

Заключение. Из данных таблицы следует, что литическая активность бактериофагов бактерий вида *Aeromonas hydrophila* по Аппельману находится в пределах от 10^{-5} до 10^{-8} , а по Грациа от 5×10^5 до 2×10^8 фаговых корпускул в 1 мл. Максимальный титр у бактериофага 43-УГСХА: по Аппельману 10^{-8} , по Грациа 2×10^8 . Необходимо дальнейшее изучение этого бактериофага для создания биопрепарата на его основе.

Библиографический список

1. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – 2011. – 22 с.
2. Ганюшкин В. Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. Учебное пособие. – Ульяновск. 1988. – С. 12-16.
3. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – С. 14-17.
4. Золотухин С. Н. Бактериофаги *M. morganii* и их применение при желудочно-кишечных заболеваниях поросят // Автореферат дис. канд. вет. наук.- Ульяновск, 1994.
5. Ревенко И. П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: Урожай, 1978. – С. 18-21.

RESEARCH OF LYTIC ACTIVITY OF BACTERIOPHAGES AEROMONAS HYDROPHILA

*Nasibullin I.R., Kuklina N.G., Gorshkov I.G.,
Viktorov D.A., Vasilev D.A., Nafeev A.N.*

Key words: *bacteria Aeromonas hydrophila, bacteriophages, diagnosis, isolate phage lytic activity.*

The article is devoted to the methods of the study of lytic activity of bacteriophages of bacteria Aeromonas hydrophila, allocated from the environment in Ulyanovsk region. Selected bacteriophages have shown varying lytic activity that ranges widely.

УДК 619:579

О ПЕРСПЕКТИВАХ ФАГОДИАГНОСТИКИ ФЛАВОБАКТЕРИОЗОВ РЫБ

*Парамонова Н.А., аспирант, paramonnat@rambler.ru
Викторов Д.А., кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник, тел. 9084775573, viktorov_da@mail.ru
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор, dav_ul@mail.ru
Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор
тел. 9272703480, fvt.zol@yandex.ru
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»*

Ключевые слова: *Flavobacterium psychrophilum, бактериальная холодноводная болезнь рыб, диагностика, лечение, профилактика, бактериофаги.*

В работе приведён обзор литературных данных отечественных и зарубежных авто-

ров, рассматривается проблема диагностики, лечения и профилактики бактериальной холодноводной болезни рыб, обусловленной *Flavobacterium psychrophilum*. Проведённый анализ указывает на актуальность разработки методов фагодиагностики и фаготерапии для названного заболевания рыб.

Среди многочисленных бактерий, ежегодно заражающих рыб, *Flavobacterium psychrophilum* за последние годы вызывает большой интерес, как в экономической, так и в экологической сфере [20].

F. psychrophilum – тонкие, нитевидные грамотрицательные бактерии длиной 2-5 мкм, в диаметре 0,3-0,5 мкм. Образуют слизистые, блестящие, круглые, выпуклые, желтые колонии. Для клеток характерны скользящие движения. Этот возбудитель вызывает холодноводную бактериальную болезнь (bacterial coldwater disease (BCWD)), которую впервые описал Борг в 1948 году [6]. В Европе данное заболевание называют «обжаренный синдром радужной форели» (rainbow trout fry syndrome (RTFS)) [7].

Бактериальная холодноводная болезнь (cold-water disease, или RTSF - Rainbow trout fry syndrome), вызванная *Flavobacterium psychrophilum*, встречается во всем мире [8]. Инфекции вызванные *F. psychrophilum* были обнаружены по всей Северной Америке [9], почти в каждой стране Европы [21], Австралии [23], Чили [26], Перу [15], Японии [10], Корее [13], и Турции [12]. *F. psychrophilum* имеет по крайней мере три основных серотипа [16].

F. psychrophilum удавалось выделить из патологического материала лососевых, сомовых, карпа, карася [14] и некоторых аквариумных рыб при температуре воды 4-10 °С.

Вирулентные формы условно-патогенных бактерий рода *F. psychrophilum* вызывают эпизоотии и массовую гибель при неблагоприятных или стрессовых для рыб условиях, способствующих повышению восприимчивости гидробионтов к инфекциям и усиливающих приспособляемость бактерий [4].

Смертность может составлять 90% [21], а также может быть очень низкой (1%) и прерывной [22].

При холодноводной болезни у личинок происходит коагуляция желтка, эрозия кожных покровов и желточного мешка. Гибель личинок может достигать 50 %. У мальков отмечают потемнение окраски тела, появление характерных поражений в виде белых пятен. У сеголетков отмечают эрозию спинного и хвостового плавников, гиперемии в области анального отверстия, некроз спинного плавника, хвостового стебля с оголением скелета, нижней челюсти. У годовиков выявляют разрушение кожи с оголением мышц на голове, челюстях, на разных участках тела, анемию и геморрагии жабр. Больные рыбы отказываются от корма. Гибель мальков, сеголетков и годовиков достигает 10-20 %. У форели первым поражается жировой плавник, который постепенно обесцвечивается к основанию. Хвостовой плавник рыбы приобретает грязно-белый цвет. Иногда разрушение хвостового плавника развивается до такой степени, что обнажаются мышцы и позвоночник. У балтийского лосося поражения кожи могут начаться на спине. У кижуча часто поражаются голова, рот и почки. Повышение температуры воды до 15—16 °С ведет к прекращению заболевания.

