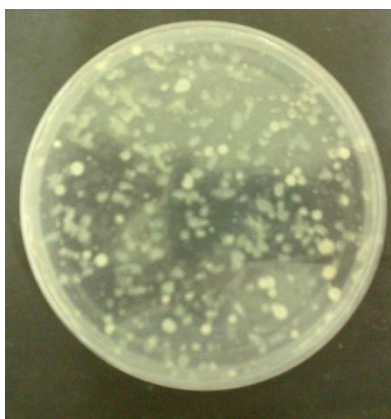


Рисунок 17 – Рост бактерий на МПА

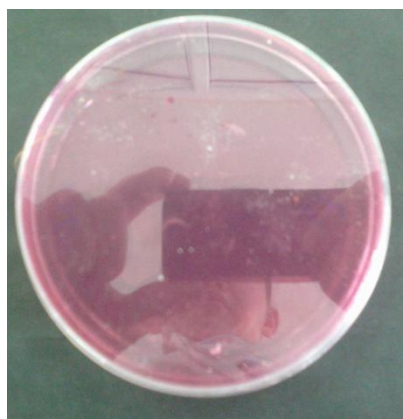


Рисунок 18 – Рост бактерий на среде Эндо



Рисунок 19 – Рост грибов на среде Сабуро

бактерии, грибов идет повсеместно (рисунки 17-19).

При изучении микробного пейзажа установлено наличие во всех участках системы тест-микробов (*E.coli*, стафилококки). Кроме того отмечено рост условно-патогенной микрофлоры (после идентификации бактерии установлен преобладающим был род *Pseudomonas*) на поверхности МПА и грибов *Saprolegniales* – на среде Сабуро.

Подсчет КОЕ произведенный по методу Смирновой Л.И., чтобы результаты выразить количеством микробов в 1 см³ исследуемого объекта или продукта, число выросших на чашке колоний умножено на степень разведения пробы и вычислено среднее арифметическое количество колоний, подсчитанных на двух чашках. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Бактериологические показатели в различных участках УЗВ

Образцы	Питательная среда	ОМЧ	Наличие/отсутствие микроорганизмов			
			<i>E.coli</i>	Стафилококки	Условно-патогенная микрофлора	Грибы
Аэратор (флейта)	МПА	$0,26 \times 10^3$	+	+	+	–
	Эндо	$0,18 \times 10^3$	+	–	–	–
	Сабуро	$0,23 \times 10^3$	–	–	–	+
Бассейн (стенка)	МПА	$0,46 \times 10^3$	+	+	–	–
	Эндо	$0,16 \times 10^3$	+	–	–	–
	Сабуро	$0,15 \times 10^3$	–	–	–	+
Биофильтр (поверхность нагрузок)	МПА	$1,95 \times 10^3$	+	+	+	–
	Эндо	$0,68 \times 10^3$	+	–	–	–
	Сабуро	$0,34 \times 10^3$	–	–	–	+
Отстойник (стенка)	МПА	$1,21 \times 10^3$	+	+	+	–
	Эндо	$0,23 \times 10^3$	+	–	–	–
	Сабуро	$0,19 \times 10^3$	–	–	–	+
Рабочий инвентарь (сачок)	МПА	$0,49 \times 10^3$	+	+	+	–
	Эндо	$0,32 \times 10^3$	+	–	–	–
	Сабуро	$0,40 \times 10^3$	–	–	–	–

Из таблицы 3 следует, что плавающие нагрузки биофильтра являются наиболее обсемененными микроорганизмами участком УЗВ. Несмотря на то, что на поверхности биофильтров должны образовываться биопленка из бактерии участвующих в процессе нитрификации и самоочищения воды они являются идеальным условием и для накопления условно-патогенной микрофлоры, в данном случае бактерии рода *Pseudomonas*, наличие которых установлено. Следовательно, биофильтры является основным резервуаром накопления инфекционного материала.

2.3.2 Идентификация возбудителя инфекционной патологии

При изучении культуральных свойств возбудителя псевдомоноза выделенного из области язвенных поражениях, паренхиматозных органов осетров установлено, что после культивирования отмечен рост на МПА серовато-белых полупрозрачных, круглых выпуклых колоний с ровными краями.

Микроскопирование мазков выросших культур с целью определения морфологических и тинкториальных свойств установило, что возбудитель – одиночно расположенная грамотрицательная палочка, подвижная (веретенообразные движения), спор и капсулы которые не образуют (рисунок 20).



Рисунок 20 – Бактерий рода *Pseudomonas*

Результаты изучения возбудителя для определения отношения к глюкозе, продукции оксидазы и т.д. приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Дифференциация бактерий, схожих по морфологическим свойствам

Основные признаки	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Результаты исследований
Оксидаза	+	+	+	+
Расщепление глюкозы на среде Хью-Лейфсона	O/-	O/Ф	O/Ф	-

Таблица 4 – Дифференциация бактерий, схожих по морфологическим свойствам (продолжение)

Основные признаки	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Результаты исследований
Лизин-декарбоксилаза	–	+	–	–
Орнитин-декарбоксилаза	–	+	–	–
Аргинин-декарбоксилаза	+	–	–	+

+ наличие продукта реакции;
 – отсутствие продукта реакции;
 О – процесс окисления;
 Ф – процесс ферментации.

Судя по таблице 4, исследуемый объект – возбудитель инфекции относится к бактериям рода *Pseudomonas*. Для дальнейшей типизации возбудителя провели биохимические исследование, результаты которых в таблице 5.

Таблица 5 – Дифференциация представителей рода *Pseudomonas*

Основные признаки	<i>Ps. fluorescens</i>	<i>Ps. putida</i>	<i>Ps. intestinalis</i>	<i>Ps. dermo-alba</i>	<i>Ps. aureofaciens</i>	<i>Ps. cyp-rinisepticum</i>	Результаты исследований
1	2	3	4	5	6	7	8
Наличие капсулы в мазках	–	–	–	–	–	+	–
Маннит	–	–	К	К	К	–	–
Мальтоза	–	К	К	К	–	–	К
Лактоза	–	К	–	К	К	–	К
Сахароза	К/–	–/К	К	К	К	–	–

*Обозначения:
 – отсутствие продукта реакции;
 + наличие продукта реакции;
 К – кислота (образование пузырьков газа в среде)

Пользуясь таблицами 4-5, характеризующими бактерии, относящейся к определенному роду, нашли ключ к определению вида. По результатам проведенной идентификации установлена принадлежность возбудителя к *Pseudomonas putida*, специфичной для осетровых рыб.

Биопроба, направленная на определение патогенных свойств возбудителя дала следующие результаты – на 3-4-е сутки наблюдения отмечены клинические признаки, выраженные общей слабостью, вялостью в движениях, а также развитием характерных поражений на месте введения бактериальной суспензии. На 6-е сутки отмечены гибель рыб (рисунок 21).



Рисунок 21 – Результат биологической пробы на естественно восприимчивых животных

При патологоанатомическом вскрытии этих рыб установлены изменения, свойственные псевдомонозу, тогда как у контрольных рыб, которым ввели стерильный МПБ, клинико-морфологических изменений не наблюдали.

После вскрытия больных рыб и взятия патологического материала провели повторные бактериологические исследования, по результатам которых установили присутствие возбудителя – *Pseudomonas putida*.

2.3.3 Уровень чувствительности возбудителя псевдомоноза к антибиотикам *in vitro*

При определении чувствительности возбудителя к антибиотикам *in vitro* образование зоны подавления роста бактерий происходит в результате

диффузии антимикробного препарата (АМП) из носителя в питательную среду (рисунок 22).

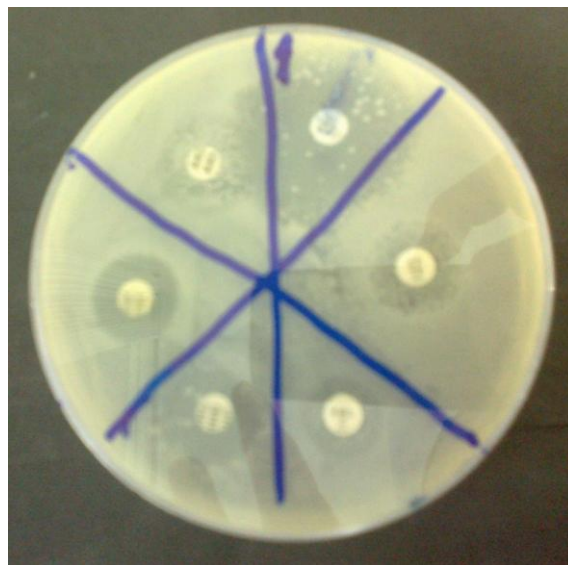


Рисунок 22 – Зоны подавления роста *Pseudomonas putida*

Проведенные испытания показали, что возбудители псевдомоноза осетровых рыб проявляют различную чувствительность к использованным нами антибактериальным средствам. Результаты проведенных исследований приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Чувствительность *Pseudomonas putida* к антибиотикам *in vitro*

Наименование антибиотика	Отношение микроорганизмов	Содержание в диске (мкг)	Пограничные значения диаметра зон подавления роста (мм)	
			$M \pm m$	C_v (%)
Окситетрациклин	в/ч	5	$25,30 \pm 0,45$	5,50
Колистин	у	5	$7,30 \pm 0,35$	14,51
Энрофлоксацин	м/ч	5	$12 \pm 0,47$	11,79
Амоксициллин	ч	5	$15,20 \pm 0,31$	6,05
Доксициклин	м/ч	5	$11,90 \pm 0,43$	10,81
Сульфаметраксозол	м/ч	5	$10,10 \pm 0,33$	9,85

*Примечания:

- в/ч – высокочувствительные;
- ч – чувствительные;
- м/ч – малочувствительные;
- у – устойчивые микроорганизмы;
- М – среднее арифметическое значение;
- m – ошибка средней;
- C_v – коэффициент вариабельности.

Из таблицы следует, что наибольший подавляющий эффект для бактерий *Pseudomonas putida* оказал окситетрациклин. Возбудитель также проявил чувствительность к амоксициллину, к 3 из 7 препаратов (энрофлоксацин, сульфаметраксозол и доксициклин) оказались малочувствительными. Колистин показал наименьшую зону подавления роста бактерии, что указывает на нецелесообразность применения данного препарата при лечении болезней, вызываемых инфекцией рассматриваемой группой.

2.4 Патоморфология псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ

2.4.1 Патоморфология кожи больных псевдомонозом осетров, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения

Преимущественная локализация ворот данной инфекции связано с наибольшей вероятностью повреждением нижней части туловища рыб, а также при контакте больных рыб с областью спины ниже располагаемых в воде рыб (рисунок 23), а также в основаниях грудных, анальных и хвостового плавников, на поверхности жаберной крышки.



Рисунок 23 – Язва кожи в области холки осетра при псевдомонозе

У здоровых взрослых осетров микроструктура кожи в значительной степени отличается от кожи костистых рыб. В поверхностном слое эпидермиса

толщиной $633,49 \pm 9,36$ мкм (таблица 7) располагаются двумя-тремя слоями клетки округло-овальной формы мукозные клетки диаметром $102,19 \pm 8,94$ мкм. Глубже присутствуют многочисленные кистозные железы диаметром $247,72 \pm 4,63$ мкм, имеющие овальные или полигональные формы и центральное расположение ядро. В этих клетках, имеющих вид полостей, заполненных секретом, отмечали интенсивную оксифильную окраску и мелкозернистую структуру. Опустошенные клетки имеют значительно меньший объем и прозрачную цитоплазму. Эксцентрично расположенный ядерный аппарат этих кистозных клеток имеет гиперхромный, пикноморфный вид, что указывает на утрату этими клетками биосинтетической активности. В эпидермисе диффузно располагались столбчатые клетки. Отличительным признаком эпидермиса являются также слабая выраженность извилистости базальной мембраны и расположенных на ней клеток производящего слоя. Последние имели небольшую толщину в пределах $69,47 \pm 5,66$ мкм и состояли из 2-3 слоев клеток столбчатой формы с базально расположенными округлыми ядрами.

Таблица 7 – Параметры кожи осетров в норме и при поражении псевдомонозом

Слои кожи	Условно-здоровые (контроль)		Больные (по краям язвенного поражения)	
	Толщина, мкм	Коэффициент вариабельности Cv	Толщина, мкм	Коэффициент вариабельности Cv
Эпидермис	$633,49 \pm 9,36$	3,91	$524,13 \pm 9,03^{***}$	5,57
Дерма	$792,38 \pm 6,49$	2,17	$732,46 \pm 2,97^*$	8,31
Подкожная клетчатка	$236,83 \pm 3,95$	4,41	$403,12 \pm 8,89^{***}$	8,50

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ в сравнении с контролем.

Собственно кожа у осетров выделялась небольшой толщиной $792,38 \pm 6,49$ мкм образованной из пучков коллагеновых волокон, повторяющих контуры базальной мембраны. При параллельном расположении базальной мембраны пучки коллагеновых волокон собственно кожи располагались аналогичным образом, в участках, расположенных вблизи сосочков пучки коллагеновых

волокон располагались вертикально. Между базальной мембраной и дермой встречались малочисленные лимфоидные клетки. Подкожная клетчатка также выделялась небольшой толщиной $236,83 \pm 3,95$ мкм, и ее структура была более утолщенной вблизи расположения сосочков, где располагались мелкие кровеносные сосуды.

Следовательно, у осетровых рыб в структуре кожи преобладала зона эпидермиса, где происходит постоянное, интенсивное обновление ее клеток, ввиду отсутствия у них твердого чешуйчатого покрытия.

Мускулатура, располагающаяся под кожей у осетров характеризовалась особым рисунком расположения волокон. Наряду с параллельным расположением пучки мышечных волокон разделялись вертикальными волокнами. Местами мускулатуре располагались нервные клетки и волокна

У осетров наиболее уязвимые области поражения кожи располагались в передней, нижней части тела вблизи грудных плавников, что вероятнее всего связано с контактом с поверхностью дна посадочных бассейнов, где установлена максимальная концентрация осадков из корма и выделений рыб, служащая резервуаром для накопления возбудителей псевдомоноза. Появление очагов поражения кожи у осетровых рыб в области спины связано с наносящим повреждением брюшной поверхностью тела другой рыбы при их плотной посадке.

Гистологические изменения в структуре кожи у больных псевдомонозом характеризовались неравномерной толщиной эпидермиса. В поверхностном слое кожи выделялись как участки истончения, располагаемые преимущественно в области сосочков, так и области утолщения. В последних обнаруживали присутствие мукозных клеток, переходящих в более крупные кистозные железы – продуценты образования и выделения муцина, окруженные неравномерно расположенными лимфоидными клетками с признаками кардио- и цитопикноза.

Самый наружный слой клеток эпидермиса в очаге поражения полностью отсутствовал. В подлежащих участках обнаруживали многочисленные

скопления кистозных клеток, большая часть которых имели признаки опустошения атрофии и некроза. Возникающие изменения в эпидермисе следует рассматривать как результат компенсации возникших продолжительных нарушений в коже (рисунок 23).

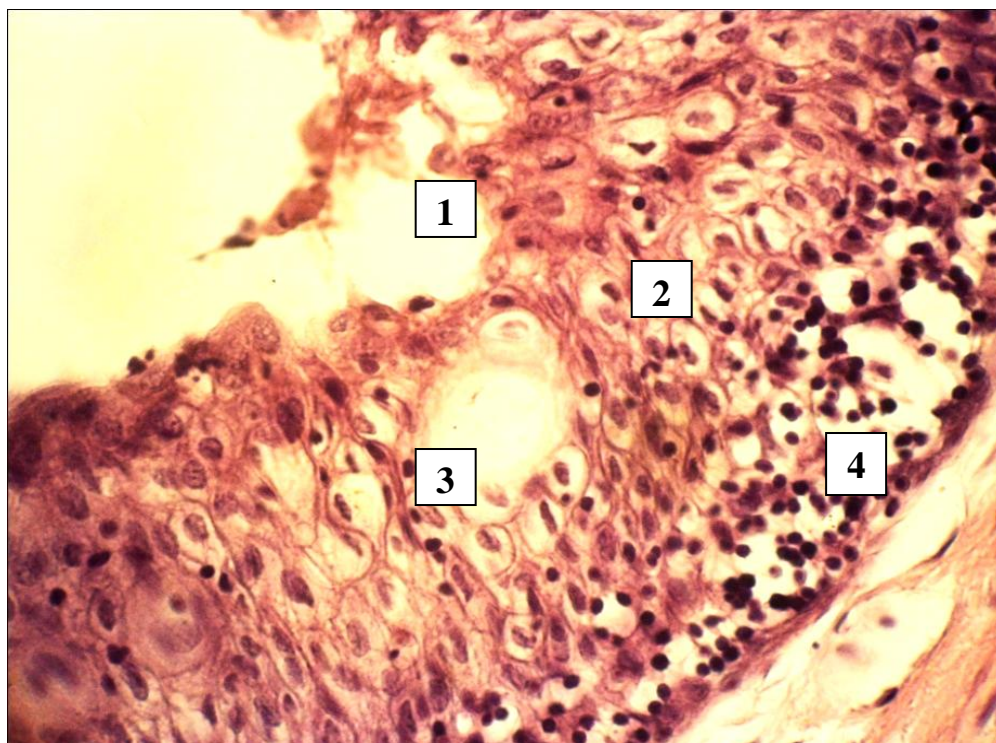


Рисунок 23 – Разрушение эпидермиса кожи (1), уменьшение количества мукозных клеток (2) и кистозных желез (3). Отек, инфильтрация лимфоцитами базального слоя (4). Окраска гематоксилином и эозином. Х320

В процессе течения псевдомоноза прекращается образование кистозных желез из мукозных клеток, и следовательно нарушается биосинтез и выделение слизи, являющейся местным фактором защиты, что создает условия для проникновения вторичной инфекции в этом участке кожи.

Значительные разрушения клеток эпидермиса и, следовательно, отсутствие муцина, способствовали, создавали условия для дальнейшего проникновения инфекции в более глубокие участки кожи. Как следствие проникновения бактерий *Pseudomonas* в поверхностных участках эпидермиса, а также в более глубокие слои кожи, включая дерму, возникали многочисленные инфильтраты из лимфоидных клеток и макрофагов. Большая часть этих клеток выделялась признаками некроза.

Расположенные вблизи пораженных участков кожи мышечные волокна также в значительной степени разрушались и инфильтрировались макрофагами и лимфоидными клетками. Сохранялись только контуры мышечных волокон, располагаемых параллельно поверхности кожи. Перпендикулярно расположенные мышечные волокна и прилегающие к ним нервные клетки, кровеносные сосуды разрушались в первую очередь.

2.4.2 Патогистологические изменения в жабрах осетровых рыб при псевдомонозе в условиях УЗВ

Дыхательная система осетров представлена жабрами, которые располагаются под жаберной крышкой. Каждая жабра состоит из жаберной дуги, по наружному краю которой располагаются жаберные лепестки (ламеллы), соединяющиеся друг с другом жаберными перегородками. На жаберном аппарате патологические изменения наблюдаются в виде множественных кровоизлияний на поверхности органа.

При изучении гистологической структуры жабр осетров больных псевдомонозом с признаками поражения наблюдали набухание, утолщение эпителиальные клетки жаберных ламелл. Цитоплазма в этих клетках становилась непрозрачной, приобретала насыщенную оксифильную окраску. Ядра эпителиоцитов уменьшались в объеме, деформировались. Вследствие конденсации хроматина, в кариоплазме ядер эпителиоцитов ядрышки становились неразличимыми. Во многих участках поверхность ламелл утрачивала эпителиальный слой клеток, при этом открывались подлежащие капилляры. Местные нарушения гемоциркуляции в извилистых капиллярах ламелл проявлялись в виде очаговых кровоизлияний и участков анемии. В последнем случаи участки капилляров выделялись опустошением просветов оставались обозначенными слой плоских эндотелиоцитов и чередующихся равномерно отростчатой формы столбчатые клетки (рисунок 24).

Нарушения гемоциркуляции на уровне первичных ламелл проявлялись резким отеком соединительнотканной основы, пикнозом ее малочисленных

клеток. В афферентных артериальных сосудах, на фоне ослабления кровенаполнения наблюдали выраженные признаки дезорганизации компонентов соединительной ткани, сопровождаемые набуханием стенок, нарушениями структуры эндотелия в виде пикноза клеток, выбухания ядер эндотелиоцитов в просвет сосудов (рисунок 25).

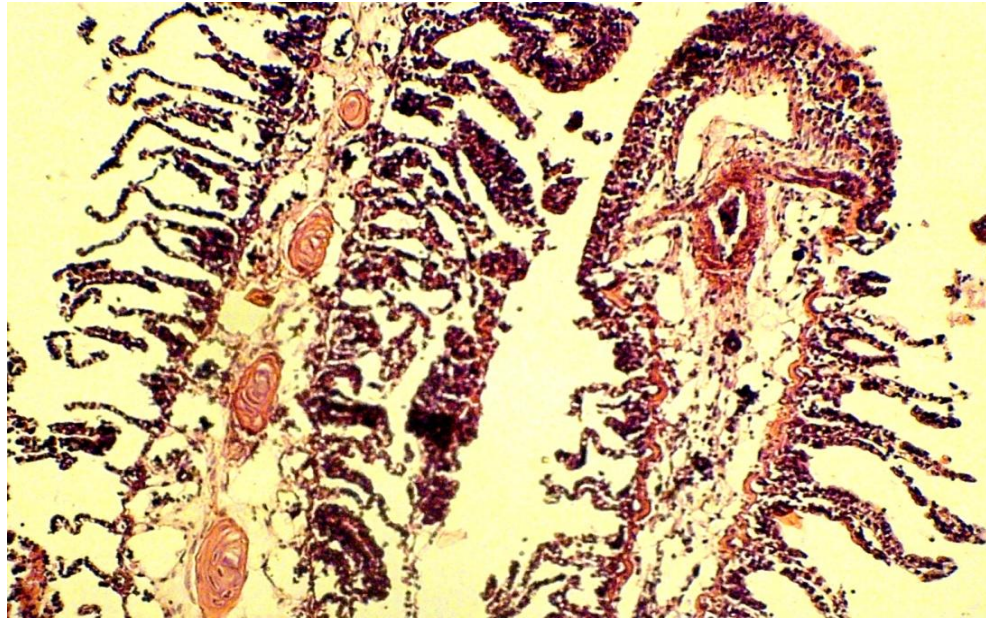


Рисунок 24 – Набухание, разрушение жаберных ламелл. Отек. Окраска гематоксилином и эозином. X140

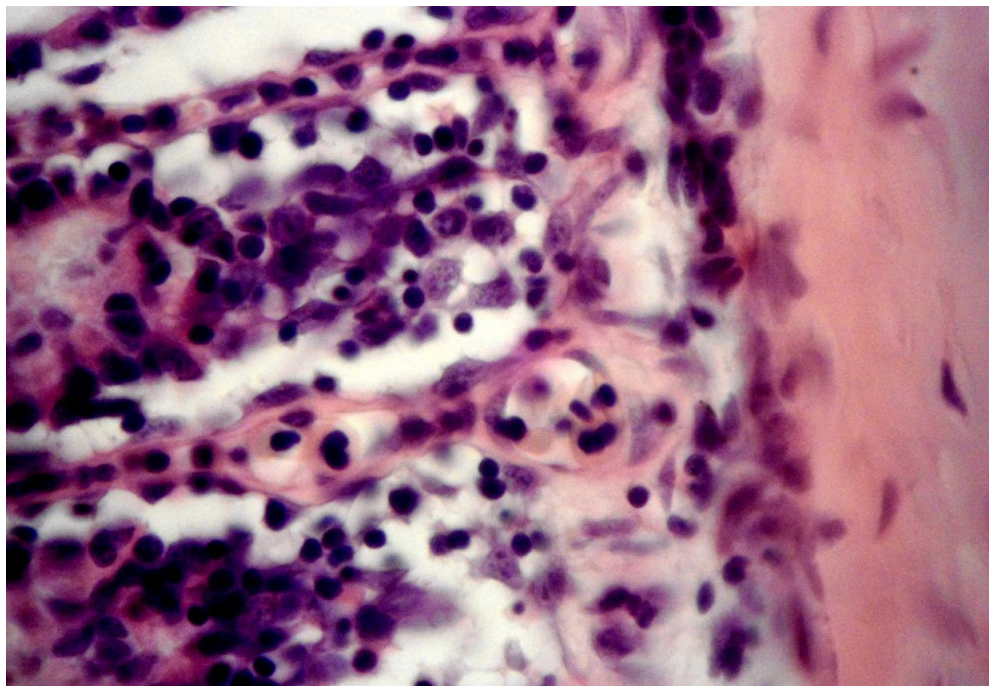


Рисунок 25 – Резкий отек соединительнотканной основы. Пикноз клеток. Окраска гематоксилином и эозином. X400

В расширенных эфферентных венозных сосудах первичных ламелл отмечали обширные участки застоя крови, сопровождаемые резким отеком периваскулярных участков. Апикальная область первичных ламелл не имела обозначенной структуры эпителиальной ткани и была обильно инфильтрирована лимфоцитами, что косвенно указывало на продолжительное течение патологических процессов в жаберном аппарате больных осетров. Определенная жесткость жаберных дуг и, следовательно, первичных ламелл обеспечивалась хрящевой основой. В хрящевой ткани жаберных дуг у больных псевдомонозом осетров отмечали замедление пролиферативных процессов хрящевых клетках и последующей дифференциации хондробластов в зрелые клеточные формы. В результате нарушения структуры эпителия вторичных и первичных ламелл, возникновения гемоциркуляторных расстройств, утраты жесткости опорной хрящевой ткани, пораженные инфекцией жабры больных осетров, постепенно прекращали снабжение организма рыб кислородом. Обнаруженные выраженные местные нарушения гемоциркуляции в жабрах больных псевдомонозом осетров отражали ведущее значение сосудистого компонента в развитии патогенеза этой инфекции, возникновении вторичных очагов поражения.

