

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ЗАРАЖЕНИЕ КАРПОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ КУЛЬТУРЫ *A. HYDROPHILA*

Петров Р.В.

«Сумский национальный аграрный университет»,
г. Сумы, Украина

В данной статье представлены результаты исследований, в ходе которых описывается заражение карпа патогенной культурой *Aeromonas hydrophila* водным, пероральным, жаберным, внутримышечным, кожным и внутрибрюшинным способом при температуре воды характерных для различных сезонов года. Установлено, что снижение температуры воды прямо пропорционально снижению заболеваемости и гибели карпов.

This article presents the results of studies in which the infection is described carp culture of pathogenic *Aeromonas hydrophila* water, oral, gill, intramuscular, cutaneous and intraperitoneally at a water temperature characteristic of the different seasons of the year. It was found that the reduction in water temperature is directly proportional to reduce morbidity and mortality of carp.

Ключевые слова: аэромоназ, инфекция, карп, температура, *Aeromonas hydrophila*.
Keywords: Aeromonosis, infection, carp, temperature, *Aeromonas hydrophila*.

Введение. Одним из самых распространённых заболеваний пресноводной рыбы бактериальной этиологии в прудовых хозяйствах является аэромоназ. Аэромоназ карпов (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка, люблинская болезнь) характеризуется воспалением кожного покрова, очагами кровоизлияний, водянкой, ерошением чешуи, пучеглазием, гидратацией мышечной ткани и всех внутренних органов. Возбудителем данного заболевания является бактерия *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) [4].

Болезнь распространена во всех странах Европы, Южной Америки и Азии, где выращивают карпов [1-3, 9]. В Украине это заболевание является одним из самых распространенных и наносит значительный экономический ущерб, связанное с высокой гибелью (70-95 %) карпов [2, 3, 6]. Бактерия *Aeromonas hydrophila* - факультативный аэроб, часто встречается в кишечнике и тканях здоровых рыб. Постоянно заселяет ил естественных водоемов и землю, где размножается при сезонном весенне-летнем повышении температуры. Длительное время сохраняется во внешней среде, чувствительна к воздействию прямых солнечных лучей, ультрафиолетового облучения. Представляет собой маленькую, (1,2-1,8) × (0,5-0,6) мкм, грамтрицательную подвижную палочку с полярным жгутиком. Спор и капсул не образует. Культивируется на обычных питательных средах при температуре 20-30°C. В биохимическом отношении культуры *A. hydrophila* являются активными: оксидазоположительными, расщепляют глюкозу, как в аэробных так и анаэробных условиях, образуют сероводород, индол, гидролизуют желатин, дают положительную реакцию Фогеса-Проскауера, имеют протеолитические свойства [7].

Аэромонады были признаны в качестве потенциальных пищевых патогенов еще в 90-х годах XX века. Аэромонад выделяли из пресной воды, из рыбы и из моллюсков, а также в мясе и свежих овощах [4, 8, 9]. Аэромонады (в первую очередь *A. hydrophila* HG1) могут вызвать истощение, диарею у человека, а особенно у детей [5]. Большинство изолятов *Aeromonas* - психотропные и могут расти при температуре 2-4°C [4, 7]. Это может привести к увеличению опасности загрязнения пищевых продуктов, особенно там, где существует возможность перекрестного загрязнения готовых к употреблению пищевых продуктов.

В литературе есть данные о влиянии повышения температуры воды на течение аэромоназа [4-6]. Но не представлены данные о восприимчивости карпа к возбудителю аэромоназа *A. hydrophila* в зависимости от пути проникновения возбудителя инфекции и температуры окружающей среды в разные сезоны года.

В связи с вышеизложенным, нашей задачей было исследование влияния метода заражения и температурных режимов на заболеваемость и гибель карпов при введении патогенной культуры *A. hydrophila*.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе кафедры ветсанэкспертизы, микробиологии, зоогигиены и безопасности и качества продуктов животноводства факультета ветеринарной медицины Сумского национального аграрного университета. Проведенные исследования являются частью комплексных научных исследований кафедры ветсанэкспертизы, микробиологии, зоогигиены и безопасности и качества продуктов животноводства Сумского национального аграрного университета по тематическому плану научно-исследовательской работы «Разработка мероприятий по лечению

и профилактики заразных болезней рыб. Совершенствование методов ветеринарно-санитарной оценки гидробионтов» № государственной регистрации 0112U008508.

Для проведения опыта были сформированы по принципу аналогов 7 опытных и 1 контрольная группа (n=10) карпов сеголеток, средняя масса тела которых составляла 26±3 г. Они были получены из Сумского рыбхоза. Рыб контрольной и двух опытных групп поместили в отдельные аквариумы емкостью по 50 л., с помощью искусственной аэрации в воде поддерживалась концентрация кислорода на уровне 7-10 г/м³.

Период акклиматизации всех групп составлял 21 день. Контрольная группа не подвергалась заражению аэромонадами.

Опыт проводили три раза при следующих температурных режимах (20°C - 25°C, 15°C - 17°C и 5°C - 7°C), которые отображают сезона года: летний, весенне-осенний и зимний период.

При заражении опытных групп карпов использовали высоковирулентные штаммы *A. hydrophila*, вызывающие их гибель при заражении сеголеток карпов в дозе 10⁶ микробных клеток.

Инфицирование карпов проводили следующими способами: водным, пероральным, жаберным, внутримышечным, кожным, интраперитонияльным и контактным. При водном способе заражения суспензии культур *A. hydrophila* в дозе 10⁶ микробных клеток вводили непосредственно в воду 50-литровых аквариумов и на два часа помещали в воду сеголеток карпа, а потом эту воду сливали и заменяли новой. При пероральном методе использовали прерывный и непрерывный (хронический) способы. Учет результатов проводили через 30 суток.

Результаты исследований. Результаты опыта отображающего летний период приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты экспериментального заражения карпов суспензией культуры *A. hydrophila* 10⁶ КОЕ при температуре воды 20°C-25°C (n = 10)

Способ внесения культуры <i>A. hydrophila</i>	Клинические признаки	Результаты опыта через 30 суток после заражения		
		не заболели, особей	заболело, особей	погибло, особей
Водный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже, асцит.	3	7	6
Пероральный (одновременный)	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	4	6	3
Пероральный (хронический)	Угнетение, потеря аппетита, появление небольших язв в области хвоста	1	9	8
Жаберный	Рыба находится на поверхности, захватывает ртом воздух, «пёстрота» жабр, покраснение кожи	4	6	2
Внутримышечный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже в месте введения культуры	2	8	6
Втирание в скарифицированную кожу	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже, небольшое воспаление участка в которую вносился возбудитель	8	2	0
Интраперитонияльный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	3	7	5

Из таблицы 1 видно, что при введении культуры *A. hydrophila* карпам опытных групп, наибольшую летальность наблюдали при водном, пероральном (одновременном и хроническом), внутримышечном и интраперитонияльном методах; из 70 карпов, используемых в эксперименте, 45 карпов заболели и 30 погибли.

При пероральном хроническом способе внесения культуры *A. hydrophila* наблюдали кроме угнетения и потери аппетита, появление небольших язв в области хвоста (рисунок 1).

При водном способе заражения в 7 случаях на 10-12 сутки наблюдений отмечали возникновение покраснений на коже, а на 20 сутки возникновения асцита и ерошение чешуи.



Рисунок 1 - Образование язвы в области хвоста при экспериментальном аэромонозе

При пероральном способе инфицирования, осуществленного одномоментным и непрерывным путем в течение 1 месяца, выявляли разницу в результатах, а именно при непрерывном способе заражения гибель была выше на 5 особей и в группе заболели почти все карпы (9 из 10 особей). Одномоментное введение культуры *A. hydrophila* сопровождалось возникновением покраснений на коже.

При жаберном способе заражения сравнительно быстро, уже через 3-7 суток с момента заражения, развивались поражения в отдельных участках жаберной ткани - «пестрота». При жаберном способе заражения отмечали довольно незначительную гибель рыбы, только две особи из десяти.

При внутримышечном способе заражения патологические изменения, состоявшие из ерошения чешуи, развития точечных кровоизлияний, обычно оказывались в месте введения культуры. В двух случаях в опытной группе карпов отмечен некроз концевых участков хвостового плавника. При кожном способе заражения по истечении 3-5 суток в области груди в месте введения культуры у 2 карпов развивалась четко выраженная гиперемия кожи, которая после 14-16 суток стала постепенно спадать. Все рыбы до конца опыта остались живы.

При интраперитонеальном способе заражения регистрировали гибель 5 карпов. При жизни у пораженных рыб наблюдали гиперемии кожи в области основания грудных и брюшных плавников, а иногда она распространялась и на отдельные участки сторон рыбы.

В начальный период проведения экспериментов у рыб отмечали угнетенное состояние, плохой аппетит, частое пребывание их на дне аквариума и слабая реакция на звуковые раздражения.

По аналогичной схеме опыта был проведен данный эксперимент при температуре воды 15°C - 17°C. Результаты этого опыта приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты экспериментального заражения карпов суспензией культуры *A. hydrophila* 10⁶ КОЕ при температуре воды 15°C - 17°C (n = 10)

Способ внесения культуры <i>A. hydrophila</i>	Клинические признаки	Результаты опыта через 30 суток после заражения		
		не заболели, особей	заболело, особей	погибло, особей
Водный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже.	5	5	3
Пероральный (одновременный)	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	6	4	2
Пероральный (хронический)	Угнетение, потеря аппетита.	4	6	3
Жаберный	Рыба находится на поверхности, пестрое поражения жабр, покраснение кожи	4	6	2
Внутримышечный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже в месте введения культуры	3	7	4
Втирание в скарифицированную кожу	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже, небольшое воспаление участка в которую вносился возбудитель	8	2	0
Интраперитонеальный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	4	6	3

Анализируя данные таблицы 2 видно, что из 70 карпов, используемых в эксперименте, 36 карпов заболели и 17 погибли. В отличие от предыдущего опыта, заболевание и гибель карпов после заражения наступила на 3-5 дня позже и при первых двух способах введения культуры болезнь или гибель рыб развивалась после окончания 18-22 суток, а при внутримышечном заражении через 5 суток. Наиболее эффективными методами заражения карпов оказались пероральный и жаберный методы. У больных карпов иногда отмечали пониженную реакцию на звуки: в отдельных случаях рыба опускалась на дно аквариума и не двигалась. У таких рыб отмечали отказ от корма.

В карпов, подвергавшихся внутримышечному заражению, проявлялось очаговое серозно-геморрагическое воспаления кожи с ерошением чешуи на месте инфицирования мышечной ткани или флегмонозное заполнения последней. При микроскопии мазков, приготовленных из пораженных мест и окрашенных по Граму, выявлялось большое количество возбудителей болезни.

В дальнейшем аналогичный опыт по заражению карпов *A. hydrophila* был проведен при температуре 5°C - 7°C (таблица 3.).

Таблица 3 - Результаты экспериментального заражения карпов суспензией культуры *A. hydrophila* 10⁶ КОЕ при температуре воды 5°C - 7°C (n = 10)

Способ внесения культуры <i>A. hydrophila</i>	Клинические признаки	Результаты опыта через 30 суток после заражения		
		не заболели, особей	заболело, особей	погибло, особей
Водный	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже, асцит.	9	1	0
Пероральный (одновременный)	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	8	2	1
Пероральный (хронический)	Угнетение, потеря аппетита, появление небольших язв в области хвоста.	7	3	1
Жаберный	Рыба находится на поверхности, захватывает ртом воздух, некротическое поражение жабр, покраснение кожи	8	2	0
Внутримышечно	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже в месте введения культуры	7	3	2
Втирание в скарифицированную кожу	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже, небольшое воспаление участка в которую вносился возбудитель	9	1	0
Интроперитоний	Угнетение, потеря аппетита, появление покраснений на коже	8	2	1

Анализируя данные таблицы 3 можно сказать, что из 70 карпов, используемых в эксперименте, 13 карпов заболели и 5 погибли.

При внутримышечном способе инфицирования у больных карпов отмечали ерошение чешуи и наличие кровоизлияний в коже в месте введения культуры, которое развивалось у пораженных карпов после 5-6 суток с момента инфицирования.

При водном, жаберном и кожном способе заражения гибели рыб в данном опыте мы не наблюдали. Гибель карпа наблюдалась при пероральном одномоментном и хроническом способе, внутримышечном и интраперитонийном способе заражения, но количество не превышало 1-2 особи в каждой группе.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что снижение температуры воды прямо пропорционально снижению заболеваемости и гибели карпов при экспериментальном заражении ее патогенной культурой *A. hydrophila*.

Наибольшая гибель рыбы наблюдалась при пероральном одномоментном и хроническом способе, внутримышечном и интраперитонийном способе заражения.

Литература. 1.Борисова М.Н. Дифференциальная диагностика аэромоноза карпов / М.Н. Борисова, Т.Д. Пичугина, И. П. Иренков // М.: Ветеринария. - 2003. - № 9. - С. 25-27. 2.Вовк Н.І. Найбільш поширені хвороби риб при вирощуванні в екологічних умовах рибних господарств України / Н.І. Вовк // Вісник Полтавської державної аграрної академії. - 2002. - Т.2 (21). - С. 150-151. 3.Гребенчук О.Ю.

Епізоотологічний моніторинг інфекційних хвороб риб в ставкових господарствах України// Мат. доп. II конф. проф.-виклад. складу і аспірантів ННІ вет. медицини, якості і безпеки продукції АПК. – К.: Науковий світ, 2003. – С. 52-53. 4.Давыдов О.Н. Болезни пресноводных рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. – К.: "Ветинформ", 2003. – 544 с. 5.Компанец Э.В. Бактерии рода Aeromonas и их роль в аквакультуре. / Э.В. Компанец, П.М. Исаева, И.А. Балахнин // Микробиологический журнал - 1992. - 54. - № 4. - С. 89-99. 6.Куценко В.Г. Епізоотичне обстеження ставків та профілактика основних захворювань риби // Здоров'я тварин і ліки. – 2008. - №10 – С. 21. 7. Хоулт Дж. Краткий определитель бактерий Берджи / Хоулт Дж. – М.: Мир, 1997. – 444 с. 8. Briede I. Aeromonosis infection disease of fish / I. Briede, R.Medne // In: Latvian Fish Year Book, ed. Fish Fond, Riga - 2004 - P. 167-171.9. Inglis V. Bacterial Diseases of Fish / V. Inglis, R.J. Roberts and N.R. Bromage // Iowa State University. Ames, USA. – 2001.- Vol. 1–59. - P. 122–156.

EXPERIMENTALLY INFECTED KARP UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF INTRODUCTION OF CULTURE A. HYDROPHILA

Petrov Roman Viktorovich

«Sumy National Agrarian University», Sumy, Ukraine

E. mail: romanpetrov1978@mail.ru

Адрес: 40021, Украина, г. Сумы, ул. Г. Кондратьева, 160/3, к. 415