

# Роль условно-патогенных бактерий в возникновении патологических изменений у европейского угря Вислинского залива

О.В. Казмирченко – Калининградский государственный технический университет

В результате хозяйственной деятельности человека ухудшается экологическая обстановка в естественных водоемах. Возникающие при этом стрессовые ситуации способствуют ослаблению организма рыб, что, в свою очередь, приводит к возникновению у них различных заболеваний. В развитии бактериальных заболеваний у рыб ведущую роль часто играют представители условно-патогенной микрофлоры. Условно-патогенные бактерии могут сохраняться в воде и почве длительное время и использовать эти экологические ниши как факторы передачи своего заразного начала (Ларцева, 1997).

Вислинский залив – рыбопродуктивный водоем, где ведется основной промысел рыбы. Условия залива благоприятны для нагула и роста европейского угря (*Anguilla anguilla* L.), который относится к ценным объектам промысла. В настоящее время в Вислинском заливе происходит снижение численности запаса угря. В рыбопромысловых уловах ежегодно регистрируют угрей с поражениями кожных покровов. Возбудитель, вызывающий данные поражения, не выявлен.

Нами было проведено изучение микробиоценозов угря и среды его обитания для выявления групп условно-патогенных бактерий, которые способны вызывать характерные поражения кожных покровов и могут стать причиной заболеваний и гибели угря. Микробиологические исследования угря, воды и грунта Вислинского залива проводили с 2000 по 2006 г., в весенний, летний и осенний периоды. При клиническом осмотре особей угря отмечали многочисленные кровоизлияния на грудных, анальном и хвостовом плавниках, очаговые покраснения на коже (фото 1), вокруг рта, в области хвостового стебля, воспаление анального отверстия.

У отдельных экземпляров угрей летом и осенью регистрировали наличие язв темно-красного цвета, с неровными краями, слизистые (фото 2). Язвы обычно располагались на боку рыбы, выше анального отверстия, а также у основания грудных плавников и на хвостовом стебле. При этом у пораженных язвами угрей наблюдали обширные геморрагии в области головы, на анальном плавнике, воспаленное анальное отверстие.

При патологоанатомическом вскрытии исследованных особей угря регистрировали увеличение размеров паренхиматозных органов (печень, селезенка), текучие почки, воспаленный кишечник. Печень была песочной или мраморной окраски, воспаленный кишечник имел сосудистый рисунок. Также отмечали угрей с увеличенным в размерах желчным пузырем, желчь была с примесью крови. У большинства исследованных особей угря, в том числе у пораженных язвами, в брюшной полости регистрировали скопление кровянистого экссудата или экссудата светло-зеленого цвета.

В результате микробиологических исследований угря в составе его микрофлоры было выявлено доминирование условно-патогенных бактерий родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*. Также в анализируемом материале отмечали присутствие бактерий рода *Vibrio* и представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Количественный и качественный состав микрофлоры угря изменялся в зависимости от сезона года.

В весенний период численность бактерий рода *Aeromonas* была наибольшей в микрофлоре рыбы, что составляло  $46,9 \pm 1,0$  % штаммов. Бактерии рода *Pseudomonas* весной составляли  $16,3 \pm 1,1$  % штаммов от всей выделенной микрофлоры. В летний сезон в микробном пейзаже угря наблюдали ак-

тивизацию бактерий аэромонадно-псевдомонадного комплекса. В этот сезон доля псевдомонад и аэромонад в микрофлоре угря была примерно одинаковой ( $30,9 \pm 0,9$  и  $31,9 \pm 1,2$  % штаммов соответственно). К осени в микробиоценозе угря отмечали увеличение численности бактерий рода *Aeromonas* до  $42,2 \pm 5,6$  % и они вновь были доминирующей группой бактерий в микрофлоре исследуемой рыбы. Псевдомонады осенью достигали численности  $28,6 \pm 1,9$  % штаммов.

Среди бактерий рода *Aeromonas* наиболее часто выявляемыми в микрофлоре угря были *A. hydrophila* и *A. schubertii*. Также встречались *A. veronii*, *A. sobria*, *A. caviae* и *A. eucrenophila*. Частота выделения каждого вида по сезонам года варьировала, но видовой состав аэромонад во все сезоны не изменялся. Основными биотопами аэромонад были кожа, жабры, кровь и кишечник угря. Бактерии были встречены также и в паренхиматозных органах рыбы.