Во вторичных ламеллах при псевдомонозе возникают первичные очаги поражения в виде нарушений эпителия, афферентного и эфферентного кровоснабжения. Создаются условия гипоксии в результате поражения вторичных и первичных ламелл вазопатогенными изменениями в виде местных кровоизлияний, анемий, некрозов эпителия, дезорганизации стенки капилляров, артериол и артерий, отека периваскулярной соединительной ткани, которые приводят к общему кислородному голоданию больных рыб.

2.4.3 Оценка патоморфологического состояния селезенки осетров больных псевдомонозом

Селезенка у здоровых осетров в возрасте 3 года имеет лентовидную форму, длиной 7,5-8 и шириной 0,7-1,2 см, а у больных псевдомонозом рыб она

была слегка увеличенной в объеме. Из-за наличия пигментных включений меланина в капсуле селезенка имела коричневатую окраску.

У больных псевдомонозом осетров в начальной стадии инфекционного процесса, селезенка выделялась наличием многочисленных лимфатических узелки с ясным обозначением большинства структурно-функциональных зон (рисунок 26). Наиболее плотное сосредоточение клеток наблюдали в периартериальной области, где многочисленные малые лимфоциты образовывали 20-30 слоев вокруг центральной артерии. Заметно меньшая плотность расположения средних и малых лимфоцитов отмечали в мантийной зоне узелков. Реактивные центры в них выделялись наличие многочисленные дендритных клеток, между которыми располагались лимфобласты малодифференцированные клетки, средние лимфоциты и малочисленные фигуры митотического цикла. Стенки центральных артерий отличались заметным утолщением в следствии мукоидного набухания и выбуханием в плохо обозначенные просветы пикноморфных эндотелиоцитов.

У осетров в случаях проявления генерализованного течения псевдомоноза в организме большинство лимфатических узелков селезенки имели заметное разрежение клеток в реактивных центрах. В клеточный состав в них был представлен в основном ретикулоцитами с гиперхромными ядрами и небольшого количества лимфобластов. Фигуры митоза в реактивных центрах практически не обнаруживались. Заметное ослабление пролиферативной активности клеток лимфоидной ткани в селезенке больных рыб в терминальную фазу инфекционного процесса проявилось разрежением клеток мантийной и маргинальной зон. Маргинальная зона этих небольших лимфатических узелков без резких границ переходила в окружающую кровенаполненную красную пульпу. Особенностью красной пульпы осетровых рыб является наличие многочисленных небольших по объему, переполненных кровью разрозненных венозных синусов.

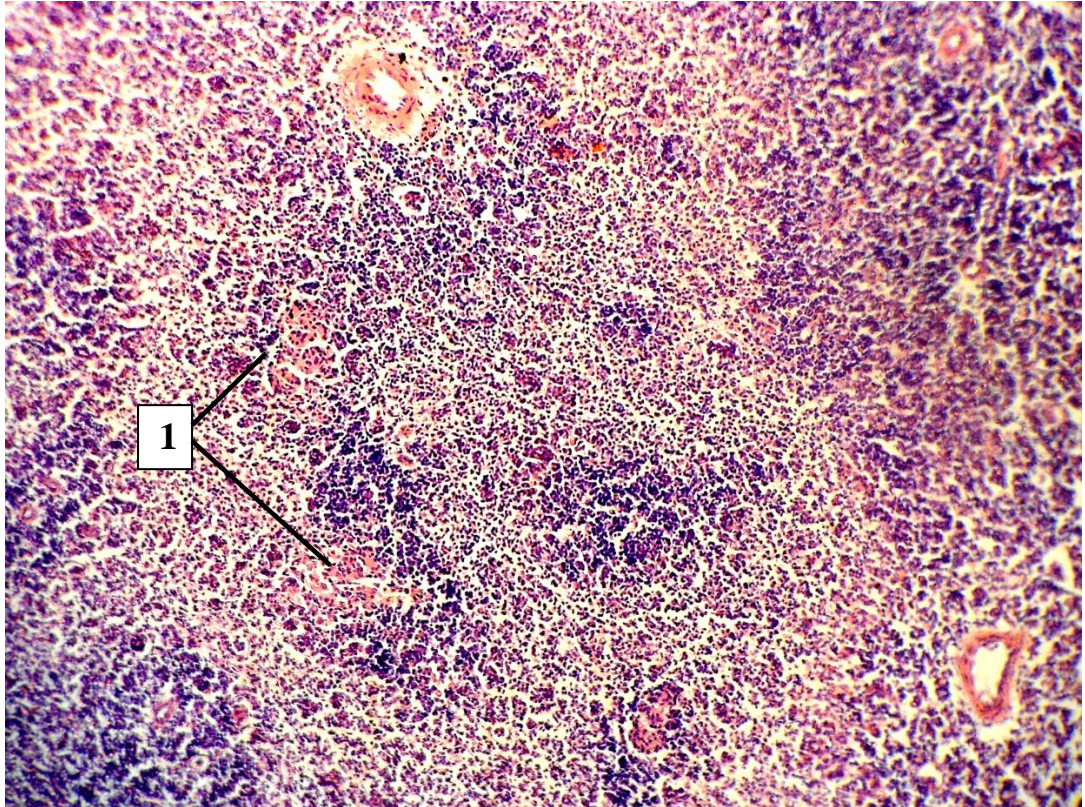


Рисунок 26 – Селезенка. Лимфатические узелки с герминативными центрами (1) структурно-функциональных зон. Окраска гематоксилином и эозином. X140

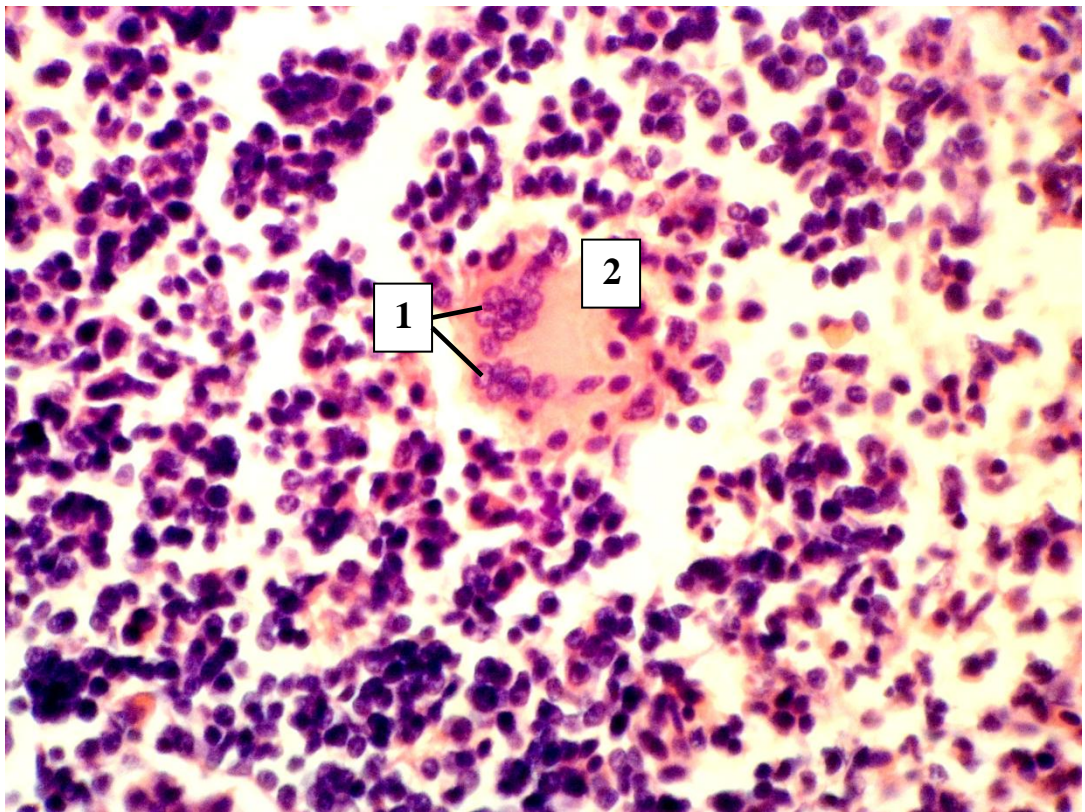


Рисунок 27 – Селезенка больного осетра, красная пульпа. Образование тромбоцитов (1) в мегакариоците (2). Окраска гематоксилином и эозином. X380

Особенность гистологического строения селезенки у осетров является наличие в органе чрезвычайно развитой опорной ткани, представляющей собой трабекулы, содержащие многочисленные крупные и мелкие кровеносные сосуды. Периваскулярные зоны вокруг стенок трабекулярных кровеносных сосудов, особенно в случаях тяжелого течения псевдомоноза были инфильтрированы лимфоидными клетками. Выраженная клеточная (лимфоцитарная) инфильтрация периваскулярных участков трабекул селезенки больных осетров, а также признаки дезорганизации сосудистых стенок, образования зон обширных отеков свидетельствует о продолжительном и тяжелом течении инфекционного процесса. Капсула селезенки осетров, как и многих других внутренних органов, содержала многочисленные пигментные включения темно-коричневого цвета, придающие темную окраску органу (рисунок 27).

При гистологическом исследовании срезов селезенки также обнаруживали в красной пульпе как небольшие, так и крупные многоядерные симпластоподобные образования – мегакариоциты. Количество мелких и крупных мегакариоцитов у здоровых рыб на площади поперечного среза селезенки соответственно составило $8,9 \pm 0,33$ и $40,5 \pm 1,18$ клеток (таблица 7).

Небольшие по величине мегакариоциты выделялись полиморфизмом цитоплазмы, наличием многочисленных отростков, соединяющих их друг с другом на подобии синцития. В оксифильной цитоплазме этих клеток располагались до $3,00 \pm 0,27$ ядер овальной формы, площадь поверхностного сечения ядер составила $64,61 \pm 1,02$ мкм². Крупные мегакариоциты отличались активным процессом деления ядер и их дифференциацией в тромбоциты. По мере дифференциации мегакариоцитов в селезенке их структура усложняется, они становятся крупными ($4685,95 \pm 158,34$ мкм²), сохраняют резко оксифильную окраску цитоплазмы. Расположение ядер в этих клетках в этот период в связи с усилением тромбоцитопоэза приобретает спиралевидное или подковообразное расположение. Многочисленные (до $16,4 \pm 0,39$ штук), крупные округлой формы ядра мегакариоцитов были заметно обогащены эухроматином, располагались в цитоплазме закругленной цепочкой, образуя

подковообразную форму. По мере дифференциации в этих ядрах уменьшалась площадь поперечного сечения до $53,96 \pm 1,94 \text{ мкм}^2$, накапливалась конденсированная форма хроматина. Перемещаясь в цитоплазме мегакариоцита, эти ядра достигали области цитолеммы и выходили за ее пределы. Часть этих ядер окружала себя тончайшей прослойкой цитоплазмы (рисунок 28).

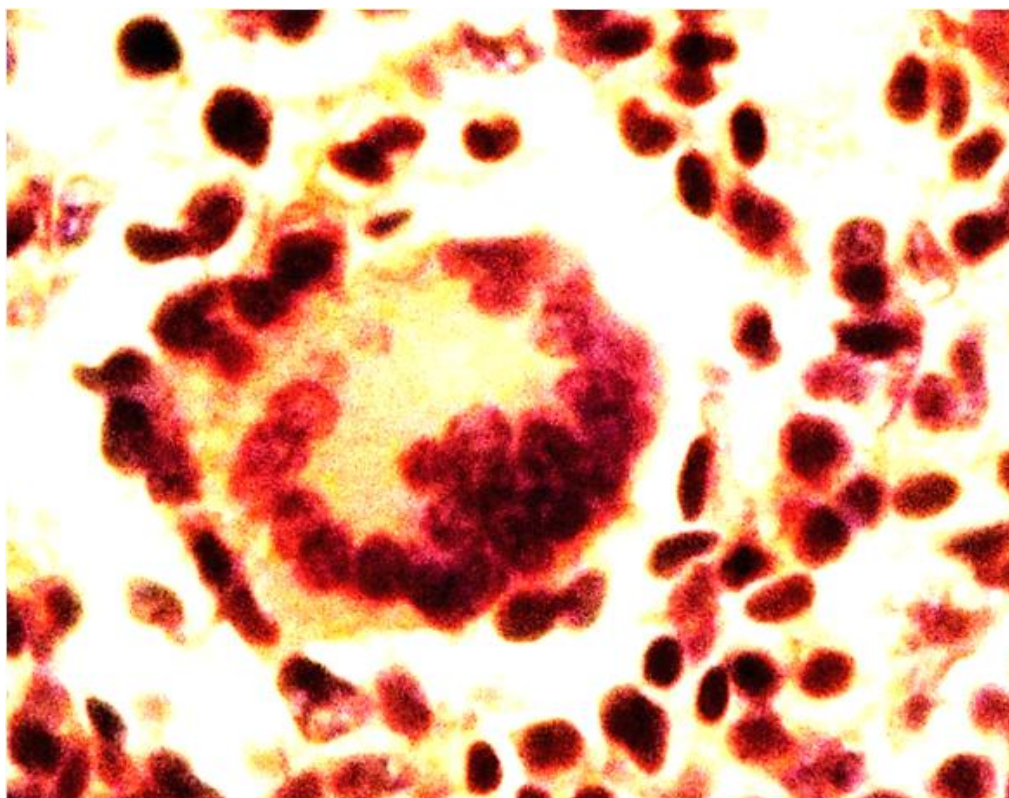


Рисунок 28 – Селезенка осетра больного псевдомонозом. Образование в мегакариоците тромбоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. X600

Сформированные и расположенные за пределами мегакариоцитов тромбоциты имели интенсивную базофильную окраску, вытянутую, овальную или неправильную форму клетки с едва обозначенным ободком цитоплазмы. Количество этих клеток вблизи мегакариоцитов составило $15,10 \pm 0,29$ штук. Площадь поперечного сечения тромбоцитов достигала $36,99 \pm 1,37 \text{ мкм}^2$ (таблица 8).

Следует отметить, что вблизи мегакариоцитов, особенно крупных с активным тромбоцитопоезом, отсутствовали клетки иных популяций, с за исключением малых лимфоцитов и ретикулоцитов, которые располагались на

расстоянии $8,78 \pm 0,49$ мкм с образованием щелевидных полостей, способствующие внутриорганному перемещению постклеточных образований, в первую очередь, тромбоцитов. В участках красной пульпы, где формируются мегакарициты, была заметна меньшая плотность сосредоточения эритроцитов.

Таблица 8 – Количественная характеристика содержания мегакарицитов в селезенке здоровых и больных псевдомонозом осетров

Показатели	Здоровые осетры		Больные осетры	
	Количество клеток на площади поверхности среза органа	Коэффициент вариабельности (%)	Количество клеток на площади поверхности среза органа	Коэффициент вариабельности (%)
Большие мегакарициты	$8,9 \pm 0,33$	11,17	$4,01 \pm 0,27^{***}$	20,41
Малые мегакарициты	$40,5 \pm 1,18$	8,75	$16,5 \pm 0,42^{***}$	7,69
Ядра в больших мегакарицитах	$16,4 \pm 0,39$	7,16	$11,7 \pm 0,39^{***}$	9,91
Ядра в малых мегакарицитах	$3,00 \pm 0,27$	27,22	$1,60 \pm 0,17^{***}$	32,27
Тромбоциты на поверхности цитолеммы больших мегакарицитов	$15,10 \pm 0,29$	5,8	$10,10 \pm 0,60^{***}$	17,74
Тромбоциты на поверхности цитолеммы малых мегакарицитов	$3,50 \pm 0,18$	15,06	$2,40 \pm 0,17^{***}$	21,52

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ в сравнении с контролем.

Процесс выработки тромбоцитов у исследованных больных псевдомонозом осетров происходил с многочисленными нарушениями. На 2-4 неделю болезни у рыб отмечали уменьшение количества мегакарицитов до $4,00 \pm 0,27$, сокращение площади их цитоплазмы до $4155,45 \pm 253,85$ мкм², сокращалась численность содержащихся в них ядер до $10,10 \pm 0,60$, и сформированных тромбоцитов до $2,40 \pm 0,17$ расположенных вблизи кариолеммы в виде многоядерных клеток. Причем показатели содержания ядер в мегакарицитах и количество тромбоцитов на их поверхности в срезах

селезенки у больных осетров имели неравномерный характер, на что указывали большие значения коэффициента вариации (таблица 9).

Таблица 9 – Показатели кариометрии мегакариоцитов и тромбоцитов в селезенке здоровых и больных псевдомонозом осетров

Показатели	Здоровые осетры		Больные осетры	
	Площадь поверхности среза (мкм ²)	Коэффициент вариабельности (%)	Площадь поверхности среза (мкм ²)	Коэффициент вариабельности (%)
Большие мегакариоциты	4685,95±158,34	18,33	4155,45±253,85*	10,14
Малые мегакариоциты	567,85±23,63	12,49	514,03±14,31	8,35
Ядра в больших мегакариоцитах	53,96±1,94	9,79	53,15±1,73	10,78
Ядра в малых мегакариоцитах	64,8±1,48	9,16	64,61±1,02	6,91
Тромбоциты на поверхности цитолеммы больших мегакариоцитов	36,99±1,37	7,95	38,9±8,26	11,09
Тромбоциты на поверхности цитолеммы малых мегакариоцитов	39,61±0,58	10,16	38,49±1,30*	5,05

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ в сравнении с контролем.

Показатели морфометрии, а также результаты клинического осмотра органов и тканей больных осетров свидетельствовали о существенном снижении уровня свертываемости крови у больных псевдомонозом рыб. На поверхности тела больных рыб, жабрах, а также во внутренних органах на протяжении длительного периода болезни отмечали многочисленные точечные и пятнистые кровоизлияния, свидетельствующие о генерализации инфекционного процесса в организме.

Таким образом, в развитии патогенеза псевдомоноза у осетров, выращиваемых в условиях УЗВ, важную роль играет процесс нарастания тромбоцитопении.

2.4.4 Патогистологические изменения в сердце осетров больных псевдомонозе, выращиваемых в УЗВ

Сердце осетров располагается в отдельной полости позади головы. Оно представляет собой двухкамерный полостной орган округлой формы и темно красной окраски. Наиболее выраженные изменения в структуре сердца отмечали в стадии генерализации инфекционного процесса.

Стенка сердца осетра, состоящая из трех оболочек в случае нарастания тяжести протекания генерализованной формы псевдомоноза, выделялась резким отеком и разволокнением межмышечной волокнистой соединительной ткани. Кардиомиоциты в этих участках имели выраженные признаки белковой дистрофии, а в случаях более продолжительного течения инфекции отмечали атрофию кардиомиоцитов переходящие в некробиоз. Коронарные сосуды системы микроциркуляции были резко кровенаполненными с пикнозом и набуханием клеток эндотелия в просветы сосудов. Возникающий в результате повышения проницаемости сосудистых стенок резкий периваскулярный отек способствовал образованию обширных зон гипоксии кардиомиоцитов, что в конечном итоге способствовало нарастанию некробиотических изменений в кардиомиоцитах (рисунок 29).

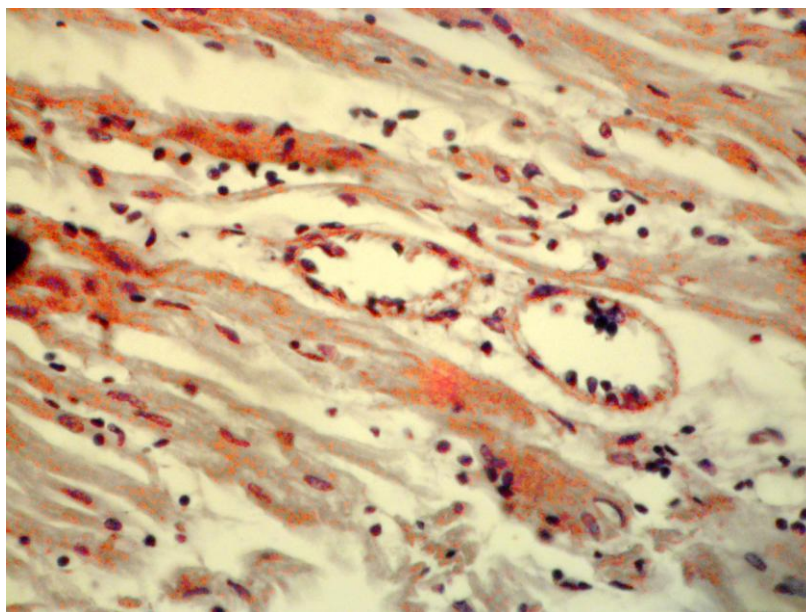


Рисунок 29 – Атрофия, некробиоз кардиомиоцитов, отек межмышечной соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. X200

Малочисленность и диффузное сосредоточение пикноморфных лимфоцитов в периваскулярной и межмышечной соединительной ткани на фоне повышения местной сосудистой проницаемости свидетельствовало о нарастании недостаточности клеточных механизмов иммунитета в терминальную фазу течения псевдомоноза. Патологические изменения в структуре в сердце больных псевдомонозом осетров указывали на ведущую роль гематогенного распространения инфекционного процесса.

2.4.5 Патоморфологическая оценка состояния печени и желчного пузыря при псевдомонозе осетров, выращиваемых в УЗВ

Печень у осетров в норме располагаются в передней трети брюшной полости, рядом с кардиальным отделом желудка и пилорической железой. Она имеет вытянуто-овальную, изогнутую форму, окрашена в тускло желтовато-бежевый цвет. Желчный пузырь располагается в средней части печени и всегда умеренно наполнен содержимым.

У больных псевдомонозом осетров печень была увеличена в объеме, имела более мягкую консистенцию и светло бежевую окраску. В результате нарастания холестатических процессов желчный пузырь резко увеличился.

Гистологическая структура паренхимы органа плохо обозначалась. Большая часть клеток паренхимы имела небольшой объем цитоплазмы, в них слабо обозначались мелкие структурные детали цитоплазмы и ядра. Светлая оксифильная окраска цитоплазмы гепатоцитов, обилие мелких ядер и отсутствие двуядерных клеток указывали на резкое ослабление синтетических процессов и митатической активности клеток паренхимы органа. В более крупных клетках наблюдали вакуолизацию цитоплазмы, деформацию и пикноз ядер, что указывало на возникновение очагов не обратимого белкового гепатоза, переходящего в некробиоз. Особенностью проявления псевдомоноза в печени осетров явилось также выраженные сосудистые расстройства, в виде

резкого расширения синусоидных капилляров, образующих извилистую сеть с малочисленными клетками ретикулоэндотелиев (рисунок 30).

