

УДК 619:616.33(29)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-356-2-11-14>

Оригинальное исследование/Original research

**Ленченко С.О.,
Субботина Ю.М.**

Всероссийский научно-исследовательский институт интегрированного рыбоводства — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста» (ВНИИР — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста), 142460, РФ, Московская область, Ногинский район, пос. им. Воровского, ул. Сергеева, д. 24
E-mail: fish-vniir@mail.ru

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», кафедра ветеринарной медицины, 125080, г. Москва, Волоколамское ш., 11
E-mail: mu_beard@mail.ru

Ключевые слова: аэромоноз, карпы, рыба, пруды, диагностика, профилактика

Для цитирования: Ленченко С.О., Субботина Ю.М. Диагностика и профилактика аэромоноза в рыбоводных хозяйствах. *Аграрная наука.* 2022; 356 (2): 11–14.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-356-2-11-14>**Конфликт интересов отсутствует****Svyatoslav O. Lenchenko,
Yulia M. Subbotina**

All-Russian Research Institute of Integrated Fish Farming — a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Animal Husbandry — VIZH named after academician L.K. Ernst" (VNIIR — branch of the LK Ernst Federal State Budgetary Scientific Institution FITS VIZH), 142460, Russian Federation, Moscow region, Noginsky district, pos. them. Vorovskogo, st. Sergeeva, 24
E-mail: fish-vniir@mail.ru

Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, 11, Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russia
E-mail: mu_beard@mail.ru

Key words: aeromonosis, carp, fish, ponds, diagnostics, prevention

For citation: Lenchenko S.O., Subbotina Y.M. Diagnostics and prevention of aeromonosis *Cyprinus sagrio*. *Agrarian Science.* 2022; 356 (2): 11–14. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-356-2-11-14>**There is no conflict of interests**

Диагностика и профилактика аэромоноза в рыбоводных хозяйствах

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Аэромоноз (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка, люблинская болезнь) — инфекционная болезнь рыб. К болезни восприимчивы карпы, сазаны и их гибриды в возрасте от сеголетков до производителей. Наибольшего распространения эпизоотия достигает в весенне-летний период, к осени затухает, болезнь принимает хроническое течение.

Методы. Объектом исследований являлись рыбы *Cyprinus carpio*. В опытах использовали референтный штамм *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 Глобального центра биоресурсов, а также изоляты, выделенные при вспышках аэромоноза карпов в рыбоводных хозяйствах Московской области. Диагноз на наличие аэромоноза устанавливали на основании эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных и результатов бактериологических исследований. Исследование биопленок микроорганизмов проводили при культивировании в жидких питательных средах, учет КОЕ-микроорганизмов высевали на поверхность плотных сред.

Результаты. Общее количество микроорганизмов (КОЕ, Ig/г) микробиоценозов кишечника — $54,21 \pm 0,05 - 66,09 \pm 0,12$. Культуры микроорганизмов *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* были изолированы из крови, сердца, селезенки, жабр, кишечника, печени и почек рыб. При культивировании при 37 °С в течение 6–72 ч выявляли адгезию вегетативных форм бактерий, имеющих типичные для вида форму и размеры, формирование монослоя бактерий — диффузного слоя бактериальных клеток. При люминесцентной микроскопии дифференцировали жизнеспособные и нежизнеспособные микроорганизмы. На мясопептонном агаре с 5,0% дефибринированной крови, как правило, наблюдали рост β-гемолитических колоний, реже α-гемолитических колоний. При определении фермента ДНКазы обнаруживали светлую зону вдоль штриха посева на среде DNA BA. На среде, содержащей 5,0% дефибринированной крови, наблюдали рост β-гемолитических и α-гемолитических колоний. При определении фермента ДНКазы на поверхности плотной питательной среды DNA BA выявляли светлую прозрачную зону вокруг колоний микроорганизмов. Профилактика аэромоноза основана на систематическом мониторинге этиологической структуры возбудителей аэромоноза, кормление в нагульных и летних маточных прудах начинают весной при повышении температуры воды до 14 °С.