Условно-патогенные бактерии рода *Pseudomonas* в микрофлоре угря были представлены большим видовым разнообразием. Нами были выделены как ферментирующие, так и не ферментирующие глюкозу псевдомонады. Численно среди псевдомонад преобладали штаммы *P. seracia* и *P. putrefaciens*. Из группы ферментирующих бактерий рода *Pseudomonas* также выделяли *P. putida*, *P. stutzeri* и *P. sp.* Бактерии *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes* и *P. testosteronei* преобладали по количеству выделенных изолятов среди неферментирующих псевдомонад. В разные сезоны в микрофлоре угря отмечали небольшое число штаммов *P. delafieldii*, *P. facilis*, *P. maltophilia*, *P. mendocina*, *P. solonacearum*, *P. vesicularis*, *P. diminuta* и *P. acidovorans*.



Фото 1. Покраснения на теле угря в области грудных плавников



Фото 2. Язва на теле угря Вислинского залива (увеличение)



Псевдомонады обсеменяли все органы угря, в наибольших количествах они были отмечены в посевах кожи, жабр, желчного пузыря, селезенки и кишечника. Бактерии рода *Vibrio* присутствовали в незначительных количествах в микрофлоре рыбы во все периоды исследований. Этиологическая структура бактерий данного рода была представлена *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. mimicus* и *V. sp.* По количеству штаммов преобладали *V. fluvialis* и *V. furnissii*. Вибрионов высевали в основном в комплексе с аэромонадами. Бактерии контаминировали кожу, все паренхиматозные органы, кровь и кишечник угря. Наиболее часто, по сравнению с другими органами, вибрионов выделяли из кишечного содержимого.

Среди энтеробактерий в органах угря в наибольших количествах регистрировали бактерий родов *Citrobacter* и *Enterobacter*, доля которых в микробиоценозе рыбы была наибольшей весной. Других представителей семейства *Enterobacteriaceae* – бактерии родов *Escherichia* и *Proteus* – в микробиоценозе рыбы встречали значительно реже. Структура рода *Citrobacter* включала два вида – *C. freundii* и *C. sp.* Род *Enterobacter* был представлен *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. sakazakii*, *E. sp.*, среди которых по числу штаммов во все сезоны года преобладали *E. agglomerans*.

Нами был обнаружен только один вид бактерий рода *Escherichia* – *E. coli*. Присутствие кишечных палочек регистрировали во всех органах угря. Род *Proteus* был представлен *P. mirabilis*, *P. penneri* и *P. vulgaris*. В наибольших количествах энтеробактерии поражали кожу, жабры и кишечник угря, в основном за счет обсеменения рыбы бактериями рода *Citrobacter* и *Enterobacter*.

При изучении микробного состава экссудата нами было отмечено доминирование бактерий рода *Aeromonas*, среди которых преобладали *A. schubertii*, *A. sobria* и *A. veronii*. Наряду с аэромонадами в экссудате встречали псевдомонад, вибрионов, энтеробактеров и эшерихий. Среди псевдомонад отмечено доминирование *P. putrefaciens* и *P. Alcaligenes*; среди вибрионов – *V. furnissii*.

В составе микрофлоры язвенных поражений угря было выявлено доминирование условно-патогенных бактерий рода *Aeromonas*. Нами был встречен единственный представитель этого рода – *A. hydrophila*. Наряду с аэромонадами в язвах присутствовали бактерии рода *Pseudomonas* и *Citrobacter*. Из псевдомонад в язвах отмечали ферментирующие *P. cepacia* и *P. stutzeri*, причем, среди них преобладали пигментообразующие *P. cepacia*. Из бактерий рода *Citrobacter* встречали только *C. freundii*. Также в посевах из язв отмечали единичную встречаемость энтеробактеров и эшерихий.

При исследовании воды и грунтов Вислинского залива нами было также выявлено преобладание условно-патогенных псевдомонад и аэромонад. Наибольшее количество аэромонад в воде, как и в микрофлоре угря, регистрировали весной (40,9±14,9 % штаммов), в грунтах – в осенний период (72,7±14,9 % штаммов). Большое число штаммов псевдомонад циркулировали в воде летом и осенью (67,5±8,0 и 68,1±7,4 % штаммов соответственно). В грунтах высокую численность бактерий рода *Pseudomonas* отмечали в весенний (69,6±13,5 % штаммов) и летний (66,9±21,2 % штаммов) периоды.

В воде залива среди псевдомонад доминирующими были *P. putrefaciens*. Достаточно большое количество штаммов в микрофлоре воды составляли неферментирующие *P. pseudoalcaligenes*. В посевах грунтов в основном регистрировали ферментирующие виды псевдомонад, среди которых наибольшее число штаммов приходилось на *P. putrefaciens* и *P. cepacia*. Из аэромонад в воде преобладали *A. hydrophila*, *A. veronii* и *A. caviae*. Эти же виды бактерий рода *Aeromonas* в наибольших количествах были выделены из грунтов залива.