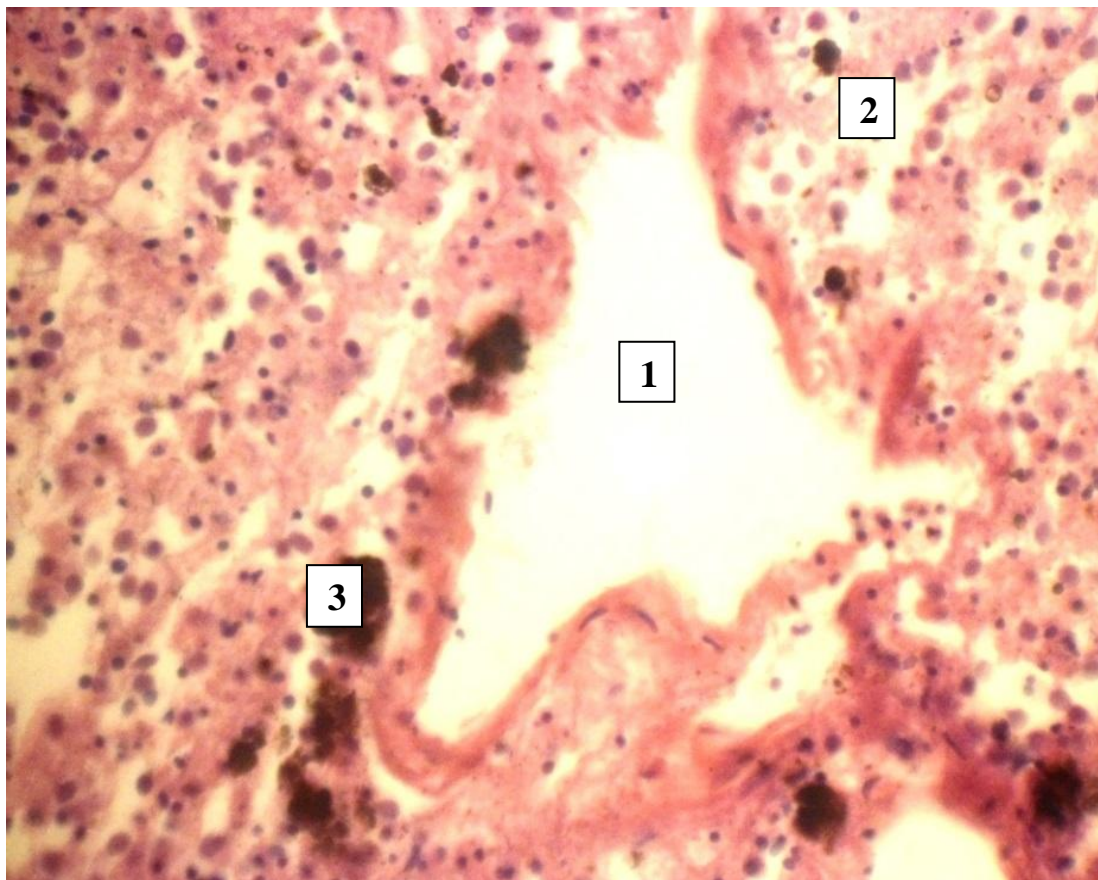


Рисунок 30 – Резкое расширение вен (1), синусоидных капилляров (2). Пигментные включения (3). Окраска гематоксилином и эозином. X280

Инъекция крупных и мелких венозных сосудов, набухание их стенок и резкий отек периваскулярной соединительной ткани отражали замедление внутриорганной гемоциркуляции и повышения проницаемости ее стенок. К особенностям строения печени больных осетров явилось наличие в паренхиме органа мелких зерен и глыбок темно коричневого пигмента меланина. В местах расположения пигментных включений полностью утрачивалась гистологическая структура паренхимы печени. Пигментные зерна преимущественно располагались в непосредственной близости к стенкам мелких и крупных кровеносных сосудах (рисунок 31).

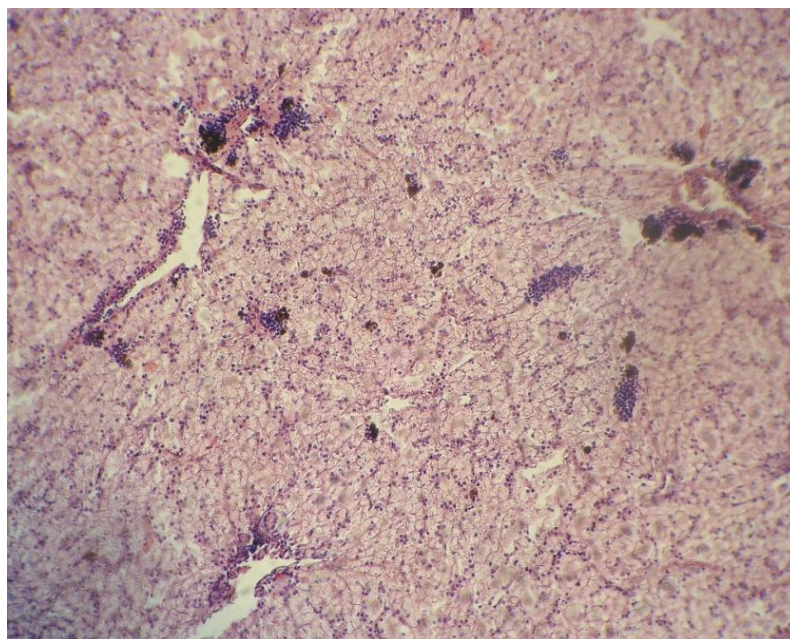


Рисунок 31 – Снижение митотической активности. Окраска гематоксилином и эозином. X140

Следовательно, выраженные деструктивные изменения в паренхиматозных клетках и сосудистой системе печени явились результатами продолжительного воздействия токсических продуктов жизнедеятельности возбудителя псевдомоноза в очагах первичного и вторичного поражения (рисунок 32).

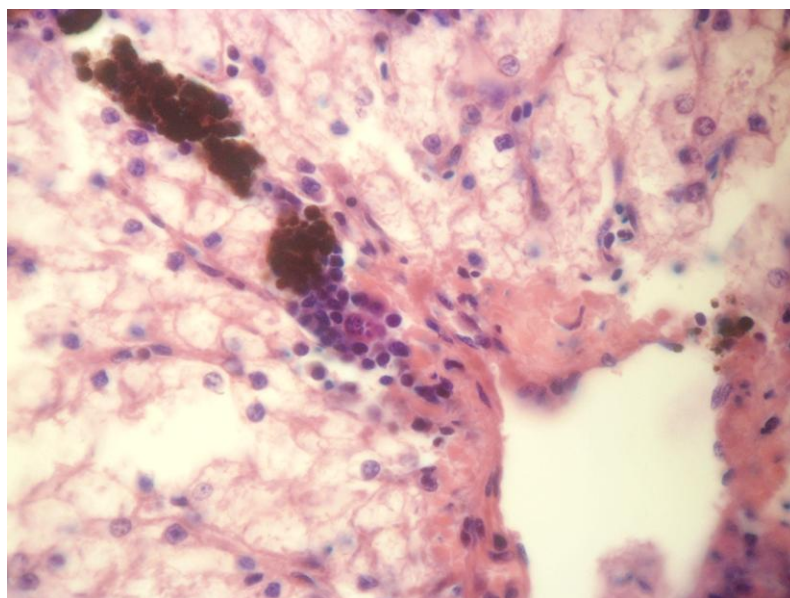


Рисунок 32 – Белково-жировая дистрофия, некробиоз гепатоцитов, пигментные гранулы в печени осетра больных псевдомонозом. Окраска гематоксилином и эозином. X280

Желчный пузырь представляет собой тонкостенный орган, располагаемый у осетра в средней части печени, желчный проток которого открывается в двенадцатиперстную кишку у основания пилорической железы. У больных псевдомонозом осетров в результате нарушения выделения пузырная желчь избыточно скапливалась в органе, имела темно-зеленую окраску и вследствие резорбции воды имела густую консистенцию.

Гистологическая структура желчного пузыря выделялась заметным утолщением ее стенки вследствие сильнейшего отека собственной пластинки слизистой оболочки сопровождаемое нарастающей гипоксии кардио- и цитопикнозом соединительнотканых и гладкомышечных клеток (рисунок 33). Складчатая слизистая оболочка желчного пузыря, выстланная высоким каемчатым эпителием (рисунок 34) выделявшейся неравномерной толщиной, пикноморфностью вытянутых с конденсированной кариоплазмой ядер. В базальной области многие призматические эпителиальные клетки выделялись вакуольной дистрофией. Мышечная оболочка желчного пузыря, состоящая из циркулярно, расположенных пучков гладких миоцитов, также выделялась резким отеком межмышечной соединительной ткани.

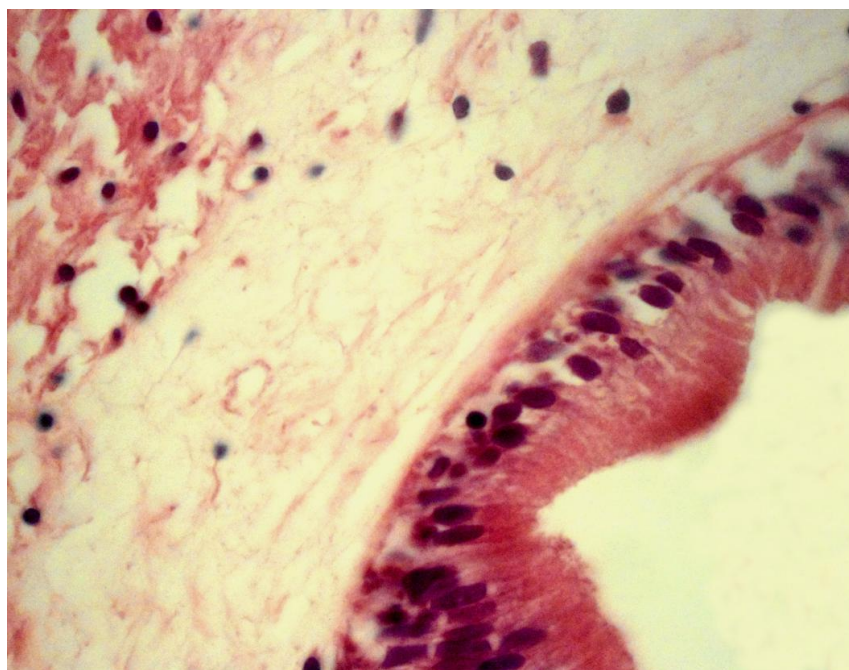


Рисунок 33 – Утолщение стенки желчного пузыря. Сильнейший отек. Окраска гематоксилином и эозином. X280

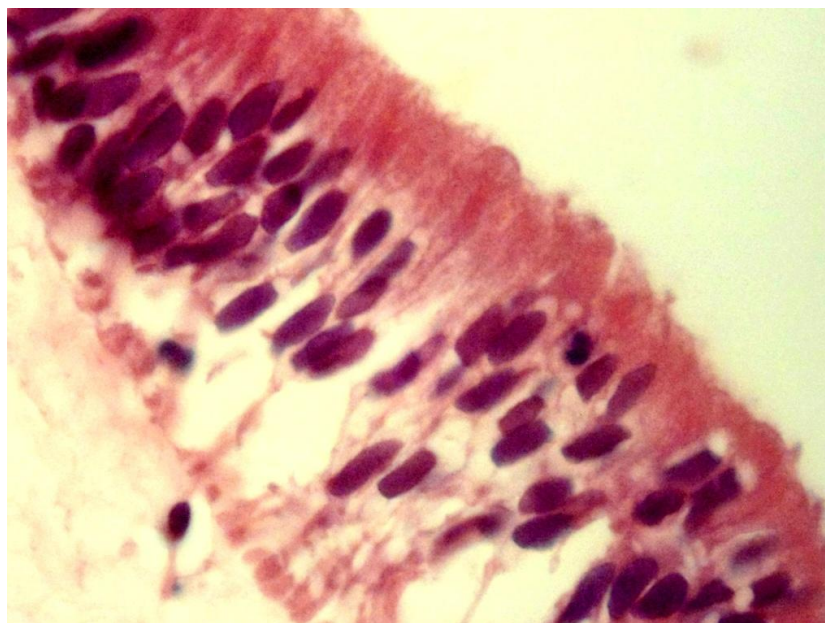


Рисунок 34 – Вакуольная дистрофия призматических эпителиальных клеток стенки желчного пузыря. Окраска гематоксилином и эозином. X560

Обнаруженные изменения в печени и желчном пузыре осетров больных псевдомонозом свидетельствовало о непосредственном воздействии возбудителя и их продуктов жизнедеятельности на паренхиму и желчевыводящие пути органа.

2.4.6 Органопатология поджелудочной железы при псевдомонозе осетров, выращиваемых в УЗВ

Поджелудочная железа у осетров располагается в брюшной полости вдоль тонкой кишки и представляет собой орган вытянутой формы светло-коричневого цвета.

У больных псевдомонозом рыб структура железы выделялась нарушением микроструктуры как экзокринного, так и эндокринного аппарата органа (рисунок 35). Большинство экзокриноцитов в результате продолжительной течения болезни представляли скопления различающихся по величине и форме клетки, образующиеся небольшие по величине долек, разделенные широкими отечными междольковыми соединительной тканью, в котором пролегли междольковые протоки. Экзокриноциты железы в

подавляющем большинстве утрачивали синтетическую активность, на что указывали резкое уменьшение апикальной области и полное отсутствие в ней зимогенных гранул и заметное преобладание гомогенной области. Ядра экзокриноцитов также имели признаки пониженной биосинтетической активности, на что указывали гетерохроматизация кариоплазмы и маргинальное расположение вблизи кариолеммы мелкого ядрышка. Среди экзокриноцитов иногда сохранялись относительно крупные секреторные клетки. Эндокриноциты в виде компактных скоплений округлой формы клеток с прозрачной цитоплазмой имели неясные отличительные признаки. Внутриорганные кровеносные сосуды и протоки железы отличались чрезвычайным развитием гладкой мышечной ткани, что обусловлено постоянным пребыванием здоровых осетров в глубине водной среды. Как пониженной синтетической активности экзокринного аппарата внутридольковые и внедольковые протоки имели запустевшие уменьшенные профили просвета. Однослойные эпителиальные клетки протоков железы в соответствии с нарастанием тяжести патологических изменений утрачивали кубическую форму и заметно уменьшались в объеме. Как следствие повышения проницаемости стенок мелких внутриорганных кровеносных сосудов в железе нарастали явления отека. В стенках крупных кровеносных сосудов орган нарастали признаки дезорганизации компонентов соединительной ткани и разволокнение. В результате десквамации эндотелия в артериальных судах отмечали обнажение внутренней эластической мембраны.

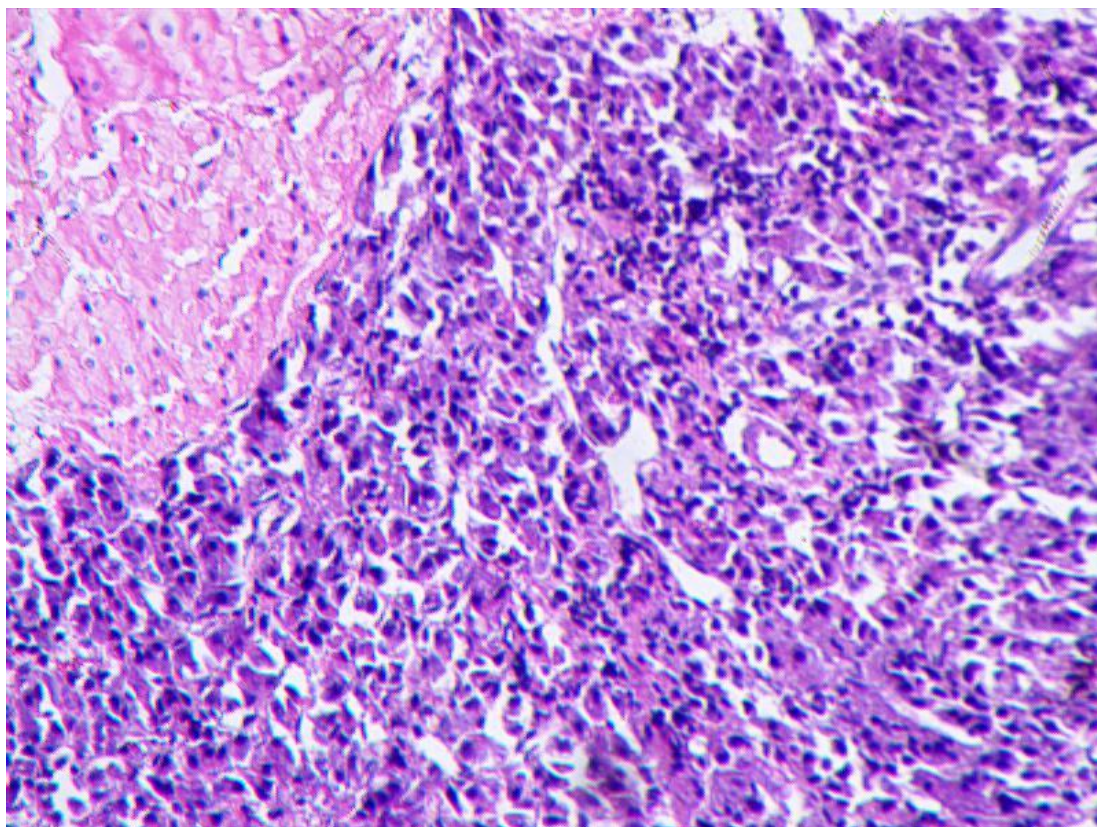


Рисунок 35 – Нарушение экзокринного и эндокринного аппарата поджелудочной железы. Окраска гематоксилином и эозином. X180

Продолжительное выведение продуктов образующихся в результате пребывания псевдомонад в стенках кровеносных сосудов органа отмечали атрофию гладких миоцитов и разволокнение коллагеновых волокон и обширные зоны периваскулярного отека. Следовательно, поджелудочная железа больных генерализованной формой псевдомоноза осетров необратимо утрачивала синтетический потенциал экзокринного и эндокринного аппарата органа.

2.4.7 Патогистологические изменения в почках осетров больных псевдомонозом в УЗВ

Почки осетровых рыб располагаются в брюшной полости в задней трети туловища между хордой и задней частью воздухоносного мешка. Представляет собой парный орган вытянутой формы, темно-коричневого цвета. У больных псевдомонозом осетров почки были увеличены в объеме, мягкой консистенции.

Гистологическое структура орган характеризовалась резким увеличением почечных телец за счет расширения полости капсулы клубочков. Не большая по величине капиллярная сеть в них была смещена в сторону артериол и принимала лапчатую форму. В просвете полости капсулы располагалась жидкость с присутствием белковых частей серо-бежевого цвета (рисунок 36).

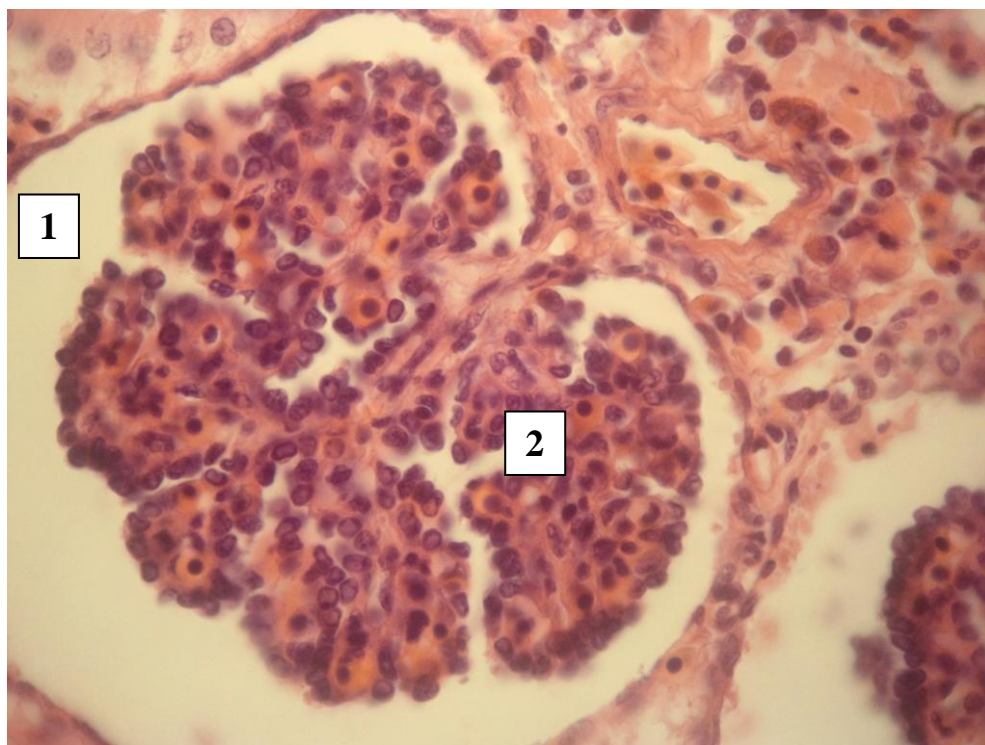


Рисунок 36 – Отек полости капсулы (1) и лапчатая форма сосудистых клубочков (2) осетров больных псевдомонозом. Окраска гематоксилином и эозином. X280

Вследствие неравномерного давления эпителий наружного листка на большей части был уплощен, и местами вблизи артериол частично сохранял прежний объем. Особенности строения сосудистого клубочка являлась их небольшая величина обусловленная укороченной капиллярной сетью. Профили просвета капилляров были плохо обозначенными. Подоциты выделялись неравномерной величиной, имелись участки уплощения и области выбухания в просвет полости капсулы. В процессе нарушения клубочковой фильтрации заметно уменьшалось присутствие клеток мезагиума. В канальцевой сети орган наблюдали резко выраженный перитубулярный отек. Эпителий канальцев местами был сохранен, но в большинстве имел выраженные признаки

белковой дистрофии, переходящий в некробиоз и десквамацию. Просвет канальцев были частично свободны, но в большинстве особенно в проксимальном отделе содержали мелкозернистую оксифильную белковую массу, отдельно слущенные клетки создававшие препятствие к продвижению первичной мочи (рисунок 37).

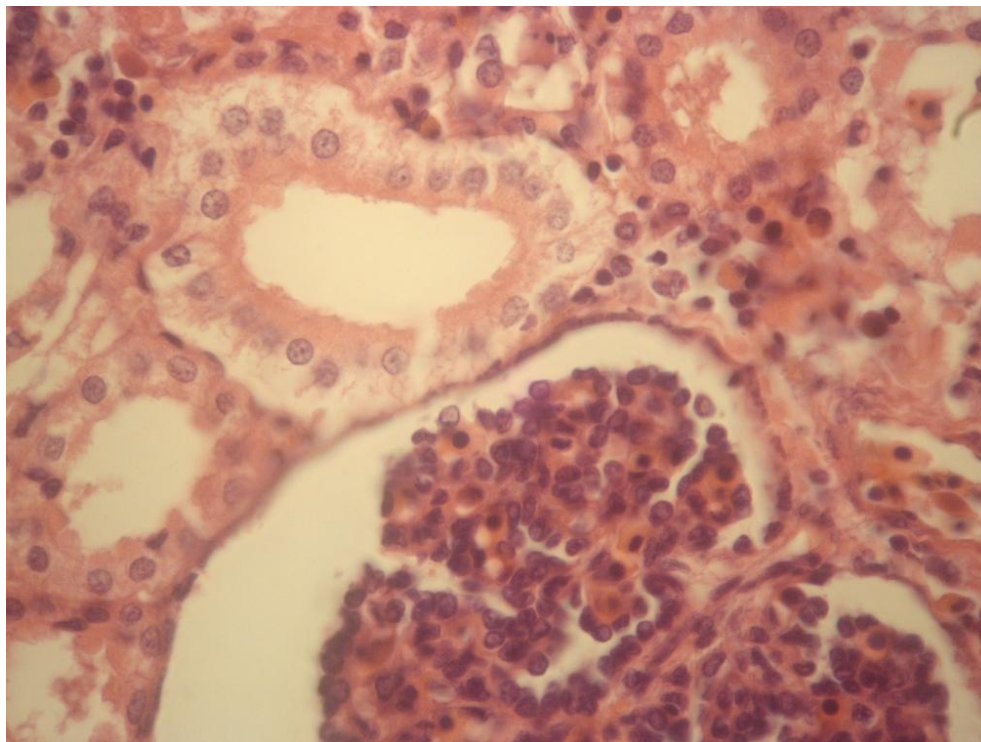


Рисунок 37 – Зернистая дистрофия и отек базальной области эпителиоцитов канальцев почек. Окраска гематоксилином и эозином. X480

Перитубулярные капилляры были неравномерного кровенаполнения, в отдельных участках вблизи них обозначались мелкоточечные кровоизлияния. В крупных сосудах органа отмечали признаки дезорганизации соединительнотканной основы ее стенки и выбухания пикноморфных эндотелиоцитов в просвет сосуда. Малочисленные клеточные инфильтраты, состоящие из лимфоцитов, отдельных эритроцитов отражали признаками истощение клеточных механизмов резистентности. При более тяжелом поражении почек в паренхиме органа местами полностью отсутствовала структура отдельных канальцев. Обнаруженные у больных животных признаки белковой тубулонефроза были обусловлены гематогенным распространением экзотоксинов, выделяемых псевдомонадами из первичного очага

некротического поражения. Кроме того выраженная сосудистая патология почек возникает вторично в результате образования вазоактивных веществ в некротизированных тканях и органах.

2.4.8 Влияние патологического процесса на мочевыводящие пути осетра

Область мочевыводящих путей выстлана переходным эпителием. Цитоплазма и ядра клеток эпителия сохраняли хорошо обозначенную структуру. Просветы мочевыводящих путей выделялись наличием многочисленных складок, растягивание которых обеспечивали значительное увеличение объема накапливаемой и выводимой мочи. Для обеспечения тока мочи на поверхности переходного эпителия располагаются ворсинки, апикальная область которых во многих участках имеет неясно обозначенную очертания, возникшие вследствие частичного отторжения (рисунок 38).