Diagnostics and prevention of aeromonosis *Cyprinus sagrio*

ABSTRACT

Relevance. Aeromonosis (carp rubella, hemorrhagic septicemia, infectious abdominal dropsy, Lublin disease) — an infectious disease of fish. Carp, common carp and their hybrids from underyearlings to broodstock are susceptible to the disease. The epizootic reaches its greatest distribution in the spring-summer period, by autumn it fades and the disease takes on a chronic course.

Methods. The object of research was the fish *Cyprinus carpio*. In the experiments, we used the reference strain *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 of the Global Center for Bioresources, as well as isolates isolated during outbreaks of carp aeromonosis in fish farms in the Moscow region. The diagnosis for the presence of aeromonosis was established on the basis of epizootological, clinical and pathological data and the results of bacteriological studies. The study of biofilms of microorganisms was carried out during cultivation in liquid nutrient media, the CFU of microorganisms was counted and sown on the surface of solid media.

Results. The total number of microorganisms (CFU, Ig/g) of intestinal microbiocenoses — $54,21 \pm 0,05 - 66,09 \pm 0,12$. Cultures of microorganisms *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* were isolated from blood, heart, spleen, gills, intestine, liver and kidneys of fish. During cultivation at 37 °C for 6–72 h, the adhesion of vegetative forms of bacteria with a typical shape and size of the species and the formation of a bacterial monolayer — a diffuse layer of bacterial cells — was revealed. Viable and non-viable microorganisms were differentiated by fluorescence microscopy. On meat-peptone agar with 5,0% of defibrinated blood, as a rule, the growth of β-hemolytic colonies was observed, less often α-hemolytic colonies. When determining the enzyme DNase, a light zone was found along the inoculation line on the DNA BA medium. Growth of β-hemolytic cultures was observed on meat-peptone agar with 5,0% of defibrinated blood. When determining the DNase enzyme on the surface of the dense nutrient medium "DNA BA", a light transparent zone was revealed around the colonies of microorganisms. Prevention of aeromonosis is based on systematic monitoring of the etiological structure of pathogens of aeromonosis; feeding in feeding and summer mother ponds begins in the spring when the water temperature rises to 14 °C.

Поступила: 14 сентября
Принята к публикации: 5 февраля

Received: 14 September
Accepted: February 5

Введение

Аэромоназ (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка, люблинская болезнь) — инфекционная болезнь рыб. К болезни восприимчивы карпы, сазаны и их гибриды в возрасте от сеголетков до производителей [1–3]. Возбудитель инфекции заносится в прудовые хозяйства с водой, больной рыбой, водоплавающей и рыбоядной птицей, а также орудиями лова, рыболовным инвентарем и тарой. Рыба заражается через поврежденную кожу и жабры, а также алиментарно; возможна передача инфекции пиявками, паразитическими рачками аргулюсами. Наибольшего распространения эпизоотия достигает в весенне-летний период, к осени затухает, болезнь принимает хроническое течение [4].

Для разработки комплекса диагностических и профилактических мероприятий приоритетность представляют исследования нозологического профиля инфекционных болезней, отражающие временные и территориально популяционные границы распространения ихтиопатологии, на основе апробации и подбора эффективных способов микробиологических исследований, являющихся чрезвычайно длительными по времени исполнения, трудоемкими и ретроспективными.

Цель работы — изучение этиологической структуры возбудителей и морфофункциональных закономерностей развития патологического процесса при аэромоназе *Cyprinus carpio*.

Материалы и методы

Объектом исследований являлись рыбы *Cyprinus carpio* 2–4-летнего возраста массой 1,0–1,5 кг. Исследования выполнены с соблюдением международных требований «Хельсинкской декларации по гуманному обращению с животными», «Хельсинкской декларации этических принципов», «Директивы Совета Европейского сообщества по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях». В опытах использовали референтный штамм *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 Глобального центра биоресурсов, а также изоляты, выделенные при вспышках аэромоназа карпов в рыбоводных хозяйствах Московской области. Идентификацию и идентификацию микроорганизмов проводили с использованием питательных сред: МПА, МПБ («Оболенск», Россия). Биохимические свойства бактерий определяли с применением тест-систем: NEFERMtest 24, ENTEROtest 24, ANAEROtest 24 (ERBA Lachema, Чехия); OXItest, VPtest, PYRtest (Hi Media, Индия). Диагноз на наличие аэромоназа устанавливали на основании эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных и результатов бактериологических исследований. Исследование биопленок микроорганизмов проводили при культивировании в жидких питательных средах, учет КОЕ-микроорганизмов высевали на поверхность плотных сред [5, 6]. Морфометрические исследования проводили методом случайного отбора поля зрения оптического микроскопа Trinocular Unico H604 (Trinocular Unico, USA); люминесцентного микроскопа Leica DMRB (Leica, Germany). Результаты экспериментальных данных обрабаты-