В микробном пейзаже воды и грунта в различные сезоны также регистрировали бактерий рода *Vibrio* и представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Эти таксономические группы бактерий в микрофлоре воды и грунта занимали незначительную долю штаммов. Вибрионы присутствовали в воде в весенний и летний периоды исследований; в грунтах вибрионов встречали только летом. Бактерии в основном были представлены *V. fluvialis*. Летом из воды высевали также *V. furnissii*.

Из энтеробактерий в микрофлоре воды были встречены бактерии рода *Enterobacter*, *Escherichia* и *Proteus*. Энтеробактеры, выделенные из проб воды, были представлены единственным видом – *E. agglomerans* (бактерии были встречены в весенний и летний сезоны). Из рода *Escherichia* присутствовали *E. coli*. В воде кишечные палочки были представлены единичными штаммами во все сезоны года; в грунте их регистрировали только весной. Бактерии рода *Proteus*, представленные *P. mirabilis* и *P. vulgaris*, также присутствовали в воде единичными штаммами в летний и осенний периоды. В грунтах присутствовали только бактерии рода *Citrobacter* и *Escherichia*. Цитробактеры: *C. amolanaticus* и *C. freundii* – отмечались в пробах грунта в весенний и осенний периоды исследований. Наличие в грунтах кишечных палочек регистрировали весной.

Нами был также проведен анализ факторов патогенности выделенных бактерий. Факторы патогенности – важные условия существования условно-патогенных и патогенных бактерий. Обладая определенными маркерами патогенности, микроорганизмы способны адаптироваться к изменяющимся условиям и выживать как в организме рыб, так и во внешней среде (Ларцева и др., 2004; Щелкунов и др., 1998).

Доминирующие в микробиоценозе угря условно-патогенные бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* обладали гемолизинами, лецитиназой, проявляли протеолитическую активность. Эти же факторы патогенности регистрировали у водных и почвенных изолятов аэромонад и псевдомонад. Увеличение протеолитической и лецитиназной активности аэромонад и псевдомонад отмечали в летний период исследований. Штаммы *A. hydrophila*, пигментные *P. cepacia* и *P. stutzeri*, выделенные из язв угрей, обладали высокой протеолитической и лецитиназной активностью. Результаты анализа активности дезоксирибонуклеазы бактерий рода *Aeromonas*, выявленных у угря, показали ее нарастание к лету. Следует отметить, что бактерии *A. hydrophila*, высеванные из язв, имели высокую ДНК-азу с зоной деполимеризации от 4 до 7 мм. ДНК-азная активность аэромонад, обнаруженных в воде и грунтах залива, во все периоды исследований была высокой.

Таким образом, в бактериоценозе угря доминировали условно-патогенные бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*, количественный состав которых практически не изменялся по сезонам года. Установили четкую зависимость между условно-патогенной микрофлорой угря и обсеменением условно-патогенными микроорганизмами воды и грунтов Вислинского залива. Бактериологический анализ язвенных поражений показал их контаминацию аэромонадами, пигментными псевдомонадами и энтеробактериями. Загрязнение Вислинского залива приводит к увеличению количественного и качественного состава условно-патогенной микрофлоры. Вследствие этого в условиях повышенного антропогенного воздействия создаются стрессовые для угря ситуации, что снижает его сопротивляемость инфекциям. Выделенные условно-патогенные бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* обладали факторами патогенности. Это позволяет определить их эпизоотическую значимость и степень опасности для угря Вислинского залива.

**Kazimirchenko O.V.**

#### **The role of facultative bacteria in pathological changes of European eel (*Anguilla anguilla*) in the Vistula bay**

Annually in the commercial catches of eel in the Vistula bay there are recorded eel specimens with skin damages. The microbiological analysis of eel and its habitat were carried out. In fish microflora the facultative bacteria of *Aeromonas* and *Pseudomonas* genera predominated in all seasons. Also the presence of *Vibrio* and *Enterobacteriaceae* bacteria were noted. *Aeromonades* and *pseudomonades* contaminate skin, gills and internal organs of fish. In the lesions were found *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Citrobacter*. The complex of *Aeromonas* and *Pseudomonas* bacteria also predominated in water and soil samples. The high quantity of *Aeromonas* – *Pseudomonas* bacteria in fish, water and soil is connected with the Vistula bay contamination. In the article the bacteria pathogenous properties were determined. High hemolytic, proteolytic, lecithinase activities of *Aeromonas* and *Pseudomonas* bacteria, high pathogenic *aeromonades* with DNA activity pointed out the potential danger of these bacteria groups for European eel.