F. psychrophilum способны к образованию желтого пигмента, а также протеолитических ферментов, которые вызывают прямое повреждение тканей и расширение зоны поражения, что является одним из предлагаемых факторов вирулентности бактерии [18], а также выделяет эндотоксин.

При исследовании пораженной кожи рыб *F. psychrophilum* выявились только на микротравмах, причем интактные участки кожи оставались неинфицированными. Бактерии имеют сродство к коллагену, благодаря чему при попадании на кожу мигрируют в миосепты через

соединительную ткань. Впоследствии поражение распространяется на основную мускулатуру, что приводит к развитию некротического миозита и формированию открытых язв [19].

Установлено, что бактерии могут передаваться от родителей потомству через инфицированное внутреннее содержимое икринки – так называемая вертикальная передача – и выживать даже после ее дезинфекции [10, 19], так и горизонтальным путем [17].

Имеются данные об изоляции микроорганизмов *F. psychrophilum* из внутреннего содержимого оплодотворенной икринки, а также из внутренних органов и половых продуктов рыб-производителей. Поэтому очень важно проведение бактериологического обследования производителей перед закладкой икры на инкубацию [3].

Подавляющее большинство изолированных штаммов бактерий *F. psychrophilum* чувствительны к эритромицину и тетрациклину – 83,3 и 80,0 % соответственно. Рост половины изолятов подавляла оксолиновая кислота. Более слабую чувствительность отмечали в отношении стрептомицина и гентамицина. Все выделенные штаммы *F. psychrophilum* были устойчивы к канамицину. Устойчивость к антибиотикам бактерий *F. psychrophilum* в настоящее время является серьезной проблемой [4].

Способность возбудителя холодноводной болезни образовывать оболочку, устойчивую к антибиотикам, вероятно, приводит к быстрому развитию резистентности к лечебным препаратам, а также к рецидивирующим инфекциям [24]. В настоящее время контролирование инфекций, вызванных *F. psychrophilum*, антибиотиками является малоэффективным методом [5].

Вышеперечисленное обуславливает научный и практический интерес к бактериям *F. psychrophilum*. В значительной степени это связано с недостаточно разработанными методами индикации и идентификации данного микроорганизма при выделении из объектов внешней среды [1]. С середины прошлого столетия бактериофаги широко используются для диагностики различных бактериальных инфекций [2]. Вместе с тем, использование реакции нарастания титра фага, как быстрого и точного метода индикации бактерий, для *F. psychrophilum* ранее не изучалось.

В связи с этим для усовершенствования методов диагностики флавобактериозов рыб, в настоящее время коллективом авторов проводится выделение бактериофагов *F. psychrophilum* для их дальнейшей селекции и конструирования на их основе биопрепарата для индикации данных бактерий методом реакции нарастания титра фага.

Библиографический список

1. Васильев Д.А. Учебно-методическое пособие по методам общей бактериологии / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.М. Никишина – Ульяновск, 1998. – 151 с.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия / Д.М. Гольдфарб // М.: Медгиз. – 1961. – 225 с.
3. Дзюба Е.В. Апробация системы высокочувствительной детекции патогенных микроорганизмов в аквакультуре обыкновенного карпа *cyprinus carpio linnaeus*, 1758 / Е.В. Дзюба [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук - 2012. - том 14, №1(8). – С. 1883-1886
4. Устименко Е. А. Бактериальные инфекции у тихоокеанских лососей при искусственном воспроизводстве на камчатке // Автореф. дис. ...канд. биол. Наук. – 2012. -22 с.
5. Barnes M.E. A Review of *Flavobacterium psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment / М.Е. Barnes, M.L. Brown//The Open Fish Science Journal - 2011, 4 –P.1-9
6. Cipriano RC, Holt RA: *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No. 86. United States Dept. of the

Interior, U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV 2005, 1-44

7. Ekman E. Natural and experimental infections with *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid fish. Ph.D. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2008

8. Groff JM, LaPatra SE. In: Lim CE, Webster CD. Nutrition and Fish Health New York: Haworth Press 2001; pp. 11-78

9. Hesami S, Allen KJ, Metcalf D, Ostland VE, MacInnes JI, Lumsden JS. Phenotypic and genotypic analysis of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from Ontario salmonids with bacterial coldwater disease. Can J Microbiol 2008; 54: 619-29.

10. Iida Y, Mizokami A. Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub. Fish Pathol 1996; 31: 157-64.

11. Kumagai A. Bacterial coldwater disease in coho salmon. Journal of the Japanese Society of Fisheries Science 2005; 71: 645-649

12. Kum C, Kirkan S, Sekkin S, Akar F, Boyacioglu M. Comparison of in vitro antimicrobial susceptibility in *Flavobacterium psychrophilum* isolated from rainbow trout fry. J Aquat Anim Health 2008; 20: 245-51.