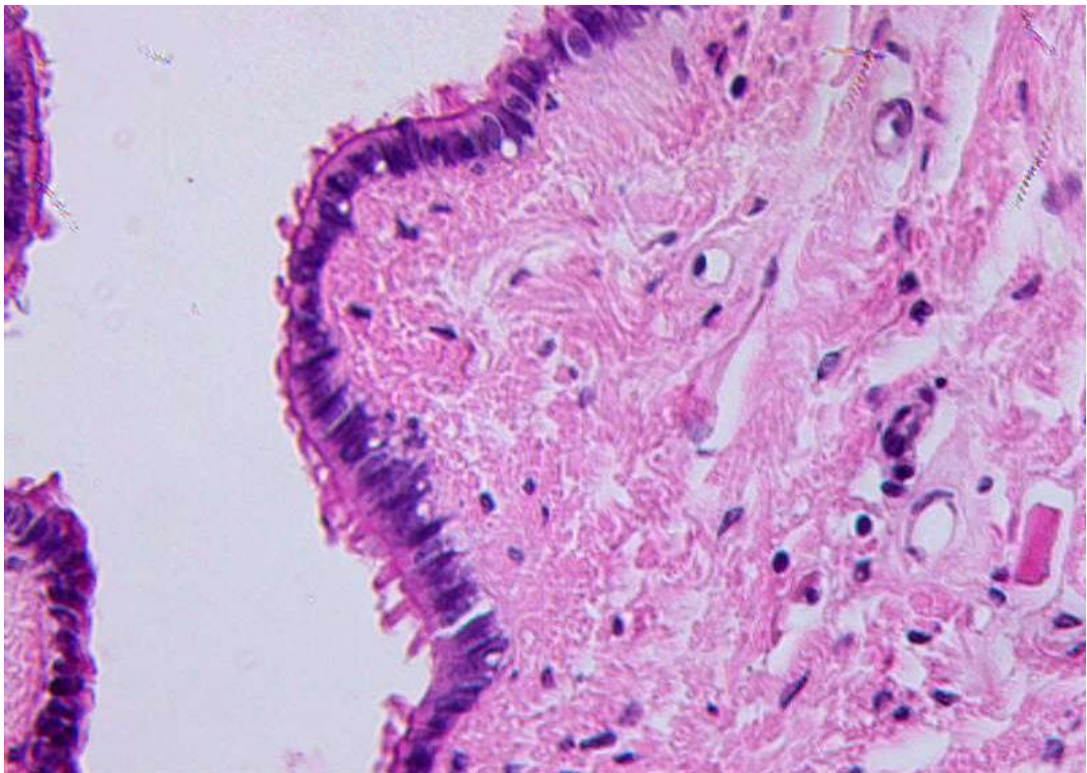


Рисунок 38 – Структура мочевыводящих путей. Ворсинки на поверхности переходного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. X 200

В подслизистой основе, состоящей из толстых пучков коллагеновых волокон, остатки клеток, находящиеся в состоянии гиперхромии. Кровеносные сосуды в подслизистой выделялись развитой гладкой мускулатурой и относились к артериям и венам мышечного типа. В отличие от здоровых осетров в случаях генерализации инфекционного процесса стенки кровеносных сосудов выделялись выраженными признаками мукоидного набухания и разволокнения пучков коллагеновых и эластических волокон.

Продольные и циркулярные слои гладкой мускулатуры мышечной оболочки отличались отечностью и не обеспечивали требуемое значительное давление на содержимое мочевыводящих путей.

2.5 Обоснование патогенеза псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в УЗВ

На основании клинических, бактериологических, патоморфологических исследований больных псевдомонозом осетров, выращиваемых в условиях установок замкнутого водоснабжения, создаются реальные условия (факторы), способствующие возникновению бактериальной инфекции. Иницирующими факторами возникновения псевдомоноза осетров являются механические повреждения кожного покрова в области средней трети спины, и аналогично на брюшной поверхности, а также у оснований грудных, анальных и хвостовых плавников и проявляющиеся образованием поверхностных, а затем более глубоких некротических (язвенных) очагов, являющимися входными воротами для последующего генерализованного инфекционного процесса в организме.

В случаях нарушения регламентированных зоогигиенических норм плотности посадки осетров в емкостях УЗВ создаются условия избыточного скопления рыб, особенно при кормлении, когда рыбы непосредственно контактируют друг с другом и наносят механические повреждения в различных участках кожи острыми жучками. Это подтверждается клиническим осмотром

больных псевдомонозом осетров и результатами изучения расположения ран выявленных на поверхностях тела (рисунок 39).

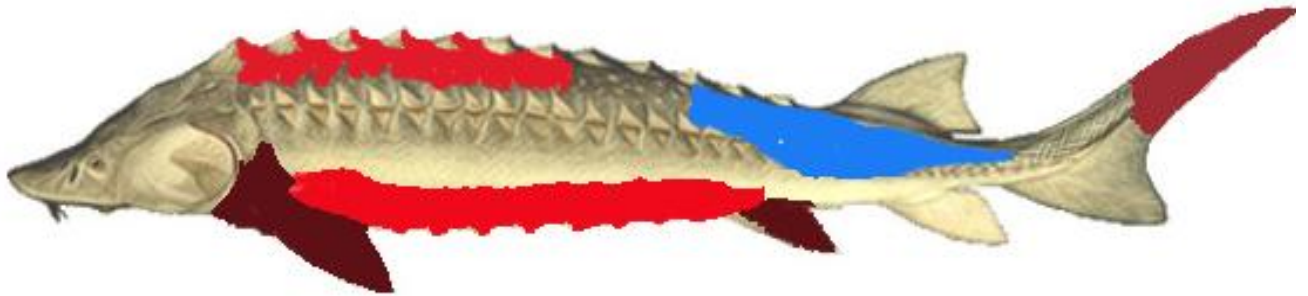


Рисунок 39 – Схема расположения наиболее поражаемых участки тела осетровых рыб при псевдомонозе (красный цвет) и области с наименьшей степенью поражения (синий цвет)

Установлено, что часто язвенные поражения возникает на местах механических поражений в выступающих частях тела животного, например область средней трети спины, брюшная поверхность тела, а также основания грудных и хвостовых плавников. Область спинного плавника мало подвержена механического поражения.

Основным путем проникновения инфекционного начала при псевдомонозе являются нарушения целостности кожного покрова, в результате механического повреждения эпидермального и дермальных слоев. В дальнейшем инфекция проникает в соматическую мускулатуру. Особенностью строения скелетной мускулатуры у осетров является наличие между параллельными пластами миомер перпендикулярно расположенные мышечные волокна с проходящими вблизи них нервами и кровеносными сосудами, способствующие к формированию более глубоких язвенных поражений, а вслед за этим генерализации инфекции в органах и тканях (рисунок 40).

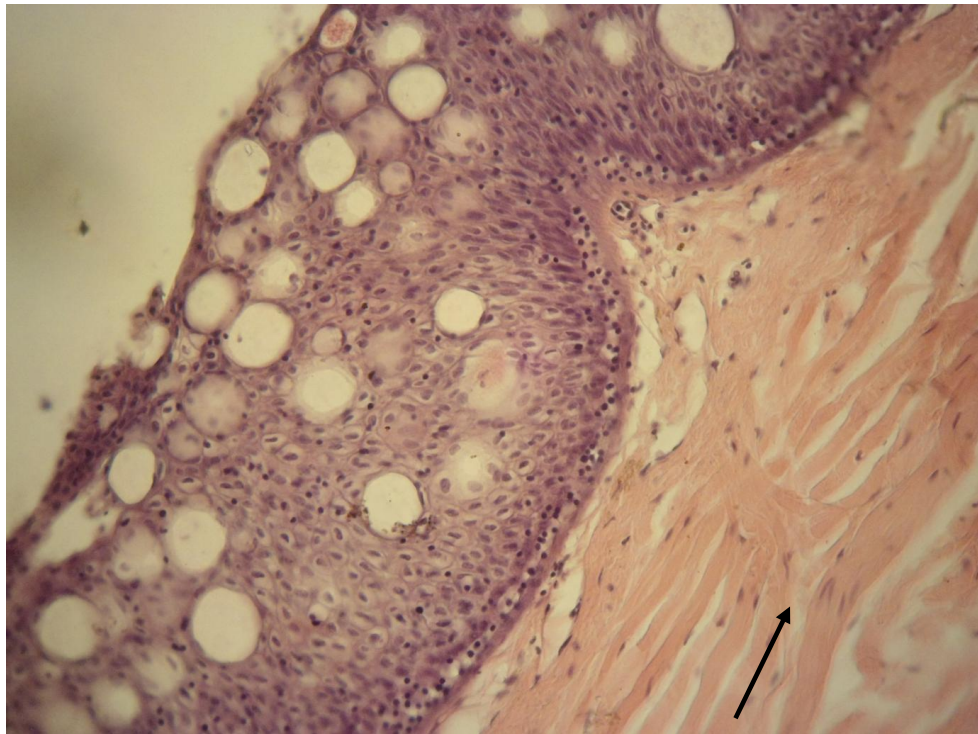


Рисунок 40 – Строение кожи и прилегающей мускулатуры осетровых рыб в норме. Перпендикулярные мышечные волокна. Окраска гематоксилином и эозином. X200

Постоянные первичные поражения кожи с образованием язв вызвано наличием у возбудителей псевдомоноза дерматонекротического свойства. При первичном поражении кожного покрова продолжительность инфекционного процесса намного увеличивается.

Наиболее ускоренное развитие псевдомоноза у осетров отмечали при поражении жаберного аппарата, так как через жабры проходит большой объем воды, следовательно, при увеличении концентрации патогенной микрофлоры в воде создаются условия для быстрого проникновения его в общую гемоциркуляцию и генерализации инфекционного процесса в организме. Выявленные в жаберном аппарате больных осетров нарушения структуры ламелл, стенок сосудов местной гемоциркуляции способствовали созданию условия для быстрого нарастания гипоксии или аноксемии в исследованных паренхиматозных и полостных органах организма, что подтверждается также клиническими наблюдениями за больными рыбами. Больные псевдомонозом рыбы с поражением жаберного аппарата концентрируются вблизи аэраторных

установок в системе УЗВ, насыщающих воду кислородом. Также больные рыбы плавают в верхней толще, периодически выныривая из воды.

Как следствие общее общего кислородного голодания, а также воздействие продуктов жизнедеятельности псевдомоноад в паренхиматозных органах, эпителиальных тканях отмечали признаки обратимых и необратимых форм нарушений белкового и жирового обмена, а при более длительном течении болезни атрофии и некробиоза.

Возникновение спленомегалии у больных осетров в начале генерализованного течения инфекционного процесса, сопровождаемая гиперплазией лимфоидной ткани, дезорганизацией компонентов соединительной ткани в кровеносных сосудах органа в разгар болезни нарушениями тромбоцитопоза и как следствие возникновение многочисленных геморагии в органах и тканях. В процессе генерализации болезни благодаря диффузному скоплению лимфоидных клеток, макрофагов, обеспечивающих местную резистентности в органах и тканях, разрушается значительная часть псевдомоноад, и как следствие выделившиеся в кровь токсические продукты распада, вызывают нарастание тяжести поражения органов и тканей.

С этого момента болезнь генерализованной форма псевдомоноза приобретает необратимый характер, быстро завершающийся летальным исходом.

2.6 Разработка способа лечения псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ

2.6.1 Терапевтическое обоснование применения нового способа лечения

После сравнительного анализа чувствительности возбудителя псевдомоноза к антибиотикам *in vitro* и установления фактической чувствительности из числа испытанных противомикробных средств наиболее эффективный был признан окситетрациклин, следовательно, для испытания

выбран препарат Нитокс-200, основным действующим веществом которого является данное соединение. Однако этот препарат ранее не применялся в ихтиопатологии. А также не были известны границы терапевтических доз препарата в лечении бактериоза осетровых и не определена степень безвредности препарата и побочного действия для организма рыб.

Нитокс-200 – антибиотик широкого действия, представляющую группу тетрациклинового ряда. Прозрачный раствор с незначительно вязкой консистенции, коричневатого цвета, со специфичным запахом. В 1 мл раствора содержится 200 мг окситетрациклина дигидрата, который оказывает бактериостатический эффект, а комплекс окситетрациклина с магнием обуславливает его пролонгированное действие. К препарату чувствительны большинство грамположительных и грамотрицательных бактерий, в т.ч. стрептококки, стафилококки, фузобактерий, сальмонеллы, а также псевдомонады. Убой рыб разрешается не ранее чем через 28 суток после последнего применения препарата. По степени воздействия на организм животных относится к умеренно опасным веществам (III класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

Для определения терапевтического эффекта выбранного препарата для лечения псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ из всего поголовья отобраны больные псевдомонозом рыбы, в количестве 40 голов разных видов осетровых в возрасте 3-4,5 года весом 2,8-3,7 кг. Их разместили в карантинные бассейны, где поддерживалась постоянная температура воды 18°C и содержание растворенного в воде кислорода составляет не менее 6 мг/дм³. Для проведения сравнительной оценки эффективности методов лечения были разделены на 2 основные группы:

- 1) В опытной группе для лечения рыб использовали испытуемый препарат Нитокс 200, путем индивидуальных инъекций в толщу мышцы в области поражения, при схеме двух- и трехкратных введении в нарастающей дозе, в зависимости от степени псевдомонозного поражения;

2) В контрольной группе больных рыб лечили принятым в этих хозяйствах методом лечебных кормлений с добавлением в корм противомикробного препарата Антибак 100 в течение 5-10 суток в зависимости от степени поражения в расчете 0,5 и 0,7 г на 1 кг живой массы рыбы в сутки.

Лечение осетровых производили по схеме, приведенной на рисунке 41.

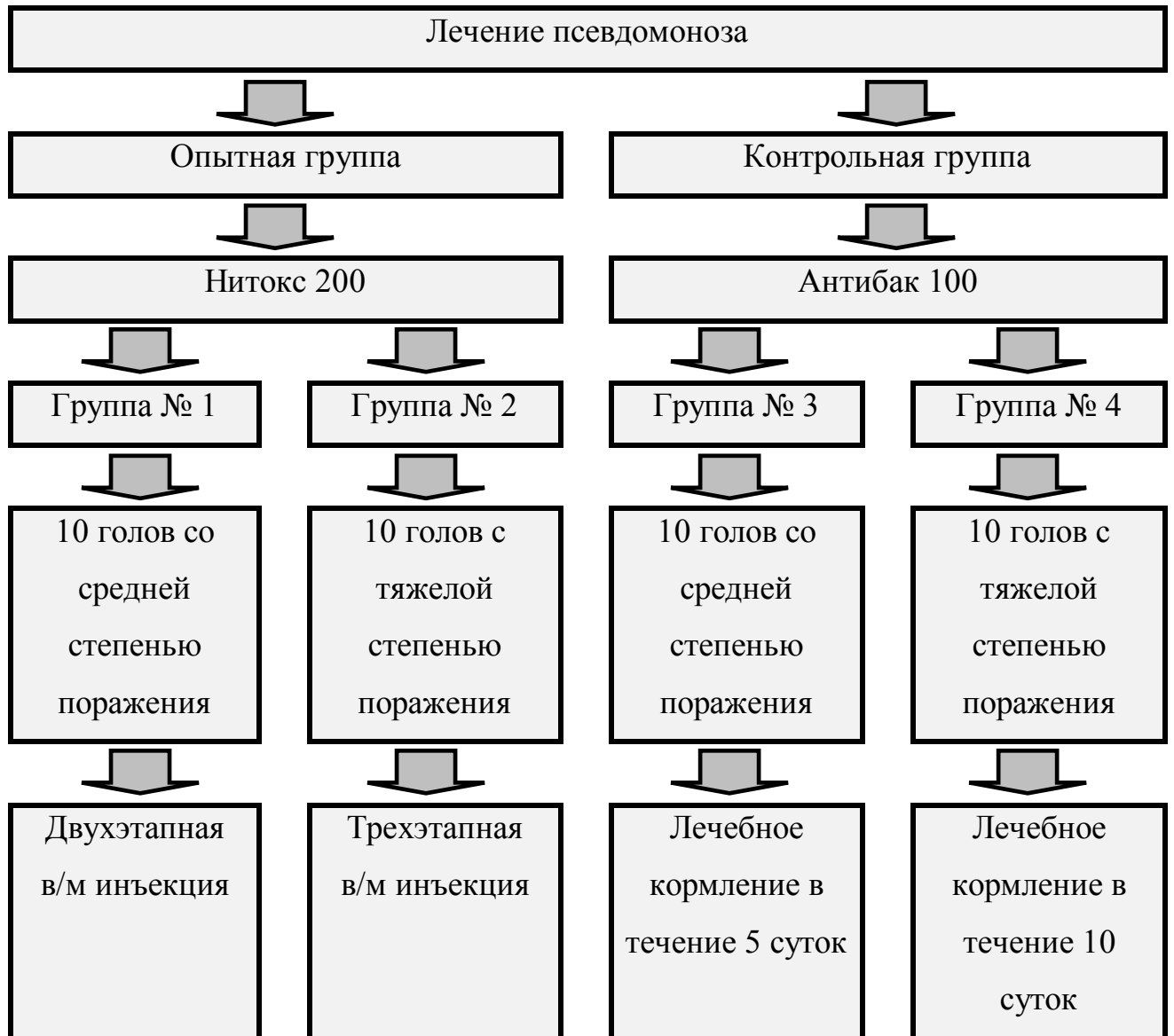


Рисунок 41 – Схема проведения лечения осетров больных псевдомонозом

Результаты определения антибактериальной активности в опытной группе – у больных рыб со средней степенью поражения (группа №1) наблюдались незначительное покраснение роострума анального отверстия,

точечные кровоизлияния и небольшие язвы на дорсальных и вентральных поверхностях тела (рисунок 42).



Рисунок 42 – Язвенное поражение в брюшной поверхности до лечения

На вторые сутки после внутримышечного введения препарата в дозе 30 мг действующего вещества на 1 кг живой массы рыбы (мг/кг) уже отмечался терапевтический эффект: появляется поверхностное натяжение и уже образуются четкие границы раны, снижается сосудистое инъецирование, а также отступает местное воспаление (рисунок 43).

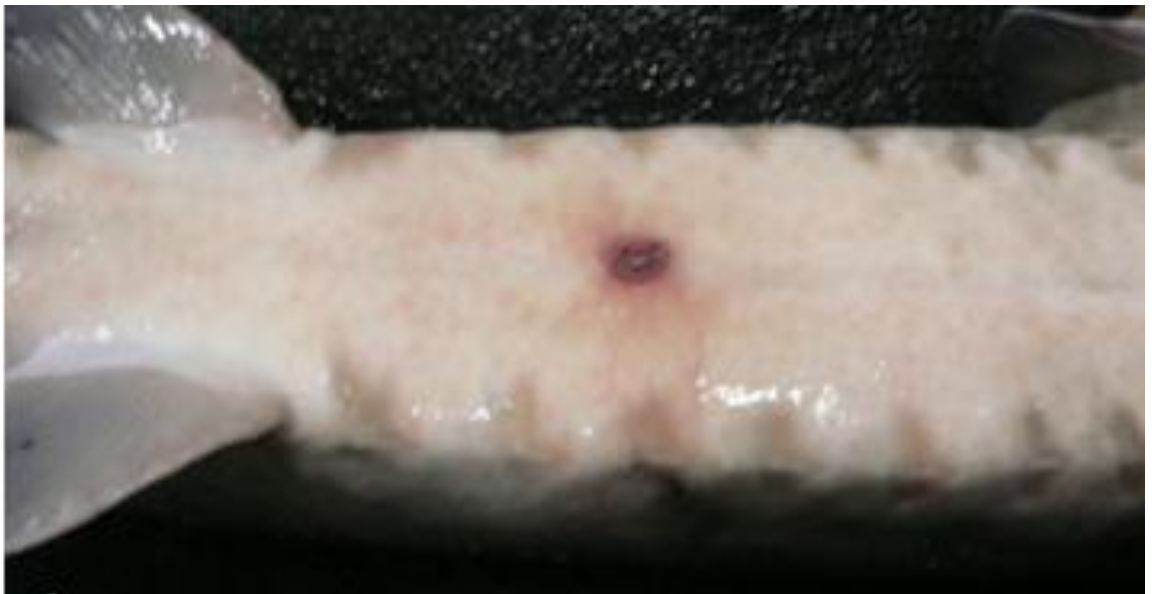


Рисунок 43 – Язвенное поражение после первого введения препарата

После повторной инъекции, которую производят через двое суток после первого этапа введения, где уже дозировка увеличивается до 50 мг/кг массы

рыбы. На третьи сутки после второго этапа лечения отмечается полное заживление раны, улучшение общего состояния рыбы (рисунок 44).



Рисунок 44 – Полное заживление псевдомонозного поражения

При более тяжелых проявлениях болезни (группа № 2), при которых наблюдали глубокие язвенные поражения преимущественно в области средней трети спины, с формированием кратерообразных углублений доходящих до мускулатуры животного, дно язв серого цвета с красным ободком. В случаях, когда язвенные поражения локализовались вблизи основании жучков, то наблюдали отторжение последнего от поверхности тела. Нередки случаи расположения первичного поражения на основаниях грудных и брюшных плавников, с образованием культи с развитием некротических процесса. В последующем в результате бактериемии и заноса инфекции в камеры глаза развивается экзофтальмия. В запущенных случаях дозировка препарата Нитокс 200 требует увеличения, если при первом введении если она составляет 50 мг/кг, то во втором и третьем инъекциях равна 75 мг/кг живой массы рыбы, через каждые 2-е суток. Последовавшие за этим репаративные процессы, проявляющиеся разрастанием местной волокнистой ткани с образованием

рубца, наступают через 2-3 суток после третьей инъекции препарата, а эффективность лечения составила 100% (рисунок 45).



Рисунок 45 – Динамика заживления язвы в дорсальной части тела при сильной степени поражения после применения Нитокс-200

У рыб контрольной группы (группа № 3 и 4) после применения лечебного кормления на протяжении 5-10 суток в зависимости от степени поражения, ослабление клинических признаков псевдомоноза наблюдали в более поздние сроки (4-7 суток после начала применения Антибака 100). Случаи полного выздоровления у больных рыб даже с поражением кожного покрова не отмечали. В группе №4 в процессе эксперимента отмечен падеж 2 сибирских осетров и 1 русского осетра из 10 больных псевдомонозом рыб с признаками генерализованной формой болезни. При патологоанатомическом вскрытии наиболее характерные изменения наблюдали в очагах первичного поражения – кожный покров, подлежащие тканей, а также воспалительно-некротические изменения в органах ЖКТ, печени, пилорической железе. Менее тяжелые патологические процессы в виде белковой дистрофии, а также местных нарушений гемоциркуляции отмечали почках, печени и селезенке.

Эффективность лечебного кормления с применением Антибака 100 в смеси основным кормом оказалось менее эффективным вследствие ослабления организмов осетров и снижения аппетита в результате плохо поедали корм. При вскрытии желудочно-кишечного тракта в большинстве случаев отмечали незначительное содержание или полное отсутствие корма, следовательно,

недополучение антимикробного препарата. Бактериологическими исследованиями патологического материала взятого от павших рыб установлено наличие возбудителя *Pseudomonas putida*. Эффективность лечения псевдомоноза посредством скармливания корма содержащего Антибак 100 составила в среднем 76,5%.

2.6.2 Экономическое обоснование эффективности применения методов лечения псевдомоноза

Экономический ущерб, наносимый рыбоводческим хозяйствам от псевдомоноза складываются из ущерба от снижения продуктивности больных, от падежа осетровых рыб, недополучения товарной осетрины, а также затрат на приобретение терпевтических препаратов и проведения лечебных мероприятий.

В группе №4 контрольной группе с более запущенной формой болезни рыб отмечен падеж 3 из 10 голов осетра, следовательно для этой группы произведен расчет экономического ущерба от падежа рыб (Y_1):

$$\text{Группа №4} - Y_1 = 3 * 3,5 * 1\ 000 - 0 = 10\ 500 \text{ руб.}$$

Так как патологический процесс сказывается на приросте живой массы рыб, для этого рассчитан экономический ущерб от снижения продуктивности (Y_2):

$$\text{Группа №1} - Y_2 = 10 * (0,72 - 0,60) * 5 * 1\ 000 = 6\ 000 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №2} - Y_2 = 10 * (0,72 - 0,60) * 10 * 1\ 000 = 12\ 000 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №3} - Y_2 = 10 * (0,72 - 0,60) * 5 * 1\ 000 = 6\ 000 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №4} - Y_2 = 7 * (0,72 - 0,60) * 10 * 1\ 000 = 8\ 400 \text{ руб.}$$

Если в первых 3 группах общая сумма экономического ущерба (Y) равнялась экономическому ущербу от снижения продуктивности (Y_2), то в 4 группе она равна:

$$\text{Группа №4} - Y = 10\ 500 + 8\ 400 = 18\ 900 \text{ руб.}$$

Ущерб, предотвращенный в результате лечения больных животных (Π_{y2}). Псевдомоноз осетровых рыб в условиях УЗВ сопровождается высоким уровнем

летальности (до 70%), следовательно, коэффициент летальности ($K_{л}$) при данном бактериозе равен 0,7 [204].

$$\text{Группа №1} - P_{y2} = 10 * 0,7 * 3,3 * 1\ 000 - 6\ 000 = 17\ 100 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №2} - P_{y2} = 10 * 0,7 * 3,3 * 1\ 000 - 12\ 000 = 11\ 100 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №3} - P_{y2} = 10 * 0,7 * 3,0 * 1\ 000 - 6\ 000 = 15\ 000 \text{ руб.};$$

$$\text{Группа №4} - P_{y2} = 10 * 0,7 * 3,5 * 1\ 000 - 18\ 900 = 2\ 800 \text{ руб.}$$

Затраты на приобретение терпевтических препаратов приведены в таблице 10.

Таблица 10– Материалы, средства для лечение псевдомоноза осетровых рыб

Группы		Наименование	Цена за 1 шт (руб.)	Количество (шт) / объем потраченного препарата для лечения (мл)	Стоимость препарата для лечения (руб.)
Опытная	Группа №1	Нитокс 200, 100 мл	239,61	40	95,84
		Шприц одноразовый, 20 мл	4,9	20	98,00
		Итого			193,84
	Группа №2	Нитокс 200, 100 мл	239,61	130	331,49
		Шприц одноразовый, 20 мл	4,9	30	147,00
		Итого			478,49
Контрольная	Группа №2	Антибак 100, 1000 гр	1690	90	152,1
	Группа №4	Антибак 100, 1000 гр	1690	217	366,73

Затраты на оплату труда ветеринарного врача и помощника при проведении лечебных мероприятий приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Затраты на оплату труда при лечении псевдомоноза осетровых

Группы	Степени поражения	Наименование	Ветеринарный врач	Помощник
Опытная	Группа №1	Размер заработной платы, (руб.)	14 000	10 000
		Размер почасовой оплаты труда (руб.)	68,35	48,82
		Количество времени на проведение лечебных мероприятий (ч)	2	3
		Оплата труда за проведение лечебных мероприятий (руб.)	136,7	97,64
		Отчисления в государственные внебюджетные фонды (руб.)	41,28	29,49
		Итого	177,98	127,12
	Группа №2	Оплата труда за проведение лечебных мероприятий (руб.)	205,05	146,46
		Отчисления в государственные внебюджетные фонды (руб.)	61,92	44,23
		Итого	266,97	190,69
	Контрольная	Группа №3	Количество времени на проведение лечебных мероприятий (ч)	4
Оплата труда за проведение лечебных мероприятий (руб.)			273,40	–
Отчисления в государственные внебюджетные фонды (руб.)			82,56	–
Итого			355,96	–
Группа №4		Количество времени на проведение лечебных мероприятий (ч)	8	–
		Оплата труда за проведение лечебных мероприятий (руб.)	546,80	–
		Отчисления в государственные внебюджетные фонды (руб.)	165,13	–
		Итого	711,93	–

Затраты на проведение ветеринарных мероприятий ($Z_{\text{в}}$) складывается из затрат на приобретение терпевтических препаратов, оплаты труда и налоговых отчислений ветеринарного врача и помощника (при необходимости).

$$\text{Группа №1} - Z_{\text{в}} = 193,84 + 177,98 + 127,12 = 498,95 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №2} - Z_{\text{в}} = 478,49 + 266,97 + 190,69 = 936,15 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №3} - Z_{\text{в}} = 152,1 + 355,96 = 508,06 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №4} - Z_{\text{в}} = 366,73 + 711,93 = 1078,66 \text{ руб.}$$

Экономический эффект, полученный в результате проведения лечебных мероприятий ($\text{Э}_{\text{в}}$) при псевдомонозе осетровых рыб в условиях УЗВ равна:

$$\text{Группа №1} - \text{Э}_{\text{в}} = 17\ 100 - 498,95 = 16\ 601,04 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №2} - \text{Э}_{\text{в}} = 11\ 100 - 936,15 = 10\ 163,84 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №3} - \text{Э}_{\text{в}} = 15\ 000 - 508,06 = 14\ 491,93 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №4} - \text{Э}_{\text{в}} = 2\ 800 - 1\ 078,66 = 1\ 721,33 \text{ руб.}$$

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат ($\text{Э}_{\text{р}}$) равна:

$$\text{Группа №1} - \text{Э}_{\text{р}} = 16\ 601,04 : 498,95 = 33,27 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №2} - \text{Э}_{\text{р}} = 10\ 163,84 : 936,15 = 10,85 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №3} - \text{Э}_{\text{р}} = 14\ 491,93 : 508,06 = 28,52 \text{ руб.}$$

$$\text{Группа №4} - \text{Э}_{\text{р}} = 1\ 721,33 : 1078,66 = 1,59 \text{ руб.}$$

Таким образом, экономический эффект лечения антимикробным препаратом Нитокс 200 псевдомоноза осетровых рыб средней степени тяжести составил на 12,8%, а при более запущенных стадиях болезни – 83,1% больше, чем от ранее применявшего в условиях рыбоводческих хозяйств способ лечебного кормления с добавлением препарата Антибак 100. Экономическая эффективность лечебных мероприятий на 1 руб. затрат на 14,3% и 85,4% выше соответственно.

2.7 Выявление возможных осложнений псевдомоноза вторичными инфекциями

Бактериологическими исследованиями проб оборотной воды отмечен рост на поверхности питательных сред тест-микробов (*E.coli*, *St. aureus*) и

бактерий рода *Pseudomonas* во всех исследованных образцах. В материалах, взятых из всех бассейнов, после обработки озонатором OZAT CFS-1/3 2G отмечено рост грибов на среде Чапека (рисунки 46-47). В то время после обработки УФ-установкой Commercial UV Sterilizer IP 64 рост грибов не установлено.

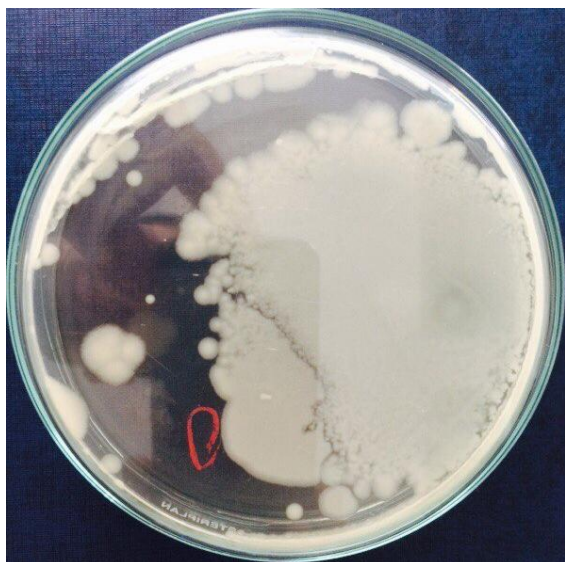


Рисунок 46 – Рост грибов на среде Чапека до обработки воды

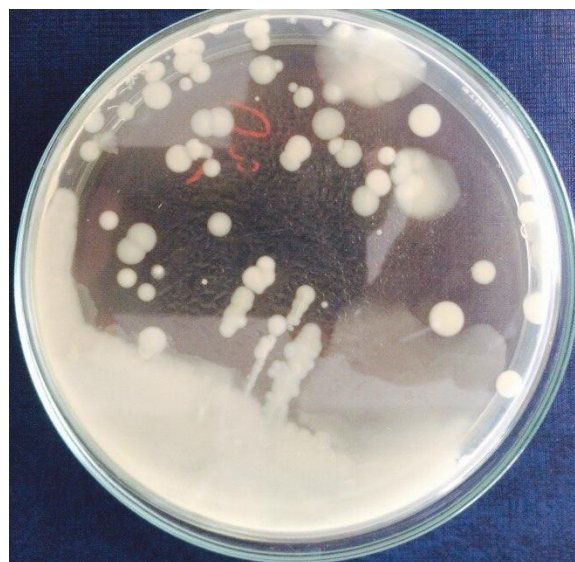


Рисунок 47 – Рост грибов на среде Чапека после озонирования воды

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты бактериологических исследований воды

Виды бассейнов	После озонирования				После УФ-обработки				До обработки (контроль)						
	Количество КОЕ	Наличие/отсутствие				Количество КОЕ	Наличие/отсутствие				Количество КОЕ	Наличие/отсутствие			
		<i>E.coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	Грибы		<i>E.coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	Грибы		<i>E.coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	Грибы
Посадочный бассейн	$2,97 \cdot 10^2$	+	+	-	+	$1,24 \cdot 10^2$	-	+	-	-	$2,11 \cdot 10^5$	+	+	-	+
Посадочный бассейн	$1,92 \cdot 10^2$	+	+	-	+	$1,68 \cdot 10^2$	+	+	-	-	$3,17 \cdot 10^5$	+	+	-	+
Посадочный бассейн	$1,81 \cdot 10^2$	+	+	-	+	$1,12 \cdot 10^2$	-	+	-	-	$2,98 \cdot 10^5$	+	+	-	+
Посадочный бассейн	$1,74 \cdot 10^2$	+	+	-	+	$1,42 \cdot 10^2$	-	+	-	-	$1,41 \cdot 10^5$	+	+	-	+
Карантинный бассейн	$2,24 \cdot 10^2$	+	+	+	+	$1,73 \cdot 10^2$	-	-	-	-	$2,33 \cdot 10^5$	+	+	+	+

Из таблицы следует, что при дезинфекции воды озоном КОЕ воды равна $1,94 \cdot 10^2$, что на 25,8% превышает аналогичный показатели оборотной воды после дезинфекции ультрафиолетовыми лучами (КОЕ $1,43 \cdot 10^2$). Таким образом, полученные результаты указывают на необходимость включения в систему УЗВ ультрафиолетовых установок, т.к. озонирование недостаточно эффективно при дезинфекции водной среды в борьбе с грибами в установках замкнутого водоснабжения, что повышает риск возникновения болезней грибковой этиологии, к примеру, сапролегниоза, часто регистрируемых в изучаемых условиях выращивания осетровых [29].

В ряде случаев у больных рыб с хронической формой псевдомоноза на поверхности язвенных поражении обнаруживался серовато-белый налет – основное клиническое проявление сапролегниоза (рисунок 48).



Рисунок 48 – Язва на левой боковой поверхности спины осетра при псевдомонозе с вторичным поражением сапролегниозом

При гистологическом изучении пораженных псевдомонозом участков с грибковым образованием установлено наличие гиф *Saprolegniales* (рисунки 49-50), которые врастают между гибнущими клетками в кориуме, достигающие в

длину до $61,30 \pm 4,47$ мкм (C_v 8,86), в ширину до $1,53 \pm 0,14$ мкм (C_v 8,27). Площадь их равна $73,39 \pm 8,82$ мкм² (C_v 6,05).

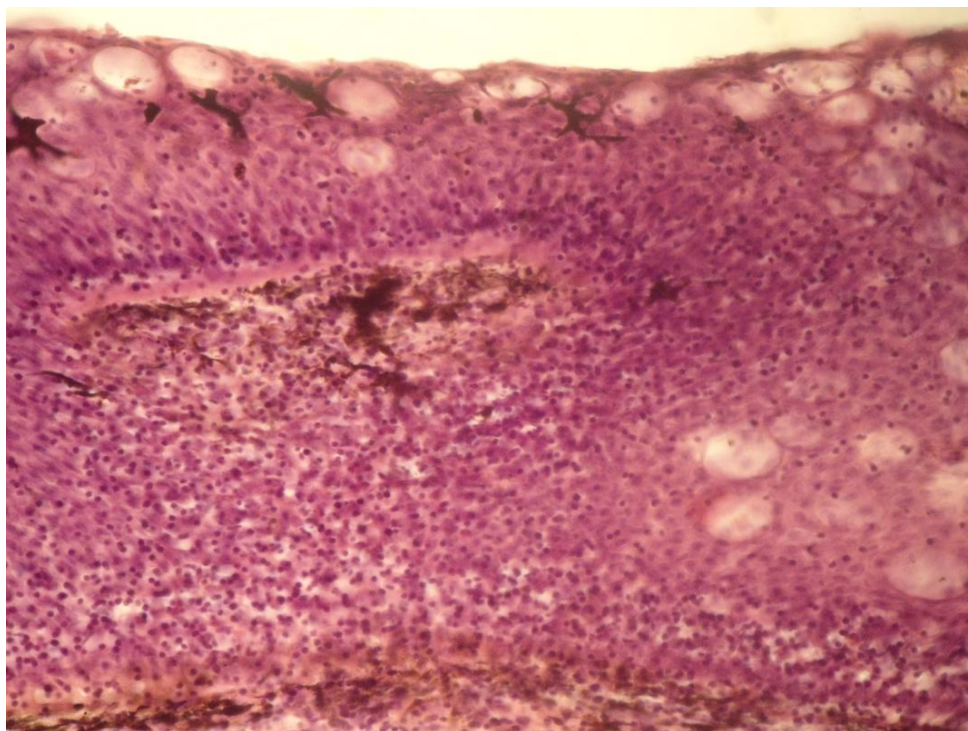


Рисунок 49 – Проникновение грибов рода *Saprolegniales* в глублежащие слои кожи осетра. Окраска гематоксилином и эозином. X140

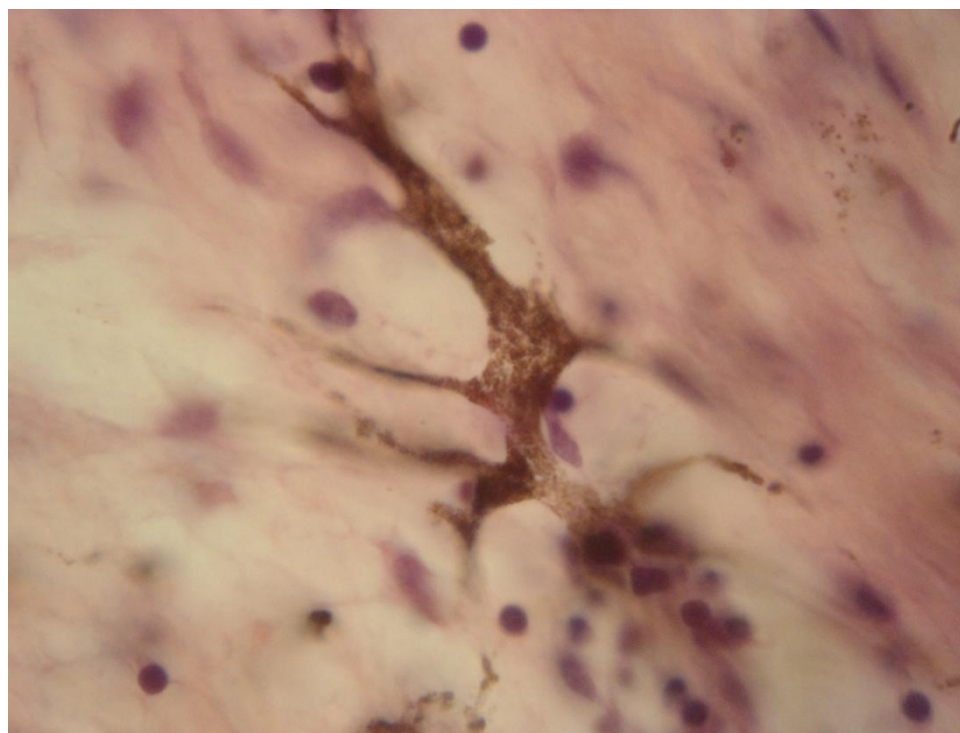


Рисунок 50 – Вросшие гифы возбудителя сапролегниоза в межклеточные пространства. Окраска гематоксилином и эозином. X540

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полный запрет на отлов в ряде крупнейших стран-производителей продуктов осетроводства, в виду угрозы исчезновения популяции осетровых, способствовало к популяризации альтернативных способов выращивания рыб данного семейства в искусственных условиях, таких как установки замкнутого водоснабжения (УЗВ), который позволяет решить один из вопросов продовольственной безопасности, поставляя на рынок экологически чистую продукцию. В этих условиях благодаря тщательному контролю условий выращивания, рациона, а также регулированию температуры водной среды можно увеличить прирост гидробионтов, а также сокращать сроки восстановления рыб после прижизненного получения черной икры, тем самым увеличить объемы производства ценной продукции [62, 65].

Однако, как показывает практика даже в такой хорошо контролируемой среде обитания, как УЗВ не всегда удается избежать возникновения и распространения болезней среди осетровых рыб различной этиологии. Проведенным нами эпизоотологическим мониторингом определен нозологический профиль болезней осетров, среди которых значительная доля из числа регистрируемых в условиях УЗВ принадлежит патологиям инфекционного характера. Среди бактериозов осетровых наиболее часто встречаемым является псевдомоноз, случаи вспышки которого и падежа рыб от генерализованной формы болезни регистрируется в осетроводческих хозяйствах в течение года [56].

Наносимый псевдомонозом рыбоводческим предприятиям экономический ущерб от снижения продуктивности (недополучение объемов осетрины и черной икры), порчи товарного вида рыб, а также падежа достигает колоссальных размеров. Многочисленные дорогостоящие методы лечения, не дающие конкретных результатов тоже является препятствием на пути развития хозяйств профилирующих в данной отрасли. Анализ отечественных и зарубежных литературных данных ограничиваются знаниями об инфекционном

начале, клинических признаках псевдомоноза. Недостаточно изученными сторонами псевдомоноза являются этиология возникновения болезни среди осетров, особенности возбудителей в условиях УЗВ, патоморфологические изменения, а также требующая конкретного подхода к выбору эффективных средств лечения и профилактики. Стоит отметить, что из-за низкой степени представлений о гистоструктурных изменениях в наиболее поражаемых органах и тканях вопрос патогенеза при данном бактериозе остается открытым.

Восполнение пробелов в изучении псевдомоноза осетровых рыб, культивируемых в УЗВ, явилось целью нашей работы, для решения которой в первом этапе исследования выявлены основные причины, способствующие возникновению и распространению болезни среди гидробионтов.

По результатам проведенных нами бактериологических исследований воды, различных участках УЗВ, естественной микрофлоры условно здоровых рыб, установлено повсеместно присутствие бактерии рода *Pseudomonas*, количество которых варьировала в зависимости от поэтапности расположения изучаемых участков УЗВ, таким образом, наиболее обсемененным условно-патогенной микрофлорой, оказались плавающие нагрузки биологического фильтра, где колониеобразующая единица (КОЕ), к примеру, в разы превышала аналогичный показатель оборотной воды. Несмотря на факт, о том, что бактерии данного вида участвуют в процессе регулирования уровня содержания нитритов и нитратов в воде, резкое увеличение концентрации бактерии способствует возникновению болезни.

При исследовании состава естественной микрофлоры органов желудочно-кишечного тракта здоровых осетров, выращиваемых в УЗВ, установлено постоянное присутствие псевдомонад, что позволяет отнести их к условно-патогенным микроорганизмам, следовательно, наибольшая вероятность возникновения инфекционного процесса с участием этих бактерии возможно при сочетанном действии иных патогенных факторов, что подтверждаются близкими результатами Васильева Д.А. и др. [16].

В ходе выполненного ежемесячного эпизоотологического мониторинга по определению уровней заболеваемости псевдомонозом и летальности осетров от данной патологии в условиях УЗВ установлена зависимость возникновения вспышек и увеличение падежа животных от колебания температуры воды в посадочных бассейнах. Периоды, когда болезнь приобретает массовый характер, уровень летальности также высок, совпадают с периодом так называемых «искусственных зимовок», при котором температура воды опускается до 8°C.

Возникновения псевдомоноза в условиях УЗВ среди осетров возможна также при нормальных условиях содержания и когда температура воды составляет 18-20°C. В этот период болеет в основном маточное поголовье (до 70-80% из числа заболевших), это объясняется снижением общей резистентности организма осетров после прижизненного сцеживания черной икры, что является в данных случаях дополнительным фактором способствующей для возникновения псевдомоноза.

К факторам влияющих на заболеваемость псевдомонозом осетровых следует отнести возраст рыб. Наибольшая частота заболеваемости псевдомонозом осетров, выращиваемых в УЗВ, отмечается в возрасте от 2 до 5 лет [38].

По нашим данным клиническое проявление псевдомоноза у осетровых рыб, выращиваемые в условиях УЗВ, практически не отличались от проявления болезни у рыб, обитающих в естественных условиях. В начальных стадиях бактериоз проявляется в виде точечной или очаговой гиперемии чаще в дорсальной части тела, в межлучевых перепонках плавников и на жаберных лепестках, а также в области анального отверстия. При генерализованной форме болезни поверхностные язвы превращаются в глубокие очаги поражения, преимущественно в области дорсальной и вентральной поверхности туловища, в основаниях жучек, на поверхности жаберной крышки, грудных и анальных плавников, наблюдается экзофтальмия, воспаление анального отверстия. Преимущественная локализация язвенных поражений

объясняется вероятным возникновением механических повреждений брюшной частью туловища больных осетров в область спины ниже располагаемых в воде здоровых рыб, или, наоборот, при тесном контакте рыб в бассейнах с нарушением плотности посадки, особенно во время кормления. Данная гипотеза подтверждается установленной тенденцией частого расположения язвенных очагов в выступающих участках тела рыб.

В поведении осетров больных псевдомонозом также имеются отклонения от нормы в виде снижения активности и реакции на внешние раздражители, хаотичные и не свойственные движения при плавании, скоплений больных рыб у аэрационных установок (флейт). Наши данные о поведении больных псевдомонозом рыб опровергают мнение некоторых авторов [109], о том, что больные псевдомонозом осетры не восприимчивы к уровню содержания кислорода в воде.

На основании бактериологических исследований пораженных органов выделен возбудитель, представляющий собой грамотрицательную подвижную палочку, образующий на поверхности МПА серовато-белых полупрозрачных, круглых колоний. При изучении биохимических свойств определили их принадлежность к бактериям рода *Pseudomonas*, а дальнейшей дифференциации – вид *putida*, специфичный для осетровых рыб возбудитель псевдомоноза, уровень патогенности которых подтверждена положительным результатом биологической пробы.

Важным звеном при постановке диагноза играет патологоанатомическое вскрытие, по результатам, которых установлены основные изменения:

– Язвенные поверхностные поражения в областях брюшной и спинной поверхностях, основаниях грудных, анальных и хвостовых плавников при остром течении, при хроническом течении язвы приобретали большую площадь поверхности и глубину, и всегда имели ярко красное кровоточащее дно с хорошо обозначенными краями;

– В жаберном аппарате больных псевдомонозом осетров отмечали разрушение структуры эпителия, гиперемию и анемию капилляров ламелл, обильные лейкоцитарные инфильтрации жаберных дуг;

– При генерализации инфекционного процесса в печени, поджелудочной железе, селезенке и почках отмечали нарастание белковых и жировых дистрофий переходящие с течением тяжести болезни в атрофию и некробиоз клеток паренхимы, резко выраженный отек в строме органов и нарушение гемоциркуляции в сосудах системы микроциркуляции, сопровождающиеся дезорганизацией компонентов соединительной ткани стенки сосудов. В селезенке нарастали процессы нарушения выработки тромбоцитов, что способствовало увеличению количества геморрагии;

– В сердце больных осетров наиболее выраженные изменения отмечали в терминальную стадию инфекционного процесса в виде зернистой дистрофии, атрофии кардиомиоцитов и разволокнения и отека в межмышечной соединительной ткани. Вазопатогенное действие инфекции в коронарных сосудах проявилось застойной гиперемией, пикнозом эндотелиальных клеток и обширными участками периваскулярного отека;

– В желчном пузыре и мочевыводящих путях отмечали признаки нарушения тока содержимого вследствие деструктивных изменений со стороны эпителиальных клеток и подлежащих тканей;

– Возникновение одно- или двустороннее пучеглазие (экзофтальмия) объясняется нарушением движения внутриглазной жидкости вследствие возникающего по ходу развития псевдомоноза повсеместного отека, а также токсины возбудителя повышению проницаемости сосудистой стенки вследствие увеличение объема внутриглазной жидкости.

К особенностям гистологического строения органов осетров следует отметить чрезвычайно развитую гладкомышечную ткань в стенке полостных и паренхиматозных органов. Большинство артериальных и венозных сосудов относились к мышечному типу, все это определялось постоянным нахождением этих рыб на большой глубине. Капсулы полостных органов богаты

эластическими волокнами и вследствие присутствия пигментных гранул постоянно окрашены в темно коричневые и черные цвета.

Проведенный сравнительный анализ чувствительности возбудителя псевдомоноза к антибиотикам показал, что наиболее эффективное антибактериальное действие обладает препарат широкого спектра действия – Нитокс 200, действующим веществом которого является окситетрациклин, который показал большую терапевтическую эффективность по сравнению лечебным действием с используемым в производственных условиях рыбководческого предприятия методом лечебного кормления с добавлением антибиотика Антибак 100. Разработанный способ лечения псевдомоноза показал наибольший терапевтический эффект, позволяющий в кратчайшие сроки достигнуть подавления клинических признаков даже при тяжелой степени болезни. На основании терапевтического действия и экономического обоснования эффективности применения нового способа лечения псевдомоноза получен патент на изобретение № 32737 от 19 марта 2018 г., выданный Министерством юстиции Республики Казахстан.

Сравнительного анализа эффективностей методов обеззараживания оборотной воды в системе УЗВ по средствам озонирования и ультрафиолетовой обработкой установлено недостаточное воздействие обогащенного кислорода на условно-патогенную микрофлору.

Выявленное наличие в ряде случаев в водной среде обитания рыб, а также в тканях области язвенных поражений мицелий гриба рода *Saprolegniales* – возбудителя сапролегниоза – источника вторичной инфекцией, являются признаком необратимого осложнения псевдомоноза, и служит предвестником быстрого летального исхода.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований выявлены основные пути возникновения псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ:

– Через поврежденные участки кожи нанесенных механическим травмированием вследствие высокой плотности посадки рыб. В этих случаях

наиболее эффективно проведение терапевтических мероприятий, по мере появления небольших очагов кровоизлияния на поверхности тела осетровых рыб.

– Проникновение инфекционного начала через жабры, который пропускает большой объем воды, и в случаях повышения концентрации условно патогенной микрофлоры в среде обитания, или же попадания уже активных патогенных псевдомонад, источником которых являются больные рыбы, и носители возбудителя болезни происходит заражение здоровых рыб. Такой путь заражения представляют наибольшую опасность, в виду отсутствия клинических признаков в начальной стадии болезни, и более резкого перехода болезни в генерализованную форму, в этой стадии лечение больных рыб не дает положительного результата, вследствие развития в организме больных рыб необратимых процессов, ведущих к гибели осетров.

– Понижением температуры воды в посадочных бассейнах в период создания «искусственных зимовок» для регулирования получения черной икры влияет на возникновения патогенной активности условно-патогенных псевдомонад циркулирующих в среде обитания.

– Активация аутоинфекции на фоне снижения общей резистентности организма маточного поголовья после процесса прижизненного сцеживания черной икры.

На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. Псевдомоноз является факторной болезнью, первичными этиологиями возникновения его среди осетров в условиях УЗВ служат нарушения зоогигиенических требования посадки рыб, накопление потенциального возбудителя болезни, перепады температуры воды, созданные для урегулирования процесса получения икры, а также снижения общей резистентности организма маточного поголовья после прижизненного сцеживания черной икры.

2. При идентификации возбудителя инфекционной патологии осетровых рыб установлено принадлежность его к роду *Pseudomonas*, а дальнейшая типизация определила вид псевдомонад *putida*, который является специфичным для осетровых рыб возбудитель псевдомоноза.

3. Установленные первичные патоморфологические изменения при псевдомонозе отмечается на поверхности тела и жаберном аппарате осетров в виде язвенных некротических поражений. Вторичные патоморфологические изменения – во внутренних органах, вследствие гематогенного заноса из первичных очагов поражения во внутренние органы, проявлялись дистрофическими, некробиотическими и атрофическими изменениями в клетках паренхимы, сосудистыми расстройствами внутриорганной гемоциркуляции.

4. Для лечения больных псевдомонозом осетров разработан инъекционный способ по средствам применения антибиотика широкого действия Нитокс 200, ранее не использованный в практике инфекционной ихтиопатологии, показавший положительный терапевтический эффект в различных степенях поражения. Экономический эффект лечения разработанным при средней степени тяжести составил 16 601,04 руб., а при более запущенных стадиях – 10 163, 84 руб. Экономическая эффективность лечебных мероприятий на 1 руб. затрат составил 33,27 руб и 10,85 руб. соответственно.

5. В ходе изучения естественной микрофлоры в различных участках УЗВ и исследовании патогистологических изменений кожного покрова осетровых рыб в области поражения псевдомонозом установлено наличие гиф патогенного гриба рода *Saprolegniales* – возбудителя сапролегниоза, являющегося вторичной инфекцией.

6. В виду недостаточной эффективности действия озонатора при обеззараживании оборотной воды, для предупреждения возникновения инфекционной патологии рыб в условиях УЗВ следует использовать УФ-установки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения больных псевдомонозом осетров, содержащихся в условиях УЗВ, рекомендуется применять антибиотик широкого действия Нитокс 200, путем индивидуальных внутримышечных инъекций в области первичного поражения. При начальных стадиях болезни использовать схему двукратного введения в дозах 30 и 50 мг действующего вещества на 1 кг живой массы рыбы, а при более тяжелой степени псевдомоноза – трехэтапная инъекция в дозах на первом введении 50 мл/кг и по 75 мл/кг в последующих этапах лечения.

2. Регулярно проводить контроль над бактериальным обсеменением водной среды обитания осетровых рыб с последующим определением чувствительности к антибиотикам *in vitro*, ввиду того, что длительное использование одного и того же антибиотика приводит к появлению антибиотиковой резистентности возбудителя.

3. Для профилактики псевдомоноза осетров, содержащихся в условиях УЗВ необходимо исключить влияние неблагоприятных факторов, способствующих снижению местной и общей резистентности организма рыб (плотная посадка рыб; несоблюдение температурного режима водной среды, несвоевременная замена плавающих нагрузок в биологических фильтрах; нарушение качества и режима кормления; несвоевременное выявление и изоляция больных рыб, отсутствие изолированных с благоприятными условиями для восстановления организма осетров после сцеживания икры).

4. Необходимо проводить обеззараживание оборотной воды в посадочных бассейнах посредством ультрафиолетовой обработки или в комплексе с озонированием.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов, – М.: Медицина, 1990. – С. 118-120.
2. Антипова, Л.В. Рыбоводство. Основы вылова, разведения и переработки рыб в искусственных водоемах: учебное пособие / Л.В. Антипова, О.П. Дворянинова, О.А. Василенко. – СПб.: Гиорд, 2009. – 427 с.
3. Аламдари, А. Результаты разработки стартового корма для личинок осетровых рыб на основе использования килечного белкового гидролизата и пробиотика «Бифитрилак» / Х. Аламдари, Н.В. Долганоеа, С.В. Пономарев, А.С. Винное // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство, 2013. – № 2. – С. 172-177.
4. Бауер, О.Н. Болезни прудовых рыб / О.Н. Бауер, В.А. Мусселиус, В.М. Николаева, Ю.А. Стрелков. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 320с.
5. Беляков, В.Д. Псевдомонады и псевдомонозы: моногр. / В.Д. Беляков, Л.А. Ряпис, В.И. Илюхин. – М.: Медицина, 1990. – 224 с.
6. Беретарь, И.М. Анализ эпизоотической ситуации по болезням рыб в Краснодарском крае в 2009 году / И.М. Беретарь // Ветеринария Кубани, 2010. – № 1. – С. 2-3.
7. Беретарь, И.М. Разработка системы противоэпизоотических мероприятий при ассоциативном заболевании толстолобиков миксоблезом и псевдомонозом в прудовых хозяйствах Краснодарского края / И.М. Беретарь // Ветеринария Кубани, 2010. – № 4. – С. 2-3.
8. Богданова, Е.А. Болезни лососевых и сиговых рыб в аквакультуре: моногр. / Е.А. Богданова. – СПб.: ГосНИОРХ, 1994. – 184 с.
9. Богерук, А.К. Аквакультура России: потенциальные возможности и стратегия их реализации / А.К. Богерук // Рибогосподарска наука України, 2007. – № 2. – С. 3-11.

10. Борисова, М.Н. Болезни рыб. Обзор эпизоотической ситуации за 2006 год / М.Н. Борисова, Т.Д. Пичугина, Е.А. Завьялова, А.Е. Дрошнев, С.А. Коломыцев // Ветеринарная жизнь, 2007. – № 14. – С. 2-3.

11. Бормотова, С.В. Санитарное состояние аквакультуры осетровых и среды их обитания / С.В. Бормотова, Л.В. Ларцева, И.Ю. Рогаткина // Рыбное хозяйство. Серия: Аквакультура. – М.: ВНИЭРХ, 1995. – Вып. 2. – С. 1-7.

12. Бороздина, И.Б. Особенности распространения бактерий рода *Pseudomonas* в водной экосистеме реки Кубани / И.Б. Бороздина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2011. – №1 (75), – С 35-41.

13. Бурлаченко, И.В. Способ клинической оценки состояния осетровых рыб при их культивировании в установках с замкнутым циклом водообеспечения / И.В. Бурлаченко, Л.И. Бычкова // Рыбное хозяйство, 2005, – №6. – С. 70-72.

14. Бурлаченко, И.В. Теоритические и прикладные аспекты повышения резистентности осетровых рыб в аквакультуре: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. д-ра биол. наук.03.00.10 / Бурлаченко Ирина Виленовна. – М., 2007. – 40 с.

15. Ванятинский, В.Ф. Болезни рыб / В.Ф. Ванятинский, Л.М. Мирзоева, А.В. Поддубная. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – С. 75-78.

16. Васильев, Д.А. Выделение и типирование бактерии *Pseudomonas putida* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, И.И. Богданов, А.Г. Шестаков // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2009. – № 3(10). – С. 58-60.

17. Васильков, Г.В. Болезни рыб: справочник. 2-е изд., перераб. и доп. / Г.В. Васильков, Л.И. Грищенко, В.Г. Енгашев. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 102-104.

18. Виолин, Б.В. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях / Б.В. Виолин, В.Е. Абрамов, В.Ф. Ковалев // Ветеринария, 2001. – № 1. – С.42-46.

19. Волкова, О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий, – М.: Медицина. – 1989. – С. 59-63.

20. Воронин, В.Н. Использование лечебных и профилактических препаратов за рубежом и в России. Проблемы и их решение / В.Н. Воронин, Е.В. Кузнецова // Тез. докл. Всероссийской науч.-практ. конф. «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов». – М.: Россельхозакадемия, 2003. – С.21-22.

21. Вялова, Г.П. Псевдомоноз молоди лососевых на Малкинском рыбобродном заводе Камчатки / Г.П. Вялова, З.К. Шкурина // Сб. докл. конф. «Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России». – Мурманск: 1995. – С. 79-84.

22. Гаевская, А.В. Болезни промысловых рыб Атлантического океана: моногр. / А.В.Гаевская, А.А. Ковалева. – Калининград: Кн. изд-во, 1975. – 123с.

23. Герасимчук, В.А. Частные методики проведения лабораторно-практических занятий по болезням рыб / В.А. Герасимчук, В.М. Егоров, – Витебск: УО «ВГАВМ», 2005. – С. 41-42.

24. Гинаятов, Н.С. Выявление в участках УЗВ резервуаров возбудителя инфекционной патологии осетровых рыб / Н.С. Гинаятов, И.Н. Залялов, Н.Х. Сергалиев // Материалы международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», 2016. – С.49-50.

25. Гинаятов, Н.С. Идентификация возбудителя инфекционной патологии осетровых рыб в условиях УЗВ / Н.С. Гинаятов, И.Н. Залялов, Г.Г. Абсатиров // Материалы международной научной конференции «Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования», посвященной 150-летию образования Государственной ветеринарной службы России, 2016. – С.42-45

26. Гинаятов, Н.С. Микробный пейзаж в УЗВ и их чувствительность к антибиотикам *in vitro* / Н.С. Гинаятов, Г.Г. Абсатиров, Б.Т. Сариев // Материалы международной научно-практической конференции «Наука и

образование XXI века: опыт и перспективы», – Уральск: РИО ЗКАТУ им. Жангир хана, 2015, – С. 111-114.

27. Гинятов, Н.С. Определение чувствительности к антибиотикам возбудителя псевдомоноза осетровых рыб в условиях УЗВ / Н.С. Гинятов, И.Н. Залялов, Г.Г. Абсатиров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2017.– № 230 (II). – С.64-67.

28. Гинятов, Н.С. Патоморфология кожи осетровых рыб при псевдомонозе / Н.С. Гинятов, И.Н. Залялов, Ф.Х. Нуржанова // Морфология, 2018, – С. 172.

29. Гинятов, Н.С. Патоморфологическая оценка состояния тромбоцитопоза в селезенке осетровых осетров при псевдомонозе / Н.С. Гинятов, И.Н. Залялов, Н.Х. Сергалиев, М.Г. Какишев // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии, 2017. – № 3 (52) – С.3-8.

30. Гинятов, Н.С. Сравнительная оценка эффективностей методов обеззараживания воды в установках замкнутого водоснабжения / Н.С. Гинятов, И.Н. Залялов, Г.Г. Абсатиров, М.Г. Какишев, А.М. Жунусов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2017. – № 232 (IV). – С.43-46.

31. Голованов, В.К. Температура и здоровье рыб. Этиологические, физиолого-биохимические и иммунологические аспекты / В.К. Голованов // Расширенные материалы IV Международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов», – М.: Борок, 2015. – С. 11-19.

32. Головин, П.П. Кадастр лечебных препаратов, используемых и апробированных в аквакультуре России и за рубежом / П.П. Головин, Н.А. Головина, Н.Н. Романова. – М.: Росинформагротех, 2005. – 54с.

33. Головина, Н.А. Ихтиопатология / Н.А. Головина, О.Н. Бауер. – М.: Мир, 2007. – 448 с.

34. Головина, Н.А. Ихтиопатология / Н.А. Головина, Ю.А. Стрелков, В.Н. Воронин, П.П. Головин, Е.Б. Евдокимова, Л.Н. Юхименко. – М.: Мир, 2003. – С. 145-147.

35. Гончарова, М.Н. Лечебно-профилактическая эффективность Антибака при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе рыб. Авторефер. дисс. на соиск. уч. степ. канд. вет. наук. 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология / Гончарова Маргарита Николаевна. – М.:, 2012. – С. 5-10.

36. Гридина, Т.С. Особенности микрофлоры биологической системы установки замкнутого водообеспечения // Материалы Международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России», – Ростов н/Д.: 2014, – С. 108-109.

37. Гринева, Т.А. Оптимизация схемы выделения бактериофагов *Pseudomonas chlororaphis* / Т.А. Гринева, Д.А. Викторов Д.А. Васильев // Мат. Междунар. научно.-практ. конф. «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». – Ульяновск: 2013. – Том II. – С. 7-9.

38. Грищенко, Л.И. Сравнительная патоморфология, вопросы патогенеза и диагностика токсикозов и некоторых инфекционных болезней рыб: Автореф. дисс. на соиск. д-ра вет. наук: 16.00.02 / Грищенко Леонид Иванович. МГАВМиБ. – М.: 2004. – 34 с.

39. Грищенко, Л.И. Сравнительная патология, патоморфология и патогенез при инфекционных болезнях и токсикозах рыб / Л.И. Грищенко // Расширенные материалы IV Международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов», – М.: Борок, 2015. – С. 19-24.

40. Грищенко, Л.И. Болезни рыб и основы рыбоводства / Л.И. Грищенко, М.Ш. Акбаев, Г.В. Васильков. – М.: Колос, 1999. – 456 с.

41. Грозеску, Ю.Н. Биологическая эффективность применения пробиотика «Субтилис» в составе стартовых кормов для осетровых рыб / Ю.Н.

Гротеску, А.А. Бахарева // Изв. Самар. науч. центра РАН, 2009. – Т. 11, – № 1 (2). – С. 42-45.

42. Грушко, М.П. Гемопоз у осетровых рыб / М.П. Грушко, О.В. Ложниченко, Н.Н. Федорова // Монография. – Астрахань: Изд-во «Триада», 2009. – 190 с.

43. Грушко, М.П. Морфо-физиологические особенности гемопоза у осетровых (на примере половозрелых самок) / М.П. Грушко, Н.Н. Федорова // Эколого-физиологические проблемы адаптации: Материалы XI международного симпозиума. – М.: Изд-во РУДН, 2003. – С. 144-145.

44. Грушко, М.П. Особенности гемопоза у осетровых / М.П. Грушко // Естественные науки. – Астрахань: Изд-во АГУ, 2003. – № 6. – С. 50-54.

45. Грушко, М.П. Состояние кроветворных органов у половозрелых самок осетровых рыб / М.П. Грушко // Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов мирового океана: Материалы международной научно-практической конференции. – Москва: Изд-во ВНИРО, 2005. – С.141-142.

46. Грушко, М.П. Гемопоз у самок осетровых / М.П. Грушко, Н.Н. Федорова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2005. – №2(12). – С.49-51.

47. Грушко, М.П. Кроветворение в краниальном органе производителей осетровых рыб / М.П. Грушко // Вестник Астраханского государственного технического университета. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2006. – № 3(32). – С.141-145.

48. Дугаржапова, Е.Д. Микробиологический мониторинг рыб водоемов Республики Бурятия: Автореф. дисс. на соиск. канд. вет. наук: 16.02.02. / Дугаржапова Елена Дамбаевна. – Барнаул, 2015. – 22 с.

49. Енгашев, В.Г. Лечение миксобактериозов осетровых рыб при их индустриальном выращивании / В.Г. Енгашев, Л.И. Грищенко, К.В. Гаврилин // Зооиндустрия, 2005. – № 6 (64), – С. 18-19.

50. Жезмер, В.Ю. Контроль санитарно-бактериологического состояния водной среды в УЗВ / В.Ю. Жезмер, Е.А. Галдина, К.В. Кутищева, Н.С. Лаврова // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах. – М.: ВНИИПРХ, 1991. – № 64. – С. 14-15.

51. Житенева, Л.Д. Эволюция крови / Л.Д. Житенева, Э.В. Макаров, О.А. Рудницкая, – Ростов н/Д.: 2001. – С. 31-38.

52. Запличникова, Э.Н. Этиологическая роль псевдомонад и аэромонад при заболеваниях растительноядных рыб / Э.Н. Запличникова // Сб. науч. тр. «Основные проблемы рыбоводческого хозяйства и охрана рыбохозяйственных водоемов. – Ростов н/Д.: 1996. – С. 215-220.

53. Казарникова, А.В. Заболевания осетровых рыб при искусственном воспроизводстве и товарном выращивании / А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская. – Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН 2005, – С. 179.

54. Казарникова, А.В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре / А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская. – М.: ВНИРО. – 104с.

55. Казарникова, А.В. Заболевания осетровых рыб в замкнутой системе водоснабжения / А.В. Казарникова // Ветеринария, 2007. – №3. – С. 25-29.

56. Казарникова, А.В. Заболевания осетровых рыб в замкнутой системе водоснабжения / А.В. Казарникова // Рыбное хозяйство, 2006, – №6. – С. 86-89.

57. Казарникова, А.В. О случае гибели сибирского осетра, *Acipenser baeri*, вызванной условиями выращивания в садках и смешанной бактериальной инфекцией / А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская, М. Галеотти, А.В. Тришина, А.А. Турченко // Материалы Международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России», – Ростов н/Д.: 2014, – С. 317-320.

58. Казимирченко, О.В. Экологический анализ граммотрицательной микрофлоры грунтов, воды и европейского угря (*Aguilla Anguilla L.*) Вислинского залива (Балтийское море): автореф. дис. на соиск. ст. канд. биол.

наук. 03.00.16. / Казимирченко Оксана Владимировна. – Калининград, 2008. – 25 с.

59. Казимирченко, О.В. Некоторые особенности функционирования микробных сообществ при выращивании рыбы в УЗВ / О.В. Казимирченко, М.Ю. Котлярчук // Расширенные материалы IV Международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов», – М.: Борок, 2015. – С. 526-529.

60. Канаев, А.И. Словарь-справочник ихтиопатолога / А.И. Канаев, – М.: Росагропромиздат, 1988. – С.231-242.

61. Кахоровский, А.Е. Распределение сапрофитных бактерий родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* по акватории рыбоводного пруда / А.Е. Кахоровский // Сборник научных трудов ВНИИПРХ. – М.: 1987. – Вып.50. – С. 21-30.

62. Киселев, А.Ю. Установки с замкнутым циклом водоиспользования и технологии выращивания в них объектов аквакультуры / А.Ю. Киселев // Сер. Аквакультура: обзорная информация – М.: ВНИИПРХ, 1997. – Вып. 1. – 80 с.

63. Киуру, Т. Экологический справочник для рыбоводной промышленности Северо-Запада России / Т. Киуру, Й. Виелма, Ю. Туркка II. – Хельсинки, 2013. – 112 с.

64. Котлярчук, М.Ю. Микробный пейзаж карпа (*Cyprinus carpio* L.) при выращивании в установке с замкнутым циклом водообеспечения: Авторефер. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. 03.00.10 / Котлярчук Марина Юрьевна. – Калининград: КГТУ, 2004. – С. 8-10.

65. Красная книга Российской Федерации (животные). – М.: АСТ, 2001. – 862 с.

66. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / А.С. Лабинская, Л.П. Блинковая, А.С. Ещина. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.

67. Ларцева, Л.В. Санитарно-эпизоотическая ситуация Волго-Каспийского региона на рубеже XXI в. / Л.В. Ларцева, В.В. Проскурина, Л.В.

Вьюшкова, Л.А. Нестерова // Рыбное хозяйство. Аквакультура: Обзор инф. ВНИЭРХ, 2002. Вып. 1. – С. 51.

68. Ларцева, Л.В. Рыбы и гидробионты – переносчики возбудителей инфекционных болезней человека / Л.В. Ларцева. – Астрахань: КаспНИРХ, 2003. – 100 с.

69. Ларцева, Л.В. Микрофлора промысловых рыб и рыбной продукции в Волго-Каспийском регионе / Л.В. Ларцева, Я.М. Болдырева // Рыбное хозяйство, 2004. – № 3. – С. 48-50.

70. Лобунцов, К.А. Характеристика болезней, патогенных для рыб / К.А. Лобунцов // Ветеринария, 1970. – № 8. – С. 111-112.

71. Лобунцов, К.А. Итоги и перспективы изучения бактериальных болезней рыб / К.А. Лобунцов // Тез. докл. конф. «Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней рыб», 1986. – С. 56-57.

72. Ложниченко, О.В. Анализ некоторых органов кроветворения молоди русского осетра // Вестник Российского университета дружбы народов, 2005. – № 2(12). – С. 57-59.

73. Ложниченко, О.В. Физиологические аспекты кроветворения в мезонефросе осетровых рыб / О.В. Ложниченко, А.В. Амплеева, С.М. Хвостова // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство, 2010. – № 2. – С. 106-111.

74. Ложниченко, О.В. Кроветворение у осетровых рыб в раннем онтогенезе / О.В. Ложниченко, Н.Н. Федорова, В.П. Загрийчук // Морфология. – 2004, – Т. 126 (4). – С. 70.

75. Ложниченко, О.В. Федорова Н.Н. Морфология селезенки молоди русского осетра / О.В. Ложниченко // Актуальные проблемы морфологии: сб. науч. тр. – Красноярск: КрасГМА, 2004. – С. 179.

76. Макаров, В.В. Список МЭБ и трансграничные инфекции животных: моногр. / В.В. Макаров, В.А. Грубый, К.Н. Груздев, О.И. Сухарев, – Владимир: ВИТ-Принт, 2012. – 162 с.

77. Маклакова, М.Е. Исследования влияния различных агентов иммуно-физиологический статус радужной форели / М.Е. Маклакова, Р.В. Ступин, И.А. Кондратьева // Бюллетень МОИП, 2009. – Т. 114, – № 2. – С. 64-65.

78. Мамонтов, Ю.В. Аквакультура России: состояние, приоритеты и перспективы развития: учеб./ Ю.В. Мамонтов, – СПб.: Лань, 1998. – С.83-84.

79. Матишов, Г.Г. Опыт выращивания осетровых рыб в условиях замкнутой системы водообеспечения для фермерских хозяйств / Г.Г. Матишов, Д.Г. Матишов, Е.Н. Пономарева, В.А. Лужняк, В.Г. Чипинов, М.В. Коваленко, А.В. Казарникова // – Ростов н/Д.: Изд-во ЮНЦ РАН, 2006. – 72 с.

80. Матишов, Г.Г. Выращивание осетровых рыб в условиях замкнутого водоснабжения / Г.Г. Матишов, Е.Н. Пономарева, П.А. Балыкин // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и Северо-Западной части Тихого океана, 2008. – Вып. 11. – С. 47-56.

81. Матишов, Г.Г. Практическая аквакультура: разработки ЮНЦ РАН и ММБИ КНЦ РАН / Г.Г. Матишов, Е.Н. Пономарева, Н.Г. Журавлева, Н.Г. Григорьев, В.А. Лужняк. – Ростов н/Д.: Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. – 284 с.

82. Микряков, В.Р. Влияние дексамета-зон-фосфата на состав и функциональную активность лейкоцитов карася (*Carassius carassius. L.*) / В.Р. Микряков, Д.В. Микряков, А.В. Попов // Тез. доклада Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и др. гидробионтов», 2003. – С. 88-89.

83. Мирзоева, Л.М. Болезни рыб при индустриальном выращивании / Л.М. Мирзоева // Обзорная информация. Рыбное хозяйство. Серия Болезни гидробионтов в аквакультуре. ВНИЭРХ, 2000. – Вып.1. – С 54-58

84. Мишанин, Ю.Ф. Ихтиопатология и ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы: учеб. пособие / Ю.Ф. Мишанин, – СПб.: Лань, 2012. – С. 236-247.

85. Морозова, М.А. Экологические особенности формирования микробиоценоза рыб Таганрогского залива Азовского моря / Автореф. дисс. на

соиск. ст. канд. биол. наук: 16.00.02. / Морозова Марина Александровна. – Ростов н/Д.: 2017.

86. Мусселиус, В.А. Лабораторный практикум по болезням рыб / В.А. Мусселиус, В.Ф. Ванягинский, А.А. Вихман, – М.: Пищевая промышленность, 1983. – С. 69-74.

87. Найденова, Н.Н. Артемия *Artemia spp.* (*Branchiopoda*) и ее дополнительные функции в морской аквакультуре / Н.Н. Найденова, Т.Н. Мордвинова // Анал. и реф. инф. Сер.: Воспроизводство и пастбищное выращивание гидробионтов. ВНИЭРХ, 2002. – № 2. – С. 1-15.

88. Наставление по применению препарата ПВЭНТИ для лечения и профилактики желудочно-кишечных и респираторных заболеваний животных, утвержденное Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ, 12.1992. – С. 2-3.

89. Неборачек, С.И. Осетроводство во Вьетнаме: потенциальные возможности / С.И. Неборачек // Вестник Житомирского Государственного агроэкологического ун-та, 2007. – Т. 1, – № 2 (19). – С. 468-470.

90. Никитин, И.Н. Организация и экономика ветеринарного дела / И.Н. Никитин. – СПб.: Лань, 2014. – С. 221-243.

91. Новак, М.Д. Паразитоценозы водных экосистем / М.Д. Новак, А.И. Новак. – Кострома: Издательство Костромской ГСХА, 2003. – 139 с.

92. Новоскольцева, Т.М. Перспективы использования пробиотиков в рыбном хозяйстве / Т.М. Новоскольцева, Н.Т. Казаченко, М.Н. Борисова, И.П. Иренков // Тез. науч. практ. конф «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре», 2000. – С. 95.

93. Ноякшева, Т.А. Влияние субалина на микробиологические показатели молоди бестера в зависимости от длительности курса его применения / Т.А. Ноякшева, Л.В. Ларцева, Н.В. Янакаев // Экология – образование, наука и промышленность. НПЦ «БИОС», КаспНИРХ, 2002. – С. 21-22.

94. Обухова, Е.С. Экологические особенности псевдомонад в составе аутофлоры радужной форели в условиях Карелии: автореф. дис. на соиск. ст.

канд. биол. наук. 03.02.08., 03.02.06./ Обухова Елена Сергеевна. – Петрозаводск, 2013. – 24 с.

95. Обухова, О.В. Микробиологические и экологические аспекты природно-очаговых сапронозов в гидроэкосистеме Волго-Каспийского бассейна / О.В. Обухова // Экология микроорганизмов, 2013. – №1. – С. 93-96.

96. Осадчая, Е.Ф. О биологической пробе при краснухе карпов / Е.Ф. Осадчая, В.Н. Лигоцкая // Ветеринария, 1971. – №6. – С. 104.

97. Пашков, А.Н. Возможности использования установок замкнутого водоснабжения для выращивания осетровых рыб в Краснодарском крае / А.Н. Пашков, В.Г. Крымов, А.О. Егоров, С.С. Джимаков, М.Г. Барышев // Естественные и технические науки, 2013. – № 5. – С. 102-106.

98. Покровский, В.И. Медицинская микробиология / В.И. Покровский, О.К. Поздеев, А.З. Байчурина, В.Е. Григорьев. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1200 с.

99. Пономарев, С.В. Биологические основы разведения осетровых и лососевых рыб на интенсивной основе. Моногр./ С.В. Пономарев, Е.Н. Пономарева.– Астрахань: Изд-во Астрахан. гос. техн. ун-та, 2003. – 256 с.

100. Пономарев, С.В. Осетроводство на интенсивной основе / С.В. Пономарев, Ф.М. Магомаев. – Махачкала: Эко-пресс, 2011. – 352 с.

101. Пономарева, Е.Н. Состояние и особенности товарной аквакультуры в Южном макрорегионе России / Е.Н. Пономарева, М.Н. Сорокина, В.А. Григорьев // Материалы Международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России». – Ростов н/Д.: 2014, – С. 232-236.

102. Рубан, Е.Л. Физиология и биохимия представителей рода *Pseudomonas* / Е.Л. Рубан. – М.: Наука, 1986.

103. Сариев, Б.Т. Оценка эффективности роста массы осетровых рыб при добавлении в корма пробиотических препаратов / Б.Т. Сариев // Вестник АГТУ. – Сер.: Рыбное хозяйство. – 2011. – № 2. – С. 118-121.

104. Сборник инструкции по борьбе с болезнями рыб, Часть I. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. – 310 с.
105. Сборник инструкции по борьбе с болезнями рыб, Часть II. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1999. – 234 с.
106. Сергалиев, Н.Х. Выращивание молоди русского осетра и шипа Урало-Каспийской популяции в бассейнах / Н.Х. Сергалиев, М.Ж. Шукуров, А.Н. Туменов, Б.Т. Сариев // Проблемы воспроизводства осетровых в среднем течении реки Урал и пути их решения: мат. докл. междунар. науч.-практ. конф., 2009. – Ч. I. – С. 95-97.
107. Смирнов, В.В. Бактерии рода *Pseudomonas* / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова. – Киев: Наукова думка, 1990. – С. 6-34.
108. Смирнова, Л.И. Микробиологическая безопасность объектов внешней среды и пищевых продуктов. Учебное пособие по санитарной микробиологии / Л.И. Смирнова, А.А. Сухинин, Е.И. Приходько, – СПб, 2013. – С.48-52.
109. Осетров, В.С. Справочник по болезням рыб / В.С. Осетров. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 90.
110. Страчунский, Л.С. Современная антимикробная химиотерапия / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. – М.: Боргес, 2002. – 206 с.
111. Трифонова, Е.С. Применение пробиотиков для компенсации воздействия агрессивных факторов водной среды при выращивании осетровых рыб в системах с замкнутым водоснабжением / Е.С. Трифонова, Л.И. Бычкова, Л.Н. Юхименко, К.В. Гаврилин // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: Сб. тез и докл. Всерос. практич. конф., 2003, – С.130-131.
112. Халварт, М. Садковая аквакультура. Региональные обзоры и всемирное обозрение / М. Халварт, Дж. Сото, Дж.Р. Артур // Техн. докл. ФАО по рыбному хозяйству. – Рим: 2010, – № 498. – С. 144-146.
113. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / пер. с англ. под ред. Г. А. Заварзина. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – 432 с. – Т. 2. – 368 с.

114. Хрусталеv, Е.И. Искусственное воспроизводство стерляди *Acipenser ruthenus* / Е.И. Хрусталеv // Биотехника искусственного воспроизводства рыб, раков и сохранение запасов промысловых рыб, 2008. – С. 8-17.

115. Чебанов, М.С. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб / М.С. Чебанов, Е.В. Галич // Технический доклад ФАО по рыбному хозяйству и аквакультуре. – Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (FAO), 2013. – № 558, – С. 223-228.

116. Чепуркина, М.А. Способ лечения псевдомоноза осетровых рыб / М.А. Чепуркина // ФГУП Государственный научно-производственный центр рыбного хозяйства. Патент на изобретение № 2508111.

117. Шелякова, О.А. Проблема резистентности *Pseudomonas Aeruginosa* к антибиотикам / О.А. Шелякова // Современная медицина: актуальные вопросы: сб. ст. по матер. XVII междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: СибАК, 2013. – С.150-155.

118. Шестаковская, Е.В. Болезни осетровых рыб при искусственном воспроизводстве / Е.В. Шестаковская // Рыбы, болезни и среда в европейской поликультуре, 1981, – С. 283-289.

119. Шестаковская, Е.В. Современная эпизоотическая ситуация на рыбопитомниках азовского региона и пути ее улучшения / Е.В. Шестаковская, Т.В. Стрижакова, А.В. Казарникова, Г.А. Бочагова // Матер. докл. 2-й Междунар. симп. «Ресурсосберег. технол. в аквакультуре», 1999. – с. 120.

120. Шкодин, Н.В. Болезни рыб. Методическое пособие по дисциплине «Ихтиопатология» / Н.В. Шкодин, А.Г. Чепурная. – Астрахань, 2005. – 168 с.

121. Шульга, Е.А. Лечебные свойства пробиотика «Субтилис» при репарации кожных покровов осетровых рыб / Е.А. Шульга, Ю.Н. Грозеску, А.А. Бахарева // Вестник АГТУ. – Сер.: Рыбное хозяйство, 2009. – № 1. – С. 86-89.

122. Шульгина, Л.В. Антибиотики в объектах аквакультуры и их экологическая значимость / Л.В. Шульгина, Е.В. Якуш, Ю.П. Шульгин, В.В.

Шендерюк, Н.Н. Чукалова, Л.П. Бахолдина // Известия ТИНРО, 2015. – Т.181. – С. 216-230.

123. Элькаиб, Х.М. Характеристика бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из различных пищевых продуктов / Х.М. Элькаиб, В.Н. Леонтьев // – С. 286-291.

124. Юхименко, Л.Н. Современное состояние проблемы аэромоноза рыб / Л.Н. Юхименко, Г.С. Койдан // Экспресс-информация ВНИИЭРХ. Сер. Аквакультура, 1997. – Вып. 2. – С. 1-5.

125. Юхименко, Л.Н. Выделение аэромонад из воды рыбоводных прудов / Л.Н. Юхименко, В.Ф. Викторова, В.И. Федорченко // Болезни рыб и водная токсикология: Тр.ВНИИПРХ, 1987. – Вып. 50. – С. 37-46.

126. Юхименко, Л.Н. Проблема экологической безопасности лечебных и профилактических мероприятий в рыбоводстве / Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова, К.В. Гаврилин, Е.С. Трифонова // Мат. межд. науч.-практ. конф. «Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности», 2005. – Т.2. – С.37-46.

127. Юхименко, Л.Н. Химиотерапия бактериальных болезней рыб, достоинства и недостатки / Л.Н. Юхименко, К.В. Гаврилин, Л.И. Бычкова // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: мат. Всеросс. научно-практ. конф., 2003. – С. 142-143.

128. Юхименко, Л.Н. Эпизоотическая значимость *Pseudomonas fluorescens v. capsulata* / Л.Н. Юхименко, Г.С. Койдан, В.Ф. Борисенко, П.П. Головин, Л.И. Бычкова // Аквакультура: Информ. Пакет, 1998. – Вып. 2. – С. 8-13.

129. Юхименко, Л.Н. Перспективы использования Субалина для коррекции микрофлоры кишечника рыб и профилактики бактериальной геморрагической септицемии / Л.Н. Юхименко, Г.С. Койдан, Л.И. Бычкова // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре, 2000. – С. 133-135.

130. Akayli T., Canak O. and Basaran B. A new pseudomonas species observed in cultured young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*, 1792):

Pseudomonas plecoglossicida // Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 2010. – Vol. 4(1). – P. 107-111.

131. Alderman, D.J. Geographical spread of bacterial and fungal diseases in crustaceance // Rev. Sci. Tech. off. Int. Epiz., 1996. – Vol. 15(2). – P. 603-632.

132. Alderman D.J., Michel C. Chemotherapy in Aquaculture today// Symposium «Chemotherapy in Aquaculture – From theory to reality». – France, Paris, 1992. – P. 3-22.

133. Alexandrov L., Zaharia T., Bologa A., Blancheton J.P., Trayanova A., Varshanidze M., Metaxa I. Aquaculture wastewaters filtration systems using cultivated macrophytes. Studies and experiments // Deltas and Wetlands, 2013. – P. 52.

134. Altinok I., Kayis S. and Capkin E. *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout // Aquaculture, 2006. – Vol. 261 (3). – P. 850-855.

135. Altinok I., Balta F., Capkin E. and Kayis S. Disease of rainbow trout caused by *Pseudomonas luteola* // Aquaculture, 2007. – Vol. 273 (4). – P. 393-397.

136. Anas A., Jiya J., Rameez M.J., Anand P.B., Anantharaman M.R., Nair S. () Sequential interactions of silver–silica nanocomposite (Ag–SiO₂NC) with cell wall, metabolism and genetic stability of *Pseudomonas aeruginosa*, a multiple antibiotic-resistant bacterium // Lett Appl Microbiol., 2012. – Vol. 56. – P. 57-62.

137. Aquaculture development // FAO, Rome; 2009. – N 5. – P. 19.

138. Athanassopoulou F., Billinis C. and Prapas Th. Important disease conditions of newly cultured species in intensive freshwater farms in Greece: first incidence of nodavirus infection in *Acipenser* sp // Diseases of aquatic organisms, 2004. – Vol. 6. – P. 247-252.

139. Austin B., Austin D.A. Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. New York: Halsted Press John Wiley & Sons, 1979. – 273 p.

140. Austin B., Austin D.A. Bacterial Fish Pathogen: Disease in Farmed and Wild Fish // Ellis Harwood Limited. – England, 1999. – P. 63-80.

141. Austin B., Austin D.A. Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish // Praxis Publishing. – UK, 2007, – P. 15-17.

142. Austin, B. and Austin, D.A. Bacterial fish pathogens; diseases of farmed and wild fish // Springer. – New York, London, 2012.
143. Austin B. and Stobie M. Recovery of *Serratia plymuthica* and presumptive *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from skin lesions in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), otherwise infected with enteric redmouth // Journal of Fish Diseases of The Aquatic Organisms, 1992. – Vol. 15. – P. 541-543.
144. Ayaz A. Dominant aerobic bacterial intestinal flora of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) larvae in culture conditions MSc. thesis. // İstanbul: İstanbul University, 2006.
145. Bauer O.N., Pugachev O.N. and Voronin V.N. Study of parasites and disease of sturgeons in Russia: a review. *J. Appl. Ichthyol.*, 2002. – № 18, – P. 420-429.
146. Barker, G.A. and Kehoe, E. Assessment of disc diffusion methods for susceptibility testing of *Aeromonas salmonicida* // *Aquaculture*, 1995. – Vol. 134. – P. 1-8.
147. Brunetti R., Gasparri F., Marturano S. and Prearo M. *Pseudomonas fluorescens* infection in farmed Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) // *Ittiopatologia*, 2006. – Vol. 3, – P. 221-226.
148. Buras N., Duek L. and Niv S. Reactions of fish to microorganisms in wastewater // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985. – Vol. 50. – P. 989-995.
149. BurrIDGE L., Weis J.S., Cabello F. et al. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects // *Aquaculture*. – 2010. – Vol. 306. – P. 7-23.
150. Capkin E., Terzi E., Altinok I.: Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment // *Dis. Aquat. Org.*, 2015. – Vol. 114. – P. 127-137.
151. Chebanov, M.; Rosenthal, H.; Gessner, J.; Van Anrooy, R.; Doukakis, P.; Pourkazemi, M.; Williot, P. Sturgeon hatchery practices and management for release – Guidelines. Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Ankara, FAO. 2011. – Vol. 570. – P. 38.

152. Chrustalev, E., Fish breeding in closed systems / E. Chrustalev, A. Domarkas, O. Goncarenok. – Vilnius, 2010. – 279 p.
153. Cowan, S.T. Manual for the identification of medical bacteria / S.T. Cowan, K.J. Steel // – U.K., Cambridge, 1974.
154. De Vos P. Intrageneric and intergeneric similarities of ribosomal RNA cistrons of the Genus *Pseudomonas* and the implications for taxonomy// Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol, and Serol., 1980. – N 1(46). – P. 96.
155. Flamm R.K. Summary of ceftaroline activity against pathogens in the United States, 2010: report from the Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation (AWARE) surveillance program / R.K. Flamm // Antimicrob Agents Chemother, 2012. – V. 56 (6), – P. 2933-2940.
156. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture // FAO, Rome; 2010. – P. 4-5.
157. Francis-Floyd R. Diseases history of cultured sturgeon in Florida. 1990-1990 // Proceeding of Florida sturgeon culture risk assessment workshop. 2000. – P.33-37.
158. Franzetti L., Scarpellini M. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. Annals of Microbiology, 2007. – V. 1 (57), – P. 39-47.
159. Gao Z., Wang W., Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* // Fish Physiology and Biochemistry. – September 2007. – V. 33, – P. 213-222.
160. Gibbs, B.M. Identification methods for microbiology / B.M. Gibbs, F.A. Skinner // N.Y., –Vol. 1-2, – P. 1966-1968.
161. Goldshmidt- Clermont E., Wahli T., Frey J. & Burr S.E. Identification of bacteria from the normal flora of perch *Perca uviatilis* L. and evaluation of their inhibitory potential towards *Aeromonas* species // Journal Fish of Disease, 2008. – Vol. 31. – P. 353-359.
162. Goviadinova A., Lange M., The studying of the hemopoietic tissues in the cranial cavity of sturgeon fish *Acipenser guldenstadti* // VII International Symposium on Fish Physiology Dement of Biology, University of Oslo, 1996, – P. 28-34.

163. Grushko M.P., The condition of sturgeon sires body kidneys/ M.P. Grushko, N.N. Fyodorova // Science and technology: International journal of scientific articles, – Atyrau, 2002. – P.158-160.

164. Gulsen T., Akayli T., Korun J., Yardimci E., A study on bacterial hemorrhagic septicemia in farmed young Russian sturgeon in Turkey (*Acipenser gueldenstaedtii*) // Journal of Fisheries & Aquatic Sciences. 2010. – № 25(1). – P. 19-27.

165. Güvener R.P. and Timur G. (). A study on determination of the Aeromonad infections in some aquarium fish. *Istanbul University Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2005. – № 19, – P.27-39.

166. Harald Schulze, Zhao Chen, Steffen Massberg, Tobias Goerge, Andreas Krueger, Denisa D. Wagner, Thomas Graf, Joseph E. Italiano Jr., Ramesh A. Shivdasani, Ulrich H. von Andrian, Dynamic Visualization of Thrombopoiesis Within Bone Marrow Tobias // SCIENCE. – September 2007. – № 317 (21). – P. 1767-1770.

167. Hiiddaverdi E. The investigation of the pathologik findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection (and Bacterial Hemorrhagik Septicemia) in carp. Ankara iinev vel. fak dergo, 1983, – № 30, – P. 4.

168. Hochleithner M. & Gessner I., The sturgeons and paddlefishes of the world: biology and aquaculture / Kitzbuehel: Aquatech. – 165 p.

169. Inglis V., *Pseudomonas* and *Aeromonas* infection / V. Inglis, R.J. Roberts, N.R. Bromage // *Bacterial Diseases of Fish*. – Oxford, Black. Scintific, 1994. –P. 169-174.

170. Julia W. Pridgeon, Phillip H. Klesius. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development // *CAB Reviews*, 2012. – № 7 (48), – P. 1-16.

171. Jumroensri T., Jiraporn K., Patcharee S., Chantana K.. Isolation of *Vibrio vulnificus* Biotype I from Disease Outbreaks on Cultured Tiger Grouper *Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal, 1775 // *Fish Pathology*, – Tokio, 2016. – № 51. – P. 39-45.

172. Kayis S., Capkin E., Balta F., Altinok I. Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern Black Sea Region of Turkey // *Isr. J. Aquacult-Bamid.*, 2009, – № 61, – P. 339-344.

173. Khan M.A., Khan S., Miyan K. Aquaculture as a food production system: a review // *Biology and Medicine*, 2011. – № 3. – P. 291–302.

174. Kirkan S., Goksoy E.O. and Kaya O. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms // *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 2003. – Vol. 50(7). – P. 339-342.

175. Klesius P.H., Pridgeon J.W. Live attenuated bacterial vaccines in aquaculture // In: *Proceedings of the 9th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 2011. – P. 18-26.

176. Kusuda R., Kawai K.: Bacterial diseases of cultured marine fish in Japan // *Fish Pathology*, 1998, – Vol. 33, – P. 221-227.

177. Levy S.B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses / S.B. Levy, B.A. Marshall // *Nat. Med.* – 2004, – Vol. 10 (Suppl. 1, 2). – P. 122-129.

178. Moellering R.C. Antibiotic resistance: Lessons for the future / R.C. Moellering // *Clinical Infection Diseases*. – 1998, – Vol. 27 (1). – P. 135-140.

179. Mustafa Ture, Huseyin Alp. Identification of bacterial pathogens and determination of their antibacterial resistance profiles in some cultured fish in Turkey // *J. Vet. Res.*, 2016. – № 60, – P. 141-146.

180. Mutharia L.M., Hancock R.E. Monoclonal antibody for an Outer membrane lipoprotein of the *Pseudomonas fluorescens* group of the family *Pseudomonadaceae* // *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1985. – № 4(35). – P. 530-532.

181. Noga E.J. *Fish Diseases: diagnosis and treatment*. – St. Louis: Mosby, 2010. – 367p.

182. Ozturk R.C., Altinok I. Bacterial and viral fish diseases in Turkey // *Turk. J. Fish Aquat. Sc.*, 2014, – № 14. – P. 275-297.

183. Palikova M., Mare J., Jirasek J., Characteristics of leukocytes and thrombocytes of selected sturgeon species from intensive breeding // Acta Vet Brno 1999. – № 68. – P. 259-264.

184. Palleroni N.J., Ed. Krigr N.R. Holt J.G., Pseudomonaceae Bergey's Manual of Systematic Bacteriology // et al. 9th ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1984. Vol.1 – P. 114.

185. Palleroni N.J. The Pseudomonas group. – Bushey: Meadowfield press Ltd, 1978. – 80 p.

186. Palleroni N.J. Genus Pseudomonas Migula / Bergey's manual of systematic bacteriology // Ed. R. Noel, Krieg J. G. Holf. – Baltimore; London: Williams Wilkins, 1984. – Vol. 1. – P. 141-198.

187. Parini M., Paoli A., Gaddipati R., Efficacy of specific compositions of Monoglycerides of short and medium chain fatty acids in preventing EMS and controlling *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* and *salmonicida*, *Streptococcus uberis*, *Flavobacterium columnare*, *Yersinia ruckery*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus Cereus* and other enteric pathogenic bacteria in aquatic species. Aquaculture Europe 2015 Rotterdam, Netherlands

188. Plumb J.A., Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. IOWA State University Press. Ames, 1999. – P. 328.

189. Plumb J.A., Hanson L.A. Health maintance and princibal microbial diseases of cultured fish. Third ed. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 2011. – 244 pp.

190. Rafet Çağrı Öztürk, İlhan Altınok. Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2014. – Vol. 14. – P. 275-297.

191. Romalde J.L., Ravelo C., Lopez-Romalde S., Avendalo-Herrera R., Magarinos B., Toranzo A.E. Vaccination strategies to prevent emerging diseases for Spanish aquaculture // Developments in Biologicals Progress in Fish Vaccinology, 2005. – Vol. 121. – P. 85-95.

192. Prearo M., Squadrone S., Fioravanti M.L., Giorgi I., Stefano M., Gasparri F., Abete M.C., Zanoni R.G. Italian farmed sturgeon: mortality events during // WAS, Veracruz, Mexico: 2009, – Vol. 265. – P.
193. Reinartz R., Bloesch J., Ring T., Stein H. Sturgeons are more than caviar: A plea for the revival of sturgeons in the Danube River // Large Rivers, 2003. – Vol. 14. – P. 3-4.
194. Roy, P.E. Yanong Use of Antibiotics in Ornamental Fish Aquaculture // IFAS Extension, 2006. – P. 1-7.
195. Saeed M.O., Alamoudi M.M., Al-harbi A.H. *Pseudomonas* associated with disease in cultured rabbitfish *Siganus rivulatus* in the Red Sea // Diseases of Aquatic Organisms, 1987. – Vol. 3. – P. 177-80.
196. Sergaliyev N.H., Nosological Description of Fish Pathologies in RAS / N.H. Sergaliyev, G.G. Absatirov, A.N. Tumenov, B.T. Sariyev, N.S. Ginayatov, J. Pharm. Sci. & Res. – Vol. 9 (9), 2017, – P. 1637-1641.
197. Soltani M and Kalbassi M.R. Protection of Persian surgeon (*Acipenser persicus*) fingerling against *Aeromonas hydrophila* septicemia using three different antigens. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 2001. – № 21 (6), – P. 235-240.
198. Su H.C., Ying G.G., Tao R., Zhang R.Q., Fogarty L.R.: Occurrence of antibiotic resistance and characterization of resistance genes and integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from integrated fish Farms in South China // J. Environ Monit. – № 13, – P. 3229-3236.
199. Subasinghe R.P., Bondad-Reantaso M.G., McGladdery S.E. Aquaculture development, health and wealth // Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium Bangkok: NACA and FAO, 2001. – P. 167-91.
200. Summerfelt, S.T., Hochheimer, J.N. Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture / Progressive Fish-Culturist, 1997. – N. 59: – P. 94-105.
201. Tacon, A.G., Use of fishery resources as feed inputs to aquaculture development: trends and policy implications/ A.G. Tacon, M.R. Hasan, R.P. Subashinge // FAO Fisheries Circular, 2006. – N. 1018. – P. 99-110.

202. Tatsuya Kobayashi, Makoto Imai. Histopathological Features of Ayu *Plecoglossus altivelis* Experimentally Infected with *Pseudomonas plecoglossicida* // Fish Pathology, – Tokio, 2006. – Vol. 41 (3). – P. 91-97.

203. Toranzo E., Magarinos B., Romalde L. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems // Aquaculture, 2005. – Vol. 246 (4). – P. 37-61.

204. Wakabayashi H., Egusa, S. Characteristics of a *Pseudomonas* sp. From an epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*) // Bulletin of Japanese Society of Science in Fisheries, 1972. – Vol. 38. – P. 577-587.

205. Wakabayashi S., Wakabayashi H., Tissue Distribution of *Pseudomonas plecoglossicida* in Experimentally Infected Ayu *Plecoglossus altivelis* Studied by Real-time Quantitative PCR // The Japanese Society of Fish Pathology, – Tokio, 2000. – Vol. 35 (4). – P. 223-228.

206. Wang W. Bacterial diseases of crabs: a review // Journal of Invertebrate Pathology, 2011. – Vol. 106. – P. 18–26.

207. Wietz, M., Hall, M.R. & Høj, L. Effects of seawater ozonation on biofilm development in aquaculture tanks. Systematics and Applied Microbiology, 2009. – Vol. 22(4): – P. 266-277.

208. Wiklund T., Bylund G. *Pseudomonas anguilliseptica* as a pathogen of salmonid fish in Finland // Diseases of Aquatic Organisms, 1990. – Vol. 8. – P. 13-20.

209. Zafar I. An Overview of Diseases in Commercial Fishes in Punjab, Pakistan Fish Pathology, – Tokio, 2016. – Vol. 51. – P. 30-35.





(19) **МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

(12) **ПАТЕНТ**

(11) **№ 32737**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(54) **НАЗВАНИЕ:** Способ лечения бактериальных инфекций осетровых рыб в установке замкнутого водообеспечения

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Некоммерческое акционерное общество «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана» (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Абсатиров Гайса Гарапович (KZ); Какишев Мурат Галиханович (KZ); Туменов Артур Насибуллаулы (KZ); Сариев Бекбол Токесович (KZ); Гинятов Нурбек Сатканулы (KZ); Кадралиева Бакытканым Талаповна (KZ); Нуржанова Фарида Хамидуллиевна (KZ)

(21) **Заявка № 2016/0820.1**

(22) **Дата подачи заявки: 19.09.2016**

Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан 19.03.2018.

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

**Вице-министр юстиции
Республики Казахстан**

Н. Пан

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту



МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

УДОСТОВЕРЕНИЕ АВТОРА

№ 101664

Настоящим удостоверяется, что Гинаятов Нурбек Сатканулы (KZ)

и Абсатиров Гайса Гарапович (KZ); Какишев Мурат Галиханович (KZ);
Туменов Артур Насибуллаулы (KZ); Сариев Бекбол Токесович (KZ);
Кадралиева Бакытканым Талаповна (KZ); Нуржанова Фарида
Хамидуллиевна (KZ)

является(ются) автором(ами) изобретения

(11) 32737

(54) Способ лечения бактериальных инфекций осетровых рыб в установке замкнутого водообеспечения

(73) *Патентообладатель:* Некоммерческое акционерное общество «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана» (KZ)

(21) 2016/0820.1

(22) 19.09.2016

Вице-министр юстиции
Республики Казахстан

Н. Пан



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) B (11) 32737

(51) A61D 7/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21) 2016/0820.1

(22) 19.09.2016

(45) 23.04.2018, бюл. №15

(72) Абсатиров Гайса Гарапович; Какишев Мурат Галиханович; Туменов Артур Насибуллаулы; Сариев Бекбол Токесович; Гинаятов Нурбек Сатканулы; Кадралиева Бакытканым Талаповна; Нуржанова Фарида Хамидуллиевна

(73) Некоммерческое акционерное общество «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир хана»

(56) RU 2508111 C1, 27.02.2014

RU 2246298 C2, 20.02.2005

RU 2501567 C1, 20.12.2013

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В УСТАНОВКЕ ЗАМКНУТОГО ВОДОБЕСПЕЧЕНИЯ

(57) Изобретение относится к аквакультуре осетровых рыб и ихтиопатологии, может быть использовано при лечении бактериальных патологий (псевдомоноза, аэромоназа) осетровых видов рыб различного возраста при выращивании УЗВ.

Аквакультура в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) на сегодняшний день является основой для репродукции редких видов рыб, и в частности осетровых. Разведение осетровых рыб в УЗВ имеет несколько преимуществ: возможность многократного использования воды, высокий уровень экологической безопасности, полный контроль процесса выращивания на всех этапах, возможность заниматься производством круглый

год. Однако несмотря на перечисленные преимущества одна из важнейших проблем современного искусственного воспроизводства - это заболевания рыб различной этиологии. Причинами возникновения и распространения болезней рыб в УЗВ могут быть внесение возбудителей болезней извне с рыбами в целях совершенствования генофонда, с кормами, при нарушении гидрологических режимов содержания и плотности посадки рыб. Проблемы инфекционной патологии осетровых видов рыб достаточно широко распространены в УЗВ Западно-Казахстанской области.

В нозологическом профиле инфекционной патологии бактериальные инфекции занимают значительную долю и представлены в основном псевдомонозом, аэромоназом и миксобактериозом.

Регламентированные способы лечения и профилактики бактериозов среди осетровых видов рыб в формате использования лечебных кормов и ванн не дают должного эффекта, особенно в случае средней и сильной тяжести течения болезней.

Предлагаемый способ лечения псевдомоноза, аэромоназа при средней и сильной тяжести течения болезни, основан на применении ранее не использованного в ихтиопатологии антибактериального препарата Нитокс 200, путем индивидуальных внутримышечных инъекций по определенной схеме. Результат лечения путем двух- и трехкратных инъекций дает положительный эффект при средней и сильной тяжести течения патологического процесса.

(19) KZ (13) B (11) 32737

Изобретение относится к ихтиопатологии осетровых рыб в аквакультуре и может быть использовано при лечении бактериальных патологий (псевдомоноза, аэромоноза) осетровых видов рыб различного возраста при выращивании УЗВ.

Псевдомоноз - группа бактериальных болезней, протекающих в форме геморрагической септицемии. Заболевание вызывают несколько видов бактерий рода *Pseudomonas* - это мелкие грамтрицательные оксидазоположительные подвижные палочки. Поражаются рыбы разного возраста от сеголеток до производителей. Клинически проявляется воспалительными некробиотическими изменениями на участках кожи, очагами кровоизлияний и разволокнением плавников, глубоким дистрофическим распадом мышечных волокон.

Аэромоноз - характеризуется серозно-геморрагическим дерматитом и образованием язв на теле рыб. Заболевание вызывают патогенные штаммы бактерии *Aeromonas hydrophila*.

Известные способы борьбы с бактериальными инфекциями рыб путем скармливания лечебного комбикорма, содержащего Антибак - 100, Антибак - 250, Антибак Про, в практических условиях при средней и сильной степени зараженности не оказывают положительного эффекта при рекомендованных дозировках и сроках применения. (Каталог ветеринарных препаратов для продуктивного животноводства / С.Енгашев, Москва, 2013. с.71-83).

Недостаточно эффективными оказалось использование лечебных ванн с добавлением метиленовой сини, фиолетового «К» как при кратковременной, так и при пролонгированной экспозиции. (Болезни рыб и основы рыбоводства / Л.И.Грищенко и др. М.Колос, 1999, 455 стр.)

Также малоэффективными в нашей практике оказались использование антибактериальных препаратов в указанных дозах и схемах применения (тетрациклин, цефазолин, эритроциклин, биомицин), путем инъекции больным рыбам при средней и сильной степени пораженности (Заболевания осетровых рыб при искусственном воспроизводстве и товарном рыбоводстве / А.В.Казарникова, Е.В.Шестаковская. Апатиты: Изд. Кольского научного центра РАН, 2005. - 58 с.).

Все перечисленные методы не обеспечивают быстрого выздоровления осетров, если заболевание протекает в средней и тяжелой форме поражения тканей. Лечение с применением лечебных кормов и ванн с химиотерапевтическими препаратами даже при длительном курсе лечения не дает положительных результатов и сопровождается высоким отходом рыбы. Кроме того зараженная рыба становится источником инфекции и распространения заболевания особенно при высокой плотности посадки и резком повышении естественного температурного режима.

Задачей изобретения является подбор антибактериальных препаратов и разработка схемы их применения, позволяющие добиться положительного лечебного результата при средней и

тяжелой степени поражения тканей у рыб осетровых видов.

Технический результат от использования предлагаемого изобретения заключается в обеспечении быстрого и полного выздоровления осетровых рыб при средней и сильной степени поражении указанными бактериозами.

Лечебный результат достигается тем, что в способе лечения псевдомоноза и аэромоноза осетровых рыб путем индивидуального внутримышечного инъецирования антибактериальным препаратом, в качестве лечебного препарата используют Нитокс 200, который вводят двух- и трехкратно в нарастающей дозе, в зависимости от степени поражения тканей.

При средней степени поражения тканей лечение начинают с введения препарата внутримышечно в количестве 30 мг/кг от массы рыбы, через двое суток после первого введения - в количестве 50 мг/кг массы рыбы.

При тяжелой степени поражения тканей заболевания в первые сутки используют дозировку препарата в количестве 50 мг/кг в первые сутки и по 75 мг/кг при второй и третьей инъекции на 4-е и 7-е сутки соответственно.

Для получения необходимой дозы препарата, исходную концентрацию препарата Нитокс 200 растворяют изотоническим раствором до получения необходимой дозы.

Нитокс 200 - антибиотик группы тетрациклина. Представляет собой раствор для инъекций прозрачный, слегка вязкий, коричневого цвета, с характерным запахом, в 1 мл содержит 200 мг окситетрациклина дигидрат. Окситетрациклина дигидрат, входящий в состав препарата, действует бактериостатически. В препарате окситетрациклин находится в виде комплекса с магнием, что обуславливает его длительное (продолжительное) действие. Активен в отношении большинства грамположительных и грамтрицательных бактерий, в т.ч. стрептококков, стафилококков, коринебактерий, клостридий, эризипелотриксков, пастерелл, фузобактерий, сальмонелл, псевдомонад, актинобактерий, эшерихий, хламидий, риккетсий и спирохет. Длительное (продолжительное) действие препарата обусловлено комплексом окситетрациклина дигидрата с магнием.

Способ лечения проводят следующим образом.

В карантинный (опытный) бассейн при температуре воды не выше 18°C и содержании растворенного в воде кислорода не менее 6 мг/дм³ отсаживают рыб, пораженных псевдомонозом и аэромонозом. В спинную мышцу сбоку от начала спинного плавника каждой особи вводят 1 мл разведенного физиологическим раствором необходимой концентрации препарат Нитокс 200.

Доза вводимого препарата зависит от степени поражения рыбы: при средней степени (незначительное покраснение роострума анального отверстия, точечные кровоизлияния и небольшие язвочки на брюшной поверхности тела) концентрация препарата составляет 30 мг/кг при

32737

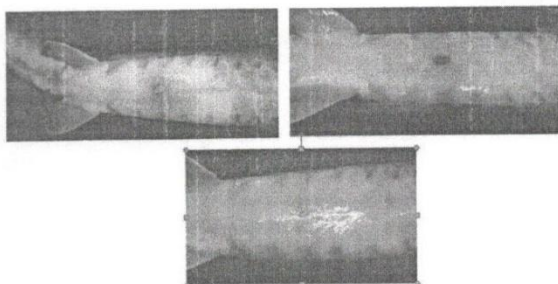
первой инъекции и 50 мг/кг при повторной инъекции через 2 суток. Лечебная эффективность препарата отмечается через 3 суток после второго введения препарата как показано на фиг.1.

При сильном поражении особей (темные пятна на поверхности тела; язвы серого цвета с красным ободком; отслаивание жучек и кожного покрова в области спины, боковой части тела и др.; очаговые кровоизлияния у основания грудных и брюшных плавников) используют дозировку препарата в количестве 50 мг/кг в первые сутки и по 75 мг/кг при второй и третьей инъекции через каждые 2-е суток. Эффективность лечения наступает через 2-3 суток после третьей инъекции препарата как показано на фиг.2.

Новизна и изобретательский уровень заявленного изобретения заключается в использовании Нитокс 200 в ихтиопатологии и установлении неизвестных ранее границ терапевтических доз препарата в лечении бактериозов осетровых рыб, а также в установлении безвредности и отсутствия побочного действия для организма осетровых рыб такого препарата.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ лечения бактериальных инфекций осетровых рыб в установке замкнутого водообеспечения, включающий использование антибактериальных препаратов путем инъекции больным рыбам при средней и сильной степени пораженности, *отличающийся* тем, что в качестве лечебного препарата используют Нитокс 200, который вводят двух- и трехкратно в нарастающей дозе, в зависимости от степени поражения тканей, при средней степени поражения тканей лечение начинают с введения препарата внутримышечно в количестве 30 мг/кг от массы рыбы, через двое суток после первого введения - в количестве 50 мг/кг массы рыбы, при тяжелой степени поражения тканей заболевания в первые сутки используют дозировку препарата в количестве 50 мг/кг и по 75 мг/кг при второй и третьей инъекции на 4-е и 7-е сутки соответственно.



Фиг.1 - Динамика заживления ран в брюшной части (средняя степень поражения) после применения НИТОКС 200



Фиг.2 - Динамика заживления язвы в спинной части (сильная степень поражения) после применения НИТОКС 200

Верстка Б. Омарова
Корректор К. Нгметжанова



«ЖӘНГІР ХАН атындағы БАТЫС
ҚАЗАҚСТАН АГРАРЛЫҚ-ТЕХНИКАЛЫҚ
УНИВЕРСИТЕТ»
КОММЕРЦИЯЛЫҚ ЕМЕС АКЦИОНЕРЛІК
ҚОҒАМЫ

090009, Орал қаласы, Жәңгір хан көшесі, 51
тел./факс: 8(7112) 50-13-74
e-mail: zapkazatu@wkau.kz



НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ
ОБЩЕСТВО
«ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ
АГРАРНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени ЖАНГИР ХАНА»

090009, г. Уральск, ул.Жангир хана, 51
тел./факс: 8(7112) 50-13-74
e-mail: zapkazatu@wkau.kz

NON-PROFIT JOINT STOCK COMPANY
«ZHANGIR KHAN WEST
KAZAKHSTAN AGRARIAN
TECHNICAL UNIVERSITY»

51, Zhangir khan street, Uralsk, 090009
tel./fax: 8(7112) 50-13-74
e-mail: zapkazatu@wkau.kz

№ 9.1/4-604

25 04 2018 ж./г./у.

О внедрении результатов исследования

На сегодняшний день значительная доля мировой аквакультуры сосредоточена на выращивании осетровых рыб и их гибридов в условиях установок замкнутого водоснабжения (УЗВ). Данный альтернативный способ производства рыбы и рыбной продукции позволит сохранить и восстановить запасы осетровых рыб в естественных водоемах путем снижения промысловой нагрузки на их популяции, а также обеспечить население качественной продукцией. В последнее десятилетие и в Казахстане стартовали крупномасштабные проекты, специализирующие в таком рентабельном и динамично развивающемся направлении.

На пути успеха рыбоводческих предприятий встает проблема возникновения и распространения патологии бактериальной этиологии, к примеру, псевдомоноз, возникающий на фоне интенсивного темпа производства и стрессовых условий, сопровождающиеся высокой степенью летальности осетров, как следствие экономический ущерб. Несмотря на существующие представления о возбудителе, клинических проявлениях и этиологии болезни, нет полного представления о патогенезе, патоморфологических изменений в органах и тканях, а имеющихся данные касательно этих вопросов недостаточны и весьма противоречивы. Для решения данной проблемы посвящена диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук аспиранта Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана Гинятова Нурбека Сатканулы на тему «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения».

Результаты диссертации были внедрены в учебный план факультета «Ветеринарной медицины и биотехнологии» по дисциплинам «Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии», «Эпизоотология и инфекционные болезни», «Ихтиопатология» для студентов специальностей 5В120100 – «Ветеринарная медицина» и 5В120200 – «Ветеринарная санитария», 5В080400 – «Рыбное хозяйство и промышленное рыболовство». Кроме того материалы данной работы используются в производственных условиях лаборатории аквакультуры научно-исследовательского института биотехнологии и природопользования Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана при диагностике, лечении и профилактике псевдомоноза осетровых рыб в установках замкнутого водоснабжения.

Председатель правления-ректор  Наметов А.М.

002875

№57

от 25.04.2018г.

Справка

Дана аспиранту ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» Гинаятову Нурбеку Сатканулы, в том что результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук на тему «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» внедрены и используются в производственных условиях ТОО «Учебный-научный комплекс опытно-промышленного производства аквакультуры» при диагностике и ликвидации псевдомоноза осетровых рыб в УЗВ.

Первый заместитель
генерального директора



С.Л. Ульянов

МЕББМ «БАТЫС ҚАЗАҚСТАН
ИНЖЕНЕРЛІК-ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ
КОЛЛЕДЖІ»

090006, Орал қаласы, Достық даңғылы 215
Тел.: 8 (7112) 240475
Тел/факс: 8 (7112) 513531
E-mail: wketc@mail.ru



НОУ «ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ
ИНЖЕНЕРНО ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ
КОЛЛЕДЖ»

090006, г. Уральск, пр. Достык 215
Тел.: 8 (7112) 240475
Тел/факс: 8 (7112) 513531
E-mail: wketc@mail.ru

№ 133

«26» 04 2018 ж.

СПРАВКА

Выдана аспиранту Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана Гинятову Нурбеку Сатканулы в том, что результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук на тему «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» внедрены в учебный план по дисциплинам «Патологическая физиология и патологическая анатомия» и «Ихтиопатология» для учащихся специальностей 1513000 – «Ветеринария», 1513053 – «Ветеринарный фельдшер», 1505000 – «Рыбное хозяйство» и 1505043 – «Техник-рыбовод».

Директор

Алимбеков С.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и
инновационной деятельностиФГБОУ ВО «Башкирский
государственный аграрный
университет»

И.В. Чудов

Карта обратной связи

Информационное письмо по материалам диссертации Гинятова Нурбека Сатканулы на тем «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в условиях замкнутого водоснабжения» внедрено в учебный процесс и принято в разработках при выполнении НИР на кафедре морфологии, патологии, фармации и незаразных болезнях Башкирского ГАУ.

Материалы рассмотрены и одобрены на заседании кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезнях Башкирского ГАУ (протокол № 9 от 4 мая 2018 года).

Заведующий кафедрой морфологии,
патологии, фармации и незаразных
болезней, доктор ветеринарных наук,
профессор Е.Н. Сковородин

Адрес: 450001, г.Уфа,

ул. 50-летия Октября, 34

Телефон: +7 (347) 228-28-77

Электронная почта: skovorodinen@mail.ru

A handwritten signature in blue ink, which reads 'Сковородин'.

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебной и
воспитательной работе
ФГБОУ ВО Вятской ГСХА
доцент М.С. Поярков
« » 2018 г.

Карта обратной связи

Информационное письмо по материалам диссертации Гинаятова Нурбека Сатканулы на тему «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» внедрено в учебный процесс и принято в разработках при выполнении НИР на кафедре диагностики, терапии, морфологии и фармакологии ФГБОУ ВО Вятской ГСХА.


Материалы рассмотрены на заседании кафедры диагностики, терапии, морфологии и фармакологии от 10 мая 2018 года протокол №4

Заведующий кафедрой диагностики, терапии,
морфологии и фармакологии
Вятской государственной
сельскохозяйственной академии,
доктор ветеринарных наук, профессор

А. Б. Панфилов

Почтовый адрес: 610017, г. Киров, ФГБОУ ВО «Вятская ГСХА»,
ул. Октябрьский проспект, д. 133, E-mail: info@vgsha.info, Телефон:
(8-833-25) 48-6-33.

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва»
Сенин П.В.
« 14 » _____ 2018 г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований по диссертационной работе Гинятова Нурбека Сатканулы на тему: «Клинико-морфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» приняты к внедрению в учебный процесс. В дальнейшем они будут использованы как справочный материал для лекционного курса и лабораторно-практических занятий по морфологическим и клиническим дисциплинам, а также учитываться при выполнении научных исследований студентами, аспирантами, соискателями и докторантами кафедры.

Протокол заседания сотрудников кафедры «Морфологии, физиологии и ветеринарной патологии» № 5 от 27 апреля 2018 г.

Зав. кафедрой профессор, доктор биологических наук кафедры морфологии, физиологии и ветеринарной патологии Аграрного института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва»

Зенкин Александр Сергеевич



«УТВЕРЖДАЮ»

Секретарь проекта -

Исходный по НИР

Исходный В.А.

Карта обратной связи

Информационное письмо по материалам диссертации Гинаятова Нурбека Сатканулы на тему «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» внедрено в учебный процесс и принято в разработках при выполнении НИР на кафедре

морфологии, физиологии и патологии животных -
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

(Название кафедры, сокращённое название организации)

Материалы рассмотрены и одобрены на заседании кафедры

морфологии, физиологии, и патологии животных
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

(Название кафедры, сокращённое название организации)

Протокол № 13 от 27.04. 2018 года.

Заведующий кафедрой морфологии, физиологии и пато-
логии животных, профессор, доктор биологических

(Название кафедры)

наук Любимой Н.А. Любимой

(Научная степень, учёное звание, подпись, инициалы, фамилия)

Адрес: 432017, Ульяновская область, г. Ульяновск,
бульвар Новое Веице 1

(Почтовый адрес организации)

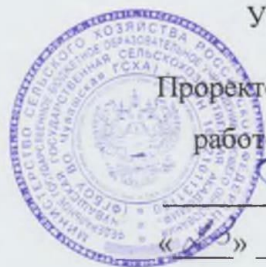
Телефон: 8-908-4763745

(Контактный телефон)

Электронная почта: morphology-depe@yulke.ru

(Электронный адрес для переписки по НИР)

УТВЕРЖДАЮ



Проректор по учебной и научной
работе ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА
Л.М. Корнилова

« 05 » 2018 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Материалы, изложенные в информационном письме соискателя ФГБОУ ВО Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана Гинаятова Нурбека Сатканулы на тему: «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» используются в учебном процессе и научно-исследовательской работе кафедры морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА.

Информационное письмо рассмотрено на заседании кафедры морфологии, акушерства и терапии.

Протокол № 15 от «23» мая 2018 года.

Заведующий кафедрой, доцент

С.Д. Назаров




Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Южно-Уральский государственный аграрный университет
Институт ветеринарной медицины

Ул. Гагарина, 13, г. Троицк, Челябинская обл., Россия, 457100. Тел./факс: +7 35163-2-38-90 / 2-04-72, e-mail: tvl_t@mail.ru

ИНН 7418006770, КПП 742401001, БИК 047501001, ОГРН 1027401101530, ОКТМО 75752000, ОКПО 00493563, р/сч. 40501810600002000002
 Банк: Отделение Челябинск г. Челябинск, л/сч. 20696Х13670 в Управлении Федерального Казначейства по Челябинской области

Утверждаю:

Проректор-директор ИВМ,
 и.о. проректора по научной и
 инновационной работе

 М.Ф. Юдин

« » 2018 г.



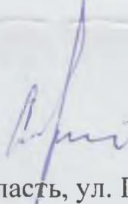
КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Информационное письмо по материалам диссертации Гинаятова Нурбека Сатканулы на тему: «Клинико-патоморфологическая характеристика псевдомоноза осетровых рыб, выращиваемых в установках замкнутого водоснабжения» внедрено в учебный процесс и принято в разработках при выполнении НИР на кафедре морфологии, физиологии и фармакологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет» Института ветеринарной медицины.

Материалы рассмотрены и одобрены на заседании кафедры морфологии, физиологии и фармакологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет» Института ветеринарной медицины.

Протокол № 17 от 07 мая 2018 года.

Профессор кафедры морфологии,
 физиологии и фармакологии,
 доктор ветеринарных наук, профессор

 В.К. Стрижиков

Адрес: 457 100, г. Троицк, Челябинская область, ул. Гагарина 13.

Телефон: 2-32-27

Электронная почта: kmorfugavm@inbox.ru