ли методом статистического анализа с использованием критерия достоверности Стьюдента, результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований

Острое течение аэромоназа характеризовалось геморрагическим воспалением отдельных участков или всего кожного покрова. При подостром течении наблюдали проявления водянки, асцита и язв различной величины и конфигурации. Хроническое течение характеризовалось наличием открытых язв и эрозий на коже и плавниках, соединительнотканых рубцов на местах заживления язв. При патологоанатомическом исследовании выявляли серозно-геморрагический дерматит с образованием изъязвлений на коже, глубокий некроз мышц, деструкцию брюшной стенки, некроз плавников и межлучевых перепонок, в брюшной полости выявляли перитонит, спаечный процесс внутренних органов, катарально-геморрагическое воспаление кишечника, застой крови в паренхиматозных органах. Печень желтоватой, темно-серой, зеленоватой окраски с очагами некроза в ее отдельных долях. Желчный пузырь переполнен, селезенка увеличена в 1,5–2,0 раза, темно-вишневого цвета, кровеносные сосуды плавательного пузыря расширены, на перикарде видны точечные кровоизлияния.

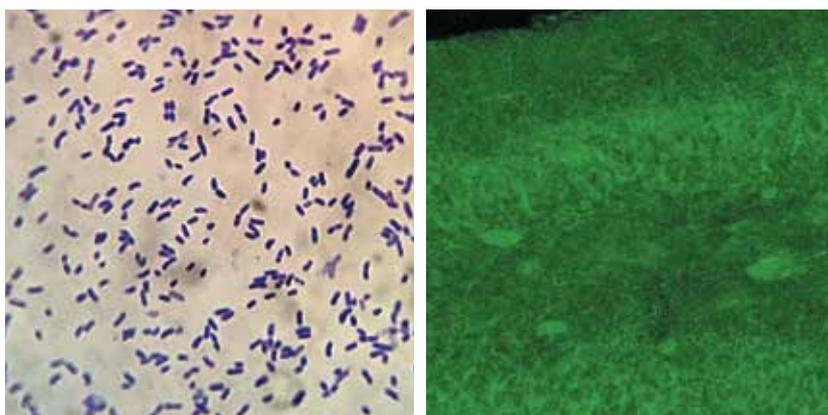
Количество микроорганизмов (КОЕ, Ig/g) в кишечнике *Cyprinus carpio* — $54,21 \pm 0,05$ — $66,09 \pm 0,12$. Культуры микроорганизмов *A. hydrophyla*, *A. sobria*, *A. caviae* были изолированы из крови, сердца, селезенки, жабр, кишечника, печени и почек.

Микроорганизмы *A. hydrophyla* — короткие, с закругленными концами, подвижные грамтрицательные палочки, размер которых колеблется от 0,5 до 2,0 мкм. Бактерии имели капсулу, микрокапсулу, жгутики. При культивировании при 23 ± 1 °C в течение 6–72 ч выявляли адгезию вегетативных форм бактерий, имеющих типичные для вида форму и размеры. Выявлены этапы формирования биопленок — диффузного слоя бактериальных клеток, погруженных в межклеточный матрикс. При люминесцентной микроскопии дифференцировали жизнеспособные и нежизнеспособные микроорганизмы (рис. 1).

На мясопептонном агаре с 5,0% дефибринированной крови, как правило, наблюдали рост β -гемолитических колоний, реже α -гемолитических колоний. При определении фермента ДНКазы обнаруживали светлую зону

Рис. 1. Интенсивность формирования биопленок аэромонад, 23 ± 1 °C, 24 ч: а — окраска генцианвиолетом. Ок. 10, об. 100, иммерсия; б — окраска Live/dead. Ок. 10, об. 80, иммерсия

Fig. 1. Intensity of formation of aeromonad biofilms, 23 ± 1 °C, 24 h



вдоль штриха посева на среде DNA BA. На среде МПА через 24 ч культивирования бактерии формировали крупные, выпуклые, с ровными краями, блестящие, полупрозрачные с голубоватым или беловато-матовым оттенком колонии, d — 2,0–3,0 мм (рис. 2).

Бактерии факультативные аэробы, оксидазо- и каталазоположительные, ферментировали маннозу, сахарозу, манитол, рабинозу, салицин, лактозу, рамнозу, глюкозу с образованием кислоты и газа, гидролизировали эскулин, мочевины. Восстанавливали нитраты в нитриты, положительно регировали в реакции Фогес — Проскауэра, продуцировали желатиназу. Положительные по аргининдигидролазе и отрицательные по лизиндекарбоксилазе и орнитиндекарбоксилазе.

Мероприятия по профилактике аэромоноза включают в себя ихтиопатологический мониторинг неблагополучных прудов. Профилактическое кормление в нагульных и летних маточных прудах начинают весной при повышении температуры воды до 14 °С. Сеголеткам карпа в выростных прудах профилактическое кормление назначают при первом же кормлении. Со второй половины июля и до октября кормление лечебными препаратами повторяют через каждые 2–3 недели. Особое внимание уделяют профилактической дезинфекции и дезинвазии водоемов, контролю за выращиваемой рыбой и карантинированию поступающих в хозяйство производителей и ремонтных рыб. В некоторых хозяйствах для профилактики аэромоноза карпов применяют периодическое летование прудов.

На основании результатов собственных исследований и анализа данных литературы можно констатировать, что в микробиоценозах кишечника *Cyprinus carpio* доминирующими являлись *Aeromonas spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Proteobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* и *Firmicutes spp.* Эпизоотическую значимость по частоте выделения из проб микробиоценозов рыб и воды суммарно по различным хозяйствам занимали *A.sobria*, *A.caviae* и *A.hydrophila*, чаще всего из рыб выделяли биовары: *A.sp.2*, *A.sp.4* и *A.sp.3*, из воды — *A.sp.4*, *A.sp.* и *A.sp.3*, наиболее вирулентными и высоковирулентными являлись *A.sobria*. Наибольшее количество бактерий семейства *Aeromonas spp.* было выделено от особей семейства карповых — 32,93%,

Рис. 2. Морфология колоний аэромонад, среда МПА: 23 ± 1 °С, 24 ч

Fig. 2. Morphology of aeromonad colonies, MPA medium: 23 ± 1 °C, 24 h



наименьшее — от особей семейства лососевых 1,44% [4]. Установлено, что индуцирование кожно-мышечных поражений рыб во всех случаях происходит при концентрации *A. hydrophila* при 10⁶ и более КОЕ/мл [7]. Бактерии *A. hydrophila* обладают 100,0%-й гемолитической активностью и являются существенным этиологическим фактором летальности гидробионтов [2]. Установлена положительная корреляционная зависимость ($r = 0,89$) концентрации пропионовой, масляной кислот, каталазы, лизоцимной активности, экспрессии иммунного гена (IL-10, MyD-88) и количеством микроорганизмов *Bacteroidetes*, *Cetobacterium*, *Bacteroidetes* и *Chitinophaga*, отрицательная корреляция ($r = -0,93$) с количеством *Fusobacteria*, *Proteobacteria* и *Aeromonas*, число *Pseudomonas spp.* снижалось ($P < 0,05$) [8]. Способность формирования биопленок, вариативность фенотипических признаков, множественность факторов вирулентности, возникновение резистентных форм бактерий за счет синтеза экзополисахаридов значительно снижают эффективность противоэпизоотических и диагностических мероприятий [9]. Для разработки технологии аквакультуры приоритетным направлением является изучение этиологической структуры возбудителей и морфофункциональных закономерностей развития патологического процесса при инфекционной патологии рыб [9, 10]. Разработка ускоренных методов детекции биопленок и дифференциации некультивируемых микроорганизмов позволит научно обосновать и разработать комплекс мероприятий, направленных на предупреждение заболеваний рыб и получение безопасных продуктов.

Литература

1. Басанкина В.М. Эпизоотические особенности аэромоноза рыб в условиях региона Северного Кавказа. *Дисс. ... канд. вет. наук: 06.02.02*. М.: 2020. 161 с. [Basankina V.M. Epizooticheskie osobennosti aeromonozы ryb v usloviyah regiona Severnogo Kavkaza. *Diss. ... kand. vet. nauk: 06.02.02*. Moscow: 2020. 161 p. (In Russ.)].
2. Канаева Т.И. Разработка биотехнологических параметров выделения и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23. Ульяновск: 2009. 19 с. [Kanaeva T.I. Razrabotka biotekhnologicheskikh parametrov vydeleniya i identifikatsii bakterij *Aeromonas hydrophila*. *Avto-ref. diss. ... kand. biol. nauk: 03.00.07, 03.00.23*. Ul'yanovsk: 2009. 19 p. (In Russ.)].
3. Кухаренко Н.С., Яковлева Н.В. К проблеме диагностики бактериальных инфекций рыб (Аэромоноз). *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2012; 9(95):

94–95. [Kuharenko N.S., Yakovleva N.V. K probleme diagnostiki bakterial'nyh infektsiy ryb (Aeromonoz). *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2012; 9(95): 94–95 (In Russ.)].

4. Субботина Ю.М., Хромили М.В., Белоусов В.И. Ветеринарно-санитарная характеристика и течение болезни выращиваемой рыбы в рыбноводном хозяйстве, находящемся на карантине по аэромонозу и воспалению плавательного пузыря. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2021;2(38): 230–236. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202102018. [Subbotina Yu.M., Hromilin M.V., Belousov V.I. Veterinarно-sanitarnaya harakteristika i techenie bolezni vyrashchivaemoj ryby v rybovodnom hozyajstve, nahodyashchemsya na karantine po aeromonozу i vospaleniyu plavatel'nogo puzyrya. *Problemy veterinarnoj sanitarii, gigeny i ekologii*. 2021;2(38): 230–236. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202102018 (In Russ.)].

5. Ленченко Е.М. Морфофункциональные свойства и популяционная изменчивость иерсиний, поражающих сельскохозяйственных животных, в зависимости от температурного фактора. *Сельскохозяйственная биология*. 1996; 6: 88–95. [Lenchenko E.M. Morfofunkcional'nye svoystva i populyacionnaya izmenchivost' iersinij, porazhayushchih sel'skhozoyajstvennyh zhivotnyh, v zavisimosti ot temperaturnogo faktora. *Sel'skhozoyajstvennaya biologiya*. 1996; 6: 88–95 (In Russ.)].

6. Lenchenko E., Phan Van K., Vatnikov Yu. The effect of antibacterial drugs on the formation Salmonella biofilms. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2021;13(1): 2736–2742.

7. Jeney G., Ardó L., Rónyai A., Bercsényi M., Jeney Z. Resistance of genetically different common carp, *Cyprinus carpio* L., families against experimental bacterial challenge with

Aeromonas hydrophila. *Journal of Fish Diseases*. 2011; 34: 65–70.

8. Meng X, Wu S, Hu W, Zhu Z, Yang G, Zhang Y, Qin C, Yang L, Nie G. *Clostridium butyricum* improves immune responses and remodels the intestinal microbiota of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*. 2021; 530. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735-753>.

9. Lenchenko E., Lozovoy D., Strizhakov A. Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms. *Veterinary World*. 2019;12(1): 136-140.

10. Skrzypczak A.R., Napiórkowska-Krzebietke A. Identification of hydrochemical and hydrobiological properties of mine waters for use in aquaculture. *Aquaculture Reports*. 2020;18: 2352–5134.

ОБ АВТОРАХ:

Ленченко Святослав Олегович, ведущий специалист
Субботина Юлия Михайловна, доцент кафедры биоэкологии и биологической безопасности, кандидат сельскохозяйственных наук

ABOUT THE AUTHORS:

Lenchenko Svyatoslav Olegovich, Leading Specialist
Subbotina Yulia Mikhailovna, Associate Professor of the Department of Bioecology and Biological Safety, Candidate of Agricultural Sciences



Международная выставка
оборудования и технологий
добычи, разведения и
переработки рыбы
и морепродуктов

12-14 апреля 2022
Москва, Крокус Экспо



Организатор:



+7 (812) 701-00-15
+7 (495) 320-80 41
info@aquaproexpo.ru

Забронируйте стенд
aquaproexpo.ru