13. Lee KB, Heo GJ. First isolation and identification of *Cytophaga psychrophila* from cultured ayu Korea. Fish Pathol 1998; 33: 37-8.

14. Lehmann J., Mock D., Sturenberg F.J. & Bernardet J.F. (1991) First isolation of *Cytophaga psychrophila* from a systemic disease in eel and cyprinids. Diseases of Aquatic Organisms 10, 217-220

15. León J, Ávalos R, Ponce M. *Flavobacterium psychrophilum* and its pathology of alevins from the El Ingenio fish farm, Huancayo. Rev Peru Biol 2009; 15: 117-24.

16. Lorenzen E, Olesen NJ. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome II: serological studies. Dis Aquat Organ 1997; 31: 209-20.

17. Madetoja J., Nyman P. & Wiklund T. (2000) *Flavobacterium psychrophilum*, invasion into and shedding by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Diseases of Aquatic Organisms 43, 27-38

18. Madsen, L. Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates: ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence / L. Madsen, I. Dalsgaard// J. Fish Dis. 2000. Vol. 23. P. 211-218

19. Miwa, S. Pathogenesis of experimentally induced bacterial cold water disease in ayu *Plecoglossus altivelis* /S. Miwa, C. Nakayasu // Dis. Aquat. Org. 2005. Vol.67. P. 93-104

20. Nicolas P, Mondot S, Achaz G, Bouchenot C, Bernardet J-F, Duchaud E: Population structure of the fish-pathogenic bacterium *Flavobacterium psychrophilum*. Appl Env Microbiol 2008, 74: 3702. PMID: 18424537

21. Nilsen H, Olsen AB, Vaagnes O, et al. Systemic *Flavobacterium psychrophilum* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) farmed in fresh and brackish water in Norway. J Fish Dis 2011; 34: 403-8.

22. Post GP. Textbook of fish health. New Jersey; T.F.H. Publications 1987

23. Schmidtke LM, Carson J. Characteristic of *Flexibacter psychrophilus* isolated from Atlantic salmon in Australia. Dis Aquat Organ 1995; 21: 157-61

24. Sundell, K., and T. Wiklund. Effect of biofilm formation on antimicrobial tolerance of *Flavobacterium psychrophilum*. J Fish Dis 2011; 34: 373-83

25. Taylor PW. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in eggs and sexual fluids of pacific salmonids by a polymerase chain reaction assay: implications for vertical transmission of bacterial coldwater disease. J Aquat Anim Health 2004; 16: 104-8.

26. Wakabayashi H, Toyama T, Iida T. A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan. Fish Pathol 1994; 29: 101-4.

ABOUT THE PROSPECTS OF PHAGES-DIAGNOSTICS OF FLAVOBACTERIOSIS OF FISH

Paramonova N.A., Viktorov D.A., Vasilev D.A., Zolotukhin S.N.

Key words: *Flavobacterium psychrophilum*, bacterial cold-water fish disease, diagnosis, treatment, prevention, bacteriophages.

*The paper provides a review of the published data of national and foreign authors, the problem of diagnostics, treatment and prevention of bacterial cold-water fish disease caused by *Flavobacterium psychrophilum* is considered. The analysis points to the urgency of the development of methods phages-diagnostics and phagotherapy for the mentioned diseases of fish.*

УДК 619:616.98:579.842.14

БАКТЕРИОФАГИ В БОРЬБЕ С САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ ПТИЦ

*Пименов Н.В., доктор биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины
и биотехнологии имени К.И.Скрябина»,
тел. 8(495)3778567, pimenov-nikolai@yandex.ru*

Ключевые слова: бактериофаги, сальмонеллез птиц, лечение, оздоровление, препарат

*В работе изложены результаты исследований по выделению активных бактериофагов и созданию препарата против сальмонеллеза птиц. Создание бивалентного бактериофага на основе *Phagum Salmonella typhimurium* и *Phagum Salmonella enteritidis*, разработка технологии его биологического производства и успешная апробация фагового препарата открывают новые перспективы в противоэпизоотической борьбе с сальмонеллезом.*

Введение. Сальмонеллез птиц продолжает оставаться острой проблемой для ветеринарной и гуманитарной медицины. По заключению экспертов Всемирной организации здравоохранения сальмонеллез, как зоонозная инфекция, не имеет себе равных по сложности эпизоотологии, эпидемиологии и трудностям борьбы с ней. В последние годы произошел серьезный дрейф в сторону развития у полевых штаммов сальмонелл множественной резистентности к антибиотикам. Латентно больные птицы (например, дикие и домашние голуби) могут являться причиной распространения опасного возбудителя и расширения границ эпизоотического очага, что в серьезной степени увеличивает социальную опасность [1].

Проблема антибиотикорезистентности актуализирует проблему переориентирования медикаментозных подходов при лечении сальмонеллеза от использования химиотерапевтических групп препаратов к применению других эффективных и менее опасных групп. Такими являются препараты, приготовленные на основе бактериофагов